



(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. cerere: **97-01343**

(22) Data de depozit: **21.07.1997**

(30) Prioritate:

(41) Data publicării cererii:
BOPI nr.

(42) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
28.02.2000 BOPI nr. **2/2000**

(45) Data eliberării și publicării brevetului:
BOPI nr.

(61) Perfecționare la brevet:
Nr.

(62) Divizată din cererea:
Nr.

(86) Cerere internațională PCT:
Nr.

(87) Publicare internațională:
Nr.

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**P. Somasegaran, Guidelines for inoculat
production, FAO, Roma, 1994, pag.
87...105**

(71) Solicitant: **S.C. "COLUMBIA GOLD PRODUCȚIE ȘI COMERȚ" S.R.L., BUCUREȘTI, RO;**

(73) Titular: **S.C. "COLUMBIA GOLD PRODUCȚIE ȘI COMERȚ" S.R.L., BUCUREȘTI, RO;**

(72) Inventatori: **OANCEA FLORIN, BUCUREȘTI, RO; TUDOR PETRE, BUCUREȘTI, RO; TUDOR VIOLETA,
BUCUREȘTI, RO;**

(74) Mandatar:

(54) **SUBSTRAT DE CONDIȚIONARE A MICROORGANISMELOR
UTILE PLANTELOR DE CULTURĂ ȘI PROCEDEU DE UTILIZARE**

(57) **Rezumat:** Invenția se referă la un substrat de condiționare a microorganismelor utile plantelor de cultură, care este alcătuit din 95...96 părți reziduuri de cafea extrasă, provenite de la secțiunile de obținere a cafelei solubile, cu umiditatea reziduală cuprinsă între 25 și 30%, 2,2... 2,4 părți sulfat de calciu dihidratat și 1,8...2,6 părți silicagel, părțile fiind exprimate în greutate. Procedeu de utilizare a substratului presupune următoarele etape: uscarea reziduurilor de cafea extrasă prin presare mecanică cu 50...80 MPa până la reducerea umidității de 25...30%, introducerea a 190...192 părți reziduuri de cafea, astfel prelucrate, în pungi de polipropilenă, formate din film cu grosimea de 0,025... 0,040 mm, inocularea cu 50...52 părți suspensie conținând: 10^{10} ... 10^{11} , microorga-

nisme ml, aparținând genurilor cum ar fi *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Synorhizobium*, *Azorhizobium*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Frankia*, *Azotobacter*, *Azotomonas*, *Pseudomonas*, *Exterobacter*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Trichotecium*, *Fusarium*, amestecarea cu 4,4...4,8 părți sulfat de calciu dihidratat și 3,6...5,2 părți silicagel anhidru, părțile fiind exprimate în greutate, închiderea pungilor de polipropilenă și reambalarea lor în pungi de polietilenă, formate din film, cu grosimea de 0,050...0,075 mm, incubarea timp de 14...21 zile, la 28... 30°C, pentru maturarea biopreparatului prin fermentație secundară.

Revendicări: 2

RO 115453 B1



RO 115453 B1

Prezenta invenție se referă la un substrat pentru condiționarea microorganismelor utile plantelor de cultură și la un procedeu de utilizare a respectivului substrat, în vederea obținerii de biopreparate.

5 Sunt cunoscute numeroase substraturi folosite pentru condiționarea microorganismelor utile plantelor de cultură. Astfel, **BE 521850** din 1953 arată realizarea unui biopreparat de uz agricol, prin adsorbția unei culturi de *Rhizobium* pe adsorbenti de tipul pământelului de diatomee sau al silicei coloidale. În **GB 1177077** se menționează utilizarea pentru adsorbția microorganismelor parafină, iar **FR 1490046** propune folosirea ipsosului. În **US**
10 **2726948**, **3168796** și **4337078** se menționează folosirea ca suport a turbii amestecată cu carbonat de calciu, respectiv talc și caolin amestecat cu ulei sau zeoliți amestecați cu vermiculit și cu turbă.

În brevetele apărute în ultimii 20 ani se propune folosirea ca suport de condiționare a unor geluri rezultate prin solubilizarea în apă a unor polimeri
15 sintetici (acrilamidă - **US 4155737**; polivinilpirolidonă - **GB 2080669**; copolimer vinilpirolidonă vinil acetat - **US 4849005**; derivați de acid poli-acrilic - **US 4975105**) sau naturali (algi-nați - brevete **FR 2541306**, **2501229**; gumă de guar, gumă arabică și/sau xantani - **FR 2519022**; gumă de guar, gumă de caruba și xantani - **FR 2501229**).

