

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un mediu de cultivare a tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* și poate fi utilizată la obținerea enzimelor pectolitice, aplicate în industria alimentară, eterooleaginoasă etc.

Este cunoscut procedeul de cultivare a tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* [1], în care ca mediu nutritiv optim se utilizează compoziția cu următorul raport al ingredientelor, g/L:

borhot de sfeclă	45,0
făină de porumb	15,0
glucoză	1,0
sulfat de amoniu	1,0
sulfat de magneziu	0,7
sulfat de zinc	0,25
apă potabilă	până la 1 L.

Dezavantajul procedurii constă în faptul că pe mediul cu componența sus-menționată biosinteza enzimelor pectolitice și activitatea lor sunt joase.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în sporirea biosintezei și activității enzimelor pectolitice.

Problema se soluționează prin aceea că se propune mediul de cultivare a tulpinii *Rhizopus arrhizus*, care conține borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă. Mediul solicitat suplimentar conține în calitate de biostimulator unul din compușii coordinați din clasa bis-dimetilglioximaților Co(III) având formula $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ sau $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, unde DH este radicalul dimetilglioximatului, iar Thio - tiocarbamida, în următorul raport al ingredientelor, g/L:

borhot de sfeclă	22,0...23,0
făină de porumb	14,0...16,0
glucoză	0,9 ... 1,1
sulfat de amoniu	0,9 ... 1,1
sulfat de magneziu	0,6 ... 0,8
sulfat de zinc	0,24 ... 0,26
dimetilglioximatul de Co(III)	0,001...0,005
apă potabilă	până la 1 L.

Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei și activității enzimelor pectolitice.

Activitatea enzimelor pectolitice a lichidelor culturale (LC) ale tulpinii *Rhizopus arrhizus*, obținute la utilizarea mediului conform celei mai apropiate soluții și optimizate (cu adaosul biostimulatorilor: $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ și $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) este reprezentată în tabel.

Efectul biostimulator este cauzat de includerea într-un singur compus chimic individual a trei microelemente: Co, Si și F, necesare dezvoltării unor microorganisme.

Activitatea enzimelor pectolitice a lichidelor culturale (LC) ale tulpinii *Rhizopus arrhizus* este determinată prin metoda interferometrică și este reprezentată în unități convenționale la 1 mL (u.c./mL).

Variantele mediilor	Numărul de probe	Concentrațiile biostimulatorului, mg/L	Activitatea enzimelor pectolitice, u. c./mL
Cea mai apropiată soluție (control)	10	-	35,0±0,5
$[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$	10	1	52,1±0,2
	10	5	91,9±0,6
	10	10	92,8±0,3
$[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	10	1	55,7±0,3
	10	5	99,3±0,7
	10	10	99,4±0,5

În varianta de control dioximații cobaltului cu fluorul lipsesc și activitatea este egală cu 35,0 u. c./mL. Din tabel se vede că în cazul utilizării variantelor de medii optimizate (cu concentrațiile substanțelor de 1 mg/L și 5 mg/L) activitatea enzimelor pectolitice ale tulpinii *Rhizopus arrhizus* este superioară considerabil în comparație cu cea mai apropiată soluție. Activitatea maximă a pectinazelor a fost înregistrată la concentrația de 5 mg/L de substanță. Sporirea concentrației compușilor complecși de la 5 la 10 mg/L este ineficientă, deoarece activitatea pectolitică crește neînsemnat.

Exemplul 1

Tulpina *Rhizopus arrhizus* este cultivată timp de 48 ore în baloane Erlenmayer cu volumul de 1000 mL cu 250 mL de mediu și se sterilizează la 115°C timp de 30 min.

Compoziția mediului, g/L:

borhot de sfeclă	22,0...23,0
------------------	-------------

făină de porumb	14,0...16,0
glucoză	0,9...1,1
sulfat de amoniu	0,9...1,1
sulfat de magneziu	0,6...0,8
sulfat de zinc	0,24...0,26

[Co(DH)₂(Thio)₂]₃F[SiF₆]₃·1,5H₂O 0,001...0,005

apă potabilă până la 1 L.

După 48 ore de cultivare a tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* activitatea enzimelor pectolitice în varianta de control constituie 35,0 u. c./mL, iar varianta cu dioximatul cobaltului(III) cu fluor 91,9 u. c./mL.

Exemplul 2

Tulpina de fungi *Rhizopus arrhizus* se cultivă timp de 48 ore în baloane Erlenmayer cu volumul de 250 mL cu 100 mL de mediu cu compoziția indicată mai jos și se sterilizează la 115°C timp de 30 min.

Compoziția mediului, g/L:

borhot de sfeclă	22,0...23,0
făină de porumb	14,0...16,0
glucoză	0,9...1,1
sulfat de amoniu	0,9...1,1
sulfat de magneziu	0,6...0,8
sulfat de zinc	0,24...0,26

[Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]₂·3H₂O 0,001...0,005

apă potabilă până la 1 L.

În varianta de control activitatea constituie 35,0 u. c./mL, iar în varianta optimizată cu adăugarea a 5 mg/L de [Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]₂·3H₂O activitatea pectolică constituie 99,3 u. c./mL.

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un mediu de cultivarea tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* și pot fi utilizat la obținerea enzimelor pectolitice, aplicate în industria alimentară, eterooleaginoasă etc.

