



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2015 00946**

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

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/08/2019** BOPI nr. **8/2019**

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

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

(72) Inventatori:  
• **OANCEA FLORIN, STR. PAȘCANI NR.5,  
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **VELEA SANDA, STR.ZAMBILELOR NR.6,  
BL.60, ET.2, AP.5, SECTOR 2, BUCUREȘTI,  
B, RO;**

• **POPESCU MARIANA, STR. VALEA ROȘIE  
NR. 6, BL. 62, SC. C, ET. 1, AP. 35,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **RĂUT IULIANA,  
ALEEA BARAJUL BISTRIȚA NR.12, BL.4,  
SC.1, ET.4, AP.54, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**WO 2005060937 A1; WO 2009093261 A2;  
CN 1254181 C; US 5811090 A; MCINTOSH  
GJ., "A THEORETICAL KINETIK MODEL  
OF THE TEMPERATURE AND pH  
DEPENDENT DIMERIZATION OF  
ORTHO-SILICIC ACID IN AQUEOUS  
SOLUTION", PHYSICAL CHEMISTRY  
CHEMICAL PHYSICS, VOL. 14(2),  
PP. 996-1013, 2012**

(54) **PROCEDEU DE CONDIȚIONARE A MICROORGANISMELOR  
BIOSTIMULANTE PENTRU PLANTE, SUB FORMĂ  
DE TABLETĂ EFERVESCENTĂ**



# RO 131927 B1

1 Prezenta invenție se referă la un procedeu de condiționare a microorganismelor  
biostimulante pentru plante, sub formă de tabletă efervescentă destinată tratamentelor prin  
3 pulverizare în cadrul tehnologiilor de cultură a plantelor, și în special tratamentului resturilor  
vegetale în sistemele de agricultură conservativă.

5 Sunt cunoscute diferite procedee de condiționare sub formă de tabletă, a micro-  
organismelor utilizate ca ingredient activ în diferitele tipuri de inputuri pentru tehnologiile de  
7 cultivare a plantelor.

Pentru a crește rata de supraviețuire a microorganismelor înglobate în tablete, a fost  
9 propusă utilizarea unor compuși cu rol protectiv.

În documentul **WO 2005060937 A1** este descrisă o compoziție ce conține organisme  
11 probiotice active viabile (bacterii gram-negative, sub formă vegetativă, un antioxidant, un  
agent de îngroșare și un agent gelifiant), condiționată sub forma unor tablete, procedeul de  
13 obținere și utilizarea compoziției în realizarea unor medicamente pentru prevenirea anumitor  
boli, precum și pentru îmbunătățirea stării de sănătate în general a mamiferelor.

15 **WO 2009093261 A2** face referire la un biopesticid, realizat pe baza uneia sau a mai  
multor ciuperci microscopice entomopatogene, care se prezintă sub forma unor tablete  
17 puternic comprimate. Ciupercile entomopatogene sunt selectate din grupul reprezentat de  
genurile *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Verticillium* și *Nomuraea*, iar tabletele conțin  
19 conidiile unuia sau mai multor ciuperci microscopice entomopatogene, protectanți UV, agenți  
anti-saprofitici, desicanți, lubrificați, agenți de legare, dezintegranti și diluanți.

21 **CN 1254181 C** descrie un comprimat efervescent pe bază de *Bacillus thuringiensis*  
(Bt), agenți de umectare, un sistem efervescent și lianți. Compoziția include pulbere  
23 provenită prin uscarea biomasei de *B. thuringiensis*, lignosulfonat de sodiu, acid stearic, acid  
salicilic (2-hidroxibenzoic), bicarbonat de sodiu și amidon. Invenția reduce contaminarea  
25 datorită efectului bacteriostatic al acidului salicilic, elimină măsurile uzuale de protecție  
împotriva absorbției umidității atmosferice datorită reducerii delicvescenței sistemului  
27 efervescent și simplifică aplicarea.

