



MD 4351 C1 2016.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4351** (13) **C1**
(51) Int.Cl: *C12N 1/12* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Nr. depozit: a 2014 0032 (22) Data depozit: 2014.04.08 | (45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2015.06.30, BOPI nr. 6/2015 |
| (71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD | |
| (72) Inventatori: TROFIM Alina, MD; ȘALARU Victor, MD; ȘALARU Vasile, MD; ZOSIM Liliana, MD; DOBROJAN Sergiu, MD; DONȚU Natalia, MD; STRATULAT Irina, MD; SEMENIUC Evgheni, MD | |
| (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD | |

(54) Tulpină de microalgă cianofită *Calothrix elenkinii* Kossinsk. - sursă de
glucide

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la biotehnologie, și anume la o nouă tulpină de microalgă cianofită, care poate fi utilizată în industria microbiologică pentru obținerea glucidelor, utilizate în industria farmaceutică, cosmetologie, zootehnie, fitotehnie etc.

2
Tulpina de microalgă cianofită *Calothrix elenkinii* Kossinsk. este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neputogene cu numărul CNMN-CB-14 și poate fi utilizată în calitate de sursă de glucide.
Revendicări: 1

MD 4351 C1 2016.01.31

(54) Strain of blue-green microalga *Calothrix elenkinii* Kossinsk. - source of glucides

(57) Abstract:

1
The invention relates to biotechnology, namely to a new strain of blue-green microalga, which can be used in the microbiological industry for producing glucides, used in the pharmaceutical industry, cosmetology, zootechny, phytotechny, etc.

2
The strain of blue-green microalga *Calothrix elenkinii* Kossinsk. is deposited in the National Collection of Nonpathogenic Microorganisms under the number CNMN-SB-14 and can be used as a source of glucides.
Claims: 1

(54) Штамм сине-зелёной микроводоросли *Calothrix elenkinii* Kossinsk. - источник углеводов

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к биотехнологии, а именно к новому штамму сине-зелёной микроводоросли, которая может быть использована в микробиологической промышленности для получения углеводов, используемых в фармацевтической промышленности, косметологии, зоотехнии, фитотехнии и т.д.

2
Штамм сине-зелёной микроводоросли *Calothrix elenkinii* Kossinsk. депонирован в Национальной Коллекции Непатогенных Микроорганизмов под номером CNMN-SB-14 и может быть использован в качестве источника углеводов.
П. формулы: 1

Descriere:

