



(11) **RO 128733 B1**

(51) **Int.Cl.**

A01N 63/04 (2006.01),
C02F 3/34 (2006.01),
C05F 11/08 (2006.01),
C05G 3/04 (2006.01),
C12P 39/00 (2006.01),
C05F 9/04 (2006.01)

(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2012 00101**

(22) Data de depozit: **16/02/2012**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/10/2017** BOPI nr. **10/2017**

(30) Prioritate:

21/02/2011 HU P1100098

(41) Data publicării cererii:

30/08/2013 BOPI nr. **8/2013**

(73) Titular:

• **INTERPEAT AGRARKERESKEDELMI KFT., KOSSUTH U.2., TAPOLCA, HU;**
• **A.K.S.D. VAROSGAZDALKODASI KFT., ISTVAN UT.136, DEBRECEN, HU**

(72) Inventatori:

• **SARY ADRIENN, BERZSENYI U.86, TAPOLCA, HU;**

• **SARY LAJOS, BERZSENYI U.86, TAPOLCA, HU;**
• **SARY GYORGY, SZENT LASZLO U.4, TAPOLCA, HU;**
• **SARY ANDRAS, TORBAGY U.12 V/18, BUDAPESTA, HU**

(74) Mandatar:

CABINET DE PROPRIETATE INDUSTRIALĂ ARINOVA, STR. CORIOLAN PETREANU NR.28, ARAD, JUDEȚUL ARAD

(56) Documente din stadiul tehnicii:

HU 226832 B1; WO 2005/033021 A1

(54) **PREPARAT CU CONȚINUT DE MICROORGANISME,
PENTRU DESCOMPUNEREA BIOLOGICĂ A BIOMASEI
CU CONȚINUT DE RESTURI DE AGENȚI TOXICI**



RO 128733 B1

1 Prezenta invenție se referă la un preparat cu conținut de microorganisme, utilizabil
2 pentru descompunerea biologică a biomasei conținând resturi de agenți toxici sau periculoși,
3 proveniți din industria farmaceutică, din producția de biogaz și/sau de bioetanol-biodiesel,
4 precum și compostarea materialelor biologice.

5 Produsul servește la descompunerea pe cale microbiologică a resturilor de agenți
6 periculoși din deșeurile farmaceutice de fermentație și/sau industriale, precum și la tratarea
7 și transformarea biologică a amestecului compus în mod optim din resturile agricole care
8 apar ca produse secundare sau deșeuri.

9 În prezent mediul este expus încărcării continue cu deșeuri. O parte din acestea
10 conțin și componenți periculoși - resturi de agenți farmaceutici sau compuși organici. Pe de
11 altă parte, există numeroase materiale valoroase, nepericuloase, care nu se pot utiliza
12 singure, însă, datorită instabilității lor biologice, pot fi transformate în așa fel încât produsul
13 final, pierzând caracterul periculos și/sau nevaloros, să furnizeze substanțe nutritive utile
14 pentru plante, în același timp având și un efect de ameliorare a solului.

15 În prezent doar o foarte mică parte a deșeurilor, a produselor secundare prioritar
16 periculoase, rezultate din industria farmaceutică, în cursul producției biogazului sau
17 bioetanol-biodieselului, este utilizată după tratarea lor biologică.

18 Nu este utilizată - sau este utilizată doar limitat - posibilitatea asocierii deșeurilor
19 înrudite și care pot fi transformate biologic. Tehnologiile bazate pe compostare au în vedere
20 doar microorganisme native, care se găsesc în formă naturală, și care se găsesc accidental
21 în amestecuri, sau care, de exemplu, intră prin circulația aerului. În câteva cazuri putem
22 întâlni introducerea intenționată a anumitor specii de microorganisme, dar acestea în primul
23 rând cu scopul de a crește eficacitatea procedurii de compostare sau a produsului finit, de
24 a accelera descompunerea materiilor prime de compost, și nu cu scopul eliminării unui factor
25 periculos pentru mediu, obținând un produs-materie primă pentru agricultură.

26 Compostarea, care se poate numi faza finală în domeniul vizat, este un proces
27 microbiologic des întâlnit în natură, și este prima fază a carbonificării materiilor organice,
28 care se încheie cu humificare (**THE BIOLOGY OF COMPOSTING: A REVIEW; M. de
29 Bertoldi, G. Vallini and A. Pera; Waste Management & Research 1982**).

30 Oamenii, încă înainte de a cunoaște esența procesului, au utilizat procedeul spontan
31 pentru descompunerea deșeurilor, a îngrășămintelor organice (**Forced Aeration
32 Composting of Domestic Refuse and Sewage Sludge; Stentiford. M. A. et al. Wat.
33 Pollut. Control 1985**).

34 Astăzi este cunoscut în detaliu că, în cursul compostării, populații de microorganisme,
35 compuse din specii diferite, se schimbă între ele în funcție de factorii
36 de mediu și de compoziția substanțelor nutritive (**Composting Ecosystem Management for
37 Waste Treatment; M. S. Finstein, et. al. BIO/TECHNOLOGY 1983**).

