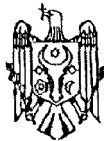




MD 4359 B1 2015.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4359** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *C12N 1/12* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2014 0055 (22) Data depozit: 2014.06.04	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2015.07.31, BOPI nr. 7/2015
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: DOBROJAN Sergiu, MD; ȘALARU Victor, MD; STRATULAT Irina, MD; ȘALARU Vasile, MD; SEMENIUC Evgheni, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Mediu nutritiv pentru cultivarea algei *Anabaenopsis sp.*

(57) Rezumat:

Invenția se referă la biotehnologie, în special la un mediu nutritiv pentru cultivarea algei *Anabaenopsis sp.* și poate fi utilizată pentru obținerea biomasei algale utilizate în calitate de sursă de proteine, glucide, vitamine și în agricultură ca biofertilizator.

Conform invenției, mediul nutritiv conține:
 HCO_3^- – 109,8...122,0 mg/L; NO_3^- – 1,39...1,80 mg/L; NH_4^+ – 3,51...4,63 mg/L;

$\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ – 2,4...3,0 me/L; Cl^- – 99,4...126,0 mg/L, având pH-ul 7,19...7,40 și este obținut prin amestecarea cu apă distilată a solului de cernoziom tipic – 33,4...66,7 g/L, lutului galben – 34,0...66,7 g/L, nisipului de carieră – 67,0...68,0 g/L, cu ulterioara filtrare prin tifon și 2 filtrări prin hârtie de filtru.

Revendicări: 1

MD 4359 B1 2015.07.31

(54) Nutrient medium for cultivation of alga *Anabaenopsis sp.***(57) Abstract:**

1
The invention relates to biotechnology, in particular to a nutrient medium for cultivation of alga *Anabaenopsis sp.* and can be used to produce algal biomass used as a source of proteins, glucides, vitamins and in agriculture as a biofertilizer.

According to the invention, the nutrient medium comprises: HCO_3^- – 109.8...122.0 mg/L; NO_3^- – 1.39...1.80 mg/L; NH_4^+ – 3.51...4.63 mg/L; $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ – 2.4...3.0

2
me/L; Cl^- – 99.4...126.0 mg/L, having the pH 7.19...7.40 and is obtained by mixing with distilled water the typical black soil – 33.4...66.7 g/L, yellow clay 34.0...66.7 g/L, pit sand 67.0...68.0 g/L, followed by filtration through gauze and 2-x filtration through filter paper.

Claims: 1

(54) Питательная среда для культивирования водоросли *Anabaenopsis sp.***(57) Реферат:**

1
Изобретение относится к биотехнологии, в частности к питательной среде для культивирования водоросли *Anabaenopsis sp.* и может быть использовано для получения водорослевой биомассы, используемой в качестве источника белков, углеводов, витаминов и в сельском хозяйстве как биофertilизатор.

Согласно изобретению, питательная среда содержит: HCO_3^- – 109,8...122,0 мг/л; NO_3^- – 1,39...1,80 мг/л; NH_4^+ – 3,51...4,63

2
мг/л; $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ – 2,4...3,0 мг-экв/л; Cl^- – 99,4...126,0 мг/л, имея pH 7,19...7,40 и получена путём смешивания с дистиллированной водой типичного чернозёма – 33,4...66,7 г/л, жёлтой глины 34,0...66,7 г/л, карьерного песка 67,0...68,0 г/л, с последующей фильтрацией через марлю и 2-х фильтраций через фильтровальную бумагу.

П. формулы: 1

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, în special la un mediu nutritiv pentru cultivarea algei *Anabaenopsis sp.* și poate fi aplicată pentru obținerea biomasei algale utilizate în calitate de sursă de proteine, glucide, vitamine și în agricultură ca biofertilizator.

Este cunoscut un mediu nutritiv pentru cultivarea algei *Anabaenopsis elenkinii* BG-11 modificat, care are următoarea compoziție, în g/L: NaNO₃ – 0,3, acid citric – 6, citrat de amoniu fieric – 6, K₂HPO₄·3H₂O – 40, MgSO₄·7H₂O – 75, CaCl₂·2H₂O – 36, Na₂CO₃ – 20, MgNa₂EDTA·2H₂O – 1, soluție de microelemente 1 ml (cu următoarea compoziție, moli ai soluției finale: H₃BO₃ – 4,63·10⁻⁵, MnCl₂·4H₂O – 9,15·10⁻⁶, ZnSO₄·7H₂O – 7,65·10⁻⁷, CuSO₄·5H₂O – 3,16·10⁻⁷, Na₂MoO₄·2H₂O – 1,61·10⁻⁶, Co(NO₃)₂·6H₂O – 1,70·10⁻⁷) [1].

