



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

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

(22) Data de depozit: **16.02.2012**

(30) Prioritate:
21.02.2011 HU P1100098

(41) Data publicării cererii:
30.08.2013 BOPI nr. **8/2013**

(71) Solicitant:
• **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

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

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la un preparat cu conținut de microorganisme, pentru descompunerea biologică a biomasei conținând resturi de agenți toxici, substanțe periculoase provenind din industria farmaceutică, din producția de biogaz sau de bioetanol-biodiesel. Preparatul conține una sau mai multe culturi mixte din Colecția Națională a Microorganismelor Agricole și Industriale, consemnate sub numerele de înregistrare NCAIM 135/2010, NCAIM 136/2010 sau NCAIM 137/2010, respectiv, unul sau mai multe dintre micro-

organismele care figurează în aceste culturi mixte, după caz, împreună cu materiale purtătoare, compatibile din punct de vedere biologic, utilizabile de către organisme. Preparatul se utilizează la descompunerea biologică a biomasei prin amestecare cu aceasta, în condiții aerobe și cu adaosuri de materiale cu conținut de lignoceluloză, cu obținerea de composturi.

Revendicări: 14
Figuri: 3



Preparat cu conținut de microorganisme pentru descompunerea biologică a biomasei cu conținut de resturi de agenți toxici sau periculoase.

Obiectul invenției îl constituie un preparat care conține microorganisme pentru descompunerea biologică a biomasei care conține resturi de agenți toxici sau periculoase, provenite din producția farmaceutică, din producție de biogaz și/sau producție de bioetanol-biodiesel. Un alt obiect al invenției îl constituie procedura de descompunerea biologică a biomasei cu conținut de resturi de agenți toxici sau periculoase provenite din producția farmaceutică, din producție de biogaz și/sau producție de bioetanol-biodiesel, precum și compostarea materialelor biologice. Produsul și procedeul servește descompunerea pe cale microbiologică a resturilor de agenți ale deșeurilor periculoase farmaceutice de fermentație și/sau industriale, precum și tratarea și transformarea biologică intenționată a amestecului compus optimal din resturi agricole, apărute ca produse secundare, deșeuri.

În prezent mediul este expus încărcării continue cu deșeuri. O parte din acestea conțin și componente periculoase – resturi de agenți farmaceutice, componente organice -, pe de altă parte există numeroase materiale valoroase, nepericuloase singur, care nu se pot utiliza singur, însă datorită labilității lor biologice se pot transforma conform unor aspecte de cultivarea plantelor în așa fel, încât produsul final să conțină substanțe nutritive utile pentru plante (pierzând caracterul periculos și/sau nevaloros), în același timp având efect de îmbunătățire funciară.

În prezent deșeurile, produsele secundare periculoase prioritar rezultate din producția farmaceutică, în cursul producției biogazului sau bioetanolului-biodieselului sunt utilizate în proporție destul de mică în procedură de producție după tratarea biologică. Nu este aplicat – sau doar limitat - posibilitatea asocierii deșeurilor înrudite și care se pot transforma biologic. Tehnologiile bazate pe compostare iau în calcul doar microorganisme native, care se găsesc natural și apar în amestecuri accidental sau care de exemplu intră prin fluxul aerului. În câteva cazuri putem întâlni introducerea intenționată ale anumitor specii de microorganisme, dar în primul rând cu scopul de a crește valoarea procedurii de compostare sau a produsului finit, de a accelera descompunerea materiilor prime de compost și nu cu scopul producerii unui produs-materie primă rezultat din eliminarea unui factor periculos mediului.

Compostarea care se poate numi faza finală este o procedură microbiologică des întâlnită în natură, este prima fază a carbonificării materiilor organice, care se încheie cu humificare (THE BIOLOGY OF COMPOSTING: A REVIEW; M. de Bertoldi,

G.Vallini and A. Pera; Waste Management & Research 1982). Oamenii înainte de cunoașterea esenței procedurii au utilizat procedura spontan pentru descompunerea deșeurilor, a îngrășămintelor organice (Forced Aeration Composting of Domestic Refuse and Sewage Sludge; Stentiford. M. A. et al. Wat. Pollut. Control 1985).

