



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
C12P 19/04 (2021.05); C12N 1/22 (2021.05)

(21)(22) Заявка: 2021106227, 10.03.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
10.03.2021

Дата регистрации:  
01.09.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 10.03.2021

(45) Опубликовано: 01.09.2021 Бюл. № 25

Адрес для переписки:

656038, Алтайский край, г. Барнаул, пр. Ленина,  
46, ФГБОУВО "Алтайский государственный  
технический университет им. И.И. Ползунова"  
(АлтГТУ), отдел правового обеспечения и  
использования результатов интеллектуальной  
деятельности (ОПОИРИД)

(72) Автор(ы):

Коньшин Вадим Владимирович (RU),  
Крахмалев Вадим Алексеевич (RU),  
Коршунов Лев Александрович (RU),  
Ваганник Константин Павлович (RU),  
Книсс Татьяна Александровна (RU),  
Костинская Валерия Александровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Алтайский государственный  
технический университет им. И.И.  
Ползунова" (АлтГТУ) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: БУЛАТ М.В., ДУДКА К.В.  
"Получение матриц бактериальной  
целлюлозы: способы очистки от клеток  
продуцента и эндотоксинов" // Материалы  
международного форума "Биотехнология:  
состояние и перспективы развития", 23-25 мая  
2018, с.293-295. ВИНОГРАДОВА В.Р.,  
БОЛОТОВА К.С. "Влияние химической и  
ферментативной обработки бактериальной  
целлюлозы на ее (см. прод.)

(54) Способ очистки бактериальной целлюлозы

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии.  
Предложен способ очистки бактериальной  
целлюлозы, включающий удаление клеток  
бактерий и компонентов культуральной среды  
путем обработки в растворе перманганата калия  
концентрацией 0,1-10,0% при 90°C в течение 5-30

мин, последующую промывку раствором  
щавелевой кислоты и водой до нейтральной  
реакции на кислоту. Изобретение обеспечивает  
расширение арсенала способов очистки  
бактериальной целлюлозы с сокращением  
продолжительности процесса очистки. 4 пр.

(56) (продолжение):

структуру и состав" // Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов  
и молодых ученых "Технология и оборудование химической, биотехнологической и пищевой  
промышленности", 21-23 мая 2014, Бийск, с.216-218. RU 2428482 С2, 10.09.2011. РЕВИН В.В. и др. "Выделение  
и характеристика штаммов-продуцентов бактериальной целлюлозы" // Микробиология, 2020, т.89, N 1, с.88-  
98. CN 0108624524 A, 09.10.2018. RU 2726359 С1, 13.07.2020.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*C12P 19/04* (2006.01)  
*C12N 1/22* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*C12P 19/04 (2021.05); C12N 1/22 (2021.05)*

(21)(22) Application: **2021106227, 10.03.2021**

(24) Effective date for property rights:  
**10.03.2021**

Registration date:  
**01.09.2021**

Priority:

(22) Date of filing: **10.03.2021**

(45) Date of publication: **01.09.2021 Bull. № 25**

Mail address:

**656038, Altajskij kraj, g. Barnaul, pr. Lenina, 46,  
FGBOUVO "Altajskij gosudarstvennyj  
tehnicheskij universitet im. I.I. Polzunova"  
(AltGTU), otdel pravovogo obespecheniya i  
ispolzovaniya rezultatov intellektualnoj  
deyatelnosti (OPOIRID)**

(72) Inventor(s):

**Konshin Vadim Vladimirovich (RU),  
Krakhmalev Vadim Alekseevich (RU),  
Korshunov Lev Aleksandrovich (RU),  
Vagannik Konstantin Pavlovich (RU),  
Kniss Tatyana Aleksandrovna (RU),  
Kostinskaya Valeriya Aleksandrovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Altajskij gosudarstvennyj  
tehnicheskij universitet im. I.I. Polzunova"  
(AltGTU) (RU)**

(54) **METHOD FOR CLEANING BACTERIAL CELLULOSE**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to biotechnology.

A method for cleaning bacterial cellulose is proposed, which includes the removal of bacterial cells and components of the culture medium by treatment in a solution of potassium permanganate with a concentration of 0.1-10.0% at 90°C for 5-30 minutes,

followed by washing with a solution of oxalic acid and water until a neutral reaction to the acid.

EFFECT: invention provides an expansion of the arsenal of methods for cleaning bacterial cellulose with a reduction in the duration of the cleaning process.

1 cl, 4 ex

C 1  
2 7 5 4 3 6 8  
R U

R U  
2 7 5 4 3 6 8  
C 1

Изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано для очистки бактериальной целлюлозы на основе штаммов различных бактерий от остатков культуральной жидкости и для удаления белка клеток.

