



MD 1748 F1

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 1748⁽¹³⁾ F1
(51) Int. Cl.⁷: C 12 N 1/14, 9/24;
C 12 S 3/12; C 12 R 1:845

(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 2000 0117 (22) Data depozit: 2000.07.14	(43) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului pe răspunderea solicitantului: 2001.09.30, BOPI nr. 9/2001
(71) Solicitant: Institutul de Microbiologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD	
(72) Inventatori: Deseatnic Alexandra, MD; Tiurin Jana, MD; Gărbălau Nicolae, MD; Coropceanu Eduard, MD; Labliuc Svetlana, MD; Bologa Olga, MD	
(73) Titular: Institutul de Microbiologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD	

(54) Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus*, variante

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la biotehnologie, în particular la mediile de cultivare a tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* și poate fi utilizată la obținerea enzimelor pectolitice, aplicate în industria alimentară, eterooleaginoasă etc.

Esența invenției constă în aceea că mediile nutritive pentru cultivarea tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* conțin borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă. În calitate de biostimulator mediile conțin suplimentar unul din compușii coordinați din clasa bis-dimetil-

2
glioximaților de Co(III) având formula
5 [Co(DH)₂(Thio)₂]₃F[SiF₆]·1,5H₂O sau
[Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]·3H₂O, unde DH este radicalul de dimetilglioximat, iar Thio - tiocarbamida.

10 Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei și activității enzimelor pectolitice.

Revendicări: 2

15

MD 1748 F1

MD 1748 F1

3

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un mediu de cultivare a tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* și poate fi utilizată la obținerea enzimelor pectolitice, aplicate în industria alimentară, eterooleaginoasă etc.

5 Este cunoscut procedeul de cultivare a tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* [1], în care ca mediu nutritiv optim se utilizează compoziția cu următorul raport al ingredientelor, g:

	borhot de sfeclă	45,0
	făină de porumb	15,0
	glucoză	1,0
10	sulfat de amoniu	1,0
	sulfat de magneziu	0,7
	sulfat de zinc	0,25
	apă potabilă	până la 1 L.

15 Dezavantajul procedurii constă în faptul că pe mediul cu componența sus-menționată biosinteza enzimelor pectolitice și activitatea lor sunt joase.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în sporirea biosintezei și activității enzimelor pectolitice.

20 Problema se soluționează prin aceea că se propune mediul de cultivare a tulpinii *Rhizopus arrhizus*, care conține borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă. Mediul solicitat suplimentar conține în calitate de biostimulator unul din compușii coordinativi din clasa bis-dimetilgloximaților Co(III) având formula $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ sau $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, unde DH este radicalul dimetilgloximatului, iar Thio - tiocarbamida, în următorul raport al ingredientelor, g:

25	borhot de sfeclă	22,0...23,0
	făină de porumb	14,0...16,0
	glucoză	0,9 ... 1,1
	sulfat de amoniu	0,9 ... 1,1
	sulfat de magneziu	0,6 ... 0,8
30	sulfat de zinc	0,24 ... 0,26
	dimetilgloximatul de Co(III)	0,001...0,005
	apă potabilă	până la 1 L.

Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei și activității enzimelor pectolitice.

35 Activitatea enzimelor pectolitice a lichidelor culturale (LC) ale tulpinii *Rhizopus arrhizus*, obținute la utilizarea mediului conform celei mai apropiate soluții și optimizate (cu adaosul biostimulatorilor: $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ și $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) este reprezentată în tabel.

Efectul biostimulator este cauzat de includerea într-un singur compus chimic individual a trei microelemente: Co, Si și F, necesare dezvoltării unor microorganisme.

40 Activitatea enzimelor pectolitice a lichidelor culturale (LC) ale tulpinii *Rhizopus arrhizus* este determinată prin metoda interferometrică și este reprezentată în unități convenționale la 1 mL (u.c./mL).