29 **US 5811090 A** se referă la controlul biologic al bolilor plantelor prin utilizarea unor  
compoziții ce au drept componentă activă noi tulpini din genul *Nectria*, la care se adaugă un  
31 purtător, selecționat din grupul constând în silice, carboximetilceluloză, sucroză și amidon,  
și un aditiv.

În documentul "**A theoretical kinetic model of the temperature and pH dependent**  
33 **dimerization of orthosilicic acid in aqueous solution**" - McIntosh GJ. - **Physical**  
**Chemistry Chemical Physics, 2012 - 14 (2): 996-1013**, regăsim informația potrivit căreia,  
35 la concentrații mai mari de 2 mM, are loc reacția de polimerizare a acidului ortosilicic, caz în  
care acesta nu poate fi introdus în mediile de cultură a microorganismelor.

37 **EP 0929215 B1** revendică utilizarea masei de reziduu celular, rămasă după  
extragerea din boabele de soia a uleiului și a proteinelor, ca bio-purtător pentru realizarea  
39 unor tablete efervescente cu microorganisme utile (exemplificat prin *Lagenidium*, o oomicetă  
entomopatogenă). Unul din exemplele de realizare a invenției este constituit din 60 părți  
41 masă de reziduu celular de soia, 30 părți (biomasă de) *Lagenidium*, 5 părți pirofosfat acid de  
sodiu, 5 părți bicarbonat de sodiu. Biomasa de *Lagenidium* este încorporată în materialul bio-  
43 purtător (masă de reziduu celular de soia), uscată, amestecată cu sistemul efervescent  
pirofosfat/bicarbonat și apoi tabletată. Masa de reziduu celular de soia are caracteristici bune  
45 de compresibilitate, dar include o serie întreagă de hidrocoloizi, care complică procesul de  
producție și ulterior stocarea, distribuția și utilizarea. Hidrocoloizii din bio-purtător (celuloză,  
47 pectină, alte fibre vegetale hidrofili) mențin/rețin o umiditate ridicată în substratul de tabletat,

# RO 131927 B1

care prezintă riscul de a declanșa reacția de efervescentă în timpul procesării și accentuează cunoscuta higroscopicitate/delicvescentă a sistemelor efervescente (**Newman et al. 2008, Journal of Pharmaceutical Sciences, 97: 1047-1059**). Ulterior, la aplicare, hidrocoloizii reduc rata de dizolvare, inclusiv datorită durtății crescute a apei folosite uzual pentru tratamentele în agricultură (care este de obicei apă de fântână, motiv pentru care testele produselor utilizate în agricultură pentru stropiri/pulverizări se fac cu apă dură standard). Termenul de „hidrocoloid” este folosit aici ca definiție a compușilor, în general carbohidrați hidrofili cu masă moleculară mare, organizați în structuri supramoleculare, care au o mare afinitate pentru apă și o rețin la suprafață, împiedicând umectarea/hidratarea întregii (supra) structuri moleculare și dizolvarea rapidă/formarea soluțiilor coloidale.

Avantajul tabletelor îl constituie ușurința respectării dozelor recomandate, dar dezavantajul comun este dat de rata de supraviețuire redusă a microorganismelor la condiționarea prin tabletare, care implică pentru microorganisme atât stresul uscării, cât și cel al comprimării. În cazul tabletelor efervescente, la aceste stresuri combinate se mai adaugă și cel al unui pH micro-zonal cu variabilitate mare, datorat omogenizării unui (bi)carbonat bazic cu un acid. Din acest motiv, se utilizează cu precădere pentru astfel de formulări microorganisme care au forme de răspândire (endosporii ai bacteriilor gram pozitive, conidii ale ciupercilor microscopice) cu rezistență crescută la factorii adverși de mediu, inclusiv la uscare.

Aplicarea în mediu de condiționare a microorganismelor, a unor compoziții stabilizante, crește rata de supraviețuire, dar nu într-o măsură suficientă. Sunt necesare procedee prin care să se stimuleze sistemele interne de protecție ale microorganismelor, pentru a crește rezistența lor intrinsecă la condiționarea ulterioară sub formă de tabletă (efervescentă), în care microorganismele sunt supuse atât stresului uscării, cât și al celui rezultat din comprimarea cu forțe mari.