Astăzi, deja este cunoscut detaliat, că în cursul compostării populații de microorganisme cu compoziție de specii diferite se schimbă în funcție de factorii de mediu și de compoziția elementelor nutritive (Composting Ecosystem Management for Waste Treatment; M.S. Finstein, et. al. BIO/TECHNOLOGY 1983)

Literatura de specialitate împarte compostarea în două etape, care nu pot fi separate clar. Prima este așa numita etapă de descompunere, în cadrul căreia microorganismele transformă materialele organice cu molecule mari în compuși cu lanț de carbon mai scurt prin eliberarea căldurii, CO₂ apei și altor materiale. Această prima etapă este termofilă, în cursul căreia temperatura este între 40-60°C și ține de obicei între 30-50 zile. Cealaltă jumătate este etapa de coacere care se poate caracteriza mai mult cu temperatură mezofilă, unde între 30-40°C pe lângă procedurile biologice ies în evidență și procedurile chimice, și din moleculele mai simple se formează compuse de humus și alte compuse organice. Această etapă – prin scăderea procedurilor microbiologice – scade la 20-30 °C și încet se stabilizează. (Comparison of three windrow compost systems; BioCycle 23(2); M. de Bertoldi, et al. 1982)

Conform descrierii brevetului maghiar cu nr. de înregistrare 193977 se compostează nămol de miceliu rezultat din producția farmaceutică. Esența procedurii este, că procedura se efectuează prin adăugarea materiilor optimizatoare chimice (carbonat de potasiu sau carbonat de calciu-magneziu) și deșeurilor agricole cu conținut de celuloză și prin reglarea condițiilor fizice.

În cursul soluționării descrierii brevetului maghiar cu nr. de înregistrare 216314 se descompun chimicale periculoase, compuși halogenați aromatici –prin adăugarea culturilor de microorganisme neidentificate - , adăugând la amestec materiale anorganice care cresc porozitatea: nisip, zgură și materii organice, de ex: așchii de lemn și cu aerisire intensivă.

Descrierea brevetului maghiar cu nr. de înregistrare 226832 descrie moderarea efectului de poluarea mediului locurilor de depozitare a deșeurilor solide de lângă localități și utilizează 5 specii de microorganisme (în majoritate bacterii) – diferite de cele folosite în prezenta invenție -, care sunt aplicate pe produsul intermediar rezultat din producția de melasa diluată și biogaz și le compostează împreună cu

deșeul solid în straturi.

Descrierea brevetului maghiar cu nr. de înregistrare 226831 urmărește curățarea fazei lichide a îngrășământului fluid separat, aplicând în cazul concret 5 specii de microorganisme stropite pe deșeuri agricole (cenușă de coajă de semințe de floarea soarelui, gunoi de vite, gunoi de păsări, tulpini de paie și/sau porumb) cu aerisire de 10-20 zile.

Conform descrierii de brevet maghiar cu nr. de înregistrare 216100 amestecul nămolului de epurare comunal cu conținut ridicat de material uscat este amestecat cultură starter - diferită de organismele din prezenta invenție - și sunt tratate cu aerisire.

Brevetului maghiar nr. P0001070 provenit de la un solicitant canadian urmărește descompunerea poluărilor toxice (de ex. poluări clorurate) prin procedură de compostare regulată – în prezenta bacteriilor de sol aerobe și anaerobe neidentificate.

Brevetele enumerate – chiar dacă prezintă similitudini îndepărtată cu prezentul brevet – nu urmăresc și nu rezolvă descompunerea deșeurilor cu conținut de componente periculoși sau toxici, rămase din proceduri de fermentare și utilizarea lor în continuare de exemplu ca preparate de îmbunătățirea fertilității solului.

Din acest motiv, scopul invenției este, ca materiile prime de deșeuri cu conținut de agenți periculoși – în majoritate cu componente organice – să fie transformate în deșeuri sigure, să dirijând procedura prin intervenție, și astfel deșeul obținut cu conținut ridicat de elemente nutritive se reintroducem într-un ciclu biologic, urmând activitatea de compostare clasică.

Pentru realizarea obiectivului este nevoie de o procedură avantajoasă, în cursul căreia prin tratare corespunzătoare descompunem factorul periculos, astfel reducând impactul asupra mediului, din deșeul inutil facem un produs folositor și transformăm produsul – prin valoarea adăugată – într-un produs agricol comercializabil.

Obiectivul de mai sus o realizăm conform invenției cu un preparat, care conține microorganisme, dacă este cazul împreună cu materiale purtătoare compatibile din punct de vedere biologic. Astfel de preparate conțin ca microorganisme una sau mai multe culturi mixte consemnate în Colecția Națională a Microorganismelor Agricole și Industriale sub nr. NCAIM 135/2010, NCAIM 136/2010 sau NCAIM 137/2010 respectiv una sau mai multe microorganisme care fac parte din aceste culturi mixte.

