

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologia microbiologică, în special la procedeele de cultivare a *Propionibacterium freudenreichii* s.s. *shermanii*.

Sunt cunoscute diverse procedee de cultivare a *Propionibacterium freudenreichii* s.s. *shermanii*, ce se deosebesc atât prin componența mediilor, cât și după condițiile de cultivare. Astfel, se cunosc următoarele medii: mediu cu zer lactat [1], mediu cu ulei vegetal [2], glucozopeptonic [3] și alte medii utilizate pentru cultivarea tulpinilor de *Propionibacterium freudenreichii* s.s. *shermanii*.

Dezavantajele procedeele de cultivare a tulpinii *Propionibacterium freudenreichii* s.s. *shermanii* în aceste medii constau în prezența unor componente costisitoare și deficitare, asigurarea unei creșteri slabe a culturii.

În calitate de cel mai apropiat analog s-a ales procedeul de cultivare industrială a propionibacteriilor, care constă în cultivarea microorganismelor prin agitare permanentă în 2 faze (I fază - anaerobă, a II-a - aerobă) în mediul nutritiv cu următoarea componență, în g/l: extract de porumb - 60,0; glucoză - 40,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 2,0; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,005; 5,6-dimetilbenzimidazol - 0,015 [4]. Dezavantajul celui mai apropiat analog constă în asigurarea unei sinteze reduse a cianocobalaminei și porfirinelor de către tulpina cultivată.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în elaborarea procedurii de cultivare a *Propionibacterium freudenreichii* s.s. *shermanii*, care poate asigura o sinteză sporită a cianocobalaminei și porfirinelor.

Esența invenției constă în aceea că procedeul de cultivare a *Propionibacterium freudenreichii* s.s. *shermanii* în mediu nutritiv ce conține extract de porumb, glucoză, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ și 5,6-dimetilbenzimidazol la agitarea culturii microorganismelor, microorganismele fiind cultivate în condiții facultativ aerobe cu pH 6,8-7,0 în mediu nutritiv ce conține, în g/l:

extract de porumb	80,00
glucoză	14,00
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3,50
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,01
5,6-dimetilbenzimidazol	0,03,

în care introducerea în mediu nutritiv a 5,6-dimetilbenzimidazolului și agitarea culturii se efectuează pe parcursul fazei a doua a fermentării.

Noutatea invenției constă în aceea că cultivarea microorganismelor se efectuează în condiții facultativ aerobe cu pH 6,8-7,0 în mediu nutritiv ce conține, în g/l:

extract de porumb	80,00
glucoză	14,00
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3,50
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,01
5,6-dimetilbenzimidazol	0,03,

în care introducerea în mediu nutritiv a 5,6-dimetilbenzimidazolului și agitarea culturii se efectuează pe parcursul fazei a doua a fermentării.

Utilizarea compoziției propuse a mediului, cultivarea microorganismelor în condiții facultativ aerobe cu pH 6,8-7,0, introducerea în mediu nutritiv a 5,6-dimetilbenzimidazolului și agitarea culturii pe parcursul fazei a doua a fermentării asigură optimizarea condițiilor și obținerea sintezei sporite a cianocobalaminei și porfirinelor.

Cantitatea de masă biologică, cianocobalamină și porfirine, obținute în mediul celui mai apropiat analog, cât și în cazul mediului optimizat, precum și parametrilor optimi ai condițiilor de cultivare, sunt prezentate în tabel.

Tabel

Varianta	Nr. de probe	Masă biol. abs. uscată, g/l	Cianocobalamina, mg/l	Porfirine, mg/l
Analogul cel mai apropiat	20	7,20±0,52	8,27±0,6	25,61±0,91
Mediu optimizat	20	8,56±0,45	12,63±0,3	31,42±0,83
Mediu optimizat, condiții optimizate	20	9,70±0,55	16,10±0,7	35,97±1,15

Datele din tabel ilustrează faptul că, în cazul mediului optimizat, și mai ales în cazul mediului optimizat și condițiilor optimizate, parametrii productivității culturii *Propionibacterium freudenreichii* s.s. *shermanii* sunt mai mari decât ai celui mai apropiat analog.

Exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1

Cultura *Propionibacterium freudenreichii* s.s. *shermanii* CNM-PB-01 este cultivată în baloane Erlenmeyer a câte 100 ml cu 80 ml mediu cu următoarea componență, în g/l: extract de porumb - 80,00; glucoză - 14,00; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3,50; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,01. În ziua a V-a de fermentație se adaugă 0,03 g/l de 5,6-DMB, pe parcursul fazei a II-a a fermentației cultura se agită în camera cu agitatoare la temperatura de 28°C, la întuneric. Durata cultivării este de 7 zile, pe parcursul căreia pH-ul se reglează până la 6,8-7,0 cu ajutorul soluției de 10% de Na_2CO_3 ; condițiile de cultivare sunt facultativ aerobe.

Productivitatea culturii constituie 9,55 g/l de biomasă absolut uscată, 16,8 mg/l de cianocobalamină și 34,82 mg/l de porfirine.

Exemplul 2

Cultura *Propionibacterium freudenreichii* s.s. *shermanii* CNM-PB-01 este cultivată în baloane Erlenmeyer a câte 100 ml cu 50 ml mediu cu următoarea componență, în g/l: extract de porumb - 80,00; glucoză - 14,00; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3,50; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,01. În ziua a V-a de fermentație se adaugă 0,03 g/l de 5,6-DMB, pe parcursul fazei a II-a a fermentației cultura se agită cu ajutorul agitatorului magnetic instalat în termostat. Cultivarea se desfășoară la temperatura de 28°C, în condiții facultativ aerobe. pH-ul mediului se menține în limitele de 6,8-7,0 cu ajutorul soluției de 10% de NaHCO_3 .

Productivitatea culturii în ziua a VIII-a de cultivare este de 9,71 g/l de biomasă absolut uscată, 16,08 mg/l de cianocobalamină și 35,99 mg/l de porfirine.