38 Literatura de specialitate împarte compostarea în două etape, care nu pot fi separate
39 clar. Prima este așa-numita etapă de descompunere, în cadrul căreia microorganismele
40 transformă materialele organice cu molecule mari în compuși cu lanț
41 de carbon mai scurt, cu eliberare de căldură, CO₂, apă și alte materiale. Această primă etapă
42 este termofilă, în cursul căreia temperatura este de 40...60°C, și durează în general 30...50
43 zile. Etapa a doua este etapa de fermentare, mezofilă (de maturare), cu temperatura de
44 30...40°C și unde, pe lângă procesele microbiologice, ies în evidență și procesele chimice,
45 din moleculele mai simple formându-se diferiți compuși de humus și alți compuși organici.
46 În această etapă - prin scăderea proceselor microbiologice - temperatura scade la 20...30°C
47 și încet se stabilizează (**Comparison of three windrow compost systems; BioCycle
23(2); M. de Bertoldi, et al. 1982**).

RO 128733 B1

Conform descrierii brevetului maghiar **HU 193977**, se compostează nămol de miceliu rezultat din industria farmaceutică. Esența procedurii constă în adăugarea de materiale chimice optimizatoare (carbonat de potasiu sau carbonat de calciu-magneziu), precum și de deșeuri agricole cu conținut de celuloză, și în reglarea condițiilor fizice.

În descrierea brevetului maghiar **HU 216314**, descompunerea produselor periculoase, compuși halogenați aromatici, se realizează prin inocularea de culturi de microorganisme mixte - neidentificate - adăugând la amestec materiale anorganice care cresc porozitatea: nisip, zgură și materii organice, de exemplu: tocătură de lemn în condiții de aerisire intensivă.

HU 226832 B1 descrie moderarea efectului de poluare a mediului a locurilor de depozitare a deșeurilor solide pe lângă localități, și utilizează 5 specii de microorganisme (în majoritate bacterii), cum ar fi *Bacillus polymyxa* (ATCC 10401), *Paenibacillus amylolyticus* (ATCC 9995), *Mycobacterium smegmatis* (ATCC 10143), *Trichoderma polysporum* (ATCC20475) și *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 10274) - diferite de cele folosite în prezenta invenție - care sunt aplicate pe produsul intermediar, rezultat din producția de biogaz și melasă diluată, se compostează în straturi împreună cu deșeurile solide și se depozitează pentru 2...4 luni.

Descrierea brevetului maghiar **HU 226831**, cu publicarea internațională **WO 2005/033021 A1**, urmărește curățarea fazei lichide a dejecțiilor fluide separate.

Faza apoasă a gunoierului de grajd este tratat cu un inocul bacterian care conține *Bacillus megatherium*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens* și *Micrococcus roseus*. Inocularea în cazul dat este aplicată pe un suport de compost și/sau pe un suport de cenușă de coji de semințe de floarea-soarelui, gunoi de vite, gunoi de păsări, tulpini de paie și/sau un purtător de tulpini tocate de porumb la 30...35°C, sub aerisire continuă, timp de 10...20 zile.

Conform descrierii de brevet maghiar **HU 216100**, nămolul de epurare comunal, cu conținut ridicat în material uscat, este amestecat cu o cultură starter - diferită de organismele din prezenta invenție - și este tratat prin aerisire.

Brevetului maghiar **P 0001070** urmărește descompunerea deșeurilor toxice (de exemplu, poluări clorurate) prin procedeul de compostare regulată în prezența bacteriilor de sol aerobe și anaerobe neidentificate.

Brevetele enumerate - chiar dacă prezintă unele similitudini cu prezentul brevet - nu au ca scop și nu rezolvă descompunerea deșeurilor cu conținut de componente periculoși sau toxici, rămase din procesul de fermentare, și utilizarea lor în continuare, de exemplu, ca preparate pentru îmbunătățirea fertilității solului.

Din acest motiv, scopul invenției este ca deșeurile cu conținut de agenți periculoși - în majoritate compuși organici - să fie transformate prin descompunere microbiologică în deșeuri sigure, netoxice, dirijând procesul și, astfel, deșeurile devenite nepericuloase, dar cu conținut ridicat de elemente nutritive, să fie reintrodus într-un ciclu biologic, urmată de activitatea de compostare clasică.

Pentru realizarea acestui scop este nevoie de un procedeu avantajos, în cursul căruia, prin tratare corespunzătoare, se descompune factorul periculos, astfel se reduce impactul asupra mediului, iar deșeurile inutile se transformă într-un produs agricol folositor, comercializabil.

Obiectivul de mai sus se realizează conform invenției cu un preparat care conține microorganisme, după caz, împreună cu materiale purtătoare, compatibile din punct de vedere biologic. Asemenea preparate conțin ca microorganisme una sau mai multe culturi mixte, depozitate la Colecția Națională a Microorganismelor Agricole și Industriale, sub nr. NCAIM 135/2010, NCAIM 136/2010 sau NCAIM 137/2010, respectiv, unul sau mai multe dintre microorganismele care fac parte din aceste culturi mixte.