- Invenția se referă la biotehnologie, și anume la o nouă tulpină de microalgă cianofită, care poate fi utilizată în industria microbiologică pentru obținerea glucidelor, cu aplicare în industria farmaceutică, cosmetologie, zootehnie, fitotehnie etc.
- Este cunoscut faptul că tulpina de algă *Ulva lactuca* poate fi utilizată în calitate de sursă de glucide [1].
- Dezavantajul tulpinii cunoscute este că aceasta posedă o cantitate insuficientă de glucide (35,27%).
- Cea mai apropiată după esența tehnică și rezultatul obținut este tulpina *Nostoc linckia*, care conține în biomasa ei 35...50% glucide [2].
- Dezavantajul acestei tulpini constă în conținutul insuficient de glucide.
- Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unei tulpini noi de microalgă cianofită care ar asigura un conținut mai sporit de glucide.
- Esența invenției constă în aceea că se propune o tulpină nouă de microalgă cianofită – *Calothrix elenkinii* Kossinsk., depozitată în Colecția Națională de Microorganisme a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM sub numărul CNMN-CB-14, ca sursă de glucide.
- Rezultatul tehnic al invenției constă în faptul că biomasa tulpinii propuse de *Calothrix elenkinii* Kossinsk. are un conținut sporit de glucide (52,9%...66,0%), față de cea mai apropiată soluție *Nostoc linckia*, care conține în biomasa 35...50% glucide.
- Rezultatul tehnic obținut se datorează particularităților biochimice ale tulpinii, în special sintezei glucidelor în urma intensificării proceselor fiziologice din celule.
- Exemplu de realizare a invenției
- Tulpina propusă – *Calothrix elenkinii* Kossinsk. CNMN-CB-14, a fost izolată din mostre de sol colectate din apropierea or. Cimișlia, Republica Moldova, prin metoda înșămânțării repetate pe medii lichide și agarizate.
- Pentru creșterea și dezvoltarea tulpinii poate fi utilizat mediul mineral Drew cu următoarea componență chimică: K_2HPO_4 - 0,2 g/l; $Mg SO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2 g/l; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ - urme; $FeCl_3$ - urme. Mediul este preparat pe apă distilată. Cultivarea se efectuează cu menținerea următorilor parametri: temperatura de 24...29°C, iluminarea de 1000...2000 lx.
- Tulpina se caracterizează prin capacitatea de sinteză sporită de glucide, cantitatea cărora este de 52,9%...66,0%.
- Caracterele morfo-culturale ale tulpinii: reprezintă colonii de culoare cafenie închisă, cu trihomi încovoiați de formă asimetrică, protejați de o teacă gelatinoasă. Celulele vegetative sunt de diferită formă – de la sferică până la cilindrică. Celulele bazale au lățimea de 4,0...9,0 μ și lungimea de 2,0...7,0 μ . Trihomii spre partea apicală se îngustează, celulele devin cilindrice cu lățimea de la 2,5...5,5 μ . Celula terminală este rotunjită sau puțin ascuțită. Fiecare trihom conține câte un heterocist bazal de formă sferică sau ovală cu 2,0...7,0 μ lungime și 3,0...7,7 μ lățime.
- Caracterele fiziologo-biochimice ale tulpinii: tulpina *Calothrix elenkinii* Kossinsk. crește bine pe mediul Drew cu următoarea componență chimică: K_2HPO_4 - 0,2 g/l; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2 g/l; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ - urme; $FeCl_3$ - urme. Cultivarea se efectuează cu menținerea următorilor parametri: temperatura de 24...29°C, iluminarea de 1000...2000 lx. Durata cultivării este de 10...15 zile.
- Substanțele biologic active ce fac parte din componența tulpinii date sunt: proteine – (11,9%...13,3%); lipide – (20,0%); glucide cu cantitatea maximă de 66,0%.
- Gradul de puritate a tulpinii: Tulpina *Calothrix elenkinii* Kossinsk. este selectată în cultură algologic pură, pentru menținerea purității alga se recultivă pe medii agarizate în cutii Petri sau eprubete înclinate, menținute la aceeași temperatură de 24...29 °C și iluminare de 1000...2000 lx. Pe medii agarizate cât și pe cele lichide reînșămânțarea tulpinii se recomandă o dată în 10...15 zile. Când biomasa atinge cota de 2 g/l, în cazul cultivării pe medii lichide, o parte din aceasta se înlătură prin filtrare și se adaugă mediu nutritiv nou.
- Intr-un vas cu volumul de 250 ml de mediu nutritiv cunoscut Drew, se introduce biomasa algologic pură de *Calothrix elenkinii* Kossinsk, în cantitate de 0,4 g/l, la iluminarea de 1000...2000 lx și temperatura de 24...29°C. După 10...15 zile de

cultivare se determină din nou cantitatea de biomasă și conținutul de substanțe biologice active, și anume de glucide, în vederea utilizării ulterioare a biomasei algale în calitate de sursă de substanțe biologice active. În urma realizării invenției s-a stabilit că tulpina propusă sintetizează în biomasă până la 52,9%...66,0% de glucide.

5

(56) Referințe bibliografice citate in descriere:

1. Sukalyan Chakraborty, S.C. Santra. Biochemical composition of eight benthic algae collected from Sunderban. indian Journal of Marine Sciences, 2008, vol. 37(3), p. 329-332
2. Rudic V. Ficobiotehnologie - cercetări fundamentale și realizări practice. Chișinău, 2007, p. 176-177

(57) Revendicări:

Tulpină de microalgă cianofită *Calothrix elenkinii* Kossinsk. CNMN-CB-14 in calitate de sursă de glucide.