Deasemenea constituie obiectul invenției și procedura pentru descompunerea biomasei cu conținut de agenți periculoși, recomandabil pentru descompunerea biomasei periculoase provenită din producția farmaceutică, producția de biogaz și bioetanol-biodiesel, în cursul căreia obține un produs de descompunere netoxic. Depozitarea acestor produse se poate realiza simplu, dar se poate utiliza pentru compostarea altor materiale biologice, cum ar fi la producția preparatelor agricole.

Noutatea procedurii invenției, că amestecăm mai multe deșeuri – care se completează practic din punct de vedere a elementelor nutritive, a proporției carbon-azot, a conținutului de umiditate și alte caracteristici - în proporții stabilite, și le tratăm cu cultura mixtă a microorganismelor, microorganismele izolate din natură, compatibile între ele și cultivate împreună. Scopul principal al tratării este să descompunem agenții rămași de exemplu în filtratul miceliu disponibil ca produsul secundar al producției farmaceutice (de ex: penicilină, tobramicină, vancomicină, lovastatină, acid micofenilic, deferoxamină, acid lisergic, etc.). Procedura – și culturile de microorganismele utilizate în cursul acestuia – este potrivită pentru tratarea, apoi ajutarea reutilizării altor fermenți – care deseori conțin componente toxice plantelor.

În a doua fază a procedurii conform invenției – care se poate continua cu una dintre procedurile clasice de compostare – deșeurile rămase fără agent (de ex: miceliul ciupercii, cu conținut de soluție nutritivă proporțional cu conținutul de umiditate și material filtrant mineral neutru (de ex: Perlit) sau alte materiale organice, deja sigure) în sine sau prin introducerea în proporție de 20-40% a deșeurilor biologice, deșeurilor vegetale mărunțite (de ex: tescovină de struguri, tocătură de paie, tocătură de lemne, resturi de tulpini de porumb, de floarea soarelui de soia, împreună: lignoceluloză) îl omogenizăm, apoi în condiții aerobe sau anaerobe îl compostăm stingându-l la suprafață cu cheag amestecat din tulpini stabilite. Această a doua fază este procedura utilizării deșeurilor devenit sigur.

Procedura conform invenției se bazează pe observarea faptului, că resturile farmaceutice produse de regulă cu tulpini de ciuperci se pot descompune cu tulpini de ciuperci potrivite - în zona de căldură termofilă mai târziu mezofilă în condiții aerobe. De asemenea, se poate descompune cu utilizarea culturii potrivite mixte de tulpini agentul periculos sau metabolitul toxic din nămolul produs în alte proceduri industriale sau de fermentare, care conțin și componente organice periculoși.

Deși biomasa rezultată din procedura conform invenției, lipsită de componentul periculos, ar putea fi depozitată în sine, se tratează în continuare într-o procedură de

compostare, în cursul acestuia se ține cont în mod considerabil de compoziția și caracteristica biologică a materiilor prime potrivite pentru compostare, de avantajele produsului finit rezultat privind fiziologia plantelor.

Descrierea detaliată a invenției se face în continuare cu ajutorul figurilor prezentând rezultatele analitice stabilite în exemple.

Figura 1. este graficul de descompunere a agentului acid micofenilic conform celor descrise în exemplul 2;

Figura 2. este graficul de descompunerea acidului lisergic funcție de concentrație-timp conform exemplului 3 în condiții nesterilizate;

Figura 3. este graficul de descompunerea acidului lisergic funcție de concentrație-timp în condiții nesterilizate (experiment paralel) conform exemplului 3;

Figura 4. este graficul de descompunerea acidului lisergic funcție de concentrație-timp conform exemplului 3. în condiții sterile.

În cursul elaborării invenției am aflat, că un grup de microorganisme native, selectate și nemanipulate genetic în condiții corespunzătoare, ca parte a preparatului conform invenției, după prezenta soluție tehnică:

- este capabil să descompună în cursul a 40 zile chiar și agenții foarte rezistenți (de ex. acid micofenilic)
- speciile aplicate sunt capabile să se multiplice unul lângă altul și complementându-se astfel pot asigura condițiile de biodegradare continuă a deșeurilor amintite,
- speciile utilizate în procedură se pot produce în cultivarea comună prin procedură de fermentare scufundată (compatibilitate), lichidele de fermentare cu numărul de germeni ridicat de $3-5 \times 10^7 - 10^9$ CFU/g se pot înmulți prin altă procedură cu fază solidă (SSF) aplicate pe materia purtătoare corespunzătoare în raport de masă de 10% și pot funcționa și ca cheag: amestecate în raport de masă de 4-6% la materia primă care se dorește a fi dispensată.
- după un ciclul de descompunere de 30-40 zile materia primă se poate composta în continuare pe cale aerobă, sau prin intervenție potrivită se pot transforma în preparate speciale de compost.
- speciile de microorganisme introduse în cursul procedurii sunt capabile să producă materiale, care au efect de gunoier și de îmbunătățirea solului, mai mult produc compuse - tip gibberlin, auxin - care favorizează creșterea și dezvoltarea plantelor cultivate, deci materialul compostat se poate utiliza

exemplu în producția agricolă.