20 În afara acestor suporturi naturale sau sintetice propuse prin brevete au fost publicate lucrări științifice în care au fost descrise biopreparate obținute prin condiționarea microorganismelor în diferite alte suporturi, inclusiv deșeuri lignocelulozolitice (ca, de exemplu, bagasă, deșeurile provenite de la industrializarea trestiei de zahăr, coji de arahide, ciocălăi de porumb, paie de grâu și orz, borhot de sfeclă de zahăr etc).

O recentă trecere în revistă a lucrărilor științifice publicate referitoare la producerea de biopreparate de uz agricol a fost realizată de Somasegaran ("Inoculant production with emphasis on choice of carrier, methods of production and reliability testing/quality assurance guideline" în "Guidelines for inoculant production", FAO, Roma, 1994, pag.87-105).
30

Toate aceste substraturi prezintă dezavantajul că necesită o serie întreagă de etape tehnologice de prelucrare inițială de uscare, măcinare, omogenizare, amestecare și/sau sterilizare, care sunt consumatoare de manoperă și energie.

35 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în realizarea procedurii de utilizare a substratului format din reziduuri de cafea extrasă în vederea extinderii gamei substraturilor pentru condiționarea microorganismelor utile plantelor de cultură.

40 Substratul de condiționare, conform invenției este alcătuit 95 ... 96 părți reziduuri de cafea extrasă provenite de la secțiunile de obținere a cafelei solubile, cu umiditatea reziduală cuprinsă între 25 și 30%, 2,2 ... 2,4 părți sulfat de calciu dihidratat și 1,8 ... 2,6 părți silicagel.

Procedeu de utilizare a substratului de condiționare, conform invenției presupune următoarele etape: uscarea reziduurilor de cafea extrasă prin presare mecanică cu 50 ... 80 MPa până la reducerea umidității la 25 ... 30%,
45 introducerea a 190 ... 192 părți reziduuri de cafea astfel prelucrate în pungi de polipropilenă, formate din film cu grosimea de 0,025 ... 0,040 mm, inocularea cu 50 ... 52 părți suspensie conținând: 10^{10} ... 10^{11} microorganisme/ml, aparținând genurilor, cum ar fi *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*,

RO 115453 B1

Synorhizobium, *Azorhizobium*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Frankia*, *Azotobacter*, *Azotomonas*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Trichotecium*, *Fusarium*, amestecarea cu 4,4 ... 4,8 părți sulfat de calciu dihidratat și 3,6 ... 5,2 părți silicagel anhidru, părțile fiind exprimate în greutate, închiderea pungilor de polipropilenă și reambalarea lor în pungi de polietilenă formate din film cu grosimea de 0,050 ... 0,075 mm, incubarea timp de 14 ... 21 zile la 28 ... 30°C pentru maturarea biopreparatului prin fermentație secundară. 50 55

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- se valorifică superior un produs secundar, reziduurile de cafea extrasă provenite de la fabricarea cafelei solubile, fără valoare economică și/sau tehnologică semnificativă, care se formează în proporție de 100 ... 125% față de produsul principal, cafeaua solubilă; 60

- se diversifică gama sortimentală a substraturilor de condiționare a microorganismelor utile;

- se elimină etapele inițiale de prelucrare a substratului, de măcinare, umectare, omogenizare și sterilizare. 65

Se prezintă în continuare un exemplu de realizare a invenției.

Reziduurile de cafea extrasă, provenite din secțiile de extracție ale fabricilor de cafea solubilă, se răcesc la temperatura de 50 ... 55°C și se presează cu 50 ... 80 MPa până la reducerea umidității la 25 ... 30%, 190 ... 192 părți reziduuri de cafea astfel prelucrate se introduc într-o pungă de polipropilenă (formată din film cu grosimea de 0,025 ... 0,040 mm) și se amestecă în condiții aseptice (la o hotă cu flux laminar, de exemplu) cu 50 ... 52 părți suspensie conținând: 10^{10} ... 10^{11} microorganisme/ml (aparținând, într-o enumerare care nu este exhaustivă, genurilor *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Synorhizobium*, *Azorhizobium*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Frankia*, *Azotobacter*, *Azotomonas*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Trichotecium*, *Fusarium*), 4,4 ... 4,8 părți sulfat de calciu dihidratat ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) și 3,6 ... 5,2 părți silicagel anhidru (produs de policondensare al acidului *orto*-silicic, amorf, parțial deshidratat). După amestecare, punga se închide prin termosudare, se reambalează într-o pungă de polietilenă (formată din film cu grosimea de 0,050 ... 0,075 mm) și apoi se incubă timp de 14 ... 21 zile la 28 ... 30°C pentru maturarea biopreparatului prin fermentație secundară. 70 75 80