Известен способ очистки бактериальной целлюлозы, получаемой культивированием симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* на жидкой питательной среде ферментативного гидролизата мискантуса, или плодовых оболочек овса, или соломы льна-межеумка. Процесс очистки химически чистой бактериальной целлюлозы включает удаление клеток бактерий путем выдерживания образцов пленок бактериальной целлюлозы в течение 24 ч в растворе NaOH концентрацией 0,5% для удаления клеток бактерий, промывание в дистиллированной воде до нейтральной реакции, отбелку бактериальной целлюлозы от красящих компонентов питательной среды путем выдерживания в течение 24 ч в растворе HCl концентрацией 0,5%, промывание дистиллированной водой, сушку при комнатной температуре в расправленном состоянии (патент RU 2597291, МПК C12N 1/22 (2016.01), C12P 19/04 (2016.01)).

Основными недостатками описанного способа являются повышенная трудоемкость и продолжительность очистки. Кроме того, данный способ предусматривает очистку только бактериальной целлюлозы, получаемой культивированием симбиотической культуры *Medusomyces gisevii*, что сужает сферу его использования.

Наиболее близким к заявляемому изобретению по технической сущности и достигаемому результату (прототипом) является способ очистки бактериальной целлюлозы, получаемой на основе штамма бактерий *Glucanacetobacter sucrofermentans* Н-110, выращенных на нативной молочной сыворотке в течение 3-5 суток при температуре 28-30°C. При этом культивирование бактерий *Glucanacetobacter sucrofermentans* Н-110 осуществляют на нативной молочной сыворотке при температуре 28-30°C в течение 3-5 суток, после чего гель-пленку бактериальной целлюлозы или хлопья отделяют от культуральной среды. Процесс очистки бактериальной целлюлозы включает удаление клеток бактерий и компонентов культуральной среды путем обработки 0,1 Н раствором NaOH при 90°C в течение 30 минут, последующей промывки дистиллированной водой, 0,5% водным раствором уксусной кислоты и снова водой до нейтральной реакции. Процесс очистки бактериальной целлюлозы повторяют 3 раза (патент RU 2536257, МПК C12N 1/20 (2006.01), C12R 1/01 (2006.01)).

Основными недостатками описанного способа являются продолжительность очистки, а также энергоемкость процесса очистки бактериальной целлюлозы, связанная с трехкратной обработкой при 90°C раствором щелочи с последующими промывками кислотой и водой до нейтральной реакции. Кроме того, данный способ предусматривает очистку именно бактериальной целлюлозы, получаемой на основе штамма бактерий *Glucanacetobacter sucrofermentans* Н-110, что сужает сферу его использования.

Техническая проблема, решение которой обеспечивается при осуществлении изобретения, заключается в создании способа очистки бактериальной целлюлозы, характеризующегося пониженной энергоемкостью и длительностью при расширенной сфере использования.

Решение настоящей технической проблемы достигается тем, что в способе очистки бактериальной целлюлозы, включающем удаление клеток бактерий и компонентов культуральной среды путем обработки в заданном растворе при 90°C, последующей промывки кислотой и водой до нейтральной реакции, согласно изобретению в качестве заданного раствора используют раствор перманганата калия концентрацией 0,1-10,0%, обработку производят в течение 5-30 минут, а промывку ведут сначала раствором щавелевой кислоты до нейтральной реакции на перманганат-ион, диоксид марганца и

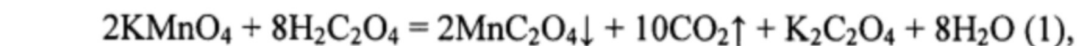
белок, затем водой до нейтральной реакции на кислоту.

Снижение энергоемкости и длительности процесса очистки бактериальной целлюлозы обусловлены одновременным неэнергоемким удалением клеток бактерий и компонентов культуральной среды путем однократного выдерживания в растворе перманганата калия в течение 5-30 минут.

Расширение сферы использования предлагаемого способа обусловлено реализацией очистки приведенной совокупностью операций любой бактериальной целлюлозы, получаемой на основе штаммов различных бактерий.

Известно, что перманганат калия является антисептическим медпрепаратом, обладающим противомикробными свойствами. Образующийся при восстановлении препарата оксид образует с белками растворимые комплексные соединения - альбуминаты. Использование перманганата калия концентрацией менее 0,1% менее 5 минут нецелесообразно ввиду неполного окисления белка клеток бактерий и компонентов культуральной среды. Использование перманганата калия концентрацией более 10,0% более 30 минут способствует окислению и разрушению бактериальной целлюлозы.