Procedura 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 schimba pe scară largă în cursul acestuia, totuși următoarele caracteristici sunt conform unui exemplu avantajos:

- conținutul de umiditate a materiei de pornire este 50-60%,
- conținutul de elemente nutritive ale materialul de bază să fie potrivită reproducerii explozive a speciilor introduse,
- temperatura în faza termofilă (etapa de descompunere activă) este 50-60°C, în faza mezofilă 30-40°C, iar în final în faza de fermentare – care se consideră procedura de compostare – este 20-30°C.
- aerul prismelor de tratare trebuie să conțină pe cât posibil O₂ în proporție de 15-18 % în prima etapă (de descompunere),
- pH-ul materialului este recomandabil să fie între 6,5-7,5,
- cantitatea proporțională a deșeurii agricole folosit ca material structură sau de umplere (resturi de tulpini, deșeuri din industria lemnului, etc.) față de masa totală să fie între 0-40% - în funcție de valorile de conținut și structura fizică a materialului de bază.

În cursul elaborării invenției am tratat nămol miceliu din fabrica de medicamente (deșeurii Fabricii de medicamente TEVA), deșeuri în fază de experimentare – cu conținut de acid lisergic și metaboliții săi, nămol toxic rămas din producție de biogaz și bioetanol (eventual produse secundare vegetale adăugate) pentru descompunerea resturilor de agenți și am compostat materialul rezidual. În cadrul tratărilor din composturile produse în practica noastră anterioară am izolat, testat și analizat ciuperci dermatofite, mucegai, actinomicete și bacterii.

Câteva tulpini am cumpărat din colecții de tulpini naționale și după identificarea lor le-am clasificat. După testarea în laborator a 15—200 de tulpini am ales acele specii, din care am preparat cheagurile care fac parte din procedura de eliminare și compostare ulterioară. În cursul testelor am folosit solurile vegetale de închegare și de incubare; caracteristicile microorganismelor izolate, în primul rând caracteristicile de descompunere le-am stabilit în condiții de laborator. Deși anumitele tulpini le-am izolat și separat, parțial le-am depus ca și culturi mixte.

Cele 3 variante de cheag ale culturilor mixte – depuse în 5 noiembrie 2010 – cele 6

tulpini cu nr. de identificare 135/2010, 6 tulpini cu nr. de identificare 136/2010 și 5 tulpini cu nr. de identificare 137/2010 din Colecția Națională a Microorganismelor Agricole și Industriale al Universității Corvinus din Budapesta la nr. de identificare 135/2010 dispun de următoarea compoziție:

(Nr. cod care apare după denumirea taxonomică a tulpinii indică pe de o parte locul izolării, pe de altă parte colecția de tulpini de unde a fost obținut. Tulpinii sunt izolate din mediu natural și sunt libere de OMG.)

Cultura mixtă nr. 1 (Biomass Pharma I, NCAIM 135/2010):

Trichoderma pseudokoningii (NSZ-AE 2 8903 / 8612)
Malbranchea sulfurea (C-TÖR-AE 7 / 9 ; 8306 // O-AE-5 / 6 ; 8402)
Streptomyces thermonitrificans (VSZ-AE 20 ; 8607)
Gliocladium virens (NSZ-AE 10 ; 8612)
Trichoderma viridae (NRRL 5242 / 5243 ; 8712)
Pseudomonas putida (ALLELIX 64-3 9006)

Cultura mixtă nr. 2 (Biomass Pharma II, NCAIM 136/2010):

Trichoderma hamatum (NSZ-AE 6 8903)
Penicillium griseo-fulvum(NSZ-AE 11 /12 ; 8511)
Streptomyces tenebrarius (C-TÖR-AE 1 ; 8610)
Termomyces lanuginosus (C-TÖR-AE 8 / 10 ; 8306)
Sporotrichum pulvurentum (VKM-F – 1767 / 8710)
Streptomyces humidus (O-AE-2 ; 8610)

Cultura mixtă nr. 3 (Biomass Pharma III, NCAIM 137/2010):

Trichoderma citrinoviridae (NSZ-AE 15 ; 8903)
Trichoderma lanuginosus (TUB-F-48 NCAIM)
Streptomyces albaliseolus (VSZ-AE 10 ; 8710)
Streptomyces thermoflavus (VSZ-AE 23 ; 8710)
Pseudomonas fluorescens (ALLELIX 63-28 ; 9006)

