



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2015 00948**

(22) Data de depozit: **02/12/2015**

(41) Data publicării cererii:
30/06/2017 BOPI nr. **6/2017**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **RĂUT IULIANA,
ALEEA BARAJUL BISTRIȚA NR.12, BL.4,
SC.1, ET.4, AP.54, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **OANCEA FLORIN, STR.PAȘCANI NR. 5,
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **SESAN TATIANA EUGENIA,
BD. IULIU MANIU NR.55, BL.17, SC.E, ET.9,
AP.208, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **DONI MIHAELA, BD. CAMIL RESSU NR.
4, BL. 5, SC. C, AP. 115, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ARSENÉ MELANIA LILIANA, STR. COZLA
NR.8, BL.A7, SC.4, AP.49, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **JECU MARIA-LUIZA,
STR. PICTOR OCTAV BĂNCILĂ NR. 8,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **CALIN MARIANA,
STR. CETATEA DE BALTĂ NR. 41, BL. 07A,
SC. 2, AP. 91, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO**

(54) **PROCEDEU DE CONDIȚIONARE A MICROORGANISMELOR
BIOSTIMULANTE PENTRU PLANTE PE SUPORTURI
CERAMICE POROASE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante pentru obținerea unor bioproduse pentru tratamentul solului. Procedeu conform invenției constă în cultivarea axenică pe medii minimale semi-lichide, care includ 20% ceramici poroase cu capacitate ridicată de eliberare a acidului ortosilicic, la pH optim și aerare prin agitare cu

variarea temperaturii de incubare cu un interval de 10°C timp de 3..5 zile, recoltarea și uscarea biomasei de microorganisme și a ceramicilor poroase până la maximum 5% umiditate reziduală.

Revendicări: 6

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



PROCEDEU DE CONDITIONARE A MICROORGANISMELOR BIOSTIMULANTE PENTRU PLANTE PE SUPORTURI CERAMICE POROASE

Prezenta invenție se referă la un procedeu de condiționare a microorganismelor benefice pentru plante, în special a celor care au o acțiune de biostimulare a plantelor, prin dezvoltare pe suporturi ceramice poroase, pentru a obține bioproduse destinate tratamentelor aplicate solului, în cadrul tehnologiilor de cultură a plantelor, și în special a plantelor nutraceutice.

Sunt cunoscute diferite procedee de realizare a bioproduselor cu eliberare controlată a microorganismelor benefice plantelor, destinate tratării solului, care utilizează purtători solizi minerali, cu o structură foarte poroasă. Brevetul FR 2899580 B1 descrie includerea unor forme L de *Rhizobium* (rezultate prin tratarea cu lizozim a suspensiilor de bacterii obținute după cultivarea 24-48 de ore pe medii lichide), în zeoliți naturali, și utilizarea compoziției astfel rezultate. Brevetul EP 0203708 B se referă la un procedeu de obținere a inoculanților utilizabili în agricultură, pe bază de bacterii în stare de dormanță, alcătuit din următoarele etape: menținerea unei suspensii bacteriene, de *Rhizobium* sau de alte bacterii, substanțial separată din mediul său de cultură, și suspendată într-o soluție de zaharide (sucroză, lactoză, trehaloză, sorbitol sau adonital), la o temperatură cuprinsă în intervalul de aproximativ 0 - 30 ° C, pe perioade de timp de 0-96 ore, în condiții aseptice; amestecarea cu un purtător poros granular inert chimic (revendicat ca perlită, vermiculită sau cărbune activ), într-un raport în greutate a purtătorului la suspensia de bacterii în intervalul de la 0,5 la 1,5; uscarea cu aer pentru o perioadă de 2 până la 10 zile, în condiții aseptice.

Cererea de brevet WO2004005219 A1 prezintă un procedeu prin care se amestecă o suspensie de rhizobii, turbă, apă și argile (bentonită sau saponită, în proporție de 50...98%), care apoi se granulează și se usucă pentru a se obține o compoziție cu eliberare controlată.

