



УКРАЇНА

(19) UA (11) 24288 (13) C2
(51) 7 A01N65/00, C12N1/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ БІОСИНТЕЗУ РЕГУЛЯТОРА РОСТУ РОСЛИН

1

(21) 97041649

(22) 08.04.1997

(24) 15.06.2004

(46) 15.06.2004, Бюл. № 6, 2004 р.

(72) Кошпель Михайло Іванович, Заболотна Галина Михайлівна, Пономаренко Сергій Платонович

(73) Український науково-дослідний інститут спирту і біотехнології продовольчих продуктів

(56) SU, 1 824 148, A1, 30.06.1993SU, 1 423 550, A1, 15.09.1988

RU, 2 059 727, C1, 10.05.1996

US, 5 292 507, 08.03.1994

Технологічний регламент виготовлення регулятору росту рослин Емістим С, Київ, 1995

2

(57) Способ биосинтеза регулятора роста растений путем культивирования *Cylindrocarpum magnesianum*, включающий приготовление питательной среды, содержащей в качестве источника углерода глюкозу, внесение инокулянта, выращивание продуцента и ферментацию с перемешиванием и аэрацией среды, отличающийся тем, что в питательную среду вносят 0,5 мас. % глюкозы, а при достижении продуцентом логарифмической фазы роста дополнительно вводят глюкозу до общего количества внесенной глюкозы 0,9-1,0 мас. %, причем механическое перемешивание осуществляют при интенсивности 40-50 об/мин, а аэрацию - барботированием в расчете 0,5-1,0 л воздуха на 1 л среды.

Изобретение относится к микробиологической промышленности, в частности к микробиологическому синтезу регуляторов роста растений.

Известен способ биосинтеза регуляторов роста растений [Патент России № 2059727, 1996г., Изобретения 1996, № 13], предусматривающий выращивание культуры молочнокислых бактерий на обезжиренном молоке. Процесс ведут до pH 3,8-4,0.

Наиболее близким к предлагаемому по технической сущности и достигнутому результату является способ биосинтеза регуляторов роста растений [Технологічний регламент виготовлення регулятору росту рослин Емістим С, Київ, 1995], путем культивирования *Cylindrocarpum magnesianum*, включающий приготовление питательной среды, инокулирование ее, выращивание продуцента в колбах вместимостью 1л. В качестве питательной среды используют, г/л: глюкоза - 10,0; KH_2PO_4 - 0,9; K_2HPO_4 - 0,3; MgSO_4 - 0,2; K_2SO_4 - 0,1; аспарагин - не более 0,02; MnSO_4 не более 0,02; CuSO_4 - не более 0,02; FeSO_4 не более 0,02; вода дистиллированная до 1л.

Выращивание ведут в колбах или бутылках вместимостью 1л, в которые помещают по 0,5л питательной среды. Выращивание продуцента осуществляют при температуре 14-18°C, перемешивают вручную, взбалтывая каждую бутылку (колбу) через 2-3 дня. Процесс синтеза продол-

жается 35-40 суток. При этом активность препарата составляет 24%, а потребление источника углерода (глюкозы) - 10%.

Причиной, препятствующей дальнейшему повышению продуктивности процесса по регуляторам роста растений (Эмистиму С), является субстратное ингибирование культуры в первые 5 суток роста, что снижает выход регуляторов роста и экономический коэффициент использования источника углерода и удлиняет продолжительность процесса ферментации. Кроме того, высокая начальная концентрация источника углерода (глюкозы) в сочетании с недостаточным массообменом, и нестабильной температурой отрицательно сказывается на биосинтетической способности культуры.

Задачей изобретения является усовершенствование известного способа биосинтеза регулятора роста растений путем введения предложенных технологических приемов и параметров, направленных на создание оптимальных условий для выращивания продуцента *Cylindrocarpum magnesianum*.