Cultura mixtă nr. 4:

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

Streptomyces tenebrarius (C-TÖR-AE 1 ; 8610)
Streptomyces thermoflavus (VSZ-AE 23 ; 8710)
Sporotrichum pulvurentum (VKM-F – 1767 / 8710)
Pseudomonas fluorescens (ALLELIX 63-28 ; 9006)

Pseudomonas putida (ALLELIX 64-3 9006)

Trichoderma citrinoviridae (NSZ-AE 15 ; 8903)

Aceste microorganisme le-am depus în Colecția Națională a Microorganismelor Agricole și Industriale al Universității Corvinus din Budapesta conform regulilor Contractului din Budapesta cu nr. Pharma NCAIM (P) Mix 001378 ca și cultură mixtă.

Solul vegetal al preparatului conform soluției tehnice constă din mixtura substraturilor în care sunt prezenți în primul rând resurse de carbon și azot, precum și săruri anorganice. În solurile vegetale se găsește de exemplu: alcool 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 potasiu, sulfat acid de potasiu, acid clorhidric, hidroxid de amoniu, hidroxid de sodiu și acid fosforic, se pot utiliza însă orice alt material potrivit cultivării microorganismelor, avantajos materialele biologice cu conținut de materie organică.

4% făină de mălai

0,5 % alcool de porumb

0,3 % CaCO_3

0,15 % NH_4NO_3

0,1 % KH_2PO_4

0,1 % $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

0,1 % NaCl

0,15 % Strukturol J-301

pH: 6,8 – 7

temperatura: 35 -37°C

Invenția o descriem detaliat legat de exemplele de mai jos fără să limităm sfera de protecție a invenției la soluțiile descrise în acestea.

Solurile vegetale pregătite în aparate de fermentare de dimensiuni industriale le închegăm – asigurând condiții sterile - cu mixturile de tulpini preparate la fel în condiții sterile de laborator și cu timp de ciclu de 3-5 zile la o temperatură de 25-30°C le fermentăm la un număr ridicat de germeni amestecându-l încet. Lichidul de fermentare obținut o extragem și o depozităm răcit sau îl aplicăm pe material purtător vegetal cu valoare nutritivă ridicată cu amestecarea a 5-10% . Amestecul îl ținem până la utilizare în condiții aerobe. Cheagul secundar obținut îl putem depozita la faza solidă 2-3 luni fără alterarea calității.

Exemplul 1.

Nămolul obținut la fabricarea vancomicinei l-am introdus împreună cu tocătură de paie în proporție de 15-20% cu mașini utilizate în general (mixer compost) în prisme cu o lățime de talpă de 2,5-3 m, cu o înălțime de 1,5-2 m și 40-50 m lungime și le-am amestecat (închegat) cu 5% volum preparat de cheag mixt **Biomass Pharma nr. I**. Prismele așezate la început le-am aerisit prin amestecare în fiecare 3-5 zile, după 15 zile săptămânal și le-am omogenizat, astfel asigurând destul oxigen pentru procedură.

Efectul preparatului l-am observat în baza următoarelor parametrii:

Procedurile de temperatură în depozit la o adâncime de 70 cm:

Ziua 1.	17 °C
Ziua 20.	63 °C
Ziua 40.	57 °C
Ziua 60.	38 °C

Cantitățile caracteristice din comport care dovedesc eficiența preparatului, conform standardului STN 46 5735

	<i>compost</i>	<i>STN</i>
		min. 40,0
Umiditate %	60,1	max. 65,0
Materiale inflamabile în materialul uscat %	31	min. 25,0
Nitrogen total în materialul uscat %	1,5	min. 0,60
Proporție C : N	20,5 : 1	max. 30
Valoarea pH	7,5	6,0 – 8,5
Adaosuri care nu se descompun %	1,1	max. 2,0

Verificarea agenților: agentul vancomicină s-a descompus deja în ziua 35.-40.

Exemplul 2.

Nămolul rezultat din fabricarea acidului micofenilic a fost amestecat și omogenizat (70 % din volum) cu deșeu lignoceluloză (25%) și preparatul cheag **Biomass Pharma nr. II**. în proporție de 5%, în care microorganismele în majoritate aerobe și facultativ aerobe au început să se înmulțească rapid.

În cursul omogenizării am modificat umiditatea depozitului la 66-67% din materialul uscat. Forma depozitului l-am format omoloagă și din 1. zi până la a 40. zi a ciclului de fermentare - cu excepția etapei de amestecare - l-am izolat temeinic cu folie polietilenă de mediu, pentru prevenirea ieșirii prafului.

