

(11) Patent numeris: **3817**

(51) Int.Cl.⁵: **C12N 11/14**

(21) Paraiškos numeris: **IP1748**

(22) Paraiškos padavimo data: **1993 12 30**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1995 07 25**

(45) Patent paskelbimo data: **1996 03 25**

(60) SU duomenys: **PCT/FI 91/00120, 1991 04 22**

(72) Išradėjas:

Pekka Seiskari, FI
Heikki Pulkkanen, FI
Pekka Vapaaoksa, FI

(73) Patent savininkas:

KEMIRA OY, P.O. Box 44, FIN-02271 Espoo, FI

(74) Patentinis patikėtinis:

Marius Jakulis-Jason, 3, A.A.A.Baltic Service Company, Rūdninkų g. 18/2-12, 2001
Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Kieta nešančioji terpė, skirta mikrobus preparatams, ir mikrobus kultivavimo būdas

(57) Referatas:

Išradimas susijęs su mikrobus auginimo būdu kietoje auginimo terpėje, kuriame iš esmės neturintys katijonų ir poringi silicio dioksido karkasai, gauti iš silikatinių dalelių, užpildomi maistinių medžiagų šaltiniu ir pridedama viena ar daugiau mikrobus rūšių. Išradimas taip pat susijęs su produktu, kuris sudarytas iš žymia dalimi neturinčiu katijonų bei poringų silicio dioksido karkasų, gautų iš silikatinių dalelių, ir vienos ar daugiau mikrobus rūšių.

Išradimas skirtas mikroorganizmų auginimo kietoje mitybinėje terpėje būdai, pagal kurią prie silikatinės medžiagos, išodrintos mitybine medžiaga, pridedama viena ar daugiau mikrobu rūšių, ir padarytas mišinys laikomas sąlygose, kuriose mikrobai galės veistis. Išradimas taip pat skirtas produktui, kuris yra mišinys silikatinės medžiagos ir vienos ar kelių mikrobu rūšių.

Mikrobu auginimas kietoje kultivavimo terpėje yra senas būdas, kuris ypač dažnai naudojamas maisto pramonėje, pavyzdžiui, mėlynųjų sūrių ir rytietišku kodži tipo produktų gamyboje. Šie procesai buvo paveldėti pirmiausia per tradicijas, iš pradžių neturint jokių žinių apie jų mikrobiologinį ir fermentinį charakterį.

Paskutiniaisiais metais biotechnologinėje pramonėje didėjo supratimas, jog procesas su fermentacija kietame būvyje (SSF) yra verta dėmesio metodika šalia dažniausiai naudojamos fermentacijos, panardinant į skystą terpę. Daugiausia SSF yra vienintelis galimas procesas tam tikrų produktų biotechnologinėje gamyboje, pavyzdžiui, dėl naudojamų mikrobu augimo fiziologijos. Taip pat, dažnai SSF yra labiau ekonomišką procesą nei fermentacija panardintoje būsenoje: kai kuriuose taikymuose nėra tokie dideli reikalavimai sterilumui, procesas yra paprastesnis ir tolesnio apdorojimo kaina yra žemesnė dėl mažesnio vandens kiekio terpėje.

SSF tinkamumas labai priklauso nuo kultivavimo terpės savybių: maistinių medžiagų, surišamo vandens tūrio ir struktūros. Tradiciniuose SSF naudojama terpė yra santykinai sudėtinga medžiaga, kuri vienu metu tarnauja kaip maisto medžiagų šaltinis, vandens surišiklis ir nešančioji medžiaga. Tokių medžiagų pavyzdžiais yra javų grūdai, pelai, kapoti šiaudai, pjuvenos, durpės ir kompostas (pvz., US patentas Nr. 4748021, FI patentas Nr. 69390). Kartais prie šių terpių pridedami tokie

komponentai kaip gipsas ar kalkės, kurie pagerina terpių struktūrą.