Pentru a verifica rata supraviețuirii microorganismelor utile plantelor de cultură pe suportul prezentat în această invenție, s-a realizat următorul experiment: S-au realizat 24 pungi duble de aproximativ 250g, conform exemplului prezentat, cu *Azospirillum brasiliense* ca microorganism test, care după maturare au fost puse la păstrare la întuneric, la o temperatură de 18 ... 22°C și la o umiditate de 75 ... 80%. În paralel au fost supuse la aceleași condiții de păstrare 24 pungi duble, probe martor etalon, realizate prin adsorbția a 100 ml suspensie mediu de cultură conținând 10^{10} ... 10^{11} microorganisme/ml în turbă neagră la $\text{pH} = 6,5$, umiditate 9 ... 10%, sterilizată prin iradiere gamma. La 3, 6, 9 și 12 luni s-au prelevat câte 6 pungi în care s-a determinat numărul de microorganisme prin tehnica unităților formatoare de colonii. 85 90

RO 115453 B1

95

*Rata de supraviețuire a microorganismelor Azospirillum brasiliense
în suportul realizat conform invenției*

Suport de condiționare	Număr mediu de microorganisme (ufc/g) la:			
	3	6	9	12 luni
100 reziduuri de cafea extrase conf. exemplului	$2,3 \cdot 10^9$	36.109	$5,3 \cdot 10^9$	$2,1 \cdot 10^9$
105 turbă sterilizată prin iradiere*	$4,2 \cdot 10^9$	$5,9 \cdot 10^9$	$3,2 \cdot 10^9$	$1,2 \cdot 10^9$

* suportul cel mai larg utilizat

110 Rezultatele obținute (tabel) au demonstrat că suportul propus conform acestei invenții asigură o supraviețuire similară microorganismelor cu cea asigurată de suportul cel mai larg utilizat, turba sterilizată prin iradiere cu radiații $\gamma(^{60}\text{Co})$.

Revendicări

115

1. Substrat de condiționare a microorganismelor utile plantelor de cultură, **caracterizat prin aceea că** este alcătuit din 95 ... 96 părți reziduuri de cafea extrasă provenite de la secțiunile de obținere a cafelei solubile, cu umiditatea reziduală cuprinsă între 25 și 30%, 2,2 ... 2,4 părți sulfat de calciu dihidratat și 1,8 ... 2,6 părți silicagel, părțile fiind exprimate în greutate.

120

2. Procedeu de utilizare a substratului definit în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** presupune următoarele etape: uscarea reziduurilor de cafea extrasă prin presare mecanică cu 50 ... 80 MPa până la reducerea umidității la 25 ... 30%, introducerea a 190 ... 192 părți reziduuri de cafea astfel prelucrate în pungă de polipropilenă, formate din film cu grosimea de 0,025 ... 0,040 mm, inocularea cu 50 ... 52 părți suspensie conținând: 10^{10} ... 10^{11} microorganisme/ml, aparținând genurilor, cum ar fi *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Synorhizobium*, *Azorhizobium*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Frankia*, *Azotobacter*, *Azotomonas*, *Pseudomonas*, *Exterobacter*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Trichotecium*, *Fusarium*, amestecarea cu 4,4 ... 4,8 părți sulfat de calciu dihidratat și 3,6 ... 5,2 părți silicagel anhidru, părțile fiind exprimate în greutate, închiderea pungilor de polipropilenă și reambalarea lor în pungă de polietilenă formate din film cu grosimea de 0,050 ... 0,075 mm, incubarea timp de 14 ... 21 zile la 28 ... 30°C pentru maturarea biopreparatului prin fermentație secundară.

125

130

135

Președintele comisiei de examinare: **chim. Hăulică Mariela**

Examinator: **biochim. Crețu Adina**