RO 128733 B1

1 De asemenea, constituie obiectul invenției și procedeul pentru descompunerea
2 biomasei cu conținut de agenți periculoși, recomandabil pentru descompunerea biomasei
3 periculoase, provenită din industria farmaceutică, producția de biogaz și bioetanol-biodiesel,
4 în cursul căreia se obține un produs de descompunere netoxic. Depozitarea acestor produse
5 se poate realiza simplu, dar se pot utiliza și pentru compostarea altor materiale biologice,
6 cum ar fi obținerea preparatelor agricole.

7 Noutatea procedurii conform invenției este că se amestecă în proporții stabilite mai
8 multe deșeuri, care se completează reciproc în mod practic din punct de vedere al sub-
9 stanțelor nutritive, al proporției carbon-azot, al conținutului de umiditate și al altor caracte-
10 ristici, amestecul acestora se tratează cu cultura mixtă de microorganisme, micro-
11 organisme combinate în vederea scopului propus, izolate din natură, compatibile între ele,
12 și care de aceea pot fi cultivate împreună. Scopul principal al tratării este descompunerea,
13 de exemplu, a agenților (de exemplu: penicilină, tobramicină, vancomicină, lovastatină, acid
14 micofenilic, deferoxamină, acid lisergic etc.) rămași în filtratul de miceliu, disponibil ca produs
15 secundar al producției farmaceutice. Procedeul și culturile de microorganisme utilizate în
16 cursul acestuia sunt potrivite și pentru tratarea altor fermenți care deseori conțin compuși
17 toxici pentru plante.

18 În a doua fază a procedurii conform invenției - care poate fi continuată cu unul
19 dintre procedeele clasice de compostare - deșeurile rămase fără agent (de exemplu: conținând
20 miceliul ciupercii, substanțe nutritive și material filtrant mineral, de exemplu, Perlit.,
21 proporțional cu conținutul de umiditate sau alte materiale organice, deja sigure, netoxice în
22 sine) se omogenizează în sine sau prin adăugarea în proporție de 20...40% de deșeuri
23 biologice, în mod oportun de origine vegetală, mărunțite (de exemplu: tescovină de struguri,
24 tocătură de paie, tocătură de lemne, resturi de tulpini de porumb, de floarea-soarelui sau de
25 soia, împreună: lignoceluloză), apoi se compostează mai departe în condiții aerobe sau
26 anaerobe, fiind inoculat pe suprafață cu un inoculant compus dintr-un amestec de tulpini
27 determinate. Această a doua fază este procedeul utilizării deșeurilor devenit sigur, netoxic.

28 Procedeul conform invenției se bazează pe observarea faptului că resturile agenților
29 farmaceutici, produse în general cu tulpini de ciuperci, se pot descompune cu tulpini de
30 ciuperci potrivite pentru acestea - în zona de căldură termofilă, mai târziu mezofilă, în condiții
31 aerobe. De asemenea, se pot descompune, utilizând o cultură de tulpini mixte potrivite,
32 agenții periculoși sau metabolitul toxic în nămolul produs și din alte procese industriale sau
33 de fermentare. Deși biomasa rezultată din procedeul conform invenției, lipsită de
34 componentul periculos, ar putea fi depozitată în sine, se tratează în continuare într-un
35 procedeu de compostare; în cursul acestuia se ține cont de compoziția și de caracteristicile
36 biologice ale materiilor prime potrivite pentru compostare, de avantajele produsului finit
37 rezultat, privind fiziologia plantelor.

38 Descrierea detaliată a invenției se face în continuare cu ajutorul figurilor, prezentând
39 rezultatele analitice obținute în exemple:

40 - fig. 1, graficul de descompunere a agentului acid micofenilic conform celor descrise
41 în exemplul 2;

42 - fig. 2.1., graficul de descompunere a acidului lisergic în funcție de concentrație -
43 timp, conform exemplului 3, în condiții nesterilizate;

44 - fig. 2.2., graficul de descompunere a acidului lisergic în funcție de concentrație -
45 timp, conform exemplului 3, în condiții nesterilizate (experiment paralel);

46 - fig. 2.3., graficul de descompunere a acidului lisergic în funcție de concentrație -
47 timp, conform exemplului 3, în condiții sterile.