Autorii au stabilit că acidul ortosilicic, cunoscut ca fiind un biostimulant care crește rezistența plantelor la stresurile biotice și abiotice (**Sawas 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 adverși 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, p. 207**). Aceasta înseamnă că, la pH 9,8, acidul ortosilicic este prezent 50% în stare nedisociată și 50% în stare disociată. Între 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 efervescente, cu asigurarea unei supraviețuiri ridicate a microorganismelor.

Problema tehnică pe care își propune să o rezolve invenția o reprezintă creșterea rezistenței microorganismelor cu activitate de stimulare a plantelor, la condiționarea sub formă de tablete efervescente, ce presupune expunerea la stresul uscării și cel al comprimării cu forțe mari.

# RO 131927 B1

1 Este un alt obiect al acestei invenții de a descrie un procedeu de obținere a biomasei  
2 microorganismelor cu rezistență mare la condiționare prin comprimare în structuri  
3 efervescente, prin cultivarea pe medii în care sunt eliberate constant concentrații mici, active  
biologic, de acid ortosilicic.

5 Procedeu conform invenției constă în următoarele etape:

7 - cultivarea axenică pe medii minimale lichide, care includ 2% dioxid de siliciu  
coloidal, la pH optim și la aerări de până la 50% saturație de oxigen, cu varierea temperaturii  
de incubare cu un interval de 10°C, 12 h la 20°C și 12 h la 30°C, timp de 3...5 zile;

9 - recoltarea biomasei de microorganisme și a dioxidului de siliciu coloidal rezidual prin  
filtrare sub vacuum de minimum -0,5 bar;

11 - uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal, recoltate prin filtrare,  
până la maximum 5% umiditate reziduală;

13 - omogenizarea a 9...11 părți biomasă de microorganisme și siliciu coloidal, cu  
14,2...14,7 părți bicarbonat de sodiu, 4,5...4,9 părți acid alginic, 4,3...4,5 părți acid tartric,  
15 2,2...2,4 părți alcool polivinilic, 3 părți croscarmeloză, 59,4...61,9 părți celuloză micro-  
cristalină, părțile fiind exprimate în unități de masă;

17 - granularea umedă a compoziției de mai sus cu 15 părți de soluție alcoolică, care  
conțin 0,7 părți lecitină modificată, cu o balanță hidrofil-lipofilă HLB mai mare de 8, urmată  
19 de uscarea în pat fluidizat, la o temperatură de maximum 40°C, până la o umiditate reziduală  
de maximum 2%;

21 - comprimarea granulelor la 60 MPa, într-o matriță cu diametru de 1,3 cm, cu  
formarea unor tablete efervescente de 1 g.

23 Procedeu favorizează eliberarea controlată, în etapa de cultivare axenică pe medii  
minimale lichide, de acid ortosilicic în concentrații care sunt sub 1 mM.

25 Uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal se face prin pulverizarea  
unei suspensii normalizate la 10% substanță uscată, în condiții blânde, la 130...140°C  
27 temperatură de intrare și 75...80°C temperatură de ieșire, atunci când microorganismele  
cultivate sunt bacterii gram pozitive, care formează endo-spori sau ciuperci microscopice  
29 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 h, atunci când microorganismele sunt bacterii gram-  
31 negative.

