



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
G01N 33/48 (2022.08)

(21)(22) Заявка: 2022120206, 22.07.2022

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
22.07.2022

Дата регистрации:  
14.11.2022

Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 22.07.2022

(45) Опубликовано: 14.11.2022 Бюл. № 32

Адрес для переписки:  
308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.  
Победы, 85, НИУ "БелГУ", ОИС, Токтаревой  
Т.М.

(72) Автор(ы):

Соляникова Инна Петровна (RU),  
Ляховченко Никита Сергеевич (RU),  
Сенченков Владислав Юрьевич (RU),  
Селезнев Александр Олегович (RU),  
Ахапкина Софья Сергеевна (RU),  
Ефимова Виктория Алексеевна (RU),  
Корешкова Александра Евгеньевна (RU),  
Никишин Илья Андреевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет" (НИУ "БелГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2012194 C1, 15.05.1994. SU 958495  
A1, 15.09.1982. SU 491696 A1, 10.02.1976. DE  
1942432 C3, 10.08.1978. CN 109576133 A,  
05.04.2019.

(54) Устройство для оценки интенсивности дыхания микробной культуры

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии. Предложено устройство для оценки интенсивности дыхания микробной культуры, содержащее емкость для культивирования культуры микроорганизмов, компрессор для аэрации, рН-метр, приемную камеру с 1% раствором гидроксида натрия, в который погружен электрод рН-метра. При этом емкость для культивирования культуры микроорганизмов соединена с компрессором для аэрации

посредством трубки, снабженной съемным фильтром с размером пор не более 0,22 мкм, а также трубкой для продувания образующегося в процессе культивирования CO<sub>2</sub> через раствор гидроксида натрия в приемной камере. Приемная камера снабжена трубкой для удаления избытка воздуха. Устройство обеспечивает быструю и эффективную оценку роста микробной культуры при поверхностном культивировании. 3 ил., 1 пр.

RU 2 783 515 C1

RU 2 783 515 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*G01N 33/48 (2022.08)*

(21)(22) Application: **2022120206, 22.07.2022**

(24) Effective date for property rights:  
**22.07.2022**

Registration date:  
**14.11.2022**

Priority:

(22) Date of filing: **22.07.2022**

(45) Date of publication: **14.11.2022 Bull. № 32**

Mail address:  
**308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul.  
Pobedy, 85, NIU "BelGU", OIS, Toktarevoj T.M.**

(72) Inventor(s):

**Solyanikova Inna Petrovna (RU),  
Lyakhovchenko Nikita Sergeevich (RU),  
Senchenkov Vladislav Yurevich (RU),  
Seleznev Aleksandr Olegovich (RU),  
Akhapkina Sofya Sergeevna (RU),  
Efimova Viktoriya Alekseevna (RU),  
Koreshkova Aleksandra Evgenevna (RU),  
Nikishin Ilya Andreevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Belgorodskij gosudarstvennyj  
natsionalnyj issledovatel'skij universitet" (NIU  
"BelGU") (RU)**

(54) **DEVICE FOR ASSESSING THE INTENSITY OF RESPIRATION OF MICROBIAL CULTURE**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to biotechnology. A device for assessing the intensity of respiration of a microbial culture is proposed, containing a container for cultivating a culture of microorganisms, a compressor for aeration, a pH meter, a receiving chamber with a 1% sodium hydroxide solution, in which the electrode of the pH meter is immersed. At the same time, the container for cultivating the culture of microorganisms is connected to the compressor for

aeration through a tube equipped with a removable filter with a pore size of not more than 0.22 mcm, as well as a tube for blowing CO<sub>2</sub> formed during cultivation through a sodium hydroxide solution in the receiving chamber. The receiving chamber is equipped with a tube to remove excess air.

EFFECT: device provides a fast and efficient assessment of the growth of microbial culture during surface cultivation.

1 cl, 3 dwg, 1 ex

Изобретение относится к установкам для определения интенсивности дыхания микробных культур, и может быть использовано в биотехнологии и микробиологии, а также в агрохимии.