Brevetul SUA 8728460 B2 revendică un nutrient biologic pentru sol, care combină microorganisme benefice plantelor de cultură (exemplificate prin fungi de micoriză obligat paraziți din genul *Glomus* și bacterii benefice din genul *Bacillus*) în stare de dormanță, cu nutrienți pentru plante și pentru microorganisme și biostimulanți, inclusiv acizi humici, și înglobează amestecul rezultat în ceramici poroase.

Avantajul formulărilor de microorganisme în granule minerale poroase este determinat de administrarea relativ ușoară și de contribuția acestor biopreparate și la aerarea solurilor, dar dezavantajul comun este dat de rata de supraviețuire redusă a microorganismelor la condiționarea prin înglobare în structuri poroase, care implică stresul uscării, și ulterior, de rata relativ redusă de supraviețuire (deși structurile minerale poroase protejează suplimentar microorganismele înglobate).

Prin soluția tehnică descrisă de brevetul SUA 8728460 B2 microorganismele înglobate în ceramici sunt protejate fizic de o serie de factori adversi de mediu, fără a se acționa asupra unor componente / mecanisme fiziologice / biochimice implicate în rezistența microorganismelor la factorii adversi de mediu.

Brevetul FI 119597 B propune o formulare sub formă de pastă, care include 0,25-5% microorganisme benefice plantelor (*Phlebiopsis gigantea*, *Chondrostereum purpureum*, *Gliocladium catenulatum*, *Nectria pity-rodes*, *Myrothecium* sp., *Streptomyces* sp.); 5-25% purtători solizi; 5-35% substanțe protective; până la 100% apă (sau 0,25-2% microorganisme; 10-20% purtători solizi; 5-15% substanțe protective; până la 100% apă, într-o altă revendicare). Purtătorii solizi, selectați dintre caolin, bentonită, talc, ghip, chitosan, celuloză, tărațe, rumeguș, talaș, turbă, vermiculită, perlită, silice amorfă sau argile granulare, includ suporturi minerale poroase. Substanțele protective sunt selectate din sucroză, fructoză, lactoză, trehaloză, glicerol, sorbitol, glicin-betaină, poliacrilamidă, polietilen-glicol, polipropilen-glicol, carboximetil-celuloză, amidon și pectină sau amestec al acestora. Formularea sub formă de pastă care include suporturi minerale poroase și substanțe protective crește rata de supraviețuire a microorganismelor, dar se pierd avantajele determinate de structura minerală poroasă, legate de ușurința aplicării și de contribuția acestor biopreparate și la aerarea solurilor.

Sunt necesare procedee prin care să se stimuleze sistemele interne de protecție ale microorganismelor, pentru a crește rezistența lor intrinsecă la condiționarea ulterioară prin înglobare și uscare în structuri minerale poroase în care microorganismele sunt supuse stresului major al uscării.

Autorii au stabilit că acidul ortosilicic, cunoscut ca fiind un biostimulant care crește rezistența plantelor la stresurile biotice și abiotice (Savvas și Ntatsi, 2015 *Scientia Horticulturae*, 19: 66–81) și ca având un efect de stimulare a creșterii microorganismelor (Wainwright et al. 1997, *Mycological Research*, 101: 933-938),

are și un efect de stimulare a sistemelor interne de protecție a microorganismelor față de factorii adversi de mediu.

Acidul ortosilicic este un acid foarte slab, cu patru funcțiuni acide, la care valoarea pKa cea mai mică este de 9,8 (Iler, *The Chemistry of Silica*, John Wiley & Sons, New York, 1979, pg. 207). Aceasta înseamnă că la pH 9,8 acidul ortosilicic este prezent 50% în stare nedisociată și 50% în stare disociată. Intre valorile de pH 2 și 8 acidul ortosilicic este o moleculă neutră, complet nedisociată. La concentrații mai mari de 2 mM începe să polimerizeze, prin reacții de policondensare, cu eliberare de apă (McIntosh, 2012, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14: 996-1013). Datorită acestei tendințe de policondensare acidul ortosilicic nu poate fi inclus în mediile de cultură ale microorganismelor în concentrații mari, ci trebuie să fie eliberat constant în concentrații mici, biologic active, din compuși precursori. Biomasa rezultată trebuie să fie apoi ușor de condiționat în formule de tablete efervescentă, cu asigurarea unei supraviețuiri ridicate a microorganismelor.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a descrie un procedeu, ușor de realizat, de condiționare a microorganismelor benefice plantelor, în special a celor cu activitate de biostimulare a plantelor de cultură, în suporturi ceramice poroase, prin care să se asigure o rată ridicată de supraviețuire a microorganismelor și o producere simplificată a biopreparatului.