Mai este cunoscut un mediu nutritiv utilizat la cultivarea algei *Anabaenopsis sp.* Gromov-6 cu următoarea componență, în g/L: KNO₃ – 1,0, K₂HPO₄ – 0,2, MgSO₄·7H₂O – 0,2, CaCl₂ – 0,15, NaHCO₃ – 0,2 și soluția de microelemente g/L: CaCl₂ – 1,2, ZnSO₄·7H₂O – 0,22, MnSO₄ – 1,81, CuSO₄·5H₂O – 0,079, NaBO₃·4H₂O – 2,63, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O – 1,0, FeSO₄·7H₂O – 9,3, Co(NO₃)₂·H₂O – 0,02, EDTA (Trilon B) – 10,0 [2].

Mediile nutritive cunoscute au o compoziție complexă, totodată ele nu asigură o reproducere înaltă și o creștere intensivă a celulelor algei *Anabaenopsis sp.* (1,453 g/L biomasă algală), iar utilizarea lor este limitată de dificultățile de obținere a reagenților.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu nutritiv nou mai accesibil pentru cultivarea algei *Anabaenopsis sp.* care ar asigura o creștere și o productivitate mai înaltă a biomasei algale.

Esența invenției constă în aceea că se propune un mediu nutritiv pentru cultivarea algei *Anabaenopsis sp.*, care conține: HCO₃⁻ – 109,8...122,0 mg/L, NO₃⁻ – 1,39...1,80 mg/L, NH₄⁺ – 3,51...4,63 mg/L, Ca²⁺ + Mg²⁺ – 2,4...3,0 me/L, Cl⁻ – 99,4...126,0 mg/L, având pH-ul 7,19...7,40, obținut prin amestecarea cu apă distilată a solului de cernoziom tipic – 33,4...66,7 g, lutului galben – 34,0...66,7 g, nisipului de carieră – 67,0...68,0 g, cu ulterioara filtrare prin tifon și 2 filtrări prin hârtie de filtru.

Rezultatul tehnic al invenției constă în aceea că mediul propus stimulează procesele de creștere a algei *Anabaenopsis sp.*, contribuind la obținerea unei cantități de 4,66 ori mai înalte de biomasă algală (în invenție – 6,77±0,62 g/L, în soluția cea mai apropiată – 1,453 g/L).

Rezultatul tehnic obținut se datorează faptului că mediul nutritiv propus în invenție este de origine naturală, fiind bogat în substanțe nutritive necesare creșterii algei *Anabaenopsis sp.*, care contribuie la acomodarea mai ușoară a algei și la stimularea proceselor de reproducere a celulelor algale.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Intr-un vas de cultură, cu volumul de 2 L, se introduce sol cernoziom tipic – 33,4 g, lut galben – 66,7 g (colectat din carieră) și nisip – 68 g (colectat din carieră). După cântărire se adaugă 1L de apă distilată și se agită până la dizolvare parțială. Soluția obținută se filtrează de trei ori, prima filtrare efectuându-se prin tifon în patru straturi (pentru excluderea particulelor solide), iar următoarele două filtrări se efectuează utilizându-se hârtia de filtru. Mediul obținut este de culoare galben-deschisă și are următoarea compoziție chimică: pH – 7,40, HCO₃⁻ – 109,8 mg/L, NO₃⁻ – 1,39 mg/L, NH₄⁺ – 3,51 mg/L, Ca²⁺ + Mg²⁺ – 3 me/L, Cl⁻ – 99,4 mg/L. Mediul obținut se supune sterilizării la lampa germicidă timp de 20 min. La mediul preparat se adaugă inoculum de algă *Anabaenopsis sp.* (aflată în faza exponențială de creștere) în cantitate de 0,40 g/L. Cultivarea se efectuează după metoda periodică timp de 6 zile, cu agitare zilnică 60 min/24 h, la intensitatea luminii de 5000 lx, temperatura de 30 °C și pH-ul 7,40±0,02 (inițial al mediului) - 10,13±0,04 (al mediului la sfârșitul fazei exponențiale). Procesul de creștere a algei se prezintă în tab. 1.