RO 128733 B1

În cursul elaborării invenției s-a aflat că:	1
- un grup de microorganisme native, selectate și nemodificate genetic în condiții corespunzătoare, ca parte a preparatului conform invenției, după prezenta soluție tehnică este capabil să descompună în cursul a 40 de zile chiar și agenții foarte rezistenți (de exemplu, acid micofenilic);	3
- speciile utilizate sunt capabile să se înmulțească una lângă alta și complemenându-se una pe alta, asigurând astfel condițiile de biodegradare continuă a deșeurilor amintite;	5
- speciile utilizate în procedeu pot fi obținute cultivând împreună, prin procedeul de fermentare scufundată (compatibilitate), lichidele de fermentare cu numărul de germeni ridicat de $3...5 \times 10^7-10^9$ CFU/g, prin procedeul în fază solidă (SSF), aplicate pe materiale purtătoare corespunzătoare, în raport de 10% greutate, se pot înmulți în continuare, având și rolul de inoculant, prin adăugare în 4...6% greutate la materia primă care se dorește a fi detoxificată;	7
- după un ciclul de descompunere de 30...40 zile, materia primă se poate compostă în continuare, în condiții aerobe sau, printr-o intervenție avantajoasă, se pot obține preparate speciale de compost;	9
- speciile de microorganisme introduse în cursul procedurii sunt capabile să producă materiale care au efect de fertilizare și de îmbunătățire a solului, mai mult, produc compuși - tip gibberelină, auxină - care favorizează creșterea și dezvoltarea plantelor cultivate, prin urmare, materialul compostat se poate utiliza, de exemplu, în agricultură.	11
Procedeul de compostare conform invenției se realizează cu metode similare, descrise în literatura de specialitate, însă în condițiile elaborate pentru microorganismele și culturile de microorganisme izolate de noi. Deși pentru specialiști este evident că parametrii procedurii se pot varia între limite largi, totuși următoarele caracteristici sunt conform unui exemplu avantajos:	13
- conținutul de umiditate a materialului de bază (inițial) este de 50...60%;	15
- conținutul în substanțe nutritive a materialului de bază (inițial) să fie potrivită reproducerii explozive a speciilor introduse;	17
- temperatura în faza termofilă (etapa de descompunere activă) este de 50...60°C, în faza mezofilă de 30...40°C, iar în final, în faza de fermentare - care poate fi considerată ca și procesul de compostare - este de 20...30°C;	19
- conținutul în O ₂ a aerului prismelor supuse tratării este avantajos, pe cât posibil, să fie de 15...18% în prima etapă (de descompunere);	21
- pH-ul materialului este avantajos să fie de 6,5...7,5;	23
- cantitatea deșeurii agricole folosit ca material de structură sau de umplere (resturi de tulpini, deșeurii din industria lemnului etc.), față de cantitatea totală a materialului - în funcție de valorile de conținut și structura fizică a materialului de bază - să fie cuprins în intervalul 0...40% greutate.	25
În cursul elaborării invenției a fost tratat nămolul-miceliu provenit din fabrica de medicamente (deșeurii Fabricii de medicamente TEVA), deșeurile fiind cu conținut de acid lisergic și metaboliții acestuia, în fază de experiment, nămolul toxic rămas din producția de biogaz și bioetanol (eventual produse secundare vegetale adăugate), pentru descompunerea resturilor de agenți, iar materialul obținut s-a compostat. În cadrul tratărilor din composturile obținute în practica noastră anterioară, au fost izolate și analizate ciupercile dermatofite, mucegaiuri, actinomicetele și bacteriile.	27
Câteva tulpini au fost cumpărate din colecția de tulpini naționale și, după identificarea lor, s-au selectat. După testarea în laborator a 15...200 de tulpini s-au ales acele specii din care s-au preparat inoculanții conform invenției, utilizabili în procedeul de detoxifiere și	29
	31
	33
	35
	37
	39
	41
	43
	45
	47
	49

RO 128733 B1

1 compostare ulterioară. În cursul testelor s-au folosit medii de cultură (substraturi nutritive) de
inoculare și de incubare, descrise în cele ce urmează; caracteristicile microorganismelor
3 izolate, în primul rând, caracteristicile de descompunere s-au stabilit în condiții de laborator.
Deși anumite tulpini au fost izolate și separate, acestea în parte au fost depuse ca și culturi
5 mixte.

Culturile mixte ale celor 3 variante de inoculanți, 6 tulpini cu nr. de identificare
7 135/2010, 6 tulpini cu nr. de identificare 136/2010 și 5 tulpini cu nr. de identificare 137/2010 -
depuse în 5 noiembrie 2010, la Colecția Națională a Microorganismelor Agricole și Industriale
9 a Universității Corvinus din Budapesta, au următoarea compoziție (numărul de cod care
apare după denumirea taxonomică a tulpinii indică în parte locul izolării, în parte colecția de
11 tulpini de unde a fost achiziționată. Tulpinile au fost izolate din mediu natural și sunt libere
de OMG):

13 Cultura mixtă nr. 1 (NCAIM 135/2010):

Trichoderma pseudokoningii (NSZ-AE 2 8903 / 8612)

15 *Malbranchea sulfurea* (C-TOR-AE 7 / 9; 8306 // O-AE-5 / 6; 8402)

Streptomyces thermotrophicus (VSZ-AE 20; 8607)

17 *Gliocladium virens* (NSZ-AE 10; 8612)

Trichoderma viridae (NRRL 5242 / 5243; 8712)

19 *Pseudomonas putida* (ALLELIX 64-3 9006).

Cultura mixtă nr. 2 (NCAIM 136/2010):

21 *Trichoderma hamatum* (NSZ-AE 6 8903)

Penicillium griseo-fulvum (NSZ-AE 11/12; 8511)

23 *Streptomyces tenebrarius* (C-TOR-AE 1; 8610)

Termomyces lanuginosus (C-TOR-AE 8 /10; 8306)

25 *Sporotrichum pulvurentum* (VKM-F - 1767 / 8710)

Streptomyces humidus (O-AE-2; 8610)

27 Cultura mixtă nr. 3 (NCAIM 137/2010):

Trichoderma citrinoviridae (NSZ-AE 15; 8903)

29 *Trichoderma lanuginosus* (TUB-F-48 NCAIM)

Streptomyces albaliseolus (VSZ-AE 10; 8710)

31 *Streptomyces thermoflavus* (VSZ-AE 23; 8710)

Pseudomonas fluorescens (ALLELIX 63-28; 9006).

