

Invenția se referă la biotehnologii microbiologice, în particular la medii de cultivare submersă a tulpinii de funghi *Penicillium viride* CNMN FD 04 P – producătoare de enzime pectolitice și poate fi utilizată în industria microbiologică pentru obținerea pectinazelor, care pot fi utilizate în procesele tehnologice de prelucrare a materiei prime vegetale – la producerea sucurilor și conservelor din fructe și legume, în industria eterooleaginoasă, alimentară, farmaceutică, textilă, în cercetări științifice pentru obținerea protoplastelor stabile și viabile.

Pentru cultivarea tulpinilor fungice producătoare de enzime pectolitice de obicei se utilizează diferite modificări ale mediului Czapek, care conțin inductori ai sintezei pectinazelor (pectina sau diferite ingrediente naturale pectinocomponente – borhot de sfeclă, tescovină de mere, tărâțe de grâu etc.) și, în funcție de particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii, diferiți biostimulatori [1].

În calitate de cea mai apropiată soluție s-a utilizat mediul cu următoarea componență ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ): borhot de sfeclă 25,0; făină de porumb 15,0; glucoză 1,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1,0;  $\text{ZnSO}_4$  0,25;  $\text{MgSO}_4$  0,7; apă potabilă până la 1 L [2].

La cultivarea submersă a tulpinii de funghi *Penicillium viride* CNMN FD 04 P pe mediul menționat, timp de 96 ore, la temperatura de 28...30°C, în condiții de agitare continuă, lichidul cultural manifestă activitate pectolitică de 860,0  $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Dezavantajul celei mai apropiate soluții constă în faptul că pe acest mediu nu se realizează pe deplin potențialul biosintetic al tulpinii și biosinteza enzimelor pectolitice nu atinge valoarea maximă.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii de funghi *Penicillium viride* CNMN FD 04 P, care să asigure sporirea capacității biosintetice a producătorului.

Esența invenției constă în aceea că se propun două variante de medii nutritive pentru cultivarea submersă a tulpinii de funghi *Penicillium viride* CNMN FD 04 P, care suplimentar la componentele mediului proxim conțin unul din compușii coordinați din clasa tiosemicarbazonelor: compusul 1 – [10-amino-3,8-dimetil-1-fenil-6-tiometil-4,5,7-triazaundeca-1,3,5,7,9-pentaen-1-onato-(2)] Ni(II) sau compusul 2 – [9-(o-aminofenil)-4-metil-7-tiometil-5,6,8-triaznona-2,4,6,8-tetraen-2-onato (2-)]Cu(II), în următorul raport cantitativ al elementelor,  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ : borhot de sfeclă 25,0; făină de porumb 15,0; glucoză 1,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1,0;  $\text{ZnSO}_4$  0,25;  $\text{MgSO}_4$  0,7; compusul 1 sau compusul 2 0,010; apă potabilă până la 1 L, pH 6,0.

Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei enzimelor pectolitice cu 58,07...74,0% față de cea mai apropiată soluție și în posibilitatea reducerii duratei de cultivare a tulpinii.

Efectul biostimulator al compușilor coordinați este cauzat de proprietatea microelementelor de a se implica activ la coordonarea și desfășurarea reacțiilor metabolice extrem de fine și complicate.

#### Exemple de realizare a invenției

##### Exemplul 1

Tulpina *Penicillium viride* CNMN FD 04 P s-a cultivat în baloane Erlenmayer cu capacitatea de 0,75 L, care conțineau 0,1 L mediu nutritiv cu următoarea compoziție ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1,0;  $\text{ZnSO}_4$  0,25;  $\text{MgSO}_4$  0,7; glucoză 1,0; făină de porumb 15,0; borhot de sfeclă 25,0; compusul 1 0,010; apă potabilă până la 1 L; pH 6,0. Cultivarea s-a efectuat timp de 72 ore, la temperatura de 30°C, în condiții de agitare continuă (180 rot.  $\cdot$  min<sup>-1</sup>).

Activitatea pectolitică în lichidul cultural s-a determinat prin metoda interferometrică și peste 72 ore de cultivare (cu 24 ore mai devreme decât pe mediul proxim) a constituit 1359,4  $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ , ceea ce depășea cu 58,07% activitatea fixată la cultivarea tulpinii pe mediul proxim.

Metoda de obținere a compusului 1: Soluția de  $\text{Ni}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0,25 g, 1,0 mmol) în metanol (10  $\text{cm}^3$ ) și 0,35  $\text{cm}^3$  (2,5 mmol) trietilamină au fost adăugate consecutiv la soluția obținută prin dizolvarea în metanol (10  $\text{cm}^3$ ) a mono-S-metilzotiosemicarbazonei 1-fenil-butan-1,3-dionei (0,25 g, 1,0 mmol) și 4-amino-3-penten-2-unei (0,10 g, 1,0 mmol). Soluția astfel obținută a fost încălzită în reflux timp de 1 oră, apoi lăsată să se răcească până la temperatura camerei. Precipitatul format a fost filtrat, spălat cu metanol și eter dietilic, uscat la aer.

##### Exemplul 2

Tulpina *Penicillium viride* CNMN FD 04 P s-a cultivat în baloane Erlenmayer cu capacitatea de 0,75 L, care conțineau 0,1 L mediu nutritiv cu următoarea compoziție ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1,0;  $\text{ZnSO}_4$  0,25;  $\text{MgSO}_4$  0,7; glucoză 1,0; făină de porumb 15,0; borhot de sfeclă 25,0; compusul 2 0,010; apă potabilă până la 1 L; pH 6,0. Cultivarea s-a efectuat timp de 96 ore, la temperatura de 28°C, în condiții de agitare continuă (180 rot.  $\cdot$  min<sup>-1</sup>).

Activitatea pectolitică determinată în lichidul cultural a constituit 1496,35  $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ , ceea ce depășea cu 74,0% activitatea fixată la cultivarea tulpinii pe mediul proxim.

Metoda de obținere a compusului 2: Trietilamina (1,0  $\text{cm}^3$ ) și soluția de  $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,20 g, 1,0 mmol) în metanol (40  $\text{cm}^3$ ) au fost adăugate la soluția hidroiodurii mono-S-metilzotiosemicarbazonei pentan-2,4-dionei (0,317 g, 1,0 mmol) și 2-aminobenzaldehidei (0,12 g, 1,0 mmol) în metanol (20  $\text{cm}^3$ ). Soluția obținută a fost încălzită în reflux timp de 1 oră, apoi lăsată să se răcească până la temperatura camerei. Cristalele de culoare roșie-închisă au fost filtrate, spălate cu metanol și eter dietilic, uscate la aer.