Variantele mediilor	Numărul de probe	Concentrațiile biostimulatorului, mg/L	Activitatea enzimelor pectolitice, u. c./mL
Cea mai apropiată soluție (control)	10	-	35,0±0,5
$[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$	10	1	52,1±0,2
	10	5	91,9±0,6
	10	10	92,8±0,3
$[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	10	1	55,7±0,3
	10	5	99,3±0,7

MD 1748 F1

4

	10	10	99,4±0,5
--	----	----	----------

În varianta de control dioximații cobaltului cu fluorul lipsesc și activitatea este egală cu 35,0 u. c./mL. Din tabel se vede că în cazul utilizării variantelor de medii optimizate (cu concentrațiile substanțelor de 1 mg/L și 5 mg/L) activitatea enzimelor pectolitice ale tulpinii *Rhizopus arrhizus* este superioară considerabil în comparație cu cea mai apropiată soluție. Activitatea maximă a pectinazelor a fost înregistrată la concentrația de 5 mg/L de substanță. Sporirea concentrației compușilor complecși de la 5 la 10 mg/L este inefficientă, deoarece activitatea pectolitică crește neînsemnat.

Exemplul 1

Tulpina *Rhizopus arrhizus* este cultivată timp de 48 ore în baloane Erlenmayer cu volumul de 1000 mL cu 250 mL de mediu și se sterilizează la 115°C timp de 30 min.

10	Compoziția mediului, g:	
	borhot de sfeclă	22,0...23,0
	făină de porumb	14,0...16,0
	glucoză	0,9...1,1
	sulfat de amoniu	0,9...1,1
15	sulfat de magneziu	0,6...0,8
	sulfat de zinc	0,24...0,26
	[Co(DH) ₂ (Thio) ₂] ₃ F[SiF ₆]·1,5H ₂ O	0,001...0,005
	apă potabilă	până la 1 L.

După 48 ore de cultivare a tulpinii de funghi *Rhizopus arrhizus* activitatea enzimelor pectolitice în varianta de control constituie 35,0 u. c./mL, iar varianta cu dioximatul cobaltului(III) cu fluor 91,9 u. c./mL.

Exemplul 2

Tulpina de funghi *Rhizopus arrhizus* se cultivă timp de 48 ore în baloane Erlenmayer cu volumul de 250 mL cu 100 mL de mediu cu compoziția indicată mai jos și se sterilizează la 115°C timp de 30 min.

25	Compoziția mediului, g:	
	borhot de sfeclă	22,0...23,0
	făină de porumb	14,0...16,0
	glucoză	0,9...1,1
	sulfat de amoniu	0,9...1,1
	sulfat de magneziu	0,6...0,8
30	sulfat de zinc	0,24...0,26
	[Co(DH) ₂ (Thio) ₂] ₂ [SiF ₆]·3H ₂ O	0,001...0,005
	apă potabilă	până la 1 L.

În varianta de control activitatea constituie 35,0 u. c./mL, iar în varianta optimizată cu adăugarea a 5 mg/L de [Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]·3H₂O activitatea pectolitică constituie 99,3 u. c./mL.

35

MD 1748 F1

5

(57) Revendicări:

1. Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus*, care conține borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă, **caracterizat**

5 **prin aceea că** suplimentar conține bis-dimetilglioiximatul de Co(III) cu formula $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ în următorul raport al ingredientelor, g:

borhot de sfeclă	22,0 ... 23,0
făină de porumb	14,0 ... 16,0
glucoză	0,9 ... 1,1
10 sulfat de amoniu	0,9 ... 1,1
sulfat de magneziu	0,6 ... 0,8
sulfat de zinc	0,24 ... 0,26
$[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$,	0,001 ... 0,005

unde DH - radicalul de dimetilglioiximat,

15 iar Thio - tiocarbamida,

apă potabilă până la 1 L.

2. Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus*, care conține borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă, **caracterizat**

20 **prin aceea că** suplimentar conține bis-dimetilglioiximatul de Co(III) cu formula $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ în următorul raport al ingredientelor, g:

borhot de sfeclă	22,0 ... 23,0
făină de porumb	14,0 ... 16,0
glucoză	0,9 ... 1,1
sulfat de amoniu	0,9 ... 1,1
25 sulfat de magneziu	0,6 ... 0,8
sulfat de zinc	0,24 ... 0,26
$[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$,	0,001 ... 0,005

unde DH - radicalul de dimetilglioiximat,

30 iar Thio - tiocarbamida,

apă potabilă până la 1 L.

(56) Referințe bibliografice:

1. Десятник А.А., Тюрина Ж.П., Виноградова С.П., Лаблюк С.В. Эффективные технологии производства новых ферментных препаратов микробного происхождения и их использование в перерабатывающих отраслях. Обзорная информация, Ин-т техн.-экон. инф. Кишинэу, 1998, с. 16-24

Șef Secție:

CRASNOVA Nadejda

Examinator:

BAZARENCO Tatiana

Redactor:

CANȚER Svetlana