



MD 145 Y 2010.02.28

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **145** ⁽¹³⁾ **Y**
(51) Int. Cl.: *C12N 1/20* (2006.01)
C12R 1/225 (2006.01)
A61K 36/882 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului

(21) Nr. depozit: s 2009 0138
(22) Data depozit: 2009.07.22

(45) Data publicării hotărârii de
acordare a brevetului:
2010.02.28, BOPI nr. 2/2010

(71) Solicitant: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD

(72) Inventator: LEORDA Ana, MD

(73) Titular: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD

(54) **Procedeu de obținere a mediului nutritiv pentru cultivarea lactobacteriilor**

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la microbiologie și biotehnologie, în particular la un procedeu de obținere a mediului nutritiv pentru cultivarea lactobacteriilor.

Procedeul include pregătirea mediului ce conține, la 1 L: peptonă - 10 g, citrat de amoniu - 2 g, acetat de sodiu - 5 g, glucoză - 20,0 g, sulfat de mangan cristalohidrat - 0,05 g, sulfat de magneziu cristalohidrat - 0,2 g, cisteină - 0,2 g, agar-agar - 20 g, Tvin-80 - 1 mL, autolizat de drojdii - 50 mL, extract de ficat de vită - 100 mL, lapte hidrolizat - 500 mL, apă distilată - restul, cu pH 6,2...6,6 și

2

sterilizarea lui. În mediul obținut se adaugă infuzie de rizomi de obligeană, obținută prin infuzarea a 4,8...7,0 g materie primă tocată în 200 mL de apă clocotită timp de 30 min cu filtrarea și sterilizarea ulterioară a infuziei obținute, care se adaugă în cantitate de 20 mL la un litru de mediu nutritiv.

Revendicări: 1

5

10

15

MD 145 Y 2010.02.28

Descriere:

Invenția se referă la microbiologie și biotehnologie, în particular la un procedeu de obținere a mediului nutritiv pentru cultivarea lactobacteriilor.

5 Este cunoscut procedeu de obținere a mediului de cultură pentru cultivarea lactobacteriilor care prevede adăugarea hidrolizatului de lactoproteină în calitate de supliment la un mediu de cultură inițial, care conține ser lactic cu un procent de substanțe uscate de 6...15%, amestecarea componen-

10 Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea că în calitate de supliment se adaugă hidrolizat de lactoproteină, component relativ costisitor și nu întotdeauna accesibil.

10 Cea mai apropiată soluție este procedeu de pregătire a mediului de cultură care prevede adăugarea la 300 mL de apă distilată a 10,0 g peptonă, 2,0 g citrat de amoniu, 5,0 g acetat de sodiu, 20,0 g glucoză, 0,05 g sulfat de mangan cristalohidrat, 0,2 g sulfat de magneziu cristalohidrat, 0,2 g cisteină, 20,0 g agar-agar, 1 mL Tvin-80, 50 mL autolizat de drojdii și 100 mL extract de ficat de vită. Volumul obținut se aduce până la 500 mL cu apă distilată și se adaugă lapte hidrolizat până la 15 un litru. Se stabilește pH-ul mediului în limitele 6,2...6,6 și se sterilizează la temperatura de 112...115°C timp de 15...20 min [2].

Dezavantajul procedurii cunoscut constă în aceea că nu asigură o multiplicare efectivă a lactobacteriilor în procesul de cultivare.

20 Problema pe care o rezolvă invenția constă în elaborarea unui procedeu de obținere a mediului nutritiv pentru cultivarea lactobacteriilor accesibile, care asigură obținerea unei biomase sporite a lactobacteriilor în procesul de cultivare.

25 Problema se soluționează prin aceea că procedeu include pregătirea mediului ce conține, la 1 L: peptonă - 10 g, citrat de amoniu - 2 g, acetat de sodiu - 5 g, glucoză - 20,0 g, sulfat de mangan cristalohidrat - 0,05 g, sulfat de magneziu cristalohidrat - 0,2 g, cisteină - 0,2 g, agar-agar - 20 g, Tvin-80 - 1 mL, autolizat de drojdii - 50 mL, extract de ficat de vită - 100 mL, lapte hidrolizat - 500 mL, apă distilată - restul, cu pH 6,2...6,6 și sterilizarea lui. În mediul obținut se adaugă infuzie de rizomi de obligeană, obținută prin infuzarea a 4,8...7,0 g materie primă tocată în 200 mL de apă clocotită timp de 30 min cu filtrarea și sterilizarea ulterioară a infuziei obținute, care se adaugă în cantitate de 20 mL la un litru de mediu nutritiv.

30 Rezultatul invenției constă în aceea că adăugarea extractului din rizomi de obligeană are o acțiune benefică asupra lactobacteriilor, efectul stimulator asupra multiplicării acestora fiind confirmat prin datele experimentale obținute.

Procedeu se realizează în modul următor.