Șef adjunct Direcție Brevete :

IUSTIN Viorel

Șef Secție Examinare:

LEVIȚCHI Svetlana

Examinator:

LUPAȘCU Lucian

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2014 0032

(22) Data depozit: 2014.04.08

(71) Solicitant: **UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD**

(54) **Titlul: Tulpină de microalgă cianofită *Calothrix elenkinii* Kossinsk. - sursă de glucide**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl: C12N 1/12 (2006.01)**

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): “microalgă”, “microalgă glucide”, “*Calothrix elenkinii*”

Int. Cl: C12N 1/12 (2006.01)

"Worldwide" (Espacenet): “microalga”, “microalga polysaccharides”, “*Calothrix elenkinii*”

Int. Cl: C12N 1/12 (2006.01)

EA, CIS (Earpatis): “микроводоросли улеводы”, “*Calothrix elenkinii*”

Int. Cl: C12N 1/12 (2006.01)

SU (nonpublic): “микроводоросли улеводы”, “*Calothrix elenkinii*”

Int. Cl: C12N 1/12 (2006.01)

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

Pushparaj B., Pelosi E., Carlozzi P., Torzillo G. Yield and biochemical composition of a marine cyanobacterium (*Nodularia* sp.) in outdoor culture. *Aquatic Microbial Ecology*, 1995, vol. 9, p.13-16

Kermanshahi A., Sommer T.J., Anastas P.T., Zimmerman J.B. Enzymatic and acid hydrolysis of *Tetraselmis suecica* for polysaccharide characterization. *Bioresour. Technol.*, 2014, 173, p. 415-421.

Ahmed A.B., Adel M., Karimi P., Peidayesh M. Pharmaceutical, cosmeceutical, and traditional applications of marine carbohydrates. *Adv. Food Nutr. Res.*, 2014, 73, p. 197-220.

Sun Y., Wang H., Guo G., Pu Y., Yan B. The isolation and antioxidant activity of polysaccharides from the marinemicroalgae *Isochrysis galbana*. *Carbohydr Polym.* 2014, 26, 113, p. 22-31.

Goo B.G., Baek G., Choi D.J., Park Y.I., Synytsya A., Bleha R., Seong D.H., Lee C.G., Park J.K. Characterization of a renewable extracellular polysaccharide from defatted microalgae *Dunaliella tertiolecta*. *Bioresour Technol.*, 2013, 129, p. 343-350.

Yao C., Ai J., Cao X., Xue S., Zhang W. Enhancing starch production of a marine green microalga *Tetraselmis subcordiformis* through nutrient limitation. *Bioresour. Technol.*, 2012, 118, p. 438-44. doi: 10.1016/j.biortech.2012.05.030. Epub 2012 May 17.

Pourmir A., Noor-Mohammadi S., Johannes T.W. Production of xylitol by recombinant microalgae. *J. Biotechnol.*, 2013, 165(3-4), p. 178-183.

| V. Documente considerate a fi relevante | | |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Categoria* | Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente | Numărul revendicării vizate |
| A | MD 275 G2 1996.01.10 | 1 |
| A | MD 286 G2 1996.06.10 | 1 |
| A | MD 1352 G2 2000.10.31 | 1 |
| A | MD 4104 C1 2011.10.31 | 1 |
| A | MD 4113 C1 2011.12.31 | 1 |
| A | MD 4122 C1 2012.02.29 | 1 |
| A | US 2013190269 A1 2013.07.25 | 1 |
| A | CN 102417548 A □012.04.18 | 1 |
| A | WO 2007136428 A2 2007.11.29 | 1 |
| A | JPS 6383170 A 1988.04.13 | 1 |
| A | JPH 01146961 A 1989.06.08 | 1 |
| A | US 20110070159 B2 2011.03.24 | 1 |
| A | US 2007191303 A1 2007.08.16 | 1 |
| A | EP 0105921 A4 1984.04.25 | 1 |
| A | WO 2009144711 A2 2009.12.03 | 1 |
| A, D | Sukalyan Chakraborty, S.C. Santra. Biochemical composition of eight benthic algae collected from Sunderban. <i>Indian Journal of Marine Sciences</i> , 2008, vol. 37(3), p. 329-332 | 1 |
| A, D, C | Rudic V. Ficobiotehnologie- cercetări fundamentale și realizări practice. Chișinău, 2007, p. 176-177 | 1 |

*** categoriile speciale ale documentelor citate:**

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 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 |
| X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur | E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată |
| Y – 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 | D – document menționat în descrierea cererii de brevet |
| O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare | C – document considerat ca cea mai apropiată soluție & – document, care face parte din aceeași familie de |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| | brevete |
| P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate | L – document citat cu alte scopuri |
| Data finalizării documentării | 10.04.2015 |
| Examinator | LUPAȘCU Lucian |