

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un procedeu de cultivare submersă a tulpinii de fungi *Penicillium viride* și poate fi utilizată în industria microbiologică pentru obținerea enzimelor pectolitice.

În calitate de cea mai apropiată soluție s-a utilizat procedeu de cultivare submersă a tulpinii de fungi *Penicillium viride* ce include etapele: pregătirea materialului semincer prin spălarea cu apă distilată a culturii de 21 zile de pe coloane oblice de maț-agar, însămânțarea mediului nutritiv steril cu următoarea componență (g/l): borhot de sfeclă 25,0; făină de porumb 15,0; glucoză 1,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0; ZnSO_4 0,25; MgSO_4 0,7; apă potabilă până la 1,0 l, pH-ul inițial al mediului 6,0 și procesul cultivării realizat în condiții de agitare continuă pe agitator rotativ (180...200 r.p.m.), în baloane Erlenmayer cu capacitate de 1,0 l la temperatura de 28...30°C, durata cultivării constituie 96 ore [1].

La cultivarea submersă a tulpinii de fungi *Penicillium viride* CNMN FD 04 P în condiții proximale lichidul cultural manifestă activitate pectolitică de 860,0 u/ml.

Dezavantajul celei mai apropiate soluții constă în faptul că în condiții proximale 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 procedeu de cultivare submersă a tulpinii de fungi *Penicillium viride* CNMN FD 04 P, care să asigure sporirea capacității biosintetice a producătorului.

Esența invenției constă în aceea că procedeu de cultivare submersă a tulpinii de fungi *Penicillium viride* CNMN FD 04 P (varianta 1) conform invenției include pregătirea suspensiei de spori, inocularea ei pe un mediu nutritiv, tratarea culturii de fungi peste 24 ore de cultivare cu unde de intensitate joasă cu λ 5,6 mm, emise în regim periodic timp de 15...20 min. Cultivarea se efectuează la temperatura de 28...30°C timp de 96 ore.

Procedeu de cultivare submersă a tulpinii de fungi *Penicillium viride* CNMN FD 04 P (varianta 2) include pregătirea suspensiei de spori, inocularea ei pe un mediu nutritiv, tratarea suspensiei de spori înainte de inoculare și a culturii de fungi peste 24 ore de cultivare timp de 15...20 min cu unde de intensitate joasă cu λ 5,6 mm, emise în regim periodic. Cultivarea se efectuează la temperatura de 28...30°C timp de 96 ore.

Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei enzimelor cu 28,0...39,0% față de cea mai apropiată soluție.

Efectul biostimulator al undelor milimetrice de intensitate joasă este determinat de activarea sistemelor enzimatice ale celulelor microbiene, urmată de creșterea vitezei de transport a substanțelor nutritive și intensificarea proceselor de formare a produselor metabolice (Пичко В.Б., Поваляева И.В. Электромагнитная стимуляция продуцирующей способности микроорганизмов и её механизмы. Прикладная биохимия и микробиология. 1996, т. 32, № 4, с. 468-472).

Varianta I constă în pregătirea materialelor de semincer (suspensie de spori), însămânțarea mediului nutritiv steril, procesul cultivării, tratarea culturii de *Penicillium viride* cu unde milimetrice de intensitate joasă cu λ 5,6 mm emise în regim periodic peste 24 ore de cultivare submersă, continuarea procesului de cultivare. Ca sursă de unde milimetrice servește generatorul „Явь-1”.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1. Suspensia de spori se pregătește prin spălarea cu apă distilată sterilă a culturii de *Penicillium viride* crescută timp de 21 zile pe suprafețe oblice de maț-agar. Ulterior, materialul semincer în concentrație de 10% în bază volumetrică se inoculează în mediul nutritiv steril cu următoarea compoziție (g/l): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0; ZnSO_4 0,25; MgSO_4 0,7; glucoză 1,0; făină de porumb 15,0; borhot de sfeclă 25,0; apă potabilă până la 1,0 l, pH-ul inițial 6,0. Cultivarea micromicetei se efectuează în baloane Erlenmayer de 10,0 l cu 0,1 l mediu nutritiv, pe agitatoare rotative (180...200 r.p.m.) la temperatura de 28...30°C. Peste 24 ore de cultivare baloanele sunt scoase de pe agitatoare, cultura este transferată steril în pahare de sticlă și supusă acțiunii undelor milimetrice de intensitate joasă timp de 20 min. După iradiere cultura este retransferată în baloane Erlenmayer și se continuă procesul de cultivare în condițiile menționate. Durata cultivării constituie 96 ore.

Activitatea pectolitică în lichidul cultural dozată prin metoda interferometrică a constituit 1100,8 u/ml, ceea ce depășea cu 28,0% activitatea fixată la cultivarea tulpinii în condiții proximale.