5 Aukščiau pateiktų kultivavimo terpių pramoninis panaudojimas iš dalies pagrįstas jų kainos ekonomišku ir lengvu prieinamumu. Vystant naujus biotechnologinius produktus, tokius kaip mikrobinius inikuliatus, labai svarbu, kad galutinio produkto savybės būtų tiksliai tokios, kokių pageidaujama. Pavyzdžiui, kai biomasė, 10 turinti celiuliozės, yra naudojama kaip SSF terpė, tai praktiškai neišmanoma gauti mikrobinio inokuliato sausų miltelių pavidalu, kuriuos galima būtų panaudoti kaip sėklas apveliantį agentą ar išbarstymo miltelius.

15 Iš anksčiau žinoma, jog įvairūs silikatiniai mineralai, tokie kaip vermikulitas, bentonitas ir kaolinitas, buvo naudojami kaip SSF nešančioji medžiaga, ypač gaminant azotinių bakterijų ir grybienos inokuliatus (pvz., Appl. Env. Microbiol. 53 (1987) 2138-2140; Curr. Sci. 51 20 (1982) 430-432). Tačiau galimybės sudaryti tokius produktus galutiniam naudojimui yra ribotos ir iš tikrųjų jie dažniausiai yra naudojami tokie kaip yra, padžio- vinti ar dar dažniau nedžiovinėti, arba kokiu nors būdu granuluoti.

25 Sudarant preparatus, kurie turi gyvus mikroorganizmus, stengiamasi suteikti jiems tokių pavidalą paprastai arba koncentruotų tirpalų, arba miltelių pavidalą, kad jie kaip galima labiau tiktų duotiems tikslams. Pavyzdžiui, 30 žemės ūkyje patogiau kai mikrobiniai preparatai gali būti išpurškiami ant taikinių arba panaudojami apvelti augalų sėklas. Tai kelia didelius reikalavimus mikrobinio preparato sudarymui, ypač mikroorganizmų gyvybingumui ir preparato purškimo ir apvelimo savybėms. 35 Paprastai sudarant naudojamos nešančios medžiagos, įvairios apsaugančios medžiagos, drėkintojai, disperguojantys agentai ir pH kontroliuojantys agentai.

Nešančioji medžiaga turi ne tik apsaugoti mikrobus, bet taip pat tarnauti kaip skiediklis; charakteringais tokio tipo nešikliais yra įvairios natūralios organinės medžiagos, jų dariniai ar neorganiniai mineralai. Apsauginėmis medžiagomis gali būti, pavyzdžiui, apsaugančios nuo UV spindulių ar antioksidacinės medžiagos. Tarp savybių, kuriomis turėtų pasižymėti nešančioji medžiaga, yra tinkamas lyginamasis paviršiaus plotas, gera buferizavimo talpa ir teisingas pH diapazonas.

10

Kaip žinoma iš anksčiau, sudarant mikrobiologinius preparatus, kaip nešančiosios medžiagos vartojami įvairūs neorganiniai silikatiniai mineralai, tokie kaip vermikulitas, kaolinitas ar montmorilonitas (pvz., Can. J. Microb., Vol. 12 (1966), pp. 1235-1246). Tokio tipo medžiagų kokybė gali labai svyruoti ir, be to, jose gali būti komponentų, inhibuojančių mikrobus, dėl to gali atsirasti problemų sudarant iš mikroorganizmų preparatus.

20

Pramoninio mikrobinių preparatų gamybos požiūriu, būtina auginimo ar sudarymo metu turėti galimybę naudoti pigią, vienodos kokybės nešančiąją medžiagą, kurios dėka galima būtų gauti reikiamas auginimo terpės ir galutinio produkto naudingas savybes.

25

Žemiau pateiktas eilės svarbiausių reikalavimų rinkinys, pramoninio masto SSF kultivavimo terpei:

30

Auginimo terpės struktūra: terpė turi būti poringa, geriausia granuliuota, kad mikrobai turėtų maksimalų augimo paviršių tūrio vienetui. Granulinė struktūra taip pat užtikrina pakankamą deguonies tiekimą mikrobams.

