

Invenția se referă la microbiologie, în particular la un mediu de cultivare a fungului microscopic *Aspergillus flavus VKM F 3292 D*, producător de celulaze și xilanază și poate fi aplicată în industria microbiologică, alimentară, eterooleaginoasă, farmaceutică.

Pentru cultivarea fungului *Aspergillus flavus VKM F 3239 D*, producător de celulaze și xilanaze este cunoscut mediul care conține borhot de sfeclă și coarde de viță de vie, săruri minerale și un biostimulator de origine chimică [1].

Dezavantajul acestui mediu constă în faptul, că facilitează biosinteza numai a două componente (xilanazei și  $\beta$ -glucozidazei) ale complexului enzimatic produs de tulpina indicată, lăsând la nivel insuficient biosinteza endoglucanazelor și celobiohidrolazelor – componente importante pentru hidroliza materialelor vegetale bogate în celuloză.

În calitate de cea mai apropiată soluție s-a utilizat mediul de cultivare a tulpinii *Aspergillus flavus VKM F3239D* cu următoarea compoziție (g): coardă de viță de vie – 10,0; borhot de sfeclă – 10,0; MgSO<sub>4</sub> – 0,5; NaNO<sub>3</sub> – 3,0; KCl – 0,5; FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O – urme, melasă – 10,0; apă până la 1 l; pH-ul inițial 4,5...5,0 [2].

Dezavantajele celei mai apropiate soluții constau în faptul că mediul nu asigură realizarea pe deplin a potențialului tulpinii de a biosintetiza celulaze și xilanaze și randamentul componentelor complexului enzimatic nu atinge cota maximă.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu nutritiv de cultivare a tulpinii *Aspergillus flavus VKM F 3292 D*, care să asigure sporirea biosintezei a celor patru componente ale complexului enzimatic: endoglucanaza, celobiohidrolaza,  $\beta$ -glucozidaza și xilanaza.

Esența invenției constă în aceea că mediul nutritiv propus de cultivare a tulpinii de fung *Aspergillus flavus VKM F 3292 D*, producător de celulaze și xilanaze, conține coardă de viță de vie și borhot de sfeclă, uscate și mărunțite, melasă, sulfat de magneziu (MgSO<sub>4</sub>), azotat de sodiu (NaNO<sub>3</sub>), clorură de potasiu (KCl), sulfat de fier hidrat (FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O), apă și suplimentar compusul coordinativ Co(PC)<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O în următorul raport cantitativ, g:

coardă de viță de vie	10,0
borhot de sfeclă	10,0
melasă	10,0
MgSO <sub>4</sub>	0,5
NaNO <sub>3</sub>	3,0
KCl	0,5
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	urme
Co(PC) <sub>3</sub> · H <sub>2</sub> O	0,0048...0,0050
apă	până la un litru.

Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei xilanazelor cu 23,14%, endoglucanazelor cu 13,33%, celobiohidrolazelor cu 41,30%,  $\beta$ -glucozidazelor cu 21,45% (rezultatele obținute sunt prezentate în tabel).

Rezultatul obținut este condiționat de faptul că adăugarea în mediul nutritiv a compusului coordinativ Co(PC)<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O în calitate de biostimulator, activează procesele metabolice, care decurg în microorganismul dat.

Tabel

Denumirea enzimelor	Numărul de probe	Concentrația biostimulatorului (g/L)	Activitatea (u/ml)		% față de soluția cea mai apropiată
			Control	Experiență	
Xilanaze	10	0,005	3,37±0,23	4,15±0,16	123,14
Endoglucanaze	10	0,005	0,36±0,18	0,41±0,14	113,33
Celobiohidrolaze	10	0,005	0,26±0,13	0,37±0,09	141,30
$\beta$ -glucozidaze	10	0,005	0,31±0,05	0,37±0,07	121,45

Exemplu de realizare a invenției.

1. Tulpina *Aspergillus flavus VKM F 3292 D* se cultivă în baloane Erlenmayer de 0,75 L în care se introduc 0,2 L mediu nutritiv, în condiții de agitare continuă (200 rot/min) la temperatura de 28...30°C, timp de 120 ore.

Compoziția mediului (g):

coardă de viță de vie	10,0
borhot de sfeclă	10,0
melasă	10,0
MgSO <sub>4</sub>	0,5

NaNO <sub>3</sub>	3,0
KCl	0,5
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	urme
Co(PC) <sub>3</sub> · H <sub>2</sub> O	0,005
apă	până la un litru
pH-ul inițial al mediului	4,5.

Activitatea enzimelor în lichidul cultural s-a determinat prin dozarea zaharurilor reductoare în urma acțiunii acestuia asupra substratelor specifice. În calitate de astfel de substrat au servit: xilanul de ovăz pentru xilanaze, Na – carboximetilceluloza pentru endoglucanaze, hârtia de filtru pentru celobiohidrolaze, p-nitrofenil-β-D-glicopiranozidul pentru β-glucozidaze.

După 120 ore de cultivare în varianta în care lipsea buostimulatorul Co(PC)<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O activitatea xilanazelor a constituit 3,910 U/mL, endoglucanazelor – 0,351 U/mL, celobiohidrolazelor – 0,267 U/mL, iar a β-glucozidazelor – 0,302 U/mL.

În varianta mediului propus cu adăugarea Co(PC)<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O în concentrație de 0,005 g/L activitatea xilanazică a constituit 4,210 U/mL, endoglucanazică – 0,410 U/mL, celobiohidrolazică – 0,372 U/mL, β-glucozidazică – 0,380 U/mL.

2. Tulpina *Aspergillus flavus VKM F 3292 D* se cultivă în baloane Erlenmayer de 0,75 L în care se introduce 0,2 L mediu nutritiv, în condiții de agitare continuă (200 rot/min) la temperatura 28°C, timp de 120 ore.

Compoziția mediului (g):

coardă de viță de vie	10,0
borhot de sfeclă	10,0
melasă	10,0
MgSO <sub>4</sub>	0,5
NaNO <sub>3</sub>	3,0
KCl	0,5
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	urme
Co(PC) <sub>3</sub> · H <sub>2</sub> O	0,0048
apă	până la un litru
pH-ul inițial al mediului	5.

În varianta celei mai apropiate soluții în care lipsea biostimulatorul Co(PC)<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O activitatea xilanazică a constituit 3,390 U/mL, endoglucanazică – 0,362 U/mL, celobiohidrolazică – 0,259 U/mL, β-glucozidazică – 0,306 U/mL.

În varianta optimizată cu adaos de Co(PC)<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O în concentrație de 0,0048 g/L activitatea xilanazică a constituit 4,190 U/mL, endoglucanazică – 0,412 U/mL, celobiohidrolazică – 0,368 U/mL, β-glucozidazică – 0,379 U/mL.