35 Se pregătește mediul electiv pentru cultivarea lactobacteriilor, adăugând la 300 mL de apă distilată 10,0 g peptonă, 2,0 g citrat de amoniu, 5,0 g acetat de sodiu, 20,0 g glucoză, 0,05 g sulfat de mangan cristalohidrat, 0,2 g sulfat de magneziu cristalohidrat, 0,2 g cisteină, 20,0 g agar-agar, 1 mL Tvin-80, 50 mL autolizat de drojdii și 100 mL extract de ficat de vită. Volumul obținut se aduce până la 500 mL cu apă distilată și se adaugă lapte hidrolizat până la un litru. Se stabilește pH-ul mediului în limitele 6,2...6,6 și se sterilizează mediul la temperatura de 112...115°C timp de 40 15...20 min. Se cântăresc rizomii de obligeană, în prima variantă 4,8 g, în a doua - 5,8 g, iar în a treia - 7,0 g, se toacă și se umectează timp de 5 min cu apă potabilă. Se toarnă peste tocătura umectată 200 mL apă potabilă încălzită până la fierbere și se lasă amestecul pentru o jumătate de oră. Se filtrează extractul obținut prin filtru de vată și tifon și se sterilizează în autoclavă la 0,5 atm timp de 30 min. Se adaugă în condiții aseptice câte 20 mL extract de obligeană la fiecare litru de mediu. Se amestecă minuțios componentele și se inoculează câte 0,2 mL suspensie microbiană, 45 diluată succesiv de la 10...1 până la 10...9, se însămânțează pe mediul de cultură agarizat și se incubă plăcile Petri timp de 24 ore la temperatura optimală pentru fiecare specie de microorganism. După inoculare se determină cantitatea celulelor vii de lactobacterii în loturile 50 experimental și martor.

Varianta I prevede pregătirea extractului în conformitate cu procedeu propus din 4,8 g rizomi de obligeană, varianta II - din 5,8 g, iar varianta III - din 7,0 g.

55 Lotul martor I-au constituit culturile de microorganisme însămânțate pe mediul electiv pentru cultivarea lactobacteriilor [2]. Pe variantele experimentale de mediu și pe cele din lotul martor au fost însămânțate culturi de *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus casei*.

MD 145 Y 2010.02.28

4

Rezultatele testării sunt incluse în tabel. Cantitatea de celule microbiene vii reprezintă logaritmul zecimal al coloniilor de microorganisme crescute pe medii de cultură agarizate.

| Variantele | Cantitatea de celule microbiene vii la 1 mL suspensie (lg) | | | | |
|------------|--|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | <i>Streptococcus thermophilus</i> | <i>Streptococcus lactis</i> | <i>Lactobacillus bulgaricus</i> | <i>Lactobacillus lactis</i> | <i>Lactobacillus casei</i> |
| Martor | 5,38 | 8,94 | 4,75 | 8,10 | 8,56 |
| I | 7,36 | 9,07 | 7,20 | 9,35 | 9,00 |
| II | 9,5 | 9,96 | 9,81 | 10,18 | 9,85 |
| III | 8,25 | 9,25 | 7,82 | 9,43 | 9,14 |

5

Analiza datelor obținute denotă o multiplicare evident sporită a tuturor speciilor de lactobacterii testate pe mediul de cultură preparat conform procedurii propus comparativ cu lotul martor, mai evidentă fiind în cazul variantei a doua. Această compoziție constituie varianta optimă a mediului preparat conform procedurii propus.

10

Procedeu de obținere a mediului nutritiv propus este accesibil, ușor realizabil, permite de a cultiva eficient microorganismele din genul lactobacteriilor. Adăugarea la mediul nutritiv a extractului din rizomi de obligeană stimulează procesul de multiplicare a lactobacteriilor, ceea ce permite de a acumula biomasa necesară pentru pregătirea preparatelor microbiene.

15

(57) Revendicări:

20

Procedeu de obținere a mediului nutritiv pentru cultivarea lactobacteriilor care include pregătirea mediului ce conține, la 1 L: peptonă - 10 g, citrat de amoniu - 2 g, acetat de sodiu - 5 g, glucoză - 20,0 g, sulfat de mangan cristalohidrat - 0,05 g, sulfat de magneziu cristalohidrat - 0,2 g, cisteină - 0,2 g, agar-agar - 20 g, Tvin-80 - 1 mL, autolizat de drojdii - 50 mL, extract de ficat de vită - 100 mL, lapte hidrolizat - 500 mL, apă distilată - restul, cu pH 6,2...6,6 și sterilizarea lui, **caracterizat prin aceea că** în mediul obținut se adaugă suplimentar infuzie de rizomi de obligeană, obținută prin infuzarea a 4,8...7,0 g materie primă tocată în 200 mL de apă clocotită timp de 30 min cu filtrarea și sterilizarea ulterioară a infuziei obținute, care se adaugă în cantitate de 20 mL la un litru de mediu nutritiv.

25

30

(56) Referințe bibliografice:

1. RU 2324732 C2 2008.05.20
2. Timoșco M. Stresul și flora microbiană intestinală. Chișinău, Tipografia AȘM, 2005, p. 170

Șef Secție:

COLESNIC Inesa

Examinator:

BANTAȘ Valentina

Redactor:

CANȚER Svetlana