



MD 2340 F1 2003.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 2340 (13) F1
(51) Int. Cl.⁷: C 12 N 1/14

(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 2002 0258 (22) Data depozit: 2002.10.24	(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: DESEATNIC-CILOCI Alexandra, MD; PAȘA Lilia, MD; GULEA Aurelian, MD; RUDIC Valeriu, MD; TIURIN Jana, MD; LABLIUC Svetlana, MD	
(73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD	

(54) Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fung *Aspergillus flavus* VKM F 3292 D, producătoare de celulaze și xilanază

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la microbiologie, în particular la un mediu de cultivare a fungului microscopic *Aspergillus flavus* VKM F 3292 D, producător de celulaze și xilanază și poate fi utilizată în industria microbiologică, alimentară, eterooleaginoasă și farmaceutică.

10
Mediul, conform invenției, conține, în g/L: coardă de viță de vie - 10,0; borhot de sfeclă -10,0; melasă - 10,0; MgSO₄ - 0,50; NaNO₃ - 3,00; KCl - 0,50; FeSO₄·7H₂O - urme; α-picolinat de cobalt(III) (Co(PC)₃·H₂O)- 0,0048...0,0050; apă - restul.

5
2
Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei xilanazei, endoglucanazei, celobiohidrolazei și β-glucozidazei.
Revendicări: 1

15

MD 2340 F1 2003.12.31

MD 2340 F1 2003.12.31

3

Descriere:

Invenția se referă la microbiologie, în particular la un mediu de cultivare a fungului microscopic *Aspergillus flavus* VKM F 3292 D, producător de celulaze și xilanază și poate fi aplicată în industria microbiologică, alimentară, eterooleaginoasă, farmaceutică.

5 Pentru cultivarea fungului *Aspergillus flavus* VKM F 3239 D, producător de celulaze și xilanaze este cunoscut mediul care conține borhot de sfeclă și coarde de viță de vie, săruri minerale și un biostimulator de origine chimică [1].

10 Dezavantajul acestui mediu constă în faptul, că facilitează biosinteza numai a două componente (xilanazei și β -glucozidazei) ale complexului enzimatic produs de tulpina indicată, lăsând la nivel insuficient biosinteza endoglucaazelor și celobiohidrolazelor – componente importante pentru hidroliza materialelor vegetale bogate în celuloză.

15 În calitate de cea mai apropiată soluție s-a utilizat mediul de cultivare a tulpinii *Aspergillus flavus* VKM F 3239 D cu următoarea compoziție (g): coardă de viță de vie – 10,0; borhot de sfeclă – 10,0; $MgSO_4$ – 0,5; $NaNO_3$ – 3,0; KCl – 0,5; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – urme, melasă – 10,0; apă până la 1 l; pH-ul inițial 4,5...5,0 [2].

Dezavantajele celei mai apropiate soluții constau în faptul că mediul nu asigură realizarea pe deplin a potențialului tulpinii de a biosintetiza celulaze și xilanaze și randamentul componentelor complexului enzimatic nu atinge cota maximă.

20 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu nutritiv de cultivare a tulpinii *Aspergillus flavus* VKM F 3292 D, care să asigure sporirea biosintezei a celor patru componente ale complexului enzimatic: endoglucaaza, celobiohidrolaza, β -glucozidaza și xilanaza.

25 Esența invenției constă în aceea că mediul nutritiv propus de cultivare a tulpinii de fung *Aspergillus flavus* VKM F 3292 D, producător de celulaze și xilanaze, conține coardă de viță de vie și borhot de sfeclă, uscate și mărunțite, melasă, sulfat de magneziu ($MgSO_4$), azotat de sodiu ($NaNO_3$), clorură de potasiu (KCl), sulfat de fier hidrat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), apă și suplimentar compusul coordinativ α -picolinat de cobalt(III) ($Co(PC)_3 \cdot H_2O$) în următorul raport cantitativ, g:

coardă de viță de vie	10,0
borhot de sfeclă	10,0
melasă	10,0
$MgSO_4$	0,5
$NaNO_3$	3,0
KCl	0,5
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	urme
$Co(PC)_3 \cdot H_2O$	0,0048...0,0050
apă	până la un litru.

30 Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei xilanazelor cu 23,14%, endoglucaazelor cu 13,33%, celobiohidrolazelor cu 41,30%, β -glucozidazelor cu 21,45% (rezultatele obținute sunt prezentate în tabel).

Rezultatul obținut este condiționat de faptul că adăugarea în mediul nutritiv a compusului coordinativ $Co(PC)_3 \cdot H_2O$ în calitate de biostimulator, activează procesele metabolice, care decurg în microorganismul dat.

Tabel

35

Denumirea enzimelor	Numărul de probe	Concentrația biostimulatorului (g/L)	Activitatea (u/ml)		% față de soluția cea mai apropiată
			Control	Experiență	
Xilanaze	10	0,005	3,37±0,23	4,15±0,16	123,14
Endoglucaaze	10	0,005	0,36±0,18	0,41±0,14	113,33
Celobiohidrolaze	10	0,005	0,26±0,13	0,37±0,09	141,30
β -glucozidaze	10	0,005	0,31±0,05	0,37±0,07	121,45

Exemplu de realizare a invenției.

40 1. Tulpina *Aspergillus flavus* VKM F 3292 D se cultivă în baloane Erlenmayer de 0,75 L în care se introduc 0,2 L mediu nutritiv, în condiții de agitare continuă (200 rot/min) la temperatura de 28...30°C, timp de 120 ore.

