



MD 3570 F1 2008.04.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3570** ⁽¹³⁾ **F1**
(51) Int. Cl.: *C12P 33/00* (2006.01)
C11B 1/10 (2006.01)
C12N 1/16 (2006.01)
C12R 1/85 (2006.01)
C07J 9/00 (2006.01)
A61K 31/575 (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 2007 0243 (22) Data depozit: 2007.09.07	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2008.04.30, BOPI nr. 4/2008
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: USATÎI Agafia, MD; CHIRIȚA Elena, MD; MOLODOI Elena, MD; MOLDOVEANU Taisia, MD; CUCU Tatiana, MD; BORISOVA Tamara, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) **Procedeu de obținere a ergosterolului din drojdii *Saccharomyces***

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la biotehnologie, și anume la
procedeele de obținere a ergosterolului, precursor
al vitaminei D₂, din drojdii *Saccharomyces*.

Procedeul, conform invenției, include con-
gelarea biomasei umede de drojdii timp de 30...60
min, la temperatura de -18°C, saponificarea bio-
masei cu amestec de hidroxid de sodiu, apă și
alcool izopropilic luate în raport respectiv de
25:50:25 într-o baie de aburi cu temperatura de
75°C timp de 30...60 min, răcirea biomasei și

2
5 adăugarea alcoolului izopropilic, agitarea periodică
timp de 30 min, separarea extractului nesaponificat
ce conține ergosterol și alcool, și distilarea alco-
olului într-un vaporizator cu vid.

10 Rezultatul invenției constă în sporirea cu
18,3...31,9% a conținutului de ergosterol extras și
micșorarea duratei procesului de obținere a lui.

Revendicări: 1

MD 3570 F1 2008.04.30

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, și anume la procedeele de obținere a ergosterolului, precursor al vitaminei D₂, din drojdii *Saccharomyces*.

5 Este cunoscut procedeul de extragere a ergosterolului din ciuperca *Blakeslea trispora*, bazat pe extragerea lipidelor din biomasă, saponificarea lor cu soluție de hidroxid de sodiu, extragerea cu hexan a ergosterolului din fracția nesaponificată, cristalizarea ergosterolului [1].

Se mai cunoaște procedeul de extragere a ergosterolului din drojdii uscate cu soluție apoasă de hidroxid de sodiu, tratarea fracției nesaponificate cu eter, după care urmează cristalizarea ergosterolului cu alcool fierbinte [2].

10 Dezavantajele acestor procedee constau în procesul prea complicat al lucrărilor și durata mare de extracție.

Procedeul cel mai apropiat este procedeul care prevede tratarea biomasei de drojdii prin fierbere, timp de 4 ore, cu amestec ce conține 40% hidroxid de sodiu, 20% apă și 40% alcool izopropilic tehnic, iar extragerea ergosterolului din fracția nesaponificată se efectuează cu solvent organic, selectat din grupa substanțelor ce include alcool izopropilic, distilat al alcoolului izopropilic obținut la

15 etapa evaporării, amestec din alcool izopropilic și distilatul lui în proporție de 1:1 [3].

La extragerea ergosterolului în condiții proxime conținutul ergosterolului constituie $1,91 \pm 0,01\%$ din biomasa uscată.

20 Problema invenției constă în elaborarea unui procedeu de extragere a ergosterolului din biomasa drojdiilor care asigură sporirea conținutului produsului finit și micșorarea timpului de extragere.

Procedeul revendicat rezolvă problema invenției prin aceea că include congelarea biomasei umede de drojdii timp de 30...60 min, la temperatura de -18°C , saponificarea biomasei cu amestec de hidroxid de sodiu, apă și alcool izopropilic luate în raport respectiv de 25:50:25 într-o baie de aburi cu temperatura de 75°C timp de 30...60 min, răcirea biomasei și adăugarea alcoolului izopropilic, agitarea periodică timp de 30 min, separarea extractului nesaponificat ce conține ergosterol și alcool, și distilarea alcoolului într-un vaporizator cu vid.

25 Rezultatul invenției constă în sporirea cu 18,3...31,9% a conținutului de ergosterol extras și micșorarea duratei procesului de obținere a lui.

Exemple de realizare a invenției:

30 *Exemplul 1*

3 g biomasă umedă de drojdii de genul *Saccharomyces* se supune congelării la -18°C timp de 30 minute, apoi se tratează cu 10 ml amestec de hidroxid de sodiu, apă și alcool izopropilic în raport de 25:50:25. Saponificarea se efectuează în baie de aburi la temperatura de $+75^{\circ}\text{C}$, timp de 30 minute. După răcirea imediată se adaugă 5 ml alcool izopropilic, suspensia se agită periodic 30 minute. În

35 continuare extractul de alcool și ergosterol (stratul de sus) se separă de la masa saponificată, se supune evaporării în vaporizatorul cu vid. Sedimentul obținut (ergosterolul) se cântărește, se stabilește puritatea prin cromatografierea în strat subțire.