Exemplul 2. Suspensia de spori se pregătește prin spălarea cu apă distilată sterilă a culturii de *Penicillium viride* crescută timp de 21 zile pe suprafețe oblice de maț-agar. Ulterior, materialul semincer în concentrație de 10% în bază volumetrică se inoculează în mediul nutritiv steril cu următoarea compoziție (g/l): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0; ZnSO_4 0,25; MgSO_4 0,7; glucoză 1,0; făină de porumb 15,0; borhot de sfeclă 25,0; apă potabilă până la 1,0 l, pH-ul inițial 6,0. Cultivarea micromicetei se efectuează în baloane Erlenmayer de 10,0 l cu 0,1 l mediu nutritiv, pe agitatoare rotative (180...200 r.p.m.) la temperatura de 28...30°C. Peste 24 ore de cultivare baloanele sunt scoase de pe agitatoare, cultura este transferată steril în pahare de sticlă și supusă acțiunii undelor milimetrice de intensitate joasă timp de 15 min. După iradiere cultura este retransferată în baloane Erlenmayer și se continuă procesul de cultivare în condițiile menționate. Durata cultivării constituie 96 ore.

Activitatea pectolitică în lichidul cultural dozată prin metoda interferometrică a constituit 1143,8 u/ml, ceea ce depășea cu 33,0% activitatea fixată la cultivarea tulpinii în condiții proximale.

Varianta II constă în pregătirea materialului semincer (suspensie de spori), tratarea materialului semincer cu unde milimetrice de intensitate joasă cu λ 5,6 mm emise în regim periodic, însămânțarea mediului nutritiv steril, procesul cultivării, tratarea culturii de *Penicillium viride* cu unde milimetrice de intensitate joasă cu λ 5,6 mm emise în regim periodic peste 24 ore de cultivare submersă, continuarea procesului de cultivare. Ca sursă de unde milimetrice servește generatorul „Явь-1”.

Exemplul 1. Suspensia de spori pregătită prin spălarea cu apă distilată sterilă a culturii de *Penicillium viride* crescută timp de 21 zile pe suprafețe oblice de maț-agar se supune acțiunii undelor milimetrice de intensitate joasă timp de 20

min. Ulterior, materialul semincer în concentrație de 10% în bază volumetrică se inoculează în mediul nutritiv steril cu următoarea compoziție (g/l): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0; ZnSO_4 0,25; MgSO_4 0,7; glucoză 1,0; făină de porumb 15,0; borhot de sfeclă 25,0; apă potabilă până la 1,0 l, pH-ul inițial 6,0. Cultivarea micromicetei se efectuează în baloane Erlenmayer de 10,0 l cu 0,1 l mediu nutritiv, pe agitatoare rotative (180...200 r.p.m.) la temperatura de 28...30°C. Peste 24 ore de cultivare baloanele sunt scoase de pe agitatoare, cultura este transferată steril în pahare de sticlă și supusă acțiunii undelor milimetrice de intensitate joasă timp de 20 min. După iradiere cultura este retransferată în baloane Erlenmayer și se continuă procesul de cultivare în condițiile menționate. Durata cultivării constituie 96 ore.

Activitatea pectolitică în lichidul cultural dozată prin metoda interferometrică a constituit 1169,6 u/ml, ceea ce depășea cu 36,0% activitatea fixată la cultivarea tulpinii în condiții proximale.

Exemplul 2. Suspensia de spori pregătită prin spălarea cu apă distilată sterilă a culturii de *Penicillium viride* crescută timp de 21 zile pe suprafețe oblice de malț-agar este supusă acțiunii undelor milimetrice de intensitate joasă timp de 15 min.

Ulterior, materialul semincer în concentrație de 10% în bază volumetrică se inoculează în mediul nutritiv steril cu următoarea compoziție (g/l): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0; ZnSO_4 0,25; MgSO_4 0,7; glucoză 1,0; făină de porumb 15,0; borhot de sfeclă 25,0; apă potabilă până la 1,0 l, pH-ul inițial 6,0. Cultivarea micromicetei se efectuează în baloane Erlenmayer de 10,0 l cu 0,1 l mediu nutritiv, pe agitatoare rotative (180...200 r.p.m.) la temperatura de 28...30°C. Peste 24 ore de cultivare baloanele sunt scoase de pe agitatoare, cultura este transferată steril în pahare de sticlă și supusă acțiunii undelor milimetrice de intensitate joasă timp de 15 min. După iradiere cultura este retransferată în baloane Erlenmayer și se continuă procesul de cultivare în condițiile menționate. Durata cultivării constituie 96 ore.

Activitatea pectolitică în lichidul cultural dozată prin metoda interferometrică a constituit 1195,4 u/ml, ceea ce depășea cu 39,0% activitatea fixată la cultivarea tulpinii în condiții proximale.