Использование щавелевой кислоты способствует растворению и удалению как остатка, не прореагировавшего перманганата марганца:



так и диоксида марганца, образующегося при окислении перманганатом марганца белка клеток бактерий и компонентов культуральной среды и адсорбируемого на поверхности бактериальной целлюлозы, за счет образования растворимых в воде комплексов (Изучение кинетики растворения диоксида марганца в растворах лимонной и щавелевой кислот / Артамонова И.В. [и др.] // Известия МГТУ «МАМИ» - 2010. - №2. - С. 157-161.). Образующийся при взаимодействии с перманганатом калия нерастворимый осадок оксалата марганца (реакция 1) растворяется в избытке щавелевой кислоты.

Способ очистки бактериальной целлюлозы заключается в удалении клеток бактерий и компонентов культуральной среды путем однократной обработки при 90°C растворами перманганата калия концентрацией 0,1-10,0% в течение 5-30 минут с последующей промывкой раствором щавелевой кислоты сначала до отрицательной реакции на перманганат-ион, диоксид марганца, белок, затем водой до нейтральной реакции на кислоту.

Примеры конкретного выполнения способа.

Пример 1. Образцы пленок бактериальной целлюлозы, получаемой культивированием симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* на жидкой питательной среде ферментативного гидролизата мискантуса, или плодовых оболочек овса, или соломы льна-межеумка, очищают следующим образом: в течение 30 минут пленку обрабатывают при 90°C раствором перманганата калия концентрацией 0,1%, промывают раствором щавелевой кислоты до отрицательной реакции на перманганат-ион, диоксид марганца, белок, затем водой до нейтральной реакции на кислоту.

Отсутствие перманганат-ионов обуславливается отсутствием малиновой окраски исследуемой субстанции. Диоксид марганца контролируют по отсутствию темно-коричневого осадка.

Качественная реакция на белок: к 0,1 мл субстанции прибавляют 0,2 мл серной кислоты, разведенной 16%, 2 мл эфира, 0,2 мл 5% раствора калия дихромата и взбалтывают; эфирный слой при наличии белка должен окраситься в синий цвет.

Отсутствие щавелевой кислоты проверяют по универсальному индикатору.

Таким образом, получается бактериальная целлюлоза, очищенная от клеток бактерий и компонентов культуральной среды.

5 Пример 2. Очистка бактериальной целлюлозы осуществляется по примеру 1, отличие заключается в обработке при 90°C раствором перманганата калия концентрацией 0,25% в течение 15 минут.

Результаты, полученные в примере 2, показывают, что бактериальную целлюлозу можно очистить от клеток бактерий и компонентов культуральной среды при меньшем времени обработки раствором перманганата калия - 15 минут, по сравнению с примером 1, но при использовании большей концентрации перманганата калия - 0,25%.

10 Пример 3. Очистка бактериальной целлюлозы осуществляется по примеру 1, отличие заключается в обработке при 90°C раствором перманганата калия концентрацией 10,0% в течение 5 минут.

Результаты, полученные в примере 3, показывают, что бактериальную целлюлозу можно очистить от клеток бактерий и компонентов культуральной среды при 15 минимальном времени обработки раствором перманганата калия - 5 минут, по сравнению с примером 1, однако в данном случае необходимо использовать максимальную концентрации перманганата калия - 10,0%.

Пример 4. Очистка бактериальной целлюлозы осуществляется по примеру 2, отличие 20 заключается в использовании образцов пленок целлюлозы, получаемой на основе штамма бактерий *Gluconacetobacter sucrofermentans* Н-110.

Результаты, полученные в примере 4, позволяют утверждать, что данным способом может быть очищена бактериальная целлюлоза, получаемая на основе использования разных штаммов бактерий.

25 Таким образом, описанный способ очистки бактериальной целлюлозы позволяет сократить продолжительность очистки и уменьшить энергозатраты.

#### (57) Формула изобретения

Способ очистки бактериальной целлюлозы, включающий удаление клеток бактерий и компонентов культуральной среды путем обработки в заданном растворе при 90°C, 30 последующую промывку кислотой и водой до нейтральной реакции, отличающийся тем, что в качестве заданного раствора используют раствор перманганата калия концентрацией 0,1-10,0%, обработку производят в течение 5-30 мин, а промывку ведут сначала раствором щавелевой кислоты до нейтральной реакции на перманганат-ион, диоксид марганца и белок, затем водой до нейтральной реакции на кислоту.

35

40

45