Prezenta invenție prezintă următoarele avantaje:

33 - asigură eliberarea constantă a unor concentrații mici, biologic active, de acid  
ortosilicic din dioxidul de siliciu coloidal, datorită cultivării microorganismelor pe medii  
35 minimal, care stimulează producerea de către microorganisme a biocompușilor implicați în  
solubilizarea acidului ortosilicic;

37 - determină o rată de supraviețuire avansată a microorganismelor, care sunt cultivate  
în condiții care să favorizeze exprimarea mecanismelor interne de rezistență la factorii  
39 externi, datorită efectului protector al acidului silicic, combinat cu șocurile de temperatură;

41 - nu necesită condiții speciale de reducere a umidității la tabletare și, ulterior, la  
depozitare și transport, datorită higroscopicității reduse a sistemului efervescent, care include  
acid alginic, și capacității ridicate de reținere a apei de către dioxidul de siliciu aflat în  
43 proporție mare;

45 - formează o compoziție care are o umectabilitate ameliorată, sub acțiunea lecitinei  
și a stearatului; cu o capacitate ridicată de autosuspendare în apă datorită sistemului  
efervescent, care este apoi menținută de agenții de suspendare pe care-i conține, alcool  
47 polivinilic, sau care se formează la dizolvare, alginatul de sodiu și citratul de sodiu;

# RO 131927 B1

cu o spumare redusă, datorită creșterii semnificative a viscozității sub acțiunea combinată a alginatului de sodiu și a alcoolului polivinilic; are o bună fixare de suprafață materialului vegetal după aplicare, sub acțiunea aderentă conjugată a alcoolului polivinilic și a alginatului de sodiu, și formează pelicule pe suprafața resturilor vegetale pe care se aplică, în care apa este reținută de macromoleculele cu caracter hidrofil ridicat.

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

## Exemplul 1

Într-un bioreactor (Biostat® B, Goettingen, Germania), prevăzut cu senzor de pH și senzor de oxigen dizolvat (DO) (InPro6800; Mettler-Toledo AG, Greifensee, Elveția), prevăzut cu un vas de 5 l, se aduc 2 l mediu minimal M9 care conține la 1 l: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (anhidru) 6 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 g; NaCl 0,5 g; NH<sub>4</sub>Cl 1 g, 10 g lactoză. Se suspendă în mediul rezultat 40 g de dioxid de siliciu coloidal, 270 și 330 m<sup>2</sup>/g, un conținut de bioxid de siliciu de minimum 98%, și se generează suspensii cu un pH de 5,5. Mediul rezultat se sterilizează prin autoclavare *in situ*, și apoi se adaugă nouă microelemente, în următoarele concentrații finale: MgSO<sub>4</sub> 1 mM; CaCl<sub>2</sub> 0,1 mM; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O 3 x 10<sup>-9</sup> M; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4 x 10<sup>-7</sup> M; CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 3 x 10<sup>-8</sup> M; CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 1 x 10<sup>-8</sup> M; MnCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O 8 x 10<sup>-8</sup> M; ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1 x 10<sup>-8</sup> M; FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1 x 10<sup>-6</sup> 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, cu excepția dioxidului de siliciu coloidal, care este Aerosil® 300 Pharma (Evonik Resource Efficiency, Hanau-Wolfgang, Germania). Pot fi utilizați orice alți reactivi care au aceleași caracteristici tehnice.

Mediul se inoculează cu 100 ml de suspensie de conidii de *Trichoderma asperellum* Td36b, NCAIM P(F) 001434, normalizate la 10<sup>8</sup> 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 până la 50% saturație de oxigen, cu varierea temperaturii de incubare cu un interval de 10°C, 12 h la 20°C și 12 h 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 gelul de silice 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 molibdat, pentru a forma un complex colorat de silicomolibdat 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 sub 1 mM, fiind consecința a două procese concomitente - solubilizarea siliciului sub efectul metabolismului microbial și asimilarea acidului ortosilicic. În sedimentul de microorganisme 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, care dovedește asimilarea acidului ortosilicic de către microorganisme.

După terminarea perioadei de cultivare se recoltează biomasa de microorganisme și dioxidul de siliciu coloidal rezidual prin filtrare sub vacuum de minimum -0,5 bar, folosind o unitate Sartolab® (Sartorius, Goettingen, Germania). Gelul rezultat prin filtrare este resuspendat în apă pură milliQ (produsă într-un aparat Milli-Q® Integral, Merck-Millipore).

