



MD 2342 B2 2003.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) **2342** ⁽¹³⁾ **B2**
(51) Int. Cl.⁷: C 12 N 1/20, 9/00, 9/16

(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 2001 0250 (22) Data depozit: 2001.07.31 (41) Data publicării cererii: 2003.02.28, BOPI nr. 2/2004	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2003.12.31, BOPI nr. 12/2003
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: RUDIC Valeriu, MD; NARTEA Ecaterina, MD; IAȚCO Iulia, MD; CODREANU Svetlana, MD; CEPOI Liliana, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD	

(54) Mediu nutritiv pentru cultivarea bacteriilor din genul *Pseudomonas* sp. 1
CNM-PsB-01

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la biotehnologie, și anume la
cultivarea bacteriilor din genul *Pseudomonas*, care
pot fi utilizate pentru obținerea enzimelor lipolitice.

Mediul nutritiv pentru cultivarea bacteriilor din
genul *Pseudomonas* sp.1 CNM-PsB-01 conține
NaCl, KCl, NaHCO₃, NaNO₃, KH₂PO₄,
MgSO₄·7H₂O, Fe-EDTA, trilon B, MnSO₄·7H₂O,
MoO₃, ZnSO₄, CuSO₄, zahăr și autolizat de drojdii,
având următorul raport al ingredientelor în apă
distilată, g/L:

NaCl	90,00...100,00
KCl	0,06...0,08
NaHCO ₃	1,40...1,60
NaNO ₃	0,31...0,35

2	KH ₂ PO ₄	0,02...0,03
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,38...0,40
5	Fe-EDTA	0,020...0,025
	trilon B	0,0025...0,0027
	MnSO ₄ ·7H ₂ O	0,0015...0,0017
	MoO ₃	0,0002...0,00023
	ZnSO ₄	0,00025...0,0007
10	CuSO ₄	0,00004...0,00005
	zahăr	16,00...17,00
	autolizat de drojdii	8,00...9,00.
	Rezultatul invenției constă în sporirea activității enzimelor lipolitice.	
	Revendicări: 1	

15

MD 2342 B2 2003.12.31

MD 2342 B2 2003.12.31

3

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, și anume la cultivarea bacteriilor din genul *Pseudomonas* care pot fi utilizate pentru obținerea enzimelor lipolitice.

5 Este cunoscut mediul sintetic Kozer [1,2] pentru cultivarea și evidențierea bacteriilor din genul *Pseudomonas*, care conține: NaCl, MgSO₄, NH₄H₂PO₄, K₂HPO₄, KNO₃, acizi dicarbonici, acetoamidă, m-oxibenzoat, etanol.

Neajunsul acestui mediu constă în aceea că în calitate de sursă de carbon se utilizează substanțe deficitare și costisitoare (acizi dicarbonici, acetoamidă, m-oxibenzoat ș.a.).

10 Pentru cultivarea tulpinii *Pseudomonas* sp.1 CNM-PsB-01 poate fi utilizat de asemenea mediul care conține (g/L): NaCl – 120; KCl – 0,15; NaHCO₃ – 2,0; Na NO₃ – 0,5; KH₂PO₄ – 0,05; MgSO₄ • 7H₂O – 0,75; Fe EDTA – 0,5; Trilon B – 0,00088; MnSO₄ – 0,00031; MoO₃ – 0,00015; ZnSO₄ – 0,00044; CuSO₄ – 0,000098. Acest mediu conține în calitate de sursă de carbon zahăr – 5g/L și autolizat de drojdii – 10g/L. Activitatea lipolitică a tulpinii pe acest mediu constituie 1 500...1 800 mmol/mg [3].

15 Dezavantajul acestui mediu constă în dezechilibrul dintre cantitatea elementelor, ceea ce determină o activitate lipolitică insuficientă a tulpinii *Pseudomonas* sp.1 CNM-PsB-01.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este elaborarea unui mediu nutritiv pentru *Pseudomonas* sp.1 CNM-PsB-01, care să conțină elementele nutritive în cantități fiziologic necesare bacteriei și să asigure o activitate lipolitică înaltă a tulpinii.

