



MD 1748 G2 2001.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 1748⁽¹³⁾ G2

(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**

(21) Nr. depozit: a 2000 0117 (22) Data depozit: 2000.07.14	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 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; GĂRBĂLĂU 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 particu-
lar la mediile de cultivare a tulpinii de fungi
Rhizopus arrhizus și poate fi utilizată la obținerea
enzimelor pectolitice, aplicate în industria alimen-
tară, 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

2
5 din compușii coordinați din clasa bis-
dimetilglioximaților de 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
sau
10 $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, unde DH este radi-
calul de dimetilglioximat, iar Thio - tiocarbamida.
Rezultatul invenției constă în sporirea
biosintezei și activității enzimelor pectolitice.
Revendicări: 2

15

MD 1748 G2 2001.09.30

MD 1748 G2 2001.09.30

3

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un mediu de cultivare a tulpinii de funghi *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 funghi *Rhizopus arrhizus* [1], în care ca mediu nutritiv optim se utilizează compoziția cu următorul raport al ingredientelor, g/L:

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

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

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

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/L:

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

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

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.

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

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
	10	10	99,4±0,5

40 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

MD 1748 G2 2001.09.30

4

substanță. Sporirea concentrației compușilor complecși de la 5 la 10 mg/L este ineficientă, deoarece activitatea pectolitică crește neînsemnat.

5 *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.

Compoziția mediului, g/L:

	borhot de sfeclă	22,0...23,0
10	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
	sulfat de zinc	0,24...0,26

15 [Co(DH)₂(Thio)₂]₃F[SiF₆]·1,5H₂O 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.

20 *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.

Compoziția mediului, g/L:

	borhot de sfeclă	22,0...23,0
	făină de porumb	14,0...16,0
25	glucoză	0,9...1,1
	sulfat de amoniu	0,9...1,1
	sulfat de magneziu	0,6...0,8
	sulfat de zinc	0,24...0,26

30 [Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]·3H₂O 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.

MD 1748 G2 2001.09.30

5

(57) Revendicări:

- 5 1. Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de funghi *Rhizopus arrhizus*, care conține borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă, **caracterizat prin aceea că** suplimentar conține bis-dimetilgloximatul 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/L:
- | | |
|---|---------------|
| borhot de sfeclă | 22,0...23,0 |
| făină de porumb | 14,0...16,0 |
| 10 glucoză | 0,9... 1,1 |
| sulfat de amoniu | 0,9 ... 1,1 |
| sulfat de magneziu | 0,6 ... 0,8 |
| sulfat de zinc | 0,24...0,26 |
| 15 $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$,
unde DH - radicalul de dimetilgloximat,
iar Thio - tiocarbamida, | 0,001...0,005 |
| apă potabilă | până la 1 L. |
- 20 2. Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de funghi *Rhizopus arrhizus*, care conține borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă, **caracterizat prin aceea că** suplimentar conține bis-dimetilgloximatul 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/L:
- | | |
|---|---------------|
| borhot de sfeclă | 22,0...23,0 |
| făină de porumb | 14,0...16,0 |
| 25 glucoză | 0,9...1,1 |
| sulfat de amoniu | 0,9...1,1 |
| sulfat de magneziu | 0,6...0,8 |
| sulfat de zinc | 0,24...0,26 |
| 30 $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$,
unde DH - radicalul de dimetilgloximat,
iar Thio - tiocarbamida, | 0,001...0,005 |
| 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