При культивировании микробных культур поверхностным методом остро стоит  
5 вопрос оценки развития популяции для возможности контроля процесса и определения влияния на рост различных факторов. В почвоведении большое значение имеет изучение газового состояния почвы – биологическая активность. Интенсивность выделения  $\text{CO}_2$  в результате деятельности микроорганизмов может быть индикатором содержания  
10 кислорода в почвах. Известен способ оценки интенсивности дыхания методом Макарова (Минеев В.Г., В.Г. Сычев, О.А. Амелянчик, Т.Н. Большева, Н.Ф. Гомонова, Е.П. Дурынина, В.С. Егоров, Е.В. Егорова, Н.Л. Едемская, Е.А. Карпова, В.Г. Прижукова  
15 Практикум по агрохимии - 2-е изд.: Учебное пособие — М.: Изд-во МГУ, 2001. — 130-135 с.). По Макарову установка состоит из нескольких блоков: стеклянного ящика изолятора, поглотителя Рихтера, аспиратора, мерной кружки, металлического штатива,  
резиновых соединительных шлангов, коробов-подставок. Недостатками этой установки являются ее громоздкость, многомодульность, которая усложняет эксплуатацию, а также негерметичность.

Известна установка для определения общей микробиологической активности почвы по выделению  $\text{CO}_2$ , который поглощается баритом или боратной водой (Теппер Е.З.,  
20 Шильников В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии – Изд. 2-е, перераб. и доп. – М.: Колос, 1979. – 164-166 с., ил.) и дальнейшим титрованием 0,2 н шавелевой кислотой. Недостатком этой модели является трудоемкость процедуры и неточность из-за того, что гидроксид натрия малорастворим в воде.

В патенте RU 26264 U1 описана полезная модель, представляющая собой легкую  
25 установку, которую удобно использовать в полевых условиях. Она состоит из приемной камеры, мембранного насоса, анализатора-барботера, вентилятора и источника питания. Принцип действия основан на том, что приемная камера врезается в почву на глубину около 30 мм, а  $\text{CO}_2$ , выделяемый почвой поглощается раствором щелочи. После  
30 экспозиции в течение 30 минут, раствор сливается и анализируется в лаборатории. Недостатком этой установки является длительный срок ожидания получения параметра интенсивности дыхания и снижается эффективность реакции на изменения свойств почвы. При адаптации установки для оценки роста микробной культуры поверхностным способом анализ щелочного раствора титрованием представляет собой трудоемкий  
35 процесс.

В патенте SU 958495 A1 описан способ оценки интенсивности дыхания микробной культуры с использованием электрода Кларка. Недостатком данной установки является специфичность и повышение риска возможного заражения микробной культуры  
посторонней микрофлорой из-за увеличения модульности культивируемой емкости.

Устройство, описанное в патенте RU 2012194 C1, содержит дифманометр и рабочие  
40 и контрольный сосудики Варбурга, и с целью повышения точности и эксплуатационной надежности устройства, оно снабжено уравнительным сосудом, многопозиционным переключателем и вычислительным блоком, подключенным к выходу дифманометра, первая камера которого соединена с контрольным сосудиком Варбурга, а вторая - с  
45 выходом многопозиционного переключателя, при этом соответствующие входы последнего связаны с уравнительным сосудом и рабочими сосудиками Варбурга. Недостатком данной модели является отсутствие универсальности и простоты в эксплуатации.

Все описанные устройства невозможно использовать для оценки интенсивности дыхания микробной культуры при поверхностном культивировании.

Задачей предлагаемого технического решения является создание устройства для быстрой и эффективной оценки роста микробной культуры при поверхностном культивировании.

Технический результат - решение поставленной задачи.

Задача решается предложенным устройством для оценки интенсивности дыхания микробной культуры, включающим емкость для культивирования культуры микроорганизмов; компрессор для аэрации, приемную камеру; рН-метр, электрод которого погружен в 1% раствор гидроксида натрия в приемной камере, при этом емкость для культивирования культуры микроорганизмов соединена с компрессором для аэрации посредством трубки, снабженной съёмным фильтром с размером пор не более 0,22 мкм, а также трубкой для подачи в приемную камеру образующегося в процессе культивирования  $\text{CO}_2$ , причем приемная камера снабжена трубкой для удаления избытка воздуха из приемной камеры.