35

Drėgmės kiekis: drėgmės kiekis turi būti pakankamai didelis, kad mikrobai galėtų augti terpėje. Tačiau laisvo

vandens kiekis terpėje turi būti minimalus tam, kad vanduo neužimtų erdvės, kurioje cirkuliuoja oras. Didelis vandens kiekis taip pat padidintų džiovavimo ir atskyrimo kainas toliau apdorojant.

5

Maistinių medžiagų naudojimas: tam, kad procesas būtų ekonomiškai, geriau, kai maistinių medžiagų yra tiksliai toks kiekis, koks reikalingas mikrobu augimui ir/arba reikalingų medžiagų gamybai norimu greičiu.

10

Tolesnis apdorojimas: auginimo terpė turi būti lengvai įvedama į fermentatorių ir pašalinama iš jo. Mikrobinių inokuliatų atveju būtina, kad terpę galėtume lengvai džiovinti taip, kad mikrobai ar jų sporos išliktų gyvi džiovavimo metu. Po džiovavimo dažnai būtina produktą švelniai sutrinti į miltelius taip, kad organizmai per daug nenukentėtų.

15

Sudarymas: geriau, kad terpė turėtų komponentus, kurie pagerina produkto vartojimo savybes (lipnumas prie sėklų, gniutulų nesusidarymas, sugebėjimas sudaryti suspensijas).

20

Kaina: auginimo terpės kaina turi būti priimtina, lyginant su produkto kaina.

25

Šiame išradime minėtieji tikslai buvo pasiekti naujo proceso ir produkto dėka, kurie yra aprašyti patente nepriklausomuose apibrėžties punktuose. Tuo būdu, buvo pastebėta, kad silicio dioksido karkasas, gaunamas išplaunant katijonus iš silikatinių mineralų, yra puikiai tinkamas kaip nešančioji medžiaga SSF procesui ir mikrobiologiniams preparatams, kuriuose yra gyvų mikrobu. Pagal savo paviršiaus savybes silicio dioksido karkasas yra hidrofiliinė medžiaga, turinti didelį specifinį paviršių. Jos akyta struktūra sudaryta pirmiausia iš mikro ir mezoporinių struktūrų, su natūraliu

30

35

sugebėjimu išlaikyti vandenį, adsorbuotą jos paviršiuje. Drėgmė daugiausia yra porose, ir todėl tarpai tarp dalelių išlieka sausi.

- 5 Tinkamo tipo silicio dioksido karkasas paprastai gaunamas silikatinį mineralą išplaunant rūgštimi. Išplautų katijonų vietas silicio dioksido karkase užima vandenilio atomai ir paviršius pasidaro hidrofiliniu.
- 10 Išplovimo metodika priklauso nuo bet kokių gardelės defektų, esančių minerale; šių defektų dėka rūgštis gali įsiskverbti į silikatą ir pašalinti katijonus. Pirmame pavyzdyje toks defektas atsiranda dėl to, kad dalis geležies yra divalentė, o kita dalis - tri-
- 15 valentė. Kai divalentė geležis, esanti gardelėje išplovimo metu, yra oksiduojama iki trivalentės, geležies jono spindulys sumažėja ir gardelėje susidaro daugiau erdvės, kurioje rūgštis gali prieiti prie katijoninės struktūros ir išplauti katijonus, nepažeisdama silikato
- 20 silicio dioksido karkaso. Beveik visuose natūraliuose silikatuose yra gardelės defektų, kurių dėka silikatai gali būti išplauti tam, kad būtų gautas silicio dioksido karkasas.
- 25 Produkto gamyboje pagal šį išradimą pradinė medžiaga sudaryta iš silikatinų dalelių, tokių kaip flogopito, biotito, vermikulito, betonito arba kaolinito dalelių. Geriau tinka nuosėdinių silikatų dalelės, ypač flogopitas arba biotitas, sintetinis žėrutis taip pat gali
- 30 būti panaudotas.