# RO 131927 B1

1 Suspensia rezultată se usucă până la maximativ 5% umiditate reziduală, pe o instalație de  
uscarea prin pulverizare cu disc atomizor și cu aer încălzit ca agent de uscare, la o turație de  
3 cel puțin 20000 rpm a discului atomizor, la o temperatură de intrare a agentului de uscare  
de 130...140°C și la o temperatură de ieșire a agentului de uscare de 75...80°C. O instalație  
5 de uscare prin pulverizare care poate fi utilizată în acest scop este, de exemplu, Niro  
Production Minor Unit, produsă de Niro Gea (Soeborg, Danemarca) sau Laboratory spray  
7 dryer, produsă de ICF Cibec (Maranello, Italia). Orice alt tip de instalație de uscare prin  
pulverizare, cu caracteristici tehnice similare, poate fi utilizată.

9 Se iau 10 părți biomasă de microorganisme și siliciu coloidal uscate, care se aduc  
într-un granulator în pat fluidizat (MiniGlatt, Glatt, Binzen, Germania), împreună cu 14,7 părți  
11 bicarbonat de sodiu, 4,9 părți acid alginic, 4,5 părți acid tartric, 2,2 părți alcool polivinilic,  
3 părți croscarmeloză, 60 părți celuloză microcristalină, părțile fiind exprimate în unități de  
13 masă.

Se granulează compoziția de mai sus cu 15 părți de soluție alcoolică, care conțin  
15 0,7 părți lecitină modificată, cu o balanță hidrofil-lipofilă HLB mai mare de 8, urmată de  
uscarea în pat fluidizat, la o temperatură de maximum 40°C, până la o umiditate reziduală  
17 de maximum 2%.

Lecitina folosită este Thermolec® WFC, Archer Daniels Midland (Decatur, IL, SUA),  
19 dar orice altă lecitină modificată cu caracteristicile de mai sus poate fi utilizată.

Amestecul rezultat este comprimat la o presiune de comprimare de 60 MPa, într-o  
21 matriță cu diametru de 1,3 cm, cu formarea unor tablete efervescente de 1 g XP 1, pe o  
mașină de tabletat XP 1, Korsch, (Berlin, Germania). Poate fi utilizată orice altă presă de  
23 tabletat care asigură condiții similare de tabletat.

Tableta rezultată este stabilă, cu o rezistență la rupere de circa 7 kP, și se  
25 dezintegrează în apă dură standard în mai puțin de 3 min.

La sfârșitul procedurii de obținere se analizează conținutul de propagule de  
27 *Trichoderma* prin cultivare pe medii selective. Acest conținut este de minimum  $5 \times 10^7$  ufc/g,  
și nu scade cu mai mult de 10% prin stocarea tabletelor la temperatura camerei timp de  
29 6 luni.

## Exemplul 2

31 Se procedează ca în exemplul 1, cu următoarele diferențe. Se folosește glucoza ca  
sursă de carbon și energie în mediul minimal, se utilizează tulpina *Brevibacillus parabrevis*  
33 B50, NCAIM (P) B 001413 (tulpină cunoscută ca fiind biostimulantă pentru plante, cerere de  
brevet **RO 128931**), cultivarea se realizează timp de trei zile, iar etapa de omogenizare a  
35 biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal uscat se realizează în următoarele  
proporții: 9 părți biomasă de microorganisme și siliciu coloidal uscat, cu 14,2 părți bicarbonat  
37 de sodiu, 4,5 părți acid alginic, 4,3 părți acid tartric, 2,4 părți alcool polivinilic, 3 părți  
croscarmeloză, 61,9 părți celuloză microcristalină, părțile fiind exprimate în unități de masă.

39 Tableta rezultată este stabilă, cu o rezistență la rupere de circa 7 kP, și se  
dezintegrează în apă dură standard în mai puțin de 3 min.

41 La sfârșitul procedurii de obținere se analizează conținutul de propagule de  
*Brevibacillus* prin cultivare pe medii selective. Acest conținut este de minimum  $10^8$  ufc/g, și  
43 nu scade cu mai mult de 10% prin stocarea tabletelor la temperatura camerei timp de 6 luni.