Техническим результатом использования предлагаемого изобретения является повышение биосинтетической активности культуры *Cylindrocarpum magnesianum*. Потребительские свойства объекта изобретения, связанные с техническим результатом - повышение активности целевого продукта, а также сокращение продол-

(13) C2

(11) 24288

(19) UA

жительности процесса. Достигается технический результат тем, что в способе биосинтеза регулятора роста растений путем культивирования *Cylindrocapsa magnesia*, включающем приготовление питательной среды, содержащей в качестве источника углерода глюкозу, внесение инокулята, выращивание продуцента и ферментацию с перемешиванием и аэрацией среды, в питательную среду задают до 0,5% глюкозы, а на пятые сутки культивирования в среду дополнительно задают глюкозу из расчета общего количества внесенной глюкозы 0,9-0,1%. При этом ферментацию ведут при перемешивании среды механической мешалкой и аэрацию - барботированием воздуха. Предпочтительно перемешивание механической мешалкой 40-60 об/мин, аэрация - 0,5-1,0 л воздуха на 1 г среды.

Внесение глюкозы в два приема: до 0,5% - в питательную среду и 0,4-0,5% - на 5-е сутки, в культуральную среду позволяет уменьшить субстратное ингибирование продуцента в начальный период роста.

Использование предложенных технологических приемов и параметров в сочетании с известными позволяет создать оптимальные условия жизнедеятельности продуцента и за счет этого повысить биосинтетическую активность культуры.

Предлагаемый способ осуществляют следующим образом. Для ферментера вместимостью 10 л питательную среду следующего состава, г на 1 л: KH_2PO_4 - 0,9; K_2HPO_4 - 0,3; MgSO_4 - 0,2; K_2SO_4 - 0,1; аспарагин - не более 0,02; MnSO_4 - не более 0,02; CuSO_4 - не более 0,02; Fe_3SO_4 - не более 0,02; вода дистиллированная до 1000 мл.

В качестве источника углерода в приготовленную питательную среду задают до 5,0 г/л глю-

козы. Питательную среду стерилизуют, инокулируют культурой *Cylindrocapsa magnesia* в количестве 5,0 об. % и ведут ее выращивание в ферментере в течение 5 суток без аэрации и перемешивания при температуре - 22-24°C. На пятые сутки в ферментер дополнительно вносят глюкозу 4,0-5,0 г/л и ведут ферментацию при температуре 22-24°C, аэрация 0,5-1 г/л среды и перемешивании механической мешалкой со скоростью 40-50 об/мин. Продолжительность ферментации 25-30 суток. Общая продолжительность процесса 30-35 суток.

Ферментацию контролируют по pH среды, микроскопии культуры, по потреблению компонентов питательной среды.

Пример. В ферментер с полным объемом 10 л помещают 7 л питательной среды, содержащей, г/л: KH_2PO_4 - 0,9; K_2HPO_4 - 0,3; MgSO_4 - не более 0,2; CuSO_4 - не более 0,02; Fe_3SO_4 - не более 0,02; глюкоза - 5,0; вода дистиллированная до 1 л.

Затем среду стерилизуют, инокулируют продуцентом из расчета 5 об. % и ведут выращивание культуры первые 5 суток без аэрации и перемешивания. Затем в ферментер дополнительно вводят 5 г глюкозы и проводят ферментацию при перемешивании среды механической мешалкой - 50 об/мин. и барботировании воздухом 0,75 л/л среды в течение 25 суток.

Данные, подтверждающие преимущества заявленного способа в сравнении с прототипом, приведены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, предложенный способ позволяет при сокращении на 5 суток продолжительности процесса увеличить активность препарата в 3,7 раза, а также повысить коэффициент использования глюкозы в 6,5 раза.

Таблица 1

Показатели	Прототип	Заявленный способ
1. Продолжительность биосинтеза сут.,	35	30
2. Потребление источника углерода (глюкозы), %	10	65
3. Выход препарата, на 1 л культуральной жидкости	0,4	0,4
4. Биосинтетическая активность препарата (биотестирования), %	24	89,2