



MD 4059 B1 2010.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4059** ⁽¹³⁾ **B1**

(51) Int. Cl.: *C12N 1/14* (2006.01)
C12N 9/08 (2006.01)
C12R 1/80 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

| | |
|---|--|
| Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării | |
| (21) Nr. depozit: a 2010 0025 (22) Data depozit: 2010.02.18 | (45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2010.07.31, BOPI nr. 7/2010 |
| (71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD | |
| (72) Inventator: SIRBU Tamara, MD | |
| (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD | |

(54) **Tulpină de micromicete *Penicillium funiculosum* - sursă de catalază**

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la biotehnologie, în particular la o tulpină de micromicete *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11, utilizată pentru obținerea catalazei.

Se propune o tulpină de micromicete *Penicillium funiculosum*, depozitată în Colecția

2
5 Națională de Microorganisme Napatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al A.Ș.M cu numărul CNMN FD 11 în calitate de sursă de catalază.

Revendicări: 1

10

MD 4059 B1 2010.07.31

Descriere:

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

5 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].

10 Este cunoscută tulpina *Penicillium piceum* F 648 – producător de catalază. Activitatea catalazei pe mediu 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.

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

20 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.

25 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; KNO₃ 0,7...0,8; NaH₂PO₄ 0,20...0,30; K₂PO₄ 0,20...0,30; MgSO₄ x 7H₂O 0,005; FeSO₄ x 7H₂O 0,005; extract de drojzii 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.

30 Pe mediul mălț-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.

35 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 culoarea teracotei sau galben-brună. Miros tipic de mucegai.

40 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 arabinoza, amidonul, xiloza, maltoza. În calitate de sursă de azot anorganic asimilează sărurile: KNO₃, NaNO₃, mai slab sărurile amoniacale. Din sursele de azot organic cel mai bine asimilează extractul de porumb și extractul de drojzii.

45 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

50 Mediul nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii, %: glucoză 4,0; KNO₃ 0,7; NaH₂PO₄ 0,25; K₂PO₄ 0,25; MgSO₄ x 7H₂O 0,005; FeSO₄ x 7H₂O 0,005; extract de drojzii 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 10⁶. Cultivarea se realizează în baloane Erlenmayer de 0,5 L cu 100 mL mediu, în condiții de agitare 55 continuă timp de 6 zile la temperatura de 28°C. Activitatea enzimatică a catalazei constituie 390...420 U/mL.

Exemplul 2

5 Mediul nutritiv pentru cultivare, %: glucoză 4,0; KNO₃ 0,80; NaH₂PO₄ 0,20; K₂PO₄ 0,30; MgSO₄
x 7H₂O 0,005; FeSO₄ x 7H₂O 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
10 suspensie de spori în volum de 10 mL cu densitatea de 4 x 10⁶. 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.

(57) Revendicări:

15 Tulpină de micromicete *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 - sursă de catalază.

20

(56) Referințe bibliografice:

1. Методы экспериментальной микологии. Билай В.И. Киев, Наукова думка, 1982, с. 112-114, 124-127
2. Павловская Ж.И., Мороз И.В., Михайлова Р.В., Лобанок А.Г., Еремин А.Н. Влияние компонентов питательной среды на образование внеклеточной каталазы *Penicillium piceum* F – 648. Биотехнология, 2001, №3, с. 18-24

Șef Secție:

GROSU Petru

Examinator:

BAZARENCO Tatiana

Redactor:

UNGUREANU Mihail