

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la o tulpină de micromicete *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11, utilizată pentru obținerea catalazei.

Este cunoscută tulpina *Penicillium vitale* – producătoare de catalază. La cultivarea tulpinii la temperatura de 26...28°C, timp de 44 ore cantitatea catalazei constituie 40...50 U/mL, iar la 96 ore – 80...200 U/mL [1].

Este cunoscută tulpina de micromicete *Aspergillus niger* producătoare de catalază ce posedă o activitate enzimatică de 200 U/mL [2].

Este cunoscută tulpina *Penicillium piceum* F 648 – producător de catalază. Activitatea catalazei pe mediul optimizat constituie 160...200 U/mL [3].

Dezavantajul acestor tulpini constă în capacitatea joasă de biosinteză a catalazei.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în selectarea unei noi tulpini autohtone de micromicete, care asigură biosinteza maximă a catalazei cu activitate superioară față de tulpinile de micromicete – producătoare de catalază cunoscute.

Esența invenției constă în faptul că se propune o tulpină de *Penicillium funiculosum*, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al A.Ș.M. cu nr. CNMN FD 11 în calitate de sursă de catalază.

Rezultatul invenției constă în biosinteza maximă a catalazei cu activitate enzimatică înaltă. Mediile nutritive sunt simple, ieftine și condiționate de particularitățile fiziologo-biochimice și metabolismul adaptiv al tulpinii.

Obținerea biosintezei maxime a catalazei are loc la cultivarea submersă a tulpinii în baloane Erlenmayer, pe agitator (180...200 r.p.m.) timp de 5...6 zile, la temperatura de 28...30°C, în mediul cu compoziția (%): glucoză 4,0; KNO<sub>3</sub> 0,7...0,8; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,20...0,30; K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,20...0,30; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O 0,005; FeSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O 0,005; extract de drojdii 1,5...1,8 la pH inițial 5...7. Activitatea enzimatică a catalazei constituie 380...430 U/mL.

Tulpina propusă a fost izolată în cultură pură din sol de cernoziom tipic - zona centrală a Republicii Moldova.

Caracteristicile morfologice ale tulpinii.

Pe mediul malț-agar tulpina formează colonii de 4...5 cm, bombate, hifele împleticite spongios, foarte sporulente, marginea netedă. Măciuliile conidiale abundente, conglomerate, galben-verzi. Culoarea coloniilor la început galben-verde, oranj sau albă, roză în centru, apoi verde-cărămizie cu nuanțe de roz, marginea galbenă sau incoloră (0,5 cm). Sporii rotunzi cu marginea netedă. Reversul de culoare cărămizie. Miros tipic de mucegai.

Pe mediu Czapek coloniile sunt bombate la mijloc, împleticite spongios, culoarea verde-surie, galbenă cu nuanțe roze. Treptat culoarea se schimbă în verde-cărămizie la centru cu nuanță violet-brună. Marginea galben-deschisă, apoi incoloră (0,3 cm). Măciuliile conidiale de culoare verde. Sporii rotunzi cu marginea netedă. Reversul de culoare teracotei sau galben-brună. Miros tipic de mucegai.

Particularitățile fiziologice și biochimice ale tulpinii: microorganism strict aerob, tulpina crește în limitele de temperatură +5...+40°C, temperatura optimă de creștere și biosinteză enzimatică +28...+30°C. Limitele valorii pH-ului pentru dezvoltarea tulpinii 5,0...8,0, pH-ul optimal pentru biosinteza enzimatică a catalazei 6,0...7,0. În calitate de sursă de carbon asimilează: zaharoza, glucoza, fructoza, mai slab arabinosa, amidonul, xiloza, maltoza. În calitate de sursă de azot anorganic asimilează sărurile: KNO<sub>3</sub>, NaNO<sub>3</sub>, mai slab sărurile amoniacale. Din sursele de azot organic cel mai bine asimilează extractul de porumb și extractul de drojdii.

Valorile acumulării biomasei absolute uscate (BAU) din lichidul cultural, la cultivarea submersă a tulpinii, constituie 9,0...12,8%. Activitatea catalazei este de 380...430 U/mL.

*Exemple de realizare a invenției*

*Exemplul 1*

Mediul nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii, %: glucoză 4,0; KNO<sub>3</sub> 0,7; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,25; K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,25; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O 0,005; FeSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O 0,005; extract de drojdii 1,8; pH inițial 7,0. Sterilizarea mediului se face în autoclave la presiunea de 0,5 atmosfere timp de 45 minute, Însămânțarea se înfăptuiește cu suspensie de spori în volum de 5 mL cu densitatea de 4 x 10<sup>6</sup>. Cultivarea se realizează în baloane Erlenmayer de 0,5 L cu 100 mL mediu, în condiții de agitare continuă timp de 6 zile la temperatura de 28°C. Activitatea enzimatică a catalazei constituie 390...420 U/mL.

*Exemplul 2*

Mediul nutritiv pentru cultivare, %: glucoză 4,0; KNO<sub>3</sub> 0,80; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,20; K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,30; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O 0,005; FeSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O 0,005; extract de drojdii 1,5, pH inițial 6,0. Sterilizarea mediului se face în autoclave la presiunea de 0,5 atmosfere timp de 45 minute. Însămânțarea se înfăptuiește cu suspensie de spori în volum de 10 mL cu densitatea de 4 x 10<sup>6</sup>. Cultivarea se realizează în baloane Erlenmayer de 1,0 L cu 200 mL mediu, în condiții de agitare continuă timp de 5 zile la temperatura de 30°C. Activitatea enzimatică a catalazei constituie 400...430 U/mL.