



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C12Q 1/06 (2021.08); C12N 1/20 (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2021106460, 11.03.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
11.03.2021

Дата регистрации:
11.01.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 11.03.2021

(45) Опубликовано: 11.01.2022 Бюл. № 2

Адрес для переписки:

656049, г. Барнаул, пр. Ленина, 61, ФГБОУ ВО
"Алтайский государственный университет",
ЦРТПТТУИС

(72) Автор(ы):

Яценко Елена Сергеевна (RU),
Затонская Лина Викторовна (RU),
Соломатин Константин Васильевич (RU),
Лыков Павел Викторович (RU),
Петухов Виктор Анатольевич (RU),
Соловьева Вера Владимировна (RU),
Евдокимов Иван Юрьевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Алтайский государственный
университет" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: ТУЧИНА Е.С., ПЕТРОВ П.О. и
др. Фотодинамическое воздействие на
микроорганизмы с использованием синего
(405 нм) излучения и наночастиц оксида
железа III, Известия Саратовского
университета. 2012. Т. 12. Сер. Химия.
Биология. Экология, вып. 1, с. 66-70. ТУЧИНА
Е.С. и др. Использование наночастиц TiO2
при фотодинамическом воздействии
светодиодного (см. прод.)

(54) Способ увеличения численности *Bacillus subtilis* фотостимуляцией

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии.
Способ увеличения численности *Bacillus subtilis*
предусматривает приготовление питательной
среды, содержащей пептон ферментативный,
дрожжевой экстракт, натрий хлористый, сульфат
аммония, мителеновый синий и

дистиллированную воду в заданных количествах,
и внесение бактерий *Bacillus subtilis* и
культивирование при температуре 37°C в течение
24 ч под воздействием излучения зеленого цвета
510-550 нм. Изобретение позволяет увеличить
численность бактерий *Bacillus subtilis*. 1 табл.

(56) (продолжение):

синего (405 нм) излучения на микроорганизмы, Известия Саратовского университета. 2010. Т. 10. с. 50-53.
ТУЧИНА Е.С. Оценка фотодинамического воздействия *in vitro* на бактерии из микробиоценозов ротовой
полости и кожи человека, автореф. дисс. на соискание у.с. КБН, Саратов, 2008, с. 3-17. RU 2430756 C1, 10.10.2011.
ТУЧИНА Е.С. и др. Ярославский И.В. Фотодинамическое воздействие красного (625 нм) и инфракрасного
(805 нм) излучения на бактерии р. ACNES, обработанные фотосенсибилизаторами, Известия Саратовского
университета. 2008. Т. 8. с. 21-26.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11)

2 763 791 (13) **C1**

(51) Int. Cl.
C12Q 1/06 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
C12Q 1/06 (2021.08); C12N 1/20 (2021.08)

(21)(22) Application: **2021106460**, 11.03.2021

(24) Effective date for property rights:
11.03.2021

Registration date:
11.01.2022

Priority:

(22) Date of filing: 11.03.2021

(45) Date of publication: 11.01.2022 Bull. № 2

Mail address:
656049, g. Barnaul, pr. Lenina, 61, FGBOU VO
"Altajskij gosudarstvennyj universitet",
TSRTPTTUIS

(72) Inventor(s):

**Yatsenko Elena Sergeevna (RU),
Zatonskaya Lina Viktorovna (RU),
Solomatina Konstantin Vasilevich (RU),
Lykov Pavel Viktorovich (RU),
Petukhov Viktor Anatolevich (RU),
Soloveva Vera Vladimirovna (RU),
Evdokimov Ivan Yurevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Altajskij gosudarstvennyj
universitet" (RU)**

(54) **METHOD FOR INCREASING THE NUMBER OF BACILLUS SUBTILIS BY PHOTOSTIMULATION**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to biotechnology. The method for increasing the number of *Bacillus subtilis* involves the preparation of a nutrient medium containing enzymatic peptone, yeast extract, sodium chloride, ammonium sulfate, methylene blue and distilled water in specified quantities, and the

introduction of *Bacillus subtilis* bacteria and cultivation at a temperature of 37°C for 24 hours under the influence of green radiation of 510-550 nm.

EFFECT: invention makes it possible to increase the number of *Bacillus subtilis* bacteria.

1 cl, 1 tbl

RU 2 763 791 C1

RU 2 763 791 C1

Уровень техники:

Известно, что воздействие индуцированным красным и инфракрасным излучением подавляет колониобразующей способности бактерий *Propionibacterium acnes* в присутствии таких фотосенсибилизаторов, как метиленовый синий и индоцианин 5
зеленый. Установлен дозозависимый эффект действия красного и инфракрасного излучения [1].

Также известно, что при воздействии индуцированным синим излучением уменьшается численность популяции *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* в присутствии наночастиц. Подавляющий эффект действия синего излучения на бактерии 10
S. aureus не носил дозозависимого характера [2].

В доступной нам литературе сведений о фотостимуляции роста численности бактерий не найдено.

Целью настоящей работы - увеличение арсенала способов повышения численности бактерий *Bacillus subtilis* в процессе культивирования.