Este un alt obiect al acestei invenții de a descrie un procedeu de obținere a biomasei de microorganismelor cu rezistență mare la factorii de mediu, prin cultivarea pe medii în care sunt eliberate constant concentrații mici, active biologic, de acid ortosilicic.

Procedeu conform invenției constă în următoarele etape:

- Cultivarea axenică pe medii minimale semi-lichide, care includ 20% ceramici poroase cu capacitate mare de eliberare a acidului ortosilicic, la pH optim și aerare prin agitare, cu varierea temperaturii de incubare cu un interval de 10°C, 12 ore la 20°C și 12 ore la 30°C, timp de 3-5 zile;
- Recoltarea biomasei de microorganisme și a ceramicilor poroase prin filtrare sub vacuum de min. -0,5 bar;
- Uscarea biomasei de microorganisme și a ceramicilor poroase, până la max. 5% umiditate reziduală.

Ceramicile poroase cu capacitate de eliberare a acidului ortosilicic se obțin din: diatomită 40%, amestec Na_2SiO_3 + dioxid de siliciu coloidal, 1,5:1, 55% și 5%

substrat epuizat de ciuperci *Pleurotus*, cultivate pe paie de grâu, amestecare - omogenizare – granulare continuă a ingredientelor, uscare la 104°C și calcinare la 960°C și eliberează constant în mediul de cultură acid ortosilicic, sub nivelul de concentrație de 1 mM.

Diatomita utilizată pentru obținerea ceramicelor poroase cu capacitate mare de eliberare a acidului ortosilicic are următoarele caracteristici: schelet de silice cu 85-95% SiO₂, 6% Al₂O₃, 1% Fe₂O₃ și 0,35 % CaO.

Amestecul de Na₂SiO₃ + sol SiO₂ (3:2,5) utilizat pentru obținerea ceramicelor poroase cu capacitate mare de eliberare a acidului ortosilicic este constituit din soluție apoasă de Na₂SiO₃ cu conținut de substanță solidă 33 -35% și dioxid de siliciu coloidal, fiind preparat prin adăugare treptată în porțiuni mici și amestecare continuă a celor două componente.

Dioxidul de siliciu coloidal utilizat pentru obținerea ceramicelor poroase cu capacitate mare de eliberare a acidului ortosilicic are o suprafață specifică BET cuprinsă între 129 și 155 m²/g, un conținut de siliciu de min. 39,50 % și generează suspensii cu un pH de 5,5.

Uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal se face în pat fluidizat, în condiții blânde, la max. 40°C temperatură de operare, atunci când microorganismele cultivate sunt bacterii gram pozitive, care formează endo-spori sau ciuperci microscopice care formează conidii, și prin liofilizare, prin creșterea graduală a temperaturii de la -25°C la 25°C, la 0,9 mbar presiune, timp de 48 ore, atunci când microorganismele sunt bacterii gram-negative.

Prezenta invenție prezintă următoarele avantaje:

- Asigură eliberarea constantă a unor concentrații mici, biologic active, de acid ortosilicic din ceramicelor poroase, datorită compoziției acestora și condițiilor de cultivare a microorganismelor pe mediu minimal, care stimulează producerea de către aceste microorganisme a biocompușilor implicați în solubilizarea acidului ortosilicic;
- Determină o rată de supraviețuire avansată a microorganismelor, care sunt cultivate în condiții care să favorizeze exprimarea mecanismelor interne de rezistență la factorii externi, datorită efectului protector al acidului silicic, combinat cu șocurile de temperatură;

- Formează bioproduse în care microorganismele benefice sunt asociate direct cu ceramicile poroase, condițiile de creștere facilitând dezvoltarea sub formă de biofilme asociate structurilor poroase.