33 Cultura mixtă nr. 4:

În cursul analizării microorganismelor care formează culturile mixte de mai sus, în
35 timpul procedurii conform invenției, s-a observat că s-au dovedit deosebit de avantajoase
următoarele specii unice de microorganisme:

37 *Streptomyces tenebrarius* (C-TOR-AE 1; 8610)

Streptomyces thermoflavus (VSZ-AE 23; 8710)

39 *Sporotrichum pulvurentum* (VKM-F - 1767 / 8710)

Pseudomonas fluorescens (ALLELIX 63-28; 9006)

41 *Pseudomonas putida* (ALLELIX 64-3 9006)

Trichoderma citrinoviridae (NSZ-AE 15; 8903).

43 Aceste microorganisme s-au depus ca și cultură mixtă în Colecția Națională a
Microorganismelor Agricole și Industriale a Universității Corvinus din Budapesta, conform
45 Tratatului de la Budapesta, privind recunoașterea internațională a depozitului de
microorganisme, cu nr. de acces NCAIM (P) Mix 001378.

RO 128733 B1

Mediul de cultură (substratul nutritiv) al preparatului conform soluției tehnice constă din mixtura substraturilor în care sunt prezente în primul rând surse de carbon și de azot, precum și săruri anorganice. În mediile de cultură (substraturile nutritive) se găsește, de exemplu: făină de porumb, făină de soia, ulei de soia, dextroză, glutamat de sodiu, glicină, D,L-metionină, glicol de polipropilenă, suflat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc, carbonat de calciu, sulfat acid de potasiu, acid clorhidric, hidroxid de amoniu, hidroxid de sodiu și acid fosforic, dar se poate utiliza orice alt material potrivit cultivării micro-organismelor, în general materialele biologice cu conținut de substanțe organice: 4% făină de porumb; 0,5% magiun de porumb; 0,3% CaCO₃, 0,15% NH₄NO₃, 0,1% KH₂PO₄; 0,1% MgSO₄ · 7H₂O; 0,1% NaCl; 0,15% Strukturol J-301; pH: 6,8...7; temperatură: 35...37°C.

Invenția se descrie detaliat în legătură cu exemplele de mai jos, fără să se limiteze sfera de protecție a invenției la soluțiile descrise în acestea.

Mediile de cultură (substraturi nutritive), preparate în prealabil în aparate de fermentare de dimensiuni industriale, se inoculează cu mixturile de tulpini, în condiții sterile de laborator, și se fermentează la un număr ridicat de germeni, amestecând încet, timp de 3...5 zile/ciclu și la o temperatură de 25...30°C. Lichidul de fermentație obținut se extrage și se depozitează la rece, sau se aplică imediat, prin amestecare într-o proporție de 5...10% volum, pe un material purtător vegetal, cu valoare nutritivă ridicată. Amestecul se ține până la utilizare în condiții aerobe.

Inoculantul secundar obținut se poate depozita în faza solidă 2...3 luni fără alterarea calității.

Exemplul 1

Din nămolul provenit din fabricarea vancomicinei împreună cu tocătură de paie, în proporție de 15...20%, în dispozitive utilizate în general (mixer de compost), se prepară prisme cu lățimea la bază de 2,5...3 m, înălțimea de 1,5...2 m și lungimea de 40...50 m, și se inoculează cu 5% volum inoculant de cultură mixtă nr. 1 (NCAIM135/2010).

Prismele așezate la început se aerisesc prin amestecare la fiecare 3...5 zile, apoi după 15 zile, săptămânal se aerisesc și se omogenizează, asigurând astfel cantitatea de oxigen necesară pentru procedeu/proces.

Eficiența preparatului s-a urmărit în baza următorilor parametri:

- temperatura în depozit la o adâncime de 70 cm a fost:
- ziua 1 17°C;
- ziua 20 63°C;
- ziua 40 57°C;
- ziua 60 38°C.

Valorile caracteristicilor obținute din compost au fost comparate cu valorile prevăzute în standardul STN 46 5735, și care dovedesc eficiența preparatului. După cum se vede mai jos, caracteristicile preparatului sunt conforme STN 46 5735 și, de asemenea, vancomicina a fost descompusă complet după 35...40 de zile.

	compost	STN	
Umiditate %	60,1	min. 40,0;	41
Materiale inflamabile în materialul uscat %	31	max. 65,0;	
Azot total în materialul uscat %	1,5	min. 25,0;	43
Raportul C:N	20,5:1	min. 0,60;	
Valoare pH	7,5	max. 30;	45
Adaosuri care nu se descompun %	1,1	6,0...8,5;	
Reverificarea agenților: agentul vancomicină s-a descompus deja în ziua 35...40.		max. 2,0.	47

RO 128733 B1

1 Exemplul 2

3 Nămolul provenit din fabricarea acidului micofenilic (70% volum) a fost amestecat și
5 omogenizat cu deșeu lignoceluloză (25%) și în proporție de 5% inoculantul cultură mixtă
7 nr. 2. (NCAIM 136/2010), în care microorganismele, în majoritate aerobe și eventual
9 anaerobe, au început să se înmulțească rapid.