Изобретение характеризуется следующими фигурами:

Фиг. 1 – установка для оценки интенсивности дыхания микробной культуры при поверхностном культивировании, где 1 – емкость для культивирования; 2 – культура микроорганизмов; 3 – компрессор для аэрации; 4 – трубка для аэрации; 5 – съёмный фильтр с размером пор не более 0,22 мкм; 6 – трубка для подачи образующегося в процессе культивирования  $\text{CO}_2$ ; 7 – приемная камера; 8 – 1% раствор гидроксида натрия; 9 – электрод рН-метра; 10 – рН-метр; 11 – трубка для удаления избытка воздуха из приемной камеры.

Фиг. 2 – график изменения рН 1% раствора NaOH через каждые 24 часа культивирования штамма *Janthinobacterium lividum* VKM В-3515.

Фиг. 3 – график изменения рН 1% раствора NaOH каждые 24 часа без микроорганизмов в емкости для культивирования.

Устройство для оценки интенсивности дыхания микробной культуры, содержит емкость 1 для культивирования, в которой размещена культура микроорганизмов 2, компрессор 3 для аэрации с трубкой 4, которая снабжена съёмным фильтром 5 с размером пор не более 0,22 мкм, через которую в емкость 1 поступает воздух. Трубка 6 предназначена для подачи образующегося в процессе культивирования  $\text{CO}_2$  в приемную камеру 7, содержащую 1% раствор гидроксида натрия. Кроме того приемная камера снабжена электродом 9 рН-метра 10. Трубка 11 выполняет функцию удаления избытка воздуха, поступающего вместе с  $\text{CO}_2$ . Трубки 4, 6 и 11 выполнены из химически инертного материала.

Устройство работает на принципе образования карбонатов  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  или  $\text{NaHCO}_3$  при взаимодействии  $\text{CO}_2$  с гидроксидом натрия NaOH в приемной камере 7. В результате реакции нейтрализации снижается рН раствора NaOH при внесении  $\text{CO}_2$ , что можно использовать в качестве показателя интенсивности образования углекислоты с использованием рН-метра. Преимущество предлагаемого устройства заключается в повышении надежности контроля за динамикой процесса роста микробной культуры при поверхностном культивировании по интенсивности дыхания микробной культуры, а также отсутствию необходимости отбора культуральной жидкости, понижении риска заражения культуры посторонней микрофлорой и снижении трудозатрат.

Пример 1

Чистую культуру штамма *Janthinobacterium lividum* VKM В-3515 пассируют в 100 мл

жидкой среды, содержащей пептон мясной ферментативный (1 г) и сахарозу (2 г) в качестве ростового субстрата. Посев размещают на магнитной мешалке и выдерживают в течении 24 часов при температуре 25°C и скорости вращения 300 об/мин с аэрированием со скоростью 600 мл/мин. Затем 100 мл инокулята в стерильных условиях переносят в 100 мл незасеянной питательной среды составом пептон мясной ферментативный – 1,0 г; сахароза – 2,0 г, вода дистиллированная – 100 мл. Посев помещают в емкость 1 для культивирования, где для осуществления поверхностного культивирования выдерживают его при температуре 25°C статично без перемешивания и при этом аэрируют с помощью компрессора 3 для аэрации через силиконовую трубку 4 для аэрации со скоростью подачи воздуха 600 мл/мин. Трубка 4 снабжена съемным фильтром 5 с размером пор не более 0,22 мкм, что необходимо для предотвращения нарушения стерильности среды культивирования. Выходящий из емкости 1 воздух продувают через 1% раствор NaOH в приемной камере 7 посредством силиконовой трубки 6. Приемная камера 7 снабжена электродом 9 рН-метра 10 для измерения значения рН раствора NaOH. Измерения производят каждые 24 часа. По изменению рН 1% раствора NaOH судят об интенсивности дыхания штамма *Janthinobacterium lividum* VKM В-3515. Культивирование прекращают, а культуру штамма считают выросшей, когда последнее значение рН незначимо изменяется по сравнению с предыдущим измерением рН. На фиг. 2 видно, что процесс культивирования завершён на 5 сутки инкубации.