În continuare se prezintă exemple de realizare care ilustrează invenția fără a o limita.

Exemplu 1. Într-un bioreactor semisolid (Wave[®] rocking bioreactor, Buckinghamshire, Marea Britanie), prevăzut cu un sac-bioreactor de unică folosință, de 5 litri, se aduc 2 litri mediu minimal M9 care conține la 1 litru: Na₂HPO₄ (anhidru) 6 g; KH₂PO₄ 3 g; NaCl 0.5 g; NH₄Cl 1 g, 10 g lactoză. Se suspendă în mediul rezultat 400 g de ceramici poroase. Mediul rezultat se sterilizează prin autoclavare, și apoi se adaugă nouă microelemente, în următoarele concentrații finale: MgSO₄ 1 mM; CaCl₂ 0,1 mM; (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 3x10⁻⁹ M; H₃BO₃ 4x10⁻⁷ M; CoCl₂ · 6 H₂O 3x10⁻⁸ M; CuSO₄·5H₂O 1x10⁻⁸ M; MnCl₂·4H₂O 8x10⁻⁸ M; ZnSO₄·7H₂O 1x10⁻⁸ M; FeSO₄·7H₂O 1x10⁻⁶ M, provenite din soluții stoc sterilizate prin ultrafiltrare. Se verifică pH-ul și se aduce la pH 5,5 cu HCl 1 M sau NaOH 1 M.

Toți reactivi folosiți sunt proveniți de la Merck-Millipore, Darmstadt, Germania. Orice alți reactivi care au aceleași caracteristici tehnice pot fi utilizați.

Ceramicile poroase folosite sunt obținute conform următorului procedeu. Se amestecă 400 g de diatomită și 50 g substrat epuizat de ciuperci *Pleurotus*, cultivate pe paie de grâu, cu 550 g amestec Na₂SiO₃ + sol SiO₂ (300 g Na₂SiO₃ + 250 g sol SiO₂). Componentii solizi (diatomita și substratul de ciuperci) se omogenizează într-un amestecător. Amestecul Na₂SiO₃ + sol SiO₂ se diluează cu 500 ml apă. Amestecul solid omogenizat se încarcă într-un granulator cu taler, care efectuează mișcări de rotație. Soluția apoasă se pulverizează în mod continuu în granulator. Sub efectul umectării materialul începe să se granuleze. Instalația de granulare se oprește, când granulele ajung la 3 – 8 mm. Materialul astfel granulat se usucă la 105 – 110°C, apoi se calcinează la 960°C.

Diatomita utilizată în compoziția de mai sus este diatomită cu următoarele caracteristici: schelet de silice cu 85-95% SiO₂, 6% Al₂O₃, 1% Fe₂O₃ și 0,35 % CaO. Densitatea în stare uscată este sub 1 g/cm³ (0,15 — 0,30 g/cm³) culoare albă, alb-albastră sau cenușie.

Amestecul de Na₂SiO₃ + sol SiO₂ (3:2,5) este constituit din soluție apoasă Na₂SiO₃ cu conținut de substanță solidă 33 35% și dioxid de siliciu coloidal, obținut prin adăugare treptată în porțiuni mici și amestecare continuă. Dioxidul de siliciu

coloidal utilizat pentru obținerea soluției are o suprafață specifică BET cuprinsă între 129 și 155 m²/g, un conținut de siliciu de min. 39,50 % și generează suspensii cu un pH de 5,5.

