



MD 4086 B1 2010.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4086** <sup>(13)</sup> **B1**

(51) Int. Cl.: *C12N 1/16* (2006.01)  
*C12R 1/865* (2006.01)  
*C12P 19/00* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi  
revocată în termen de 6 luni de la data publicării

(21) Nr. depozit: a 2010 0098  
(22) Data depozit: 2010.09.08

(45) Data publicării hotărârii de  
acordare a brevetului:  
2010.12.31, BOPI nr. 12/2010

(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE  
A MOLDOVEI, MD

(72) Inventatori: CHISELIȚA Oleg, MD; USATÎI Agafia, MD; CHISELIȚA Natalia, MD; GULEA Aurelian,  
MD

(73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A  
MOLDOVEI, MD

(54) Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20

(57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la biotehnologie, în particular  
la un mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de  
drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 și  
poate fi utilizată la obținerea biomasei de drojdie  
pentru industria alimentară, industria producerii  
suplimentelor furajere, industria farmaceutică, ve-  
terinărie.

Mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii de  
drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20  
conține, la 1L: sulfat de amoniu 3,0 g, sulfat de

2  
5 magneziu 0,7 g, clorură de sodiu 0,5 g, azotat de  
calciu 0,4 g, dihidrogenofosfat de potasiu 1,0 g,  
autolizat de drojdie 10 ml, melasă 20 g, clorură de  
tricloraacetat de zinc 5,0...10 mg și apă potabilă  
restul, având pH-ul 5,5.

10 Rezultatul invenției constă în sporirea producti-  
vității biomasei de drojdie și a conținutului de  
carbohidrați.

Revendicări: 1

15

MD 4086 B1 2010.12.31

# MD 4086 B1 2010.12.31

3

## Descriere:

5 Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 și poate fi utilizată la obținerea biomasei de drojdie pentru industria alimentară, industria producerii suplimentelor furajere, industria farmaceutică, veterinarie.

10 Sunt cunoscute mediile de cultivare a tulpinilor de drojdie din genul *Saccharomyces* ce conțin, g/l: mediul YPD – peptonă 20, extract de drojdie 20, glucoză 30, sau mediul MGYD – peptonă 5, glucoză 10, extract de malț 10 ml, extract de drojdie 10 ml, 11 apă distilată, pH-ul 5,5 [1, 2]. Însă dezavantajele acestor medii nutritive sunt productivitatea joasă a tulpinilor de drojdie și conținutul mic de carbohidrați în celulă.

15 Este cunoscut mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 – mediul Rieder, care conține, g/L: glucoză 30,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,7;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0; NaCl 0,5;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,4; autolizat de drojdie 10 ml; apă potabilă până la 1 L [3].

15 La cultivarea tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 în condiții proxime productivitatea constituie 2,96 g/L, iar conținutul de carbohidrați 30,9 g/% S.U.

Dezavantajul acestui mediu constă în faptul că nu se realizează pe deplin potențialul de creștere și biosinteza tulpinii de drojdie, astfel se obțin cantități mici de masă microbiană săracă în principii bioactive.

20 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu de cultură care să asigure sporirea productivității biomasei de drojdie și a conținutului de carbohidrați.

25 Esența invenției constă în aceea că mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 conține sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, clorură de sodiu, azotat de calciu, dihidrogenofosfat de potasiu, autolizat de drojdie, melasă, clorură de tricloracetat de zinc și apă potabilă, având pH-ul 5,5, componentele fiind luate în următorul raport, la 1L: sulfat de amoniu, 3,0 g; sulfat de magneziu, 0,7 g; clorură de sodiu, 0,5 g; azotat de calciu, 0,4 g; dihidrogenofosfat de potasiu, 1,0 g; autolizat de drojdie, 10 ml; melasă, 20 g; clorură de tricloracetat de zinc, 5,0...10 mg; apă potabilă până la 1 L.

30 Efectul biostimulator este cauzat de includerea melasei, produs ce conține circa 45...50% zaharoză, 0,1...0,5% amestec de glucoză și fructoză, 0,5...2% rafinoză, necesare pentru dezvoltarea drojdiilor, și a compusului coordonativ – clorură de tricloracetat de zinc, care participă ca oligoelement, dar și în calitate de precursor, contribuind astfel la intensificarea multiplicării drojdiei și a biosintezei carbohidraților.

