



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
C12N 1/20 (2006.01); C12R 1/125 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017144484, 18.12.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
18.12.2017

Дата регистрации:  
26.09.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 18.12.2017

(45) Опубликовано: 26.09.2018 Бюл. № 27

Адрес для переписки:

656049, г. Барнаул, пр. Ленина, 61, ФГБОУ ВО  
"Алтайский государственный университет",  
ЦРТПТТУИС

(72) Автор(ы):

Рыженков Никита Сергеевич (RU),  
Яценко Елена Сергеевна (RU),  
Микушина Ирина Владимировна (RU),  
Ширманов Максим Вячеславович (RU),  
Евдокимов Иван Юрьевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Алтайский государственный  
университет" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: БОЙКО С.С., ЯЦЕНКО Е.С.  
"Влияние ультразвука на численность  
Bacillus subtilis в процессе стационарного  
культивирования". Технологии и  
оборудование химической,  
биотехнологической и пищевой  
промышленности. Материалы X  
Всероссийской научно-практической  
конференции студентов, аспирантов и  
молодых ученых с международным  
участием. - Бийск, 2017, (см. прод.)

(54) Питательная среда для культивирования Bacillus subtilis ВКПМ В-12079

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии и  
микробиологии. Питательная среда для  
культивирования бактерий Bacillus subtilis ВКПМ  
В-12079 содержит пептон ферментативный,  
дрожжевой экстракт, натрий хлористый, 96%-ный

спиртовой экстракт кофе арабика и  
дистиллированную воду при заданном  
соотношении компонентов. Изобретение  
позволяет повысить выход биомассы бактерий  
Bacillus subtilis ВКПМ В-12079. 1 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

с.322-325. RU 2100029 С1, 27.12.1997. СИДОРОВ М.А., СКОРОДУМОВ Д.И., ФЕДОТОВ В.Б.  
Определитель зоопатогенных микроорганизмов. Справочник. М.: Колос, 1995, с. 108-112.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*C12N 1/20* (2006.01)  
*C12R 1/125* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*C12N 1/20* (2006.01); *C12R 1/125* (2006.01)

(21)(22) Application: **2017144484, 18.12.2017**

(24) Effective date for property rights:  
**18.12.2017**

Registration date:  
**26.09.2018**

Priority:

(22) Date of filing: **18.12.2017**

(45) Date of publication: **26.09.2018** Bull. № 27

Mail address:

**656049, g. Barnaul, pr. Lenina, 61, FGBOU VO  
"Altajskij gosudarstvennyj universitet",  
TSRTPTTUIS**

(72) Inventor(s):

**Ryzhenkov Nikita Sergeevich (RU),  
Yatsenko Elena Sergeevna (RU),  
Mikushina Irina Vladimirovna (RU),  
Shirmanov Maksim Vyacheslavovich (RU),  
Evdokimov Ivan Yurevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Altajskij gosudarstvennyj  
universitet" (RU)**

(54) **NUTRITIVE MEDIUM FOR CULTIVATION BACILLUS SUBTILIS VKPM B-12079**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology; microbiology.

SUBSTANCE: nutrient medium for the cultivation of VKPM B-12079 Bacillus subtilis bacteria contains peptone enzymatic, yeast extract, sodium chloride, 96 % alcohol extract of arabica coffee and distilled

water at a given ratio of components.

EFFECT: invention allows to increase the yield of biomass of VKPM B-12079 Bacillus subtilis bacteria.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

**1 C  
2 6 6 8 1 7 3  
R U**

**R U  
2 6 6 8 1 7 3  
C 1**

Изобретение относится к биотехнологии и микробиологии. Препарат на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-12079 может быть использован при получении пробиотических средств для КРС и птицы, применяемых для лечения и профилактики заболеваний, связанных с нарушениями процессов пищеварения. Штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-12079 составляет основу кормовой добавки «Энзимспорин».

Составы питательных сред для культивирования *Bacillus subtilis* хорошо изучены на лабораторном и промышленном уровнях.

Известна питательная среда для стационарного культивирования *Bacillus subtilis* - мясопептонный бульон (МПБ). Мясопептонный бульон готовится из мясной воды, к которой добавляют 1% пептона и 0,5% натрия хлористого. Мясную воду получают путем проварки в 2-4-кратном объеме водопроводной воды мяса или фарша крупного рогатого скота или лошадей в течение 1 ч с последующей фильтрацией [1].

Недостатком данной среды является дороговизна используемых компонентов и сложная технология приготовления. Применение данной среды для промышленного производства трудновыполнимо.

Наиболее близким аналогом для культивирования *Bacillus subtilis* к заявляемой питательной среде является L-бульон. Его готовят следующим образом: состав (г/л): дрожжевой экстракт - 5, пептон ферментативный - 15, хлорид натрия - 5, дистиллированная вода - до 1 л (рН 6,8-7,0). Стерилизацию проводили при давлении 1,1 атм. в течение 40 минут [2].

Недостатком данной среды является то, что при культивировании *Bacillus subtilis* ВКПМ В-12079 максимальное количество организмов не выше  $5 \times 10^9$  КОЕ/мл.