- Katijonų, esančių silikate, pašalinimui, silikatų dalelės yra veikiamos vandeniniais rūgščių tirpalais, kurių koncentracijos kinta nuo 0,7 iki 70 % pagal svorį, geriau nuo 4 iki 65 % pagal svorį. Atitinkamas šiam atvejui pH diapazonas yra apytiksliai 0-7. Tinkamas temperatūrinis diapazonas yra apytiksliai 0-100°C, kai
- 35

slėgis normalus. Kai kurios tinkamos rūgštys yra H_2SO_4 , HCl , HNO_3 , HF , HBr , HI , $HClO_3$, $HBrO_3$, $HClO_4$, HPO_4 , citrinos rūgštis, salicilo rūgštis, vyno rūgštis, organinės rūgštys, oksalo rūgštis ir šių rūgščių mišiniai. Labiausiai tinkamos yra sieros, druskos ir azoto rūgštys.

Jeigu reikalinga, tai apdorojimas rūgštimi gali būti atliekamas, esant oksiduojantiems ar redukuojantiems priedams. Būdingais oksiduojančių priedų pavyzdžiais yra HNO_3 , H_2O_2 , $MnO_4(-)$, $CrO_7(2-)$, $ClO_4(-)$, ClO_3 , O_2 , persulfatai, Cl_2 , Br_2 . Naudojamų redukuojančių agentų pavyzdžiais yra $Sn(II)$, $Fe(II)$, $S_2O_3(-)$, $Cu(I)$, aldehydai, ketonai, $H_2PO_4(-)$, sulfatai, fosfatai, $V(II)$ ir $V(III)$. Oksiduojančių ar redukuojančių priedų kiekis priklauso nuo efekto dydžio, kurį norima padaryti kationų, esančių silikatuose, tirpumui. Tipiški priedų kiekiai yra 0-20 % pradinės medžiagos svorio.

Dėl rūgštinio išplovimo produkte, pagamintame pagal šią išradimą, esančios karkasinės silicio dioksido medžiagos tankis sumažėja maždaug 30-50 %. Todėl akivaizdu, kad produktas, pagamintas pagal išradimą, bus žymiai lengvesnis nei produktai, šiuo metu gaminami naudojant neišplautas silikatinės daleles. Tinkamas dalelių, sudarytų iš karkasinės silicio dioksido medžiagos, dydžių diapazonas, naudojamas produkte, kinta priklausomai nuo vartojimo pobūdžio. Tinkamas dalelių dydžio diapazonas yra 1-2000 μm , geriausias yra 10-900 μm . Lyginamasis paviršiaus plotas yra maždaug 10-1000 m^2/g diapazone, tai leidžia panaudoti šią medžiagą taikymams, reikalaujantiems didelio lyginamojo paviršiaus.

Tuo būdu produktas pagal šią išradimą susideda iš silicio dioksido dalelių su mikrobiniu inokuliatu ant jų paviršiaus. Mikrobais gali būti, pvz., grybai, bakterijos, augalų ląstelės ar gyvūnų ląstelės. Mikrobai

gali būti auginami ant silicio dioksido karkaso paviršiaus, panaudojant SSF, arba jie sumaišomi su silicio dioksido medžiaga po kultivavimo, tokiu atveju mikrobai auginami atskirai, pavyzdžiui, panaudojant fermentaciją panardintoje būsenoje.

SSF procese kaip maistinių medžiagų šaltinis gali būti panaudotos tiek tirpios, tiek ir netirpios, pvz., chitinas, maistinės medžiagos. Po auginimo stacionariame stulpeliniam reaktoriuje arba fermentacijoje kietame būvyje su maišymu ir po galimo džiovinimo produktas paruoštas vartojimui. Parengiamasis ir tolesnis produkto apdorojimas (malimas, sterilizacija) yra nesudėtingi, kadangi pagrindinės silicio dioksido karkaso savybės nepakinta poveikio metu.