## Exemplul 3

45 Se procedează ca în exemplul 1, cu următoarele diferențe. Se folosește glucoza ca  
sursă de carbon și energie în mediul minimal. Se utilizează tulpina *Pseudoxanthomonas*  
47 *mexicana* P32, NCAIM (P) B 001414, (cunoscută ca fiind biostimulantă pentru plante, brevet  
**EP 2738267 B1**), iar cultivarea se realizează timp de 3 zile. Uscarea se face prin liofilizare,  
49 pe un liofilizator Christ Alpha 1-2 LD (Martin Chist, Osterode am Harz, Germania), prin  
creșterea graduală a temperaturii de la -25°C la 25°C, la 0,9 mbar presiune, timp de 48 h.

# RO 131927 B1

Etapa de omogenizare a biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal uscate se realizează în următoarele proporții: 11 părți biomasă de microorganisme și siliciu coloidal uscate, cu 14,5 părți bicarbonat de sodiu, 4,7 părți acid alginic, 4,4 părți acid tartric, 2,3 părți alcool polivinilic, 3 părți croscarmeloză, 59,4 părți celuloză microcristalină, părțile fiind exprimate în unități de masă.	1 3 5
Tableta rezultată este stabilă, cu o rezistență la rupere de circa 7 kP, și se dezintegrează în apă dură standard în mai puțin de 3 min.	7
La sfârșitul procedurii de obținere, se analizează conținutul de propagule de (Pseudo)xanthomonas prin cultivare pe medii selective. Acest conținut este de minimum $5 \times 10^7$ ufc/g, și nu scade cu mai mult de 10% prin stocarea tabletelor la temperatura camerei timp de 6 luni.	9 11
Această lucrare a fost realizată prin programul Parteneriate in domenii prioritare - PN II, derulat cu sprijinul MEN - UEFISCDI, proiect PN-II-PT-PCCA-2013-4-0846, contract 159/2014 CERES.	13

# RO 131927 B1

## Revendicări

1

3

1. Procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante sub formă de tabletă efervescentă, **caracterizat prin aceea că** este constituit din următoarele etape: cultivarea axenică a microorganismelor biostimulante pe medii minimale lichide având o saturație de oxigen de 50% și un conținut de dioxid de siliciu coloidal de 2%; incubarea alternativă timp de 12 h la 20°C și 12 h la 30°C, timp de 3...5 zile; recoltarea biomasei de microorganisme și a dioxidului de siliciu coloidal rezidual prin filtrare sub vacuum de minimum -0,5 bar; uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal recoltate, până la o umiditate reziduală de maximum 5%; omogenizarea a 9...11 părți biomasă de microorganisme și siliciu coloidal cu 14,2...14,7 părți bicarbonat de sodiu, 4,5...4,9 părți acid alginic, 4,3...4,5 părți acid tartric, 2,2...2,4 părți alcool polivinilic, 3 părți croscarmeloză, 59,4...61,9 părți celuloză microcristalină, părțile fiind exprimate în unități de masă; granularea umedă a compoziției cu 15 părți soluție alcoolică ce conține 0,7 părți lecitină modificată având o balanță hidrofil-lipofilă HLB mai mare de 8; uscarea în pat fluidizat la o temperatură de maximum 40°C până la o umiditate reziduală de maximum 2%; comprimarea granulelor la 60 Mpa într-o matriță cu diametrul de 1,3 cm cu formarea unor tablete efervescente de 1 g.

11

13

15

17

19

2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, în etapa de cultivare axenică pe medii minimale lichide, favorizează eliberarea controlată de acid ortosilicic în concentrații de sub 1 mM.

21

23

25

27

3. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal se face prin pulverizarea unei suspensii normalizate la 10% substanță uscată, în condiții blânde, la 130...140°C temperatură de intrare și 75...80°C temperatură de ieșire, 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 h, atunci când microorganismele sunt bacterii gram-negative.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM  
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci  
sub comanda nr. 346/2019