35 Rezultatul invenției constă în sporirea productivității biomasei de drojdie și a conținutului de carbohidrați.

### Exemplul 1

În baloane Erlenmayer, cu mediul de inoculare care conține must de bere cu 7% substanță uscată, în condiții aseptice timp de 48 ore la +20...+25°C, pe un agitator cu 200 rot/min se prepară suspensia de germeni.

40 Suspensia se inoculează în 200 ml de mediu de cultură steril cu următoarea componență, g/L:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,7; NaCl 0,5;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,4;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0; autolizat de drojdie 10 ml; melasă 20; clorură de tricloracetat de zinc 5 mg/l; apă potabilă până la 1 L; pH-5,5.

Durata de cultivare în profunzime este de 120 ore la temperatura de 20...25°C.

45 În varianta de control productivitatea tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 este de 2,96 g/L de biomasă uscată și conținutul de carbohidrați 30,97 g/% S.U., iar în varianta optimizată respectiv 4,7 g/L biomasă uscată și 43,2 g/% S.U. carbohidrați.

### Exemplul 2

În baloane Erlenmayer, cu mediul de inoculare care conține must de bere cu 7% substanță uscată, în condiții aseptice timp de 48 ore la 20...25°C, pe un agitator cu 200 rot/min se prepară suspensia de germeni.

50 Suspensia se inoculează în 200 ml de mediu de cultură steril cu următoarea componență, (g/L):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,7; NaCl 0,5;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,4;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0; autolizat de drojdie 10 ml; melasă 20; clorură de tricloracetat de zinc 10 mg/l; apă potabilă până la 1 L; pH-5,5.

Durata de cultivare în profunzime este de 120 ore la temperatura de 20...25°C.

55 În varianta de control productivitatea tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 este de 2,96 g/L de biomasă uscată și conținutul de carbohidrați 30,97 g/% S.U., iar în varianta optimizată respectiv 4,86 g/L biomasă uscată și 44,61 g/% S.U. carbohidrați.

## MD 4086 B1 2010.12.31

4

### (57) Revendicări:

5 Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 care conține sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, clorură de sodiu, azotat de calciu, dihidrogenofosfat de potasiu, autolizat de drojdie, melasă, clorură de tricloracetat de zinc și apă potabilă restul, având pH-ul 5,5, componentele fiind luate în următorul raport, la 1L:

sulfat de amoniu, g	3,0
sulfat de magneziu, g	0,7
clorură de sodiu, g	0,5
azotat de calciu, g	0,4
dihidrogenofosfat de potasiu, g	1,0
autolizat de drojdie, ml	10
melasă, g	20
clorură de tricloracetat de zinc, mg	5,0...10
apă potabilă	restul.

10

### (56) Referințe bibliografice:

1. Aguilar-Uscanga Blanca, Arrizon Javier, Ramirez Jesus and Solis-Pacheco Josue. Effect of *Agave tequilana* juice on cell wall polysaccharides of tree *Saccharomyces cerevisiae* strains from different origins. Antonie van Leeuwenhoek. International Journal of General and Molecular Microbiology, 2007, v. 91, n. 2, p.151-157
2. Kiran M. Desai, Bhalchandra K. Vaidya, Rekha S. Singhal and Sunil S. Bhagwat. Use of an artificial neural network in modeling yeast biomass and yield of  $\beta$ -glucan. Process Biochemistry, 2005, v. 40, Issue 5, p. 1617-1626
3. MD 4048 B1 2010.06.30