7 În cursul omogenizării intense s-a modificat umiditatea depozitului la 66...67% din
9 materialul uscat. Depozitul s-a modelat în formă omoloagă, izolându-l de mediu cu folie de
11 polietilenă, începând din ziua 1 până la ziua 40 a ciclului de fermentare, cu excepția
13 perioadelor de timp pentru amestecare.

11 S-a urmărit eficiența preparatului pe baza următorilor parametri:

13 Descompunerea resturilor de agenți (acid micofenilic $\mu\text{g/g}$):

13	Numărul zilelor:	Mostra 1	Mostra 2	Mostra 3	Mostra 4	Media
15	Ziua 1	414	765	650	590	604
17	Ziua 10	314	57	277	133	194
19	Ziua 20	13	4	44	17	20
	Ziua 30	15	0	37	15	17
	Ziua 40	2	2	0	0	1

21 Așa cum se poate observa din cele de mai sus, conținutul de 604 μg acid micofenilic
23 după 40 de zile practic s-a descompus. După ciclul de compostare de 60 de zile, care
25 urmează după procesul de decontaminare de 40 de zile, cantitățile caracteristice din
27 compost, care dovedesc eficiența preparatului conform standardului STN 46 5735, sunt după
29 cum urmează:

27		Compost	STN
29	Umiditate %	53,5	min. 40,0; max. 65,0;
31	Materiale inflamabile în materialul uscat %	41,5	min. 25,0;
33	Azot total în materialul uscat %	2,3	min. 0,60;
	Proporție C:N	18:1	max. 30;
	Valoare pH	6,9	6,0...8,5;
	Adaosuri care nu se descompun %	0,8	max. 2,0.

35 Compostarea a fost efectuată fără paie pe trei mostre în paralel, după cum urmează:

37 *Conținutul de acid micofenilic al miceliului compostat (g/t)*

39	Nr. serie	Data	Mostră fără paie			
41			Mostră 1	Mostră 2	Mostră 3	Media
	1	23 aprilie	414	765		590
43	2	2 mai	66	57	277	133

Nr. serie	Data	Mostră fără paie			
		Mostră 1	Mostră 2	Mostră 3	Media
3	7 mai	314	4	847	388
4	14 mai	13	2	37	17
5	21 mai	0	2	44	15
6	29 mai	66	0	0	22
7	4 iunie	46	11	108	55

Descompunerea acidului micofenilic a fost urmărită și pe o prismă experimentală de 70 t la punctul de lucru din orașul Debrecen al firmei AKSD Kft., și se vede în fig. 1.

Exemplul 3

Mixtura de tulpini cultura mixtă nr. 3 (NCAIM 137/2010), predată Fabricii de medicamente TEVA (printr-un contract de confidențialitate) a fost supusă unei examinări de laborator mare, examinând descompunerea restului de acid lisergic rezultat în fermentarea experimentală, fără a se efectua compostarea, deoarece scopul a fost observarea eficacității culturilor mixte. Descompunerea intermediarilor acidului lisergic se vede mai jos:

Intermediari acid lisergic			Etapa de incubare
μg/g			zile
Mostra 1	Mostra 2	Mostra 3	
1470	1470	1470	0
250	400	35	5
210	205	18	10
270	80	110	17
205	70	5	25
95	27	0	31
0	5	0	45

Rezultatele descompunerii acidului lisergic în urma experimentului sunt conform datelor experimentului LYS 4/09 al TEVA API Secția biotehnologică K + F.

Descrierea experimentului

Liofilizatele preluate în 22.04.09 de la reprezentantul Elmolight Bt. s-au înmulțit pe mediul de cultură (substratul nutritiv) agar oblic furnizat de către ei, la 37°C, cultivându-le 3 zile. Celulele s-au răzuit și s-au inoculat în mediul de cultură (substrat nutritiv) cu o compoziție similară cu agarul, care se află în balonul scuturat, la 37°C, timp de 3 zile. Culturile scutate, scoase din balon, s-au omogenizat. Într-un Erlenmeyer de 500 ml, la 100 g miceliu cu acid lisergic s-a adăugat 5 ml din cultura omogenizată, după care s-a supus incubării la 37°C, scuturându-se o dată pe zi.

Periodic s-au prelevat eșantioane pentru măsurarea HPLC.

RO 128733 B1

1 S-au utilizat trei baloane. În balonul 1 și 2 miceliul nu a fost sterilizat, iar în balonul
3 a fost sterilizat înainte de adăugarea suspensiei de bacterii.

3 Descompunerea acidului lizergic în 45 de zile este practic completă, așa cum se vede
în fig. 2.1, 2.2 și 2.3 de mai jos.