Dėl terpės granuliuotumo mikrobu augimui skirtas paviršiaus plotas yra didelis ir deguonies tiekimas mikroorganizmams vyksta be kliūčių net dideliuose reaktoriuose. Terpės pašalinimas iš fermentatoriaus po to, kai baigiasi auginimas, taip pat nesudėtingas tais atvejais, kai reikalinga aseptika.

Terpės kartu su jose esančiais mikrobais ir/arba sporomis džiovinimas, jei jis reikalingas, taip pat nesukeltų sunkumų. Poringa silicio dioksido medžiagos struktūra apsaugos mikrobus ir švelnus produkto trynimasis po kultivavimo nebus žalingas mikroorganizmams, kadangi nešiklis iš silicio dioksido iš anksto buvo sumaltas į smulkius miltelius. Taip gautas produktas yra puikus kaip medžiaga, skirta sėklų apvėlimui, ar kaip milteliai, skirti išpurškimui.

Dėl savo paviršiaus savybių silicio dioksido karkasas efektyviai tarnauja mikrobams, sumaišytiems su jomis, kaip gynybinė ir nešančioji medžiaga. Be to, ji neleidžia susidarinėti grumstams produkte.

Žemiau išradimas smulkiai aprašytas pavyzdžių dėka.

1 pavyzdys

5 Silicio dioksido karkaso paruošimas iš flogopito

a)

700 g flogopitas, dalelių dydis 0,01-1500 μm

2,5 l vanduo

2065,36 g H_2SO_4 (96%)

331,33 g H_2O_2

10 Iš žėručio, vandens ir sieros rūgšties paruošiama suspensija, kuri kaitinama iki 95°C, po to paduodamas žemiau paviršiaus H_2O_2 apytiksliai 5 valandoms, nuolat maišant. Bendras išplovimo laikas yra 7 valandos, iš kurių apie vieną valandą, prieš paduodant H_2O_2 , tik
15 maišoma bei kaitinama, ir vieną valandą, po H_2O_2 padavimo pabaigos, tik maišoma. Po to, motininis skystis nufiltruojamas ir tai, kas liko (silicio dioksido karkasas), keletą kartų perplaunama, sudarant tarp plovimų suspensijas tam, kad pašalintų rūgštį ir katijonų
20 liekanas.

b)

700 g fligopito, dalelių dydis 0,01-1500 μm

2,5 l vanduo

750 g azoto rūgštis (100%)

25 Išplovimas vykdomas kaip aprašyta aukščiau, išskyrus tai, kad nereikalingas oksidantas, kadangi azoto rūgštis pati turi oksiduojantį poveikį.

2 pavyzdys

Procedūra kitais atžvilgiais yra tokia, kaip 1 pavyzdyje, išskyrus tai, jog vietoje flogopito naudojamas anortozitas.

3 pavyzdys

600 g serpentinito
3 l dejonizuoto vandens
1770,31 g H_2SO_4 (96%)
161,82 g HNO_3 (65%)

10 Išplovimo temperatūra - 95-97°C, išplovimo trukmė - 7 valandos. Temperatūra buvo pakelta iki 95°C ir lėtai žemiau paviršiaus įvesta HNO_3 5 valandoms. Po padavimo pabaigos, prieš filtravimą mišinys buvo maišomas 2 valandas. Motininis skystis buvo nufiltruotas, iš nuosėdų suformuota suspensija 1% H_2SO_4 tirpale ir palikta stovėti 1-3 dienas. Nuosėdos suspenduotos ir praplautos 5 kartus dejonizuotame vandenyje. Galutinio filtrato pH buvo 4,1.

20 4 pavyzdys

Procedūra kitais atžvilgiais yra tokia, kaip ir prieš tai buvusiam pavyzdyje, bet buvo naudotas mineralas vermikulitas arba volanstonitas.