**Șef Secție:**

COLESNIC Inesa

**Examinator:**

GORDIENCO Maria

**Redactor:**

LOZOVANU Maria

**RAPORT DE DOCUMENTARE**

I. Datele de identificare a cererii	
(21) Nr. depozit: a 2010 0098	(32) Data de prioritate recunoscută:
(22) Data depozit: 2010.09.08	Raport de documentare internațională: <input type="checkbox"/> da
(54) <b>Titlul: Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdie <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CNMN-Y-20</b>	
(71) Solicitant: <b>INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD</b>	
(51) (Int.Cl): <b>Int. Cl.: C12N 1/16</b> (2006.01) <b>C12R 1/865</b> (2006.01) <b>C12P 19/04</b> (2006.01)	
II. Condiții de unitate a invenției:	X satisface <input type="checkbox"/> nu satisface
Note:	
III. Revendicări: claritatea, susținerea de descriere	
Note:	X satisface <input type="checkbox"/> nu satisface
IV. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare)	
MD (Documentare Invenții (inclusiv cereri nepublicate)) – tulpinii de drojdie <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CNMN-Y-20; mediu nutritiv; melasa; clorură de tricloracetat de zinc	
"Worldwide" (Espacenet) – strain of yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CNMN-Y-20 ; nutrient medium; molasses; hlorotrihlorasetat zinc	
EA, CIS (Earpatis) – штамм дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CNMN-Y-20; питательная среда; меласса; хлорид трихлорацетата цинка;	
SU (nonpublic) – <b>C12N 1/16; C12R 1/865; C12P 19/04</b>	
Alte BD	
- <a href="http://nigma.ru">http://nigma.ru</a>	
1. <a href="http://crimport.al.ru/catalogi/pakmaya/info.htm">crimport.al.ru/catalogi/pakmaya/info.htm</a> Хлебопекарные <b>дрожжи</b> относятся к определенному <b>штамму дрожжей</b> Сахаромицетов, ... чистой культуры этих грибов в определенной питательной <b>среде – мелассе</b> . Regăsit in Internet 2010.09.30	
2. Автор неизвестен: Лекции по микробиологии и биотехнологии опубликована: Юстас 07-01-2010, в разделе Книги, на сайте Дом Солнца <a href="http://www.sunhome.ru/books/p.lekcii_po_mikrobiologii_i...">www.sunhome.ru/books/p.lekcii_po_mikrobiologii_i...</a> практику плотные <b>питательные Среды</b> для выращивания ... название сахарных грибов, или <b>сахаромицетов</b> . Regăsit in Internet 2010.09.30.	
V. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate	
Aguilar-Uscanga Blanca, Arrizon Javier, Ramirez Jesus and Solis-Pacheco Josue. Effect of <i>Agave tequilana</i> juice on cell wall polysaccharides of tree <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strains from different origins. Antonie van Leeuwenhoek. International Journal of General and Molecular Microbiology. 2007, v. 91, n. 2, p.151-157	

Kiran M. desai, Bhalchandra K. Vaidya, Rekha S. Singhal and Sunil S. Bhagwat Use of an artificial neural network in modeling yeast biomass and yield of  $\beta$ -glucan Process. Biochemistry 2005, v. 40, Issue 5, p. 1617-1626

VI. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A,D,C	MD 4048 B1 2010.06.30	1
A	MD 3538 G2 2008.11.30	1
A	MD 4044 B1 2010.06.30	1
A	RU 2128702 C1 1999.04.10	1
A	RU 2216595 C1 2003.11.20	1
A	SU 1047955 A 1983.10.15	1
A	RU 2128702 C1 1999.04.10	1
A	RU 2084519 C1 1997.07.20	1
A	RU 2188232 C1 2002.08.27	1
A,D	Aguilar-Uscanga Blanca, Arrizon Javier, Ramirez Jesus and Solis-Pacheco Josue. Effect of <i>Agave tequilana</i> juice on cell wall polysaccharides of tree <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strains from different origins. Antonie van Leeuwenhoek. International Journal of General and Molecular Microbiology. 2007, v. 91, n. 2, p.151-157	1
A,D	Kiran M. desai, Bhalchandra K. Vaidya, Rekha S. Singhal and Sunil S. Bhagwat Use of an artificial neural network in modeling yeast biomass and yield of $\beta$ -glucan Process. Biochemistry 2005, v. 40, Issue 5, p. 1617-1626	1

\* categoriile speciale ale documentelor citate:

<b>A</b> – document care definește stadiul anterior general	<b>T</b> – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria pe care se bazează invenția
<b>X</b> – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	<b>E</b> – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
<b>Y</b> – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	<b>D</b> – document menționat în descrierea cererii de brevet
<b>O</b> - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	<b>C</b> – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	<b>&amp;</b> – document, care face parte din aceeași familie de brevete
<b>P</b> - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	<b>L</b> – document citat cu alte scopuri

Data finalizării documentării 2010.09.30

Examinator, GORDIENCO Maria