

Invenția se referă la microbiologie, în particular la o tulpină de funghi, care poate fi utilizată în industria microbiologică pentru obținerea enzimelor lipolitice.

Este cunoscută tulpina de funghi *Mucor miehei* – producătoare de enzime lipolitice. Dezavantajul tulpinii este capacitatea joasă de biosinteză – 4500...5000 u/mL [1].

Mai este cunoscută tulpina de funghi *Penicillium solitum* WEST IM – producătoare de enzime lipolitice. Dezavantajele acestei tulpini constau în activitatea lipolitică joasă 10500...12000 u/mL și durata de cultivare relativ mare (5 zile). Tulpina prezintă un mutant obținut prin iradiere cu raze UV [2].

Este cunoscută de asemenea tulpina de funghi *Aspergillus niger* 412 – producătoare de enzime lipolitice. Dezavantajele tulpinii constau în activitatea lipolitică comparativ joasă – 20500...23250 u/mL și durata de cultivare relativ mare (4 zile) [3].

Esența invenției constă în obținerea unei tulpini noi de funghi *Rhizopus arrhizus* Fischer 67 CNMN FD 03, care poate fi utilizată ca producător de enzime lipolitice (lipaze).

Tulpina propusă se caracterizează prin activitate lipolitică înaltă și durată scurtă de cultivare (2 zile) grație particularităților fiziologo-biochimice și metabolismului adaptiv al tulpinii. Ea se cultivă pe medii nutritive simple și ieftine.

Pentru creșterea, dezvoltarea și activitatea biosintetică a tulpinii poate fi folosit mediul cu compoziția (g): făină de soia – 35,0; K_2HPO_4 – 5,0; $(NH_4)_2SO_4$ – 1,0; apă potabilă – restul până la 1 litru, pH-ul inițial 8,0. Activitatea lipolitică a tulpinii constituie 37500...40000 u/mL.

Caracteristica cultural-morfologică a tulpinii *Rhizopus arrhizus* Fischer 67

Pe mediul agarizat Czapek formează numeroase colonii cu dimensiunile de 2,5...3 cm. Miceliul de substrat este compact, alb, aprofundat sau așternut pe suprafața substratului, în strat spongios, străveziu. Măciuliile conidiale sunt abundente, conglomerate, de culoare cafenie. Miceliul aerian este de culoare albă cu înălțimea de 0,8...1,5 cm și grosimea de 0,8...1,0 μm . Sterigmele sunt drepte, cu ramificație dublă. Conidiile sunt sferice, de culoare cafenie deschisă, cu vârsta devin negre. Sporii sunt sferici, ovali cu mărimea de 0,5...0,8 μm . Rezervum incolor. Exudatul lipsește. Mirosul tipic de mucegai.

Pe mediu de malț agarizat coloniile se dezvoltă mult mai repede și au dimensiuni mai mari (5...6 cm în diametru), sunt netede sau pufoase, abundent sporulente; conidioforii scurți; miceliul de substrat compact, aprofundat, străveziu; miceliul aerian bine dezvoltat, de culoare albă.

Sursele de carbon. Asimilează bine glucoza, zaharoza, amidonul și pectina; mai slab etanolul, nu asimilează arabinoza și lactoza. Sursele de azot. Asimilează bine azotul amoniacal, mai slab nitratul de azot. Crește bine pe mediul malț-agar, tăieței de morcov și cartof.

Caracteristica fiziologo-biochimică

Tulpina crește și se dezvoltă bine pe mediul având componența (g): făină de soia – 35,0; K_2HPO_4 – 5,0; $(NH_4)_2SO_4$ – 1,0, apă potabilă – restul, până la 1 litru, pH-ul inițial 8,0. Tulpina se caracterizează prin activitate lipolitică extracelulară înaltă. Activitatea lipolitică maximă se înregistrează în ziua a 2-a de cultivare. Chemoorganotrof. Crește în limitele de temperaturi +5...+42°C. Temperatura optimală de creștere și biosinteză constituie +28...+30°C. Creșterea la temperaturi mai înalte (+42°C) este urmată de pierderea esențială a activității lipolitice. Limitele valorilor pH-ului pentru dezvoltarea tulpinii 7,5...8,5; pH optimal pentru biosinteza enzimelor lipolitice – 8,0. Identificarea tulpinii s-a efectuat în conformitate cu Милько А.А. Определитель мукоральных грибов. Киев, Наукова Думка, 1974.

Tulpina acumulează biomasă până la 20 g/L de mediu, ce conține aminoacizii (%): valină – 5,55; leucină – 6,0, tirozină – 1,04, metionină – 0,42, glicină – 7,43, treonină – 3,5 ș.a. (% din suma aminoacizilor). Posedă capacitatea de a sintetiza enzime hidrolitice extracelulare: lipaze, amilaze, proteaze. Activitatea lipolitică pe mediul nutritiv cu făină de soia și sărurile K_2HPO_4 și $(NH_4)_2SO_4$ în a 2-a zi de cultivare constituie 37500...40000 u/mL lichid cultural.

Exemplul 1

Tulpina este cultivată pe mediul nutritiv având componența (g): făină de soia – 35,0; K_2HPO_4 – 5,0; $(NH_4)_2SO_4$ – 1,0, apă potabilă – restul până la 1 litru, pH-ul inițial 8,0. Sterilizarea mediului se face în autoclave la presiunea de 1 atmosferă timp de 1 oră. Însămânțarea se înfăptuiește cu suspensie apoasă de spori în volum de 10 mL cu densitatea de 3×10^6 spori/mL. Cultivarea se realizează în baloane Erlenmayer de 0,5 L cu 100 mL mediu, în condiții de agitare continuă timp de 2 zile la temperatura de 28°C. Activitatea lipolitică constituie 37000 u/mL.

Exemplul 2

Tulpina este cultivată pe mediul nutritiv având componența (g): făină de soia – 35,0; K_2HPO_4 – 5,0; $(NH_4)_2SO_4$ – 1,0, apă potabilă restul, până la 1 litru, pH-ul inițial 8,0. Sterilizarea mediului se face în autoclave la presiunea de 1 atmosferă – de 1 oră. Însămânțarea se înfăptuiește cu suspensie apoasă de spori în volum de 10 mL cu densitatea de 3×10^6 spori/mL. Cultivarea se realizează în baloane Erlenmayer de 1,0 L cu 100 mL mediu, în condiții de agitare continuă timp de 2 zile la temperatura de 30°C. În ziua a 2-a de cultivare activitatea lipolitică constituie 40000 u/mL.