Mediul se inoculează cu 100 ml de suspensie de conidii de *Trichoderma asperellum* Td36b, NCAIM P(F) 001434, normalizate la 10⁸ propagule per ml prin numărare la lamela citometrică. Tulpina *T. asperellum* Td36b este cunoscută ca având efect de biostimulare a plantelor de cultură (Raut et al. 2015. Journal of Biotechnology, 208, S62). Se cultivă tulpina Td36b timp de 5 zile, la o rată de aerare de 5 balansări pe min – cca 50% saturație de oxigen, cu varierea temperaturii de incubare cu un interval de 10°C, 12 ore la 20°C și 12 ore la 30°C.

Din oră în oră se prelevează aseptice probe de 2- 2,4 ml mediu de cultură cu microorganisme, în vase din HDPE (Nalgene, Thermo Scientific, Waltham, MA, SUA). Se separă prin centrifugare supernatantul, de sedimentul microbial și de ceramici poroase, și se preiau probe de câte 1 ml de supernatant, care este diluat cu 4 ml apă ultrapură, în tuburi Eppendorf conice de 15 ml (Eppendorf, Hamburg, Germania). Conținutul de acid ortosilicic liber este determinat cu un kit Merck (Merck Silicate Assay, 1.14794, Merck-Millipore). Acest test colorimetric este bazat pe reacția dintre silicat și ionii molidat, pentru a forma un complex colorat de silicomolidat albastru, care poate fi detectat spectrofotometric la 810 nm. Concentrația absolută de acid silicic este calculată după construcția unei curbe de calibrare, folosind un standard de siliciu (Merck 170236, Merck-Millipore). În mediu de cultură se determină o concentrație de acid ortosilicic care este permanent de sub 1 mM, fiind consecința a două procese concomitente – solubilizarea siliciului sub efectul metabolismului microbial și asimilarea acidului ortosilicic. În sedimentul de microorganisme, care se spală din ceramicele poroase cu tampon fosfat salin, se determină siliciul total, după mineralizare, prin ICP-OES (Georgiadis et al. 2013, Geoderma, 209: 251-261). Se constată o continuă creștere a conținutului de siliciu în biomasa de microorganisme, creștere care dovedește asimilarea acidului ortosilicic de către respectivele microorganisme. În ceramicele poroase spălate repetat de microorganisme cu tampon fosfat salin, se evidențiază asociații de tip biofilm cu *Trichoderma*, prin microscopie de baleiaj, conform metodei descrise de Triveni et al. 2015, *Biocontrol Science and Technology*, 25: 656-670.

După terminarea perioadei de cultivare se recoltează biomasa de microorganisme și ceramicele poroase prin filtrare sub vacuum de min. -0,5 bar, folosind o unitate Sartolab® (Sartorius, Goettingen, Germania). Ceramicele poroase

cu biomasă de microorganisme se aduc într-un uscător în pat fluidizat (MiniGlatt, Glatt, Binzen, Germania) și se usucă în condiții blânde, la max. 40°C.

La sfârșitul procedurii de obținere se analizează conținutul de propagule de *Trichoderma* din bioprodusul pe suporturi ceramice poroase, prin cultivare pe medii selective. Acest conținut este de minim 5×10^7 ufc/g, și nu scade cu mai mult de 10%, prin stocarea bioprodusului la temperatura camerei, timp de 6 luni.

Exemplu 2. Se procedează ca în Exemplu 1, cu următoarele diferențe. Se folosește glucoză ca sursă de carbon și energie în mediul minimal, se utilizează tulpina *Brevibacillus parabrevis* B50, NCAIM (P) B 001413 (tulpină cunoscută ca fiind biostimulantă pentru plante (cerere de brevet RO RO128931), cultivarea se realizează timp de trei zile.

La sfârșitul procedurii de obținere se analizează conținutul de propagule de *Brevibacillus* din bioprodusul pe suporturi ceramice poroase prin cultivare pe medii selective. Acest conținut este de minim 10^8 ufc/g, și nu scade cu mai mult de 10% prin stocarea bioprodusului la temperatura camerei timp de 6 luni.