20 Esența invenției constă în faptul că se propune un mediu nutritiv pentru *Pseudomonas* sp.1 CNM-PsB-01, care conține NaCl, KCl, NaHCO₃, NaNO₃, KH₂PO₄, MgSO₄ • 7H₂O, Fe EDTA, Trilon B, MnSO₄ • 7H₂O, MoO₃, ZnSO₄, CuSO₄, zahăr și autolizat de drojdii, elementele fiind luate în următorul raport, g/L de apă distilată:

25	NaCl	90,00...100,00
	KCl	0,06...0,08
	NaHCO ₃	1,40...1,60
	NaNO ₃	0,31...0,35
	KH ₂ PO ₄	0,02...0,03
	MgSO ₄ • 7H ₂ O	0,38...0,40
30	Fe EDTA	0,020...0,025
	Trilon B	0,0025...0,0027
	MnSO ₄ • 7H ₂ O	0,0015...0,0017
	MoO ₃	0,0002...0,00023
	ZnSO ₄	0,00025...0,00070
35	CuSO ₄	0,00004...0,00005
	Zahăr	16,00...17,00
	Autolizat de drojdii	8,00...9,00.

Rezultatul invenției constă în sporirea activității enzimelor lipolitice cu 20% față de soluția cea mai apropiată.

40 Rezultatul obținut se datorește combinației cantitative optime a elementelor nutritive din mediu, care asigură optimizarea proceselor catabolice și anabolice din organismul bacteriei.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1.

45 Într-o colbă conică de 100 mL în mediul nutritiv lichid cu următoarea componență: în g/L: NaCl – 90,00, KCl – 0,06, NaHCO₃ – 1,40, NaNO₃ – 0,31, KH₂PO₄ – 0,02, MgSO₄ • 7H₂O – 0,38, Fe EDTA – 0,02, Trilon B – 0,0025, MnSO₄ • 7H₂O – 0,0015, MoO₃ – 0,0002, ZnSO₄ – 0,00025, CuSO₄ – 0,00004, zahăr – 16,00, autolizat de drojdii – 8,00, preparat pe apă distilată și sterilizat în autoclav la presiunea de 0,5 atm în decurs de 1 h, se inoculează 0,5 g/L biomasă de *Pseudomonas* sp.1. Cultivarea are loc în termostat la t=26°C în decurs de 4 zile.

50 Activitatea lipolitică a lichidului cultural după 4 zile de cultivare constituie 2200 mmol/mg.

Exemplul 2

55 Într-o colbă conică de 100 mL în mediul nutritiv lichid cu următoarea componență, în g/L: NaCl – 100,00; KCl – 0,08; NaHCO₃ – 1,60; NaNO₃ – 0,35; KH₂PO₄ – 0,03; MgSO₄ • 7H₂O – 0,40; Fe EDTA – 0,025; Trilon B – 0,0025; MnSO₄ • 7H₂O – 0,0015; MoO₃ – 0,0002; ZnSO₄ – 0,00025; CuSO₄ – 0,00004; zahăr – 17,00; autolizat de drojdii – 9,00, preparat pe apă distilată și sterilizat în autoclav la presiunea de 0,5 atm în decurs de 1 h, se inoculează 0,5 g/L biomasă de *Pseudomonas* sp.1. Cultivarea are loc în termostat la t=26°C în decurs de 4 zile.

Activitatea lipolitică a lichidului cultural după 4 zile de cultivare constituie 1920 mmol/mg.