Для сравнения были произведены измерения рН при проведении опыта аналогично примеру 1, но с инокулятом, не содержащим посев микроорганизмов. Как видно на фиг.3 изменения значения рН в течении 5 суток при снятии показаний каждые 24 часа статистически незначимы.

Таким образом, приведенные примеры подтверждают возможность использования заявленного устройства для оценки интенсивности дыхания микробной культуры при мониторинге роста популяции микроорганизмов. Следовательно, поставленная задача решена.

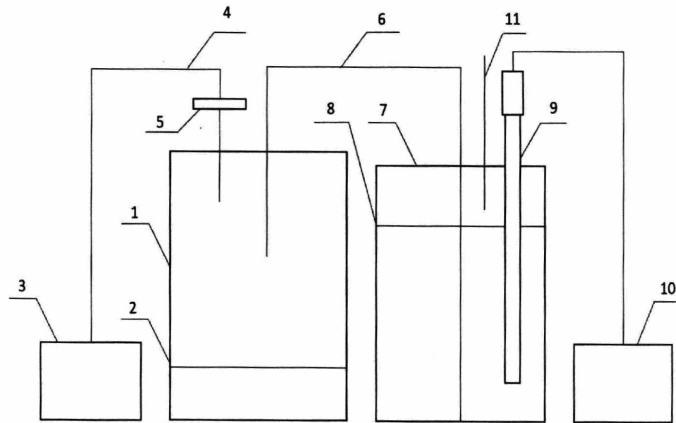
#### 30 (57) Формула изобретения

Устройство для оценки интенсивности дыхания микробной культуры, содержащее емкость для культивирования культуры микроорганизмов, компрессор для аэрации, рН-метр, приемную камеру с 1% раствором гидроксида натрия, в который погружен электрод рН-метра, при этом емкость для культивирования культуры микроорганизмов соединена с компрессором для аэрации посредством трубки, снабженной съемным фильтром с размером пор не более 0,22 мкм, а также трубкой для продувания образующегося в процессе культивирования CO<sub>2</sub> через раствор гидроксида натрия в приемной камере, кроме того, приемная камера снабжена трубкой для удаления избытка воздуха.

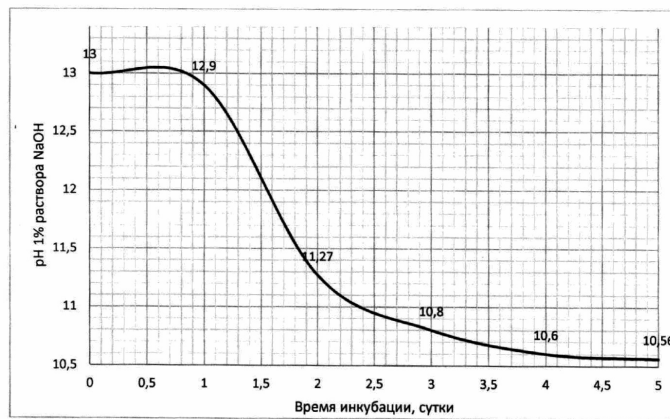
40

45

1

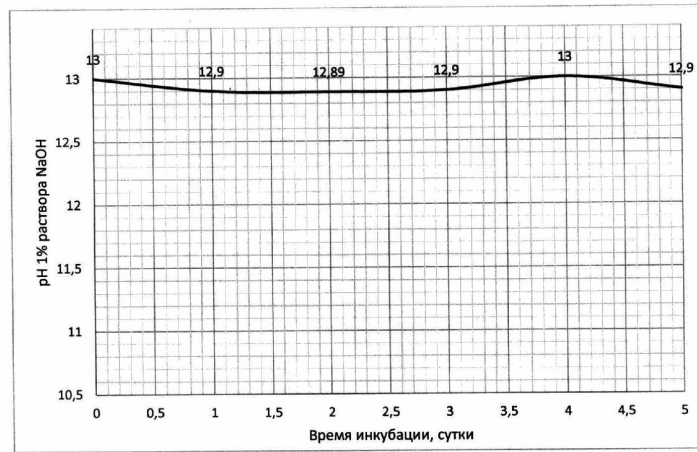


Фигура 1



Фигура 2

2



Фигура 3