Exemplu 3. Se procedează ca în Exemplu 1, cu următoarele diferențe. Se folosește glucoză ca sursă de carbon și energie în mediul minimal. Se utilizează tulpina *Pseudoxanthomonas mexicana* P32, NCAIM (P) B 001414, (cunoscută ca fiind biostimulantă pentru plante, brevet EP2738267 B1), iar cultivarea se realizează timp de 3 zile. Uscarea se face prin liofilizare, pe un liofilizator Christ Alpha 1-2 LD (Martin Christ, Osterode am Harz, Germania), prin creșterea graduală a temperaturii de la -25°C la 25°C, la 0,9 mbar presiune, timp de 48 ore.

La sfârșitul procedurii de obținere se analizează conținutul de propagule de *Pseudoxanthomonas* în bioprodusul pe suporturi ceramice poroase prin cultivare pe medii selective. Acest conținut este de minim 5×10^7 ufc/g, și nu scade cu mai mult de 10% prin stocarea bioprodusului la temperatura camerei timp de 6 luni.

Această lucrare a fost realizată prin programul Parteneriate in domenii prioritare — PN II, derulat cu sprijinul MEN – UEFISCDI, proiect PN-II-PT-PCCA-2013-4-0995, contract 160/2014 MAIA

REVEDICARI

1. Procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante pe suporturi ceramice poroase, conform invenției, **caracterizat prin aceea că** este constituit din următoarele etape: cultivarea axenică pe medii minimale semi-lichide, care includ 20% ceramici poroase cu capacitate mare de eliberare a acidului ortosilicic, la pH optim și aerare prin agitare, cu varierea temperaturii de incubare cu un interval de 10°C, 12 ore la 20°C și 12 ore la 30°C, timp de 3-5 zile; recoltarea biomasei de microorganisme și a ceramicilor poroase prin filtrare sub vacuum de min. -0,5 bar; uscarea biomasei de microorganisme și a ceramicilor poroase, până la max. 5% umiditate reziduală.

2. Procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante pe suporturi ceramice poroase, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** utilizează ceramice poroase cu capacitate de eliberare a acidului ortosilicic care se obțin din: diatomită 40%, amestec Na_2SiO_3 + dioxid de siliciu coloidal, 1,5:1, 55% și 5% substrat epuizat de ciuperci *Pleurotus*, cultivate pe paie de grâu, amestecare - omogenizare – granulare continuă a ingredientelor, uscare la 104°C și calcinare la 960°C și care eliberează constant în mediul de cultură acid ortosilicic, sub nivelul de concentrație de 1 mM.

3. Procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante pe suporturi ceramice poroase, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** diatomita utilizată pentru obținerea ceramicelor poroase cu capacitate mare de eliberare a acidului ortosilicic are următoarele caracteristici: schelet de silice cu 85-95% SiO_2 , 6% Al_2O_3 , 1% Fe_2O_3 și 0,35 % CaO .

4. Procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante pe suporturi ceramice poroase, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** amestecul de Na_2SiO_3 + sol SiO_2 (3:2,5) utilizat pentru obținerea ceramicelor poroase cu capacitate mare de eliberare a acidului ortosilicic este constituit din soluție apoasă de Na_2SiO_3 cu conținut de substanță solidă 33 -35% și dioxid de siliciu coloidal, fiind preparat prin adăugare treptată în porțiuni mici și amestecare continuă a celor două componente.

5. Procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante pe suporturi ceramice poroase, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** dioxidul de siliciu coloidal utilizat pentru obținerea ceramicelor poroase cu capacitate mare de eliberare a acidului ortosilicic are o suprafață specifică BET

cuprinsă între 129 și 155 m²/g, un conținut de siliciu de min. 39,50 % și generează suspensii cu un pH de 5,5.

6. Procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante pe suporturi ceramice poroase, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal se face în pat fluidizat, în condiții blânde, la max. 40°C temperatură de operare, atunci când microorganismele cultivate sunt bacterii gram pozitive, care formează endo-spori sau ciuperci microscopice care formează conidii, și prin liofilizare, prin creșterea graduală a temperaturii de la -25°C la 25°C, la 0,9 mbar presiune, timp de 48 ore, atunci când microorganismele sunt bacterii gram-negative.