Efectul preparatului l-am observat în baza următoarelor parametrii:

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

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

După ciclul de compostare de 60 zile, care urmează procedura de eliminare de 40 zile cantitățile caracteristice care dovedesc eficiența preparatului, conform standardului STN 46 5735:

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

Nr. serie.	DATA	MOSTRE FĂRĂ PAIE			
		Mostra 1.	Mostra 2.	Mostra 3.	MEDIA
1	23 aprilie	414	765		590
2	2 mai	66	57	277	133
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

**Conținutul de acid micofenilic al miceliului compostat
(grame/tonă)**

Graficul de descompunere a agentului acidului micofenilic în prismă experimentală de 70 tone la punctul de lucru al AKSD Kft. este ilustrată pe figura 1.(comunicare TEVA)

Exemplul 3.

Mixtura de tulpini – Biomass Pharma nr. III.- predată Fabricii de medicamente TEVA

(printr-un contract secret) a fost suspus unei examinări de laborator mare, în cadrul căreia s-a examinat descompunerea restului acidului lisergic rezultat din fermentarea experimentală.

Descompunerea intermediarilor acidului lisergic le rezumăm în tabelul de mai jos:

Intermediari acid lisergic			etapa de incubare
<i>ug/g</i>			<i>în zile</i>
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 de descompunerea acidului lisergic

Întocmit 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. le-am înmulțit pe solul vegetal agar oblic la 37°C cultivându-le 3 zile.

Celulele le-am răzuit, le-am sădit în solul vegetal din balonul scuturat – cu compoziție identică cu agar – și la 37°C le-am scuturat timp de 3 zile. Culturile scutate scoase din balon le-am omogenizat unul cu celălalt. În balon Erlenmeyer de 500 ml am măsurat 100g miceliu cu acid lisergic, apoi am adăugat 5ml din cultura omogenizată.

Baloanele sădite le-am incubat la 37°C, și o dată pe zi le-am scuturat.

Periodic am prelevat eșantioane și le-am predat pentru măsurare HPLC.

Am folosit trei baloane. În balonul 1. și 2. nu am sterilizat miceliul, iar în balonul 3. l-am sterilizat înainte de adăugarea suspensiei de bacterii.

Decurgerea în timp a experimentelor le ilustrează figurile 2., 3. și 4.

Exemplul 4.

Pentru deșeul farmaceutic descris în exemplul 1-3 am adăugat componente alte componente supuse examinării (Deferoxamină, Tobramicină, Vancomicină, Acid

Locul prelevării mostrei	Nr. cod al mostrei	Data prelevării mostrei	Conținutul de agent (ug/g)				Agent însoțitor (ug/g)		
			Vancomicină	Tobramicină	Acid micofenilic	Deferoxamină	Neamină	Kanamicină	Nebremină
Mostră punctul de lucru TEVA	F-60788/09	2009.11.25	4 446,6	301	504	630	2	59	4
Compost amestecat Punct de lucru AKSD	F-04101/09	2009.11.18	-	18,7	31	33	0,9	4,5	1,6
Compost amestecat Punct de lucru AKSD	F-04109/09	2009.12.09	-	10	2	32	0	3	2

Măsurarea conținutului de agent al materiei prime de compostare din nămoluri miceliu cu compoziție mixtă după închegare și tratament aerob de aprox. 40 de zile

micofenilic) și am efectuat închegarea cu amestecul de specii de mai jos selectat din tulpinile de culturi mixte Biomass Pharma I-II-III (cultura mixtă Biomass Pharma NCAIM (P) Mix 001378)

- **Streptomyces tenebrarius**
- **Streptomyces thermoflavus**
- **Sporotrichum pulvurentum**
- **Pseudomonas fluorescens**
- **Pseudomonas putida**
- **Trichoderma citrinoviridae**

Agenții practic s-au descompus în ansamblu conform măsurărilor efectuate după faza de tratare de 60 zile.

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

- a) Laboratorul de protejarea al Direcției de Protejarea Plantelor și Solului: - *analiza poluanților anorganici, a conținutului de substanță nutritivă, a inhibitorilor de germinație, a efectului fitotoxic și de favorizarea buruienilor*
- b) Departamentul Național de Sănătatea Mediului, Secția de Igiena Solului: - *analize microbiologice de igienă, analiza poluărilor organice;*

Expertiza emisă în baza celor 3 mostre medii de cele două instituții a apreciat compostul potrivit comercializării fără limitări, care corespunde ordinului 36/2006 (V.18) FVM art.4 calificării produsului.