Este cunoscut procedeul de cultivare submersă tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus*, în care ca mediu nutritiv optimal este utilizată următoarea compoziție (g/L):

borhot de sfeclă	45,0
făină de porumb	15,0
glucoză	1,0
sulfat de amoniu	1,0
sulfat de magneziu	0,7
sulfat de zinc	0,25
apă potabilă	până 1L

[1].

Dezavantajul procedurii constă în faptul, că pe mediul cu componența susmenționată biosinteza enzimelor pectolitice atât cât și activitatea lor sunt scăzute.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în sporirea biosintezei ale enzimelor pectolitice și activității lor.

Problema dată se realizează prin aceea că se propune un mediu de cultivare a tulpinii *Rhizopus arrhizus*, care conține borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă. Suplimentar mediul conține în calitate de biostimulator unul din compușii coordinativi din clasa bis-dimetilgloximaților Co(III) având formula

[Co(DH)₂(Thio)₂]₃F[SiF₆]₃·1,5H₂O sau [Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]₂·3H₂O, unde DH este radicalul dimetilgloximei, iar Thio - tiocarbamida on următorul raport al (g/L):

borhot de sfeclă	- 22,0 ... 23,0
făină de porumb	- 14,0 ... 16,0
glucoză	- 0,9 ... 1,1
sulfat de amoniu	- 0,9 ... 1,1
sulfat de magneziu	- 0,6 ... 0,8
sulfat de zinc	- 0,24 ... 0,26
dimetilgloximatul de Co(III)	- 0,001 ... 0,005
apă potabilă	- restul.

Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei fermenților pectolitici de 2-3 ori, totodată micșorînd de două ori cantitatea de borhot de sfeclă.

Efectul biostimulator este cauzat de includerea într-un singur compus chimic individual a trei microelemente: Co, Si și F, necesare dezvoltării unor microorganisme.

Activitatea pectolică a lichidelor culturale (LC) a tulpinii *Rhizopus arrhizus*, obținute la utilizarea mediului din analogul proxim și optimizată (cu adaosul biostimulatorilor: [Co(DH)₂(Thio)₂]₃F[SiF₆]₃·1,5H₂O și [Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]₂·3H₂O) este reprezentată în tabel.

Activitatea este determinată prin metoda interferometrică și este reprezentată în unități convenționale la 1 ml (u.c./mL).

Tabel

Variantele mediilor	Numărul de probe	Concentrațiile bio-stimulatorului, mg/L	Activitatea, u. c./mL
Analogul proxim (control)	10	-	35,0±0,5
[Co(DH) ₂ (Thio) ₂] ₃ F[SiF ₆]·1,5H ₂ O	10	1	52,1±0,2
	10	5	91,9±0,6
	10	10	92,8±0,3
[Co(DH) ₂ (Thio) ₂] ₂ [SiF ₆]·3H ₂ O	10	1	55,7±0,3
	10	5	99,3±0,7
	10	10	99,4±0,5

On varianta de control dioximații cobaltului cu fluorul lipsesc și activitatea este egală cu 35,0 u. c./mL. Rezultatele tabelului indică la faptul, că în cazul utilizării variantelor de medii optimizate (cu concentrațiile substanțelor de 1 mg/L și 5 mg/L), activitatea pectolitică a tulpinii *Rhizopus arrhizus* este superioară considerabil în comparație cu analogul proxim (control). Activitatea maximă a pectinazelor a fost înregistrată la concentrația de 5 mg/L de substanță. Sporirea concentrației compușilor complecși de la 5 la 10 mg/L este inefficientă, deoarece activitatea pectolitică crește neînsemnat.

Exemplul 1.

Tulpina *Rhizopus arrhizus* este cultivată timp de 48 de ore în baloane Erlenmayer cu volumul de 1000 mL cu 250 mL de mediu și se sterilizează la 115°C timp de 30 min.

Compoziția mediului (g/L):

borhot de sfeclă	- 22,0 ...23,0
făină de porumb	- 14,0 ...16,0
glucoză	- 0,9 ... 1,1
sulfat de amoniu	- 0,9 ... 1,1
sulfat de magneziu	- 0,6 ... 0,8
sulfat de zinc	- 0,24 ...0,26

[Co(DH)₂(Thio)₂]₃F[SiF₆]·1,5H₂O - 0,001...0,005

apă potabilă - restul.

Timpul de cultivare - două zile. În varianta de control dioximatul cobaltului(III) cu fluor lipsește și activitatea constituie 35,0 u. c./mL.

Activitatea pectolitică în varianta optimizată constituie 91,9 u. c./mL.

Exemplul 2.

Tulpina *Rhizopus arrhizus* este cultivată timp de 48 de ore în baloane Erlenmayer cu volumul de 250 mL cu 100 mL de mediu și se sterilizează la 115°C timp de 30 min.

Compoziția mediului (g/L):

borhot de sfeclă	- 22,0 ...23,0
făină de porumb	- 14,0 ...16,0
glucoză	- 0,9 ... 1,1
sulfat de amoniu	- 0,9 ... 1,1
sulfat de magneziu	- 0,6 ... 0,8
sulfat de zinc	- 0,24 ...0,26

[Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]·3H₂O - 0,001...0,005

apă potabilă - restul.

În varianta de control dioximatul cobaltului(III) cu fluor lipsește și activitatea constituie 35,0 u. c./mL.

Activitatea pectolitică în varianta optimizată cu adăugarea a 5 mg/L de [Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]·3H₂O constituie 99,3 u. c./mL.