MD 2340 F1 2003.12.31

4

Compoziția mediului (g):	
coardă de viță de vie	10,0
borhot de sfeclă	10,0
melasă	10,0
MgSO ₄	0,5
NaNO ₃	3,0
KCl	0,5
FeSO ₄ · 7H ₂ O	urme
Co(PC) ₃ · H ₂ O	0,005
apă	până la un litru
pH-ul inițial al mediului	4,5.

5 Activitatea enzimelor în lichidul cultural s-a determinat prin dozarea zaharurilor reductoare în urma acțiunii acestuia asupra substratelor specifice. În calitate de astfel de substrat au servit: xilanul de ovăz pentru xilanaze, Na – carboximetilceluloza pentru endoglucanaze, hârtia de filtru pentru celobiohidrolaze, p-nitrofenil-β-D-glicopiranozidul pentru β-glucozidaze.

10 După 120 ore de cultivare în varianta în care lipsea buostimulatorul Co(PC)₃ · H₂O activitatea xilanazelor a constituit 3,910 U/mL, endoglucanazelor – 0, 351 U/mL, celobiohidrolazelor – 0,267 U/mL, iar a β-glucozidazelor – 0,302 U/mL.

În varianta mediului propus cu adăugarea Co(PC)₃ · H₂O în concentrație de 0,005 g/L activitatea xilanazică a constituit 4,210 U/mL, endoglucanazică – 0,410 U/mL, celobiohidrolazică – 0,372 U/mL, β-glucozidazică – 0,380 U/mL.

15 2. Tulpina *Aspergillus flavus VKM F 3292 D* se cultivă în baloane Erlenmayer de 0,75 L în care se introduce 0,2 L mediu nutritiv, în condiții de agitare continuă (200 rot/min) la temperatura 28°C, timp de 120 ore.

Compoziția mediului (g):	
coardă de viță de vie	10,0
borhot de sfeclă	10,0
melasă	10,0
MgSO ₄	0,5
NaNO ₃	3,0
KCl	0,5
FeSO ₄ · 7H ₂ O	urme
Co(PC) ₃ · H ₂ O	0,0048
apă	până la un litru
pH-ul inițial al mediului	5.

20 În varianta celei mai apropiate soluții în care lipsea biostimulatorul Co(PC)₃ · H₂O activitatea xilanazică a constituit 3,390 U/mL, endoglucanazică – 0,362 U/mL, celobiohidrolazică – 0, 259 U/mL, β-glucozidazică – 0, 306 U/mL.

25 În varianta optimizată cu adaos de Co(PC)₃ · H₂O în concentrație de 0,0048 g/L activitatea xilanazică a constituit 4,190 U/mL, endoglucanazică – 0,412 U/mL, celobiohidrolazică – 0, 368 U/mL, β-glucozidazică – 0,379 U/mL.

MD 2340 F1 2003.12.31

5

(57) Revendicare:

Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fung *Aspergillus flavus* VKM F 3292 D, producătoare de celuloză și xilanază care conține coardă de viță de vie și borhot de sfeclă uscate și mărunțite, melasă, MgSO₄, NaNO₃, KCl, FeSO₄·7H₂O și apă, având pH-ul inițial al mediului 4,5...5,0, **caracterizat prin aceea că** conține suplimentar α -picolinat de cobalt(III) (Co(PC)₃·H₂O), ingredientele fiind luate în următorul raport, g/L:

	coardă de viță de vie	10,0
	borhot de sfeclă	10,0
10	melasă	10,0
	MgSO ₄	0,50
	NaNO ₃	3,00
	KCl	0,50
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	urme
15	Co(PC) ₃ ·H ₂ O	0,0048...0,0050
	apă	restul.

20

(56) Referințe bibliografice:

1. MD 1987 G2 2003.04.30
2. MD 356 G2 1996.09.30

Șef-adjunct

Direcție Invenții:

JOVMIR Tudor

Examinator:

GUȘAN Ala

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2002 0258		(85) Data fazei naționale PCT:
(22) Data depozit: 2002.10.24		(86) Cerere internațională PCT:
Prioritatea invocată : (31) nr.: 32) data : 33) țara : (51) ⁷ : C 12 N 1/14 Alți indici de clasificare: Titlul : Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fung <i>Aspergillus flavus</i> VKM F 3292 D - producătoare de celulaze și xilanaze (71) Solicitantul : INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD Termeni caracteristici : mediu de cultură, tulpină de fung <i>Aspergillus flavus</i> VKM F 3292 D		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl. (7)		
MD 1993-2002, EA1996-2002, SU 1970-1991)		
Int. Cl. ⁷ C 12 N 1/14		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 1987 G2 2003.04.30	1
A	MD 356 G2 1996.09.30	1
<input type="checkbox"/> Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II		<input type="checkbox"/> Informația referitoare la brevete paralele se anexează
* categoriile speciale ale documentelor consultate:		P - document publicat înainte de data de depozit dar după data priorității invocate
A - document care definește stadiul anterior general		T - document publicat după data de depozit sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria care conține baza invenției
E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după aceasta data		X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate, 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 cand 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		& - document care face parte din aceeași familie de documente
Data finalizării documentării		04.08.2003
Examinatorul		Gușan Ala

RAPORT DE DOCUMENTARE

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