25

5 pavyzdys

Fungicidinių grybų auginimas kietoje silicio dioksido terpėje

30

1 g smulkiai sumalto chitino sumaišoma su 9 g druskos tirpalo, sudaryto iš:

1 g/l KH_2PO_4
0,2 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Mišinys buvo sterilizuojamas (20 min, 120°C) ir atšaldžius į šį mišinį pasėtas 1 ml fungicidinių Trichoderma rūšių sporų suspensijos; ši suspensija gauta nugrandant sporas iš indo su PDA (bulvių dekstrozės agaru) į sterilų distiliuotą vandenį.

Chitino suspensija, kurioje inokuliuota Trichoderma, sumaišoma su 6 g smulkiai sumalto silicio dioksido karkaso, paruošto pagal pirmą pavyzdį iš flogopito, dėl to auginimo terpė pasidaro granuluota. Ši terpė inkubuojama kambario temperatūroje (20°C) 7 dienas, kol terpę visiškai uždengia grybo micelis ir sporos.

Terpė, paskleista plonu sluoksniu Petri lėkštelėje, džiovinama vieną dieną kambario temperatūroje. Gautas sausas produktas sutrinamas grūstuvėje į miltelius. Sporų koncentracija produkte buvo $2,4 \cdot 10^9/\text{g}$.

Gliocladium rūšių preparate, paruoštame atitinkamu būdu, sporų koncentracija buvo $4,8 \cdot 10^8/\text{g}$.

6 pavyzdys

Fungicidinis Streptomyces griseoviridis iš aktinomicetų buvo auginamas kietoje auginimo terpėje, sudarytoje iš:

silicio dioksido	10 g
kondensuota krakmolo masė*	3,6 g
dolomitinės kalkės	2 g
vanduo	13,4 g

* Oy Alko Ab, Rajamäki, kieto tūrio apytiksliai 36%

5 Terpė buvo autoklavuojama ir inokuliuotas 1 ml aktinomicetų sporų suspensijos. Auginimas truko 7 dienas prie 28°C. Terpė po pilno išaugimo buvo džiovinama kambario temperatūroje. Sporų koncentracija produkte buvo $3 \cdot 10^9$ /g.

7 pavyzdys

10 Grybas Phlemia gigantea, skirtas kovai su Fomes annosum, buvo auginamas toje pačioje terpėje kaip ir aktinomicetai. Po 11 dienų auginimo terpė buvo džiovinama kambario temperatūroje. Sporų koncentracija produkte buvo $2,5 \cdot 10^7$ /g.

15 8 pavyzdys

Insekticidinių grybų auginimas kietoje silicio dioksido terpėje

20 1 g smulkiai sumalto chitino buvo sumaišyta su 9 gramais druskos tirpalo, sudaryto iš:

1 g/l $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$

0,2 g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$

25 Mišinys buvo sterilizuotas (20 min., 120°C) ir į atšaldytą mišinį buvo inokuliuotas 1 ml insekticidinio Beauveria bassiana sporų suspensijos, suspensija buvo gauta nugrandant sporas iš PDA indo į sterilų distiliuotą vandenį.

30 Maišymas su silicio dioksido nešikliu, auginimas ir džiovinimas buvo vykdomas kaip ir su Trichoderma 5 pavyzdyje. Sporų koncentracija išdžiovintame ir sutrintame produkte buvo $3,4 \cdot 10^8$ /g.

Insekticidinio Metarrhizium anisopliae preparate, kultivuotame atitinkamu būdu, sporų koncentracija buvo $1,5 \cdot 10^8/\text{g}$.

5 9 pavyzdys

Fungicidinio aktinomicetinio preparato sudarymas silicio dioksido pagrindu

- 10 Aktinomicetas Streptomyces griseoviridis buvo augintas išrūgų terpėje (10 g/l išrūgų baltymų) ir užauginta kultūra buvo išskirta centrifuguojant. 9,0 g sacharozės ir 15,0 g smulkiai sumalto silicio dioksido, paruošto pagal 1 pavyzdį, buvo sumaišyti su 5,1 g atskirtų ląstelių sausos medžiagos. Mišinys buvo liofilizuotas ir sutrintas. Gautas sauso produkto gyvybingumas buvo $5,9 \cdot 10^7$ CFU/g. Po šešių savaičių saugojimo prie 28°C gyvybingumas buvo $1,4 \cdot 10^7$ CFU/g.