Se poate constata, că mixtura de tulpini – optimizată în exemplul 4. - selectată din mixturile de tulpini 1.-2.-3. este capabilă pentru descompunerea tuturor agenților

periculoși și să facă potrivit deșeurile care altfel ar conține elemente nutritive după o procedură de compostare ulterioară pentru fabricarea compostului cu caracteristici de intensificarea productivității solului și acesta fiind potrivit nutririi fără limitări a plantelor în agricultură.

Preparatul compus din substraturi de încheșare este potrivit avantajos pentru descompunerea biologică respectiv tratarea deșeurilor de următoarele tipuri:

- nămolul producerii penicilinei
- nămolul producerii bacitracinei
- nămolul producerii acidului micofenilic
- nămolul producerii deferoxaminei
- nămolul toxic pentru plante al producerii bioetanolului, biogazului (metan)
- nămolul producerii oxitetracilinei
- nămolul producerii vancomicinei
- nămolul producerii tobramicinei
- nămolul producerii acidului lisergic

REVEDICĂRI

1. Preparat cu conținut de microorganisme pentru descompunerea biologică a biomasei cu conținut de resturi de agenți toxici sau periculoși provenite din fabricarea medicamentelor, producției biogazului și/sau bioetanolului-biodieselului, care conține ca microorganism unul sau mai multe din culturile mixte depuse în Colecția Națională a Microorganismelor Agricole și Industriale cu nr. NCAIM 135/2010, NCAIM 136/2010 și NCAIM 137/2010, respectiv unul sau mai multe din microorganismele care figurează în aceste culturi mixte, după caz împreună cu materialele purtătoare compatibile din punct de vedere biologic.
2. Preparat conform revendicării 1., care este un amestec de microorganisme conținând cultura mixtă cu nr. NCAIM 135/2010.
3. Preparat conform revendicării 1., care este un amestec de microorganisme conținând cultura mixtă cu nr. NCAIM 136/2010.
4. Preparat conform revendicării 1., care este un amestec de microorganisme conținând cultura mixtă cu nr. NCAIM 137/2010.
5. Preparat conform revendicării 1. conținând ca microorganisme una sau mai multe microorganisme ale culturilor mixte depuse în Colecția Națională a Microorganismelor Agricole și Industriale sub nr. NCAIM 135/2010, NCAIM 136/2010 sau NCAIM 137/2010.
6. Preparat conform revendicării 5., care conține ca și microorganism una sau mai multe din tulpinile *Streptomyces tenebrarius*, *Streptomyces thermoflavus*, *Sporotrichium pulvurentum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* și *Trichoderma citrinoviridae* dintre microorganismele culturilor mixte depuse sub nr. NCAIM 135/2010, NCAIM 136/2010 sau NCAIM 137/2010.
7. Preparat conform revendicării 5. sau 6. care conține cultura mixtă *Streptomyces tenebrarius*, *Streptomyces thermoflavus*, *Sporotrichium pulvurentum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* și *Trichoderma citrinoviridae* depuse în Colecția Națională a Microorganismelor Agricole și Industriale sub nr. Biomass Pharma NCAIM (P) Mix 001378.
8. Preparat corespunzător oricărei revendicări dintre 1-7, care în calitate de material purtător conține resurse de carbon și nitrogen și săruri minerale utilizabile de către microorganisme.
9. Preparat conform oricărei revendicări dintre 1-8., care conține ca și resursă de

carbon și azot utilizabilă de către microorganisme produse secundare agricole utilizate de obicei la compostare.

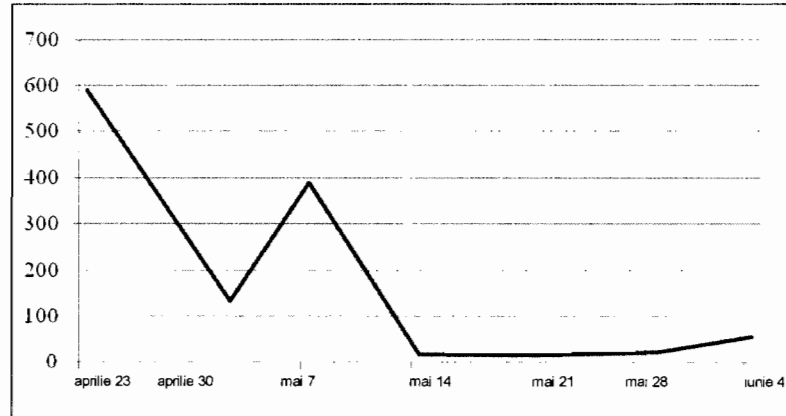
10. Procedură pentru descompunerea biologică a biomasei cu conținut de resturi de agenți toxici sau periculoși rezultate din producție farmaceutică, producție de biogaz și/sau bioetano-biodiesel, cu precizarea că biomasa se poate trata cu preparatul corespunzător oricărei revendicări dintre 1.-9.