5 Exemplul 4

7 La deșeurile din producția farmaceutică descris în exemplul 1...3 s-au adăugat alte
7 componente (Deferoxamină, Tobramicină, Vancomicină, Acid micofenilic) și deșeurile cu
9 conținut de celuloză/lignoceluloză, iar amestecurile mixte s-au inoculat cu amestecul de specii
9 de mai jos (cultura mixtă NCAIM (P) Mix 001378), selectată dintre tulpinile de culturi mixte:
nr. 1 (NCAIM 135/2010), nr. 2 (NCAIM 136/2010) și nr. 3 (NCAIM 137/2010):

11 *Streptomyces tenebrarius*

12 *Streptomyces thermoflavus*

13 *Sporotrichum pulvurentum*

14 *Pseudomonas fluorescens*

15 *Pseudomonas putida*

16 *Trichoderma citrinoviridae*.

17 Conținutul de agenți al materiei prime de compostare din nămoluri de miceliu cu
18 compoziție mixtă, înainte de inoculare și tratament aerob de aproximativ 40 de zile. sunt
19 cuprinse în tabelul de mai jos.

21 23 25 27 29 31 33 35	Locul prelevării mostrei	Nr. Cod al mostrei	Data prele- vării mostrei	Conținutul de agent				Agent însoțitor (μg)		
				Vanco- micină	Tobrami- cină	Acid mico- fenilic	Defero- xamină	Nea- mină	Kana- micină	Nebre- mină
25	Mostră punctul de lucru TEVA	F-60788/09	2009.11.25	4446,6	301	504	630	2	59	4
27	Compost amestecat. Punct de lucru AKSD	F-04101/09	2009.11.18	-	18,7	31	33	0,9	4,5	1,6
31	Compost amestecat. Punct de lucru AKSD	F-04101/09	2009.11.18	-	10	2	32	0	3	2

36 S-a observat că după 60 de zile agenții practic s-au descompus.

37 După compostarea ulterioară, la 70 de zile, în cursul examinării compostului din
materialul preparat s-au efectuat următoarele analize:

39 a) Laboratorul de protejare a solului, al Direcției de Protejarea Plantelor și Solului:

40 - analiza poluanților anorganici, a conținutului de substanță nutritivă, a inhibitorilor de
41 germinare, a efectului fitotoxic și de favorizare a buruienilor;

42 b) Departamentul Național de Sănătatea Mediului, Secția de Igiena Solului:

43 - analize microbiologice de igienă, analiza poluărilor organice.

44 Expertiza emisă în baza celor 3 mostre de cele două instituții a apreciat compostul
45 potrivit comercializării fără limitări.

46 S-a putut constata că mixtura de tulpini selectată dintre mixturile de tulpini 1, 2, 3, și
47 optimizată în exemplul 4 este capabilă de descompunerea tuturor agenților periculoși și,
după compostarea ulterioară, să facă potrivit deșeurile, care altfel este caracterizat printr-un
49 conținut ridicat de elemente nutritive, pentru fabricarea compostului cu caracteristici de
îmbunătățire a fertilității solului, fiind potrivit fără limitări cultivării plantelor în agricultură.

RO 128733 B1

Preparatul compus din substrat inoculant este în mod avantajos potrivit pentru descompunerea biologică, respectiv, tratarea deșeurilor de tipul:	1
- nămolul producerii penicilinei;	3
- nămolul producerii oxitetracilinei;	
- nămolul producerii bacitracinei;	5
- nămolul producerii vancomicinei;	
- nămolul producerii acidului micofenilic;	7
- nămolul producerii tobramicinei;	
- nămolul producerii deferoxaminei;	9
- nămolul producerii acidului lisergic;	
- nămolul rezultat din producerea bioetanolului, biogazului (metan), care este toxic pentru plante.	11

RO 128733 B1

Revendicări

1

3

1. Preparat microbiologic cu conținut de microorganisme, pentru descompunerea biologică a biomasei cu conținut de resturi de agenți toxici sau periculoși, proveniți din producția farmaceutică, producția de biogaz și/sau producția de bioetanol-biodiesel, care conține o cultură mixtă, compusă din tulpini de: *Streptomyces tenebrarius*, *Streptomyces thermoflavus*, *Sporotrichium pulverulentum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* și *Trichoderma citrinoviridae*, depozitată cu numărul de acces NCAIM (P) MIX 001378 la Colecția Națională a Microorganismelor Agricole și Industriale, Budapesta, tulpini amestecate în orice proporție și cultivate împreună pe un substrat nutritiv care conține surse de carbon, azot și săruri minerale utilizabile de către aceste tulpini, după caz, împreună cu materialele purtătoare, compatibile din punct de vedere biologic.

11

13

2. Preparat conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** materialul purtător conține surse de carbon, azot și săruri minerale valorificabile de către aceste microorganisme.

