

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, și anume la o tulpină de fung, producătoare de enzime celulazice, utilizabil în industria alimentară, eterooleaginoasă, vinificație, medicină, producerea de nutrețuri.

Se cunosc numeroase tulpini de fungi, aparținând genurilor *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, care au capacitatea de a produce enzime celulazice [1].

Se cunoaște tulpina *Aspergillus fumigatus* BKĐĚ F-316 [2] cu productivitate enzimatică înaltă, dar complexul celulazic sintetizat este incomplet și neechilibrat, caracterizându-se prin stabilitate joasă termică și de pH, optimul de temperatură al acțiunii fiind situat mai jos de 60°C.

Tulpina propusă crește pe medii nutritive ieftine, care conțin ca sursă de carbon reziduuri vegetale: coarde de viță de vie, paie de porumb, sintetizează un complex celulazic echilibrat (endogluconaze, celobiohidralaze, β-glucozidaze) cu stabilitate înaltă termică și de pH, optimul de acțiune fiind situat în zona de temperaturi ridicate (60-65°C).

Concomitent cu complexul celulazic, tulpina propusă sintetizează în cantități suficiente pectinaze, xilanaze, prezența cărora în mediul de reacție sporește gradul de hidroliză a materialelor vegetale.

Tulpina *Aspergillus flavus* C 90 a fost obținută de pe paie de graminee din Zona Centrală a Moldovei, este depusă în Colecția de Microorganisme a Institutului de Biochimie și Fiziologie a Microorganismelor al A.Ș. a Rusiei și a primit denumirea *Aspergillus flavus* BKM-F 3292 D.

Caractere cultural-morfologice.

Pe mediile de cultură, conținând celuloză, după 24 de ore de dezvoltare se formează colonii în creștere slabă, plate, cu diametrul până la 1,0-1,5 cm, de culoare galben-brună, atingând 3-4 cm în diametru după 4 zile de dezvoltare.

După 9-13 zile de creștere, coloniile ating 5-6 cm în diametru, sporulează abundent; măciuliile conidiale mature - de culoare brună-măslinie. Scleroții inițiali sunt de culoare albă, mai târziu se brunifică, conidioforii sunt incolori, simpli sau slab ramificați, cu lungimea de 2 mm.

Coloniile pe agar Czapek cresc slab. În a 10-a zi de dezvoltare la temperatura de 24-26°C au formă plată, sunt cutate, cu sporulație abundentă, măciuliile conidiale tinere au culoare gălbuie, la maturizare devin galbui-verzi închise. Pe verso sunt de culoare brun-roșcată. Exsudat nu se observă. Au un miros neplăcut.

Scleroții nu se formează. Conidioforii sunt incolori, cu învelișul extern gros, cu piciorușul de 10-18 μ lățime, aflat nemijlocit sub umflătură.

Conidioforii au lungimea de cel mult 1 mm, uneori 2-2,5 mm.

Sterigmele sunt plasate mai frecvent într-un nivel 6-12 x 3-5 μ. Conidiile au formă sferică, 3,5-5 x 3,5-5 μ.

Caractere fiziologico-biochimice:

Heterotrofă, saprofită, aerobă. Crește într-un diapazon larg al pH-ului (3,0-7,0) și al temperaturii (30-70°C), temperatura optimă de creștere fiind de 28-30°C. Tulpina nu este patogenă.

Identificarea tulpinii s-a efectuat în conformitate cu:

1) В.И. Билай, Э.З. Коваль “Аспергиллы”, определитель. Киев: Наукова Думка, 1988, 203 p.

2) Н.М. Пидопличко “Грибы - паразиты культурных растений”, определитель, vol. 2, Киев: Наукова Думка, 1978, 300 p.

Determinarea activității enzimelor sintetizate (unit./g) s-a efectuat prin metode standard, folosind următoarele substraturi:

- hârtie de filtru, HF;

- Na-carbometilceluloză, NaCMC;

- celuloză microcristalină, CM;

- paranitrofenil -β-D-glucopiranozidă.

Exemplul 1.

Cultura *Aspergillus flavus* BKM F-3292 D a fost cultivată pe mediu nutritiv, cu următoarea componență (g): coarde de viță de vie - 1,0, borhot de sfeclă - 1,0, MgSO₄ - 0,05, NaNO₃ - 0,3, KCl - 0,05, melasă - 1,0, FeSO₄ 7•H₂O - urme, apă până la 100 ml, pH=4,5-5,0. Proporția optimă de inocul lichid a fost de 5%.

Tulpina a fost cultivată în profunzime, agitând continuu cu viteza de 200-220 rot./min. la 28-30°C, durata cultivării 4-5 zile.

Separarea complexului celulazic din filtratul de cultură a fost realizată la temperatura de (+1) - (+5)°C, la valoarea pH a lichidului de cultură (LC) de 5,0, raportul dintre LC și alcool etilic fiind de 1:4. Ca adaos stabilizator au fost folosiți ionii de calciu în concentrația de 0,05-0,07%.

Activitatea complexului enzimatic, obținut în condiții de valori optime ale pH-ului, a fost:

NaCMC - 330,4 unit. /g (pH optim - 4,0)

HF - 52,36 unit. /g (pH optim - 5,5).

Activitatea maximă s-a înregistrat la 60-65°C.

HF - 54,00 unit. /g (60°C), 60,0 unit. /g (65°C)

NaCMC - 342,00 unit. /g (60°C), 334,0 unit. /g (65°C)

Activitate xilanazică - 90 unit. /g.

Activitate pectinazică - 6 unit. /g.

Exemplul 2.

Tulpina a fost crescută pe mediul de cultură descris în exemplul 1, în care coardele de viță de vie au fost înlocuite prin paie de porumb.

Condițiile de cultivare au fost identice cu cele din exemplul 1.

Activitatea enzimatică a fost determinată la 50°C și 65°C, valorile maxime fiind înregistrate la 65°C.

t°	A C T I V I T A T E A				
	HF, unit. /g	NaCMC, unit. /g Capacitatea de zaharificare	NaMC, gradul de lichefiere,%	MC, unit. /g	β -glucozidazică unit. /g
50°C	22,8	240,8	70,0	15,0	25,0
65°C	39,0	292,8	75,0	21,0	38,6

De menționat că activitatea complexului celulazic în caz de cultivare pe mediul cu paie de porumb este mai joasă decât pe mediul cu coarde de viță de vie.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- gradul de hidroliză a materialului vegetal este mai înalt, în comparație cu cel al tulpinii cunoscute (utilizate în prezent ca producător de celulaze),
- hidroliza materialelor vegetale se realizează la temperatura de 60-65°C, ceea ce concomitent cu intensificarea procesului de hidroliză asigură puritatea microbiologică a procesului.