15 Задача - разработать способ увеличения численности бактерий *Bacillus subtilis* в процессе культивирования.

В качестве объекта исследования использовали штаммы: *Bacillus subtilis* B-12079, *Bacillus subtilis* B-2896, *Bacillus subtilis* B- 2895, *Bacillus subtilis* B-4828, *Bacillus subtilis* B-1323, *Bacillus subtilis* B-5449.

20 Сущность технического решения поясняется следующим.

Из спор готовили суспензию: в колбу Эрленмейера объемом 50 мл, содержащую жидкую питательную среду, которую готовят при следующем соотношении компонентов (г/л): пептон ферментативный - 15, дрожжевой экстракт - 5, натрий хлористый - 5, сульфат аммония - 1, метиленовый синий -1, остальное - дистиллированная вода.

25 Значение pH 7,0-7,2. Стерилизация при 1,1 атм. в течение 40 мин.

Затем вносили 5 г сухих спор. Микроорганизмы выращивали в колбах с жидкой средой в шейкер-инкубаторе «Innova 44» при 250 об/мин (эксцентриситет 5 см) и температуре 37°C в течение 24 часов.

30 На стенки инкубаторы были закреплены светодиоды, красного (624-650 нм), синего (440-465 нм) и зеленого (510-550 нм) цветов. Культивировании происходило при воздействии, красного, синего и зеленого цветов и были использованы комбинации цветов: синий и зеленый, красный и зеленый, красный и синий и комбинация из трех цветов. Стекло инкубатора было закрыто фольгой и не пропускало свет из помещения.

35 Для выявления численности микроорганизмов использовали стандартный метод десятикратных разведений, с высевом в стерильных условиях в чашки Петри на агаризованную питательную среду, выше указанного состава. После чего чашки с посевами инкубировали при температуре 37°C в течение 24 часов.

40 Для получения контроля проводилось культивирование в колбе, закрытой фольгой, которая исключала попадание световой волны. Все опыты были проведены в семикратной повторности.

Таблица 1. Численность бактерий *Bacillus subtilis* при излучении света различной длины.

		<i>Численность Bacillus subtilis, КОЕ* 10⁷</i>						
Штамм/цвет	<i>Bacillus subtilis</i> В-12079	<i>Bacillus subtilis</i> В-2896	<i>Bacillus subtilis</i> В-2895,	<i>Bacillus subtilis</i> В-4828	<i>Bacillus subtilis</i> В-1323,	<i>Bacillus subtilis</i> В-5449.	Среднее значение численности	
кранный	16±5	15±5	11±4	9±6	14±2	14±3	13	
синий	4±4	4±3	6±3	10±4	7±3	7±5	6	
зеленый	47±12	33±13	37±21	47±21	41±15	26±11	38	
синий зеленый	26±8	29±13	27±11	31±19	21±10	36±10	28	

Штамм/цвет	<i>Bacillus subtilis</i> В-12079	<i>Bacillus subtilis</i> В-2896	<i>Bacillus subtilis</i> В-2895,	<i>Bacillus subtilis</i> В-4828	<i>Bacillus subtilis</i> В-1323,	<i>Bacillus subtilis</i> В-5449.	Среднее значение численности
синий красный	5±4	6±4	2±2	2±2	5±2	4±3	4
красный зеленый	15±4	8±4	17±6	9±7	11±7	13±4	12
синий красный зеленый	5±4	4±4	4±3	6±4	7±4	4±4	5
контроль	20±8	12±6	15±3	18±3	14±5	19±5	16

Было выявлено, что при культивировании с красным светом и с комбинацией красного и зеленого численность бактерий достоверно не отличалась от контрольной пробы; при культивировании с синим светом, с комбинацией красного и синего и с комбинации трех цветов численность была достоверно ниже, чем в контроле; при воздействии комбинации синим и зеленым светом численности увеличилась не значительно; при воздействии зеленым светом наблюдаем самое высокое увеличилась численности микроорганизмов.

Таким образом, воздействие зеленым света (510-550 нм) в процессе культивирования на жидкой питательной среде способствует увеличению численности бактерий *Bacillus subtilis*.

Список литературы

1. Е.С. Тучина, В.В. Тучин, Г.Б. Альтшулер, И.В. Ярославский Фотолинамического воздействие красного (625 нм) и инфракрасного (805 нм) излучения на бактерии р. ACNES, обработанные фотосенсибилизаторами // Известия Саратовского университета. 2008. Т. 8. С. 21-26.

2. Е.С. Тучина, Н.М. Абаева, В.В. Тучин Использование наночастиц TiO₂ при фотодинамическом воздействии светодиодного синего (405 нм) излучения на микроорганизмы // Известия Саратовского университета. 2010. Т. 10. С. 50-53.

(57) Формула изобретения

Способ увеличения численности *Bacillus subtilis* предусматривает приготовление питательной среды, содержащей пептон ферментативный – 15 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, натрий хлористый – 5 г/л, сульфат аммония - 1 г/л, метиленовый синий – 1 г/л, дистиллированную воду - остальное, внесение бактерий *Bacillus subtilis* и культивирование при 37°C в течение 24 ч под воздействием излучения зеленого цвета 510-550 нм.