Цель состоит в разработке состава питательной среды, содержащего доступное и дешевое сырье, обеспечивающее количество *Bacillus subtilis* ВКПМ В-12079 в процессе культивирования выше  $5 \times 10^9$  КОЕ/мл.

Технический результат, который может быть получен при осуществлении изобретения, состоит в повышении количества *Bacillus subtilis* ВКПМ В-12079 выше  $5 \times 10^9$  КОЕ/мл.

Описание изобретения

Для достижения указанного технического результата культивирования *Bacillus subtilis* ВКПМ В-12079 предложено использовать питательную среду, состоящую из дрожжевого экстракта, пептона ферментативного, хлорид натрия, 96%-го спиртового экстракта кофе арабика, дистиллированной воды, доведенной до объема 1 л (рН 6,8-7,0), при следующем соотношении компонентов (г/л): дрожжевой экстракт - 5, пептон - 15, хлорид натрия - 5, 96% спиртовой экстракт кофе арабика 2-40 мл/л, дистиллированная вода - до 1 л. (рН 6,8-7,0). Стерилизация при давлении 1,1 атм. в течение 40 минут.

Приготовление экстракта включает в себя экстрагирование растительного сырья. В данной работе использовали аппарат Сокслета. На 1 г воздушно-сухого вещества использовали 15 мл растворителя. В качестве растворителей выбрали 96%-ый раствор этанола. В патрон из белой фильтровальной бумаги добавляли 10 г воздушно-сухого растительного сырья, после чего закрывали с обеих сторон и помещали в экстрактор Сокслета. В колбу добавляли 150 мл растворителя и начинали экстрагирование на водяной бане. Продолжительность экстрагирования - 3 часа, количество циклов - 10. На выходе получали спиртовой экстракт растительного сырья.

Опыт поясняется следующими примерами.

Пример 1.

Для приготовления жидкой питательной среды в колбу Эрленмейера (объем 50 мл) добавляли компоненты среды, при соотношении г/л: дрожжевой экстракт - 5, пептон

- 15, хлорид натрия - 5, определенные объемы экстрактов кофе арабика (см. таблица 1), дистиллированная вода - до 1 л. (рН 6,8-7,0). Закрывали ватно-марлевой пробкой и стерилизовали при давлении 1,1 атм. в течение 40 минут. Затем, в остывшую жидкую питательную среду (объем 50 мл) в стерильных условиях вносили навеску 0,5 г

5 лиофилизированно высушенных спор *Bacillus subtilis* ВКПМ В-12079.  
 Культивирование производили в шейкер-инкубаторе "Innova 44" (New Brunswick, США) при вращении со скоростью 250 оборотов в минуту (эксцентриситет 5 см), температуре 37°C в течение 24 часов.

10 Для определения количества использовали стандартный метод десятикратных разведений с пересевом на питательный агар, приготовленный при следующем соотношении компонентов (г/л): дрожжевой экстракт - 5, пептон - 15, хлорид натрия - 5, агар-агар - 18, дистиллированная вода - до 1 л. (рН 6,8-7,0). Стерилизацию проводили при давлении 1,1 атм. в течение 40 минут. Затем термостатировали при температуре 37°C в течение 24 часов. В качестве контрольной пробы использовали среду, без внесения

15 экстрактов кофе арабика. Эксперименты проведены семь раз.  
 Таблица 1. Результаты влияния 96%-ного спиртового экстракта кофе арабика на стимуляцию роста *Bacillus subtilis* ВКПМ В-12079.

20

Содержание экстракта (мл/л)	Содержание бактерий, КОЕ*10 <sup>10</sup> /мл
2	340±40
6	310±40
25 10	270±70
15	1150±40
<b>20</b>	<b>2450±100</b>
30 40	150±40
0	380±20

Из приведенных данных видно (табл. 1), что максимальное увеличение количества бактерий достигается при добавлении 20 мл 96%-го спиртового экстракта кофе арабика в L-бульон.

35 Таким образом, предлагаемая питательная среда для культивирования бактерии *Bacillus subtilis* ВКПМ -12079 содержит доступное сырье, а ее использование позволяет повысить количество микроорганизмов до  $2 \times 10^{13}$  КОЕ/мл.

#### Литература

40 1. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований. / Под ред. А.С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. - М.: Медицина, 2005. - С. 480

2. Бойко С.С, Яценко Е.С. Влияние ультразвука на *Bacillus subtilis* в процессе стационарного культивирования // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности. Материалы X Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием. - Бийск, 2017. - С. 321-324.

## (57) Формула изобретения

Питательная среда для культивирования *Bacillus subtilis* ВКПМ В-12079, состоящая из пептона, дрожжевого экстракта, хлорида натрия и дистиллированной воды, отличающаяся тем, что включает 96%-ный спиртовой экстракт кофе арабика при следующем соотношении компонентов, г/л:

	Пептон		15
	Дрожжевой экстракт		5
	Хлорид натрия		5
10	96%-ный спиртовой экстракт		
	кофе арабика	20 мл	
	водопроводная вода		до 1 л

15

20

25

30

35

40

45