15

17

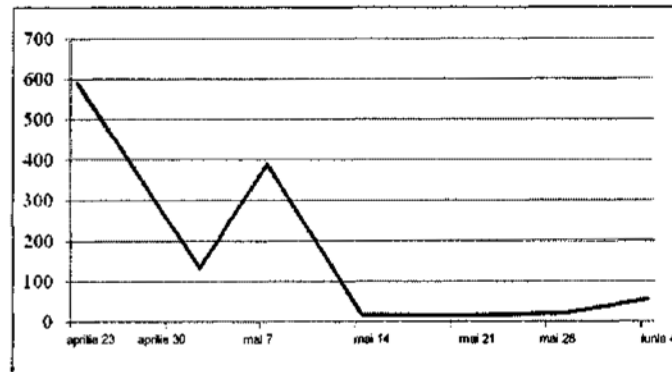
3. Preparat conform revendicării 1 sau 2, **caracterizat prin aceea că**, pe lângă surse de carbon și azot valorificabile de către microorganisme, conține și produse secundare agricole, utilizate de obicei la compostare.

19

4. Preparat conform oricăreia dintre revendicările 1...3, **caracterizat prin aceea că** este utilizabil pentru producerea composturilor.

(51) Int.Cl.

A01N 63/04 (2006.01),
C02F 3/34 (2006.01),
C05F 11/08 (2006.01),
C05G 3/04 (2006.01),
C12P 39/00 (2006.01),
C05F 9/04 (2006.01)



Graficul de descompunere a agentului acid micofenilic într-o prismă experimentală de 70 tone la punctul de lucru din orașul Debrecen la firma AKSD Kft. (comunicare TVA)

Fig. 1

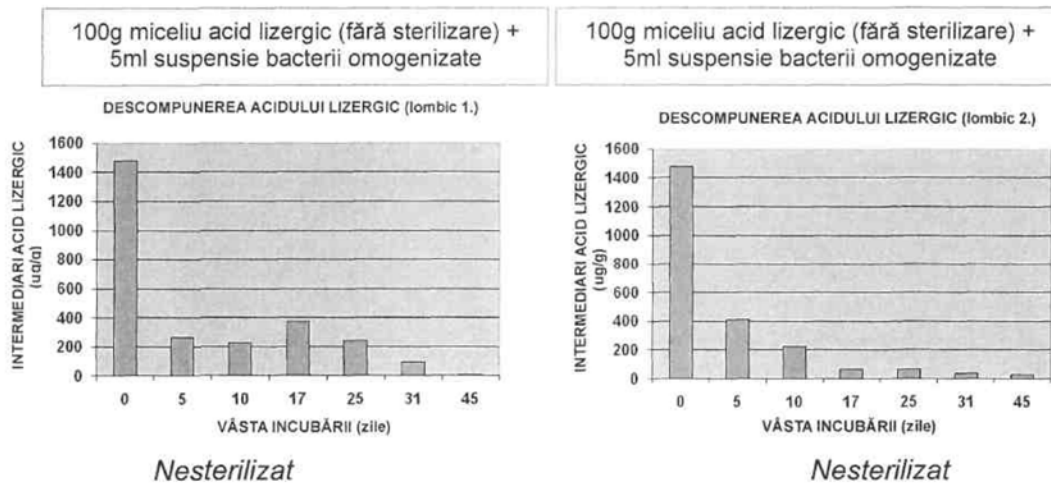


Fig. 2.1

Fig. 2.2

(51) Int.Cl.
A01N 63/04 (2006.01),
C02F 3/34 (2006.01),
C05F 11/08 (2006.01),
C05G 3/04 (2006.01),
C12P 39/00 (2006.01),
C05F 9/04 (2006.01)

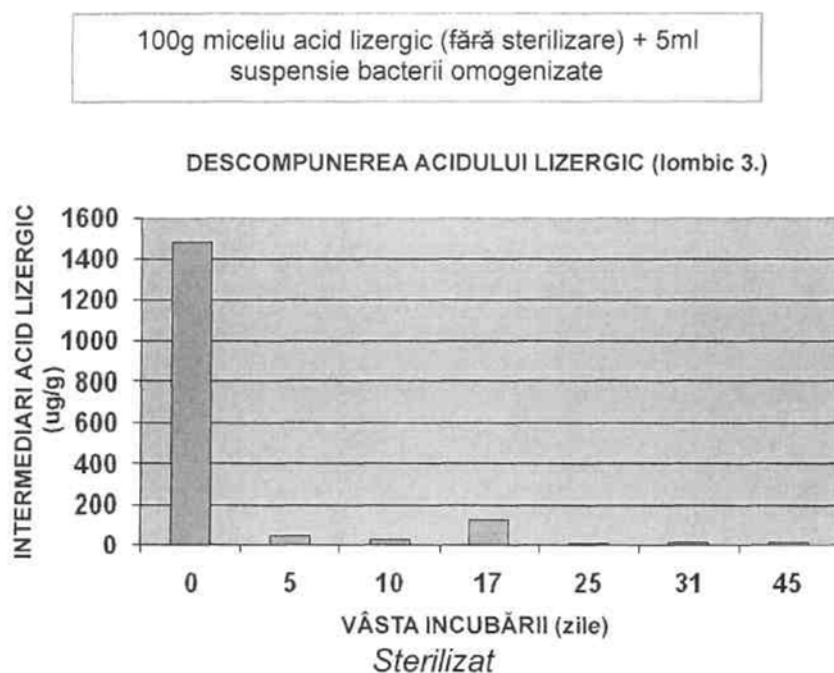


Fig. 2.3



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 494/2017