11. Procedură pentru compostarea materialelor biologice, cu precizarea că materialul biologic potrivit compostării să o amestecăm cu preparatul conform oricărei revendicări dintre 1-9 și/sau cu biomasa sigură preparată conform revendicării 10.

12. Procedura conform revendicării 10. sau 11. cu precizarea, că procedura să fie efectuată în condiții aerobe.

13. Oricare procedură conform revendicării 10-12 cu precizarea, că în cursul procedurii este indicată folosirea adaosurilor cu conținut de lignoceluloză.

14. Utilizarea preparatului conform revendicării dintre 1-10. pentru obținerea composturilor.



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

Figura 1

100g miceliu acid lizergic (fără sterilizare) + 5ml suspensie bacterii omogenizate	100g miceliu acid lizergic (fără sterilizare) + 5ml suspensie bacterii omogenizate
--	--

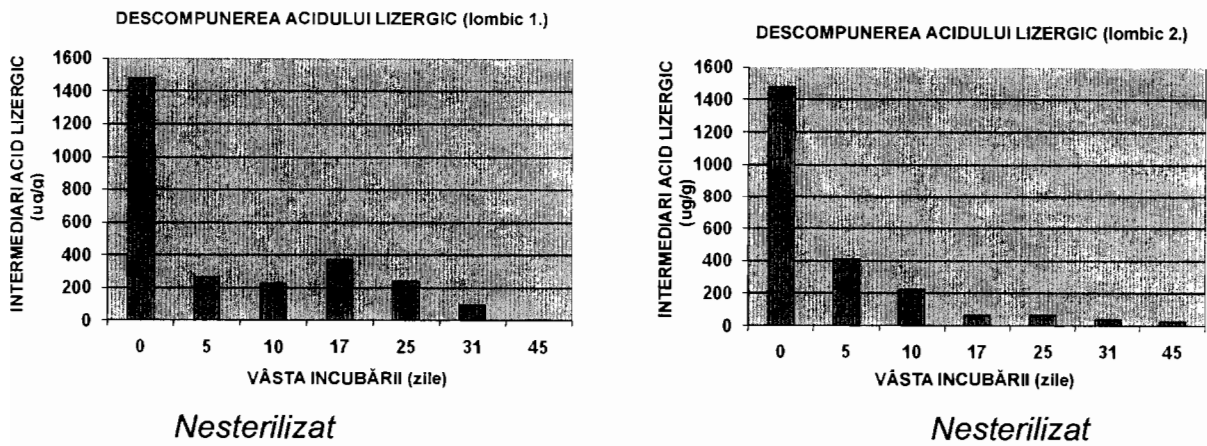
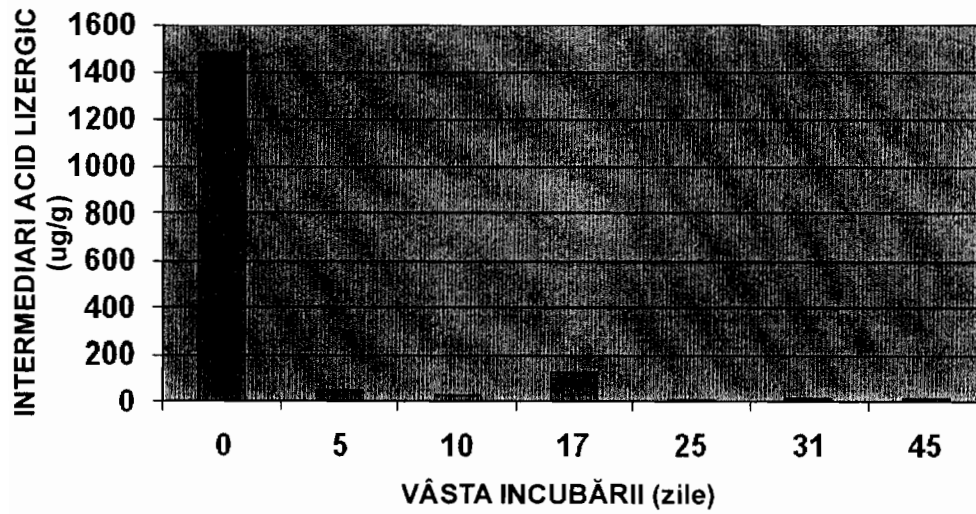


Figura 2

100g miceliu acid lizergic (fără sterilizare) + 5ml
suspensie bacterii omogenizate

DESCOMPUNEREA ACIDULUI LIZERGIC (Iombic 3.)



Steril

Figura 3