

Descriere:

Invenția se referă la tulpinile de microorganisme - producătoare de substanțe bioactive, în special la o tulpină de Propionibacterium freudenreichii s.s. chermanii, care poate fi întrebuințată în industria microbiologică pentru obținerea porfirinelor.

Este cunoscută tulpina Propionibacterium chermanii ca producător activ de porfirine [1]. Neajunsul ei constă în nivelul scăzut de sinteză a porfirinelor - până la 17 mg/l.

Tulpina propusă de noi se caracterizează prin faptul că produce până la 30 mg/l de porfirine.

Tulpina a fost obținută prin izolarea ei în cultură pură din produse lactate folosind mediul cu următoarea componență, g/l: glucoză - 20,0; extract de porumb - 20,0; (NH₄)₂ SO₄ - 2,0; CaCO₃ - 20,0; agar-agar - 20,0; apă - până la 1 l, pH - 6,8-7,0.

Caracterele morfo-culturale ale tulpinii.

Celulele gram pozitive de formă bacilară, având dimensiunile de 0,5x1,5-2,0 μm cu un capăt bombat și altul ascuțit (ce se colorează mai puțin intens), se amplasează sub formă de lanțuri scurte, litere chinezești, perechi. În perioada de dividere intensă celulele devin mai scurte, obținând formă neregulată.

La cultivare pe geloză formează colonii bombate, circulare, cu dimensiunile 2-5 mm, suprafața netedă, umedă și lucidă, situată asupra gelozei. Culoarea coloniilor diferă de la crem până la roz, în funcție de gradul de sinteză a vitaminei B₁₂.

În medii lichide tulpina crește, formând sediment galben-crem și o tulburare moderată a mediului nutritiv, manifestând tendință spre anaerobioză.

Caracterele fiziologo-biochimice.

Tulpina crește bine pe mediul cu următoarea componență, în g/l: glucoză - 40,0; extract de porumb - 50,0; (NH₄)₂SO₄ - 2,0; CoCl₂·6H₂O - 0,005; 5,6 DMB (5,6 dimetilbenzimidazol) - 0,015.

La cultivarea pe mediul dat, biomasa P. freudenreichii s.s. chermanii atinge în ziua a 8-a de cultivare 6-9 g/l masă celulară, sintetizând 4,6-9,2 mg/l ciancobalamină și până la 30,0 mg/l porfirine. Temperatura optimă pentru cultura dată este de 28-30°C, pH-ul optim fiind 6,6-6,8.

Gradul de puritate a tulpinii.

Tulpina Propionibacterium freudenreichii s.s. chermanii CNM-PB-01 este izolată în cultură pură.

În timpul cultivării poate fi infectată cu alte microorganisme și îndeosebi cu reprezentanți ai genurilor Bacillus și Clostridium. Pentru a evita contaminarea culturii este necesară respectarea strictă a condițiilor de sterilitate. La fel poate fi folosit antisepticul β-propiolactona (BPL), care în concentrațiile 0,05, 0,1 și 0,2%, cu expoziția 30-60 min., manifestă o acțiune bacteriostatică asupra microbilor-satețiți, reținând creșterea lor cu 24-48 ore.

Efectul tehnic al invenției constă în obținerea unui nivel înalt de sinteză a porfirinelor - până la 30 mg/l.

Tulpina Propionibacterium freudenreichii s.s. chermanii se folosește în modul următor.

Exemplul 1.

În baloane Erlenmeyer cu volumul de 100 ml cu 50 ml mediu steril cu următoarea componență, în g/l: extract de porumb - 50,0; glucoză - 40,0; (NH₄)₂ SO₄ - 2,0; CoCl₂·6H₂O - 0,005, se introduc 30 mg de inoculum. Cultivarea se efectuează la temperatura de 28°C.

În ziua a 5-a de cultivare se adaugă 0,015 g/l de 5,6 dimetilbenzimidazol (5,6 DMB). Productivitatea în ziua a 8-a atinge 8,5 g/l masă celulară, 9,12 mg/l ciancobalamină și 23,4 mg/l porfirine.

Exemplul 2.

În baloane Erlenmeyer cu volumul 100 ml cu 50 ml mediu steril cu următoarea componență, în g/l: extract de porumb - 80, glucoză - 60, (NH₄)₂SO₄ - 3,5; CoCl₂·6H₂O - 0,007, se introduc 30 mg de inoculum. Cultivarea se efectuează la t^o=30°C. În ziua a 6-a se adaugă 0,003 g/l de 5,6 dimetilbenzimidazol (5,6 DMB). Productivitatea în ziua a 8-a atinge: 8,0 g/l masă celulară; 5,86 mg/l ciancobalamină și 30,0 mg/l porfirine.