MD 2342 B2 2003.12.31

4

(57) Revendicare:

5 Mediu nutritiv pentru cultivarea bacteriilor din genul *Pseudomonas sp. 1 CNM-PsB-01*, care conține NaCl, KCl, NaHCO₃, NaNO₃, KH₂PO₄, MgSO₄·7H₂O, Fe-EDTA, Trilon B, MnSO₄·7H₂O, MoO₃, ZnSO₄, CuSO₄, zahăr și autolizat de drojdii, având următorul raport al ingredientelor în apă distilată, g/L:

	NaCl	90,00...100,00
	KCl	0,06...0,08
10	NaHCO ₃	1,40...1,60
	NaNO ₃	0,31...0,35
	KH ₂ PO ₄	0,02...0,03
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,38...0,40
	Fe-EDTA	0,020...0,025
15	Trilon B	0,0025...0,0027
	MnSO ₄ ·7H ₂ O	0,0015...0,0017
	MoO ₃	0,0002...0,00023
	ZnSO ₄	0,00025...0,0007
	CuSO ₄	0,00004...0,00005
20	zahăr	16,00...17,00
	autolizat de drojdii	8,00...9,00.

25

(56) Referințe bibliografice:

1. Смирнов В.В., Киприанова Е.Л. Бактерии рода *Pseudomonas*. Киев, Наукова думка, 1990, с. 221 – 223
2. Леонова Л.И., Борисова Е.В. Бактерии, сопутствующие некоторым галофильным одноклеточным водорослям. Микробиологический журнал, 1983, т. 45, №4, с. 39-41
3. MD 1337 G2 1999.10.31

Şef Secție:

GUŞAN Ala

Examinator:

BAZARENCO Tatiana

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2001 0250	
(22) Data depozit: 2001.07.31	
(51) ⁷ : C 12 N 9/00, 9/16 Alți indici de clasificare: C 12 N 1/20, 9/00, 9/16 (54) Titlul : Mediu de cultură pentru Pseudomonas sp. 1 CNM-PsB-01 (71) Solicitantul : INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD Termeni caracteristici : a) limba română: mediu nutritive, cultivarea <i>Pseudomonas sp.1</i> b) limba engleză: medium nutrition, cultivation <i>Pseudomonas sp.1</i>	
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.- 7)	
Int. Cl. ⁷ C 12 N 1/20, 9/00, 9/16	
II. Literatura tehnico-științifică consultată adăugător la minim de documentație (autori, titluri, editura, țara și data publicării)	
1. Смирнов В.В., Киприанова Е.Л. Бактерии рода <i>Pseudomonas</i> // Киев: Наукова думка, 1990, с. 221-223. 2. Леонова Л.И., Борисова Е.В. Бактерии, сопутствующие некоторым галофильным одноклеточным водорослям.// Микробиологический журнал, 1983, т. 45, №4, с. 39-43. 3. ЕА, №1, 1996 - №3, 2003-10-15 4. Certificate de autori SU (fondul bibliotecii BRTȘ)	
III. Baze de date electronice consultate (denumirea BD și termen de documentare)	
1. MD 2. ФИПС, RU 3. Espacenet The European Patent Office 4. РЖ ВИНТИ «Биология», «Физико-химическая биология и биотехнология»	

IV. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 1337	1
A	SU 1307846	1
A	DE 3943176	5
☐ Documentele următoare sunt indicate în rubrica IV		☐ Informația referitoare la brevete paralele se anexează
* categoriile speciale ale documentelor consultate:		P - document publicat înainte de data depozit, dar după data priorității invocate
A - document care definește stadiul anterior general		T - 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
E - document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta data		X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat de unul singur
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate sau poate contribui la determinarea datei publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres (se va indica motivul)		Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă divulgare		& - document care face parte din aceeași familie de documente
Data finalizării documentării		2003.10.08
Examinatorul		Bazarenco Tatiana

RAPORT DE DOCUMENTARE

Informația referitoare la brevete paralele		(21) Nr. depozit:	
Date de identificare ale documentelor citate în raport	Data publicării	Brevete paralele	Data publicării
1	2	3	4