Ergosterolul extras alcătuiește $2,26 \pm 0,02\%$ din biomasa uscată, ceea ce depășește cu 18,3% conținutul în condiții proxime, iar durata procedurii constituie 90 minute, cu 3 ore mai puțin față de

40 procedeul cel mai apropiat.

Exemplul 2

3 g biomasă umedă de drojdii de genul *Saccharomyces* se supune congelării la -18°C timp de 60 minute, apoi se tratează cu 10 ml amestec de hidroxid de sodiu, apă și alcool izopropilic în raport de 25:50:25. Saponificarea se efectuează în baie de aburi la temperatura din $+75^{\circ}\text{C}$, timp de 60 minute. După răcirea imediată se adaugă 5 ml alcool izopropilic, suspensia se agită periodic 30 minute. În

45 continuare extractul de alcool și ergosterol (stratul de sus) se separă de la masa saponificată, se supune evaporării la vaporizatorul cu vid. Sedimentul obținut (ergosterolul) se cântărește, se stabilește puritatea prin cromatografierea în strat subțire.

Ergosterolul extras alcătuiește $2,52 \pm 0,02\%$ la biomasa uscată, ceea ce depășește cu 31,9% conținutul în condiții proxime, iar durata procedurii constituie 150 minute, cu 2 ore mai puțin față de

50 procedeul cel mai apropiat.

MD 3570 F1 2008.04.30

4

(57) Revendicare:

- 5 Procedeu de obținere a ergosterolului din drojdii *Saccharomyces* care include congelarea
biomasei umede de drojdii timp de 30...60 min, la temperatura de -18°C, saponificarea biomasei cu
amestec de hidroxid de sodiu, apă și alcool izopropilic luate în raport respectiv de 25:50:25 într-o
baie de aburi cu temperatura de 75°C timp de 30...60 min, răcirea biomasei și adăugarea alcoolului
10 izopropilic, agitarea periodică timp de 30 min, separarea extractului nesaponificat ce conține
ergosterol și alcool, și distilarea alcoolului într-un vaporizator cu vid.

15

(56) Referințe bibliografice:

1. Деев С.В., Буторова И.А., Авчиева П.Б. Синтез и выделение эргостерина при использовании в качестве продуцента гриба *Blakeslea trispora*. Биотехнология, 2001, nr. 4, с. 22-31
2. Практические работы по химии природных соединений. Вып. 1. Методы выделения, разделения и идентификации. Москва: Высшая школа, 1961, с. 1-7
3. RU 2 080 389 C1 25.07.1997

Şef Secție:

COLESNIC Inesa

Examinator:

GORDIENCO Maria

Redactor:

UNGUREANU Mihail

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2007 0243 (22) Data depozit: 2007.09.07	(85) Data fazei naționale PCT: (86) Cerere internațională PCT:	
Prioritatea invocată : (51) : Int.Cl: C12P 33/00 (2006.01) C11B 1/10 (2006.01) C12N 1/16 (2006.01) C12R 1/85 (2006.01) C07J 9/00 (2006.01) A61K 31/575 (2006.01) Alți indici de clasificare: Titlul : Procedeu de obținere a ergosterolului din drojdii <i>Saccharomyces</i> (71) Solicitantul : INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD Termeni caracteristici: ergosterol din drojdie; saponificarea		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.		
(MD, EA, SU, inclusiv și colecția „nepublică”) MD Perioada: 1993-2007.09.07 EA Perioada: 1996-2007.09.07 SU Perioada: 1972-1993 ESP@CENET - WORLDWIDE (WO, EP, CH, DE, GB, FR, US, JP...)		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	1. Деев С.В., Бугорова И.А., Авчиева П.Б. Синтез и выделение эргостерина при использовании в качестве продуцента гриба <i>Blakeslea trispora</i> . Биотехнология, 2001, nr. 4, с.22-31.	1
A	2. Практические работы по химии природных соединений. Вып. 1. Методы выделения, разделения и идентификации. Москва: Высшая школа, 1961 с. 1-7.	1
A	3. RU 2 080 389 C1 25.07.1997	1
☐ Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II		☐ 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 2008.02.04		
Examinatorul GORDIENCO Maria		