20 10 pavyzdys

Bacillus pumilus buvo išaugintas terpėje, sudarytoje iš:

gliukozės	4 g/l
mielių ekstraktas	4 g/l
salyklo ekstraktas	1 g/l

25

- Išauginta kultūra buvo išskirta centrifuguojant, 2,2 g sacharozės bei 3,6 g smulkiai sutrinto silicio dioksido, paruošto pagal pirmą pavyzdį, buvo sumaišyti su 1,3 g išskirtų ląstelių sausos medžiagos. Po liofilizacijos ir malimo gyvybingumas buvo $6 \cdot 10^9$ CFU/g, o po 10 savaičių saugojimo prie 28°C jis buvo $2,6 \cdot 10^8$.

30

11 pavyzdys

Fungicidinių mielių preparato sudarymas silicio dioksido pagrindu

5

Cryptococcus macerans mielės buvo augintos bulvių gliukozės terpėje. Išauginta kultūra buvo išskirta centrifuguojant ir 4 g sacharozės ir 11,7 g smulkiai sumalto silicio dioksido, paruošto pagal 1 pavyzdį, buvo sumaišyti su 11,8 g išskirtų ląstelių masės. Mišinys buvo liofilizuotas ir sumaltas. Gautas produkto gyvybingumas buvo $9 \cdot 10^4$ CFU/g.

10

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Fermentacijos kietoje terpėje būdas, skirtas mikrobu
auginimui, kuriame silikatinė medžiaga išodrinama
5 mitybine medžiaga ir pridedama viena ar kelios rūšys
mikroorganizmų bei gautas mišinys laikomas sąlygose,
kuriose mikrobai gali veistis, b e s i s k i r i a n -
t i s tuo, kad kaip silikatinę medžiagą naudoja iš
esmės neturinčius katijonų bei poringų silikatinų
10 dalelių silicio dioksido karkasus.
2. Būdas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad iš esmės neturinčius katijonų ir poringus si-
licio dioksido karkasus paruošia, apdoruojant flo-
15 gopitą, biotitą, vermikulitą, bentonitą arba kaolinitą
su rūgštimi, galbūt, esant oksiduojantiems ar re-
dukuojantiems priedams tam, kad iš esmės pašalintų
katijonus, esančius minėtuose silikatuose.
- 20 3. Būdas pagal 1 arba 2 punktą, b e s i s k i r i a n -
t i s tuo, kad iš esmės neturintys katijonų ir poringi
silicio dioksido karkasai yra gelio pavidalo.
- 25 4. Būdas pagal 1, 2 arba 3 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad iš esmės neturintys katijonų,
poringi silicio dioksido karkasai adsorbuoja maistines
medžiagas.
- 30 5. Būdas pagal bet kurią ankstesnę punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad naudojamais mikro-
organizmais yra grybai arba bakterijos.
- 35 6. Produktas, sudarytas iš silikatinės medžiagos ir
vienos ar kelių rūšių mikroorganizmų, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad silikatinę medžiagą sudaro iš
esmės neturintys katijonų bei poringi silicio dioksido
karkasai.

7. Produktas pagal 6 punktą, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad iš esmės neturintys katijonų ir poringi si-
licio dioksido karkasai yra flogopitas, biotitas, ver-
mikulitas, bentonitas, kaolinitas, geriau gelio pavi-
5 dalo ir apdoroti rūgštimi.

8. Produktas pagal 6 arba 7 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad iš esmės neturintys katijonų ir
poringi silicio dioksido karkasai turi daleles, ma-
10 žesnes nei 2000 μm , geriau mažiau nei 900 μm .

9. Produktas pagal bet kurį iš 6 - 8 punktų, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad naudojamais mikro-
organizmais yra grybai arba bakterijos.
15