55

Tabelul 1

Caracteristica cinetică a creșterii algei *Anabaenopsis sp.* pe mediu nutritiv

Perioada analizată, zile	Indicatorii de creștere	Mediul propus	Cea mai apropiată soluție
1	Productivitate, g/L	0,4±0,02	0,4
	Creșterea biomasei, g/L/zi	-	-
	pH	7,40±0,02	7,71±0,01
3	Productivitate, g/L	3,01±0,15	0,76
	Creșterea biomasei, g/L/zi	0,536±0,005	0,116±0,005
	pH	9,88±0,07	8,26±0,03
6	Productivitate, g/L	6,77±0,62	1,453
	Creșterea biomasei, g/L/zi	1,010±0,008	0,175±0,006
	pH	10,13±0,04	9,85±0,06

5 Rezultatele prezentate în tab. 1 demonstrează că utilizarea mediului propus pentru cultivarea algei cianofite *Anabaenopsis sp.* oferă posibilitatea obținerii unei cantități de biomasă mult mai mare, atingând valorile de 6,77±0,62 g/L, comparativ cu cea mai apropiată soluție - 1,453 g/L în aceeași perioadă de timp. Mediul propus asigură o creștere mai înaltă a biomasei algei *Anabaenopsis sp.* (în invenție 1,010±0,008 g/L/zi, iar în cea mai apropiată soluție 0,175±0,006).

Exemplul 2

10 Intr-un vas de cultură, cu un volum de 2 L, se introduce sol cernoziom tipic - 66,7g, lut galben - 34 g (colectat din carieră) și nisip - 67 g (colectat din carieră). După cântărire se adaugă 1 L de apă distilată și se agită până la dizolvare parțială. Soluția obținută se filtrează de trei ori, prima filtrare efectuându-se prin tifon în patru straturi (pentru excluderea particulelor solide), iar următoarele două filtrări se efectuează
15 utilizandu-se hârtia de filtru. Mediul obținut este de culoare galben-deschisă și are următoarea compoziție chimică: pH - 7,19, HCO₃⁻ - 122 mg/L, NO₃⁻ - 1,80 mg/L, NH₄⁺ - 4,63 mg/L, Ca²⁺+ Mg²⁺ - 2,4 me/L, Cl⁻ - 126 mg/L. Mediul obținut se supune sterilizării la lampa germicidă timp de 20 min. La mediul preparat se adaugă inoculum de algă *Anabaenopsis sp.* (aflată în faza exponențială de creștere) în cantitate de 0,40
20 g/L. Cultivarea se efectuează după metoda periodică timp de 6 zile, cu agitare la fiecare 60 min, timp de 24 ore la intensitatea luminii de 5000 lx, temperatura de 30 °C și pH-ul 7,19 ±0,02 (inițial al mediului) - 8,90±0,14 (al mediului la sfârșitul fazei exponențiale). Procesul de creștere a algei se prezintă în tab. 2.

25

Tabelul 2

Caracteristica cinetică a creșterii algei *Anabaenopsis sp.* pe mediu nutritiv

Perioada analizată, zile	Indicatorii de creștere	Mediul propus	Cea mai apropiată soluție
1	Productivitate, g/L	0,4±0,02	0,4
	Creșterea biomasei, g/L/zi	-	-
	pH	7,19±0,01	7,71±0,01
3	Productivitate, g/L	2,25±0,20	0,76
	Creșterea biomasei, g/L/zi	0,617±0,057	0,116±0,005
	pH	8,46±0,08	8,26±0,03
6	Productivitate, g/L	3,27±0,29	1,453
	Creșterea biomasei, g/L/zi	0,481±0,040	0,175±0,006
	pH	8,90±0,14	9,85±0,06

30 Rezultatele prezentate în tab. 2 denotă că utilizarea noului mediu nutritiv permite obținerea unei cantități mai mari de biomasă (în invenție - 3,27±0,29 g/L, iar în cea mai apropiată soluție - 1,453 g/L) și o creștere mai înaltă a biomasei (în invenție - 0,481±0,040 g/L/zi, iar în cea mai apropiată soluție - 0,175±0,006 g/L/zi).

5 Astfel, mediul propus în invenție permite accelerarea proceselor de creștere a biomasei algei *Anabaenopsis sp.* de 2,75...5,771 ori sau cu 275...577,1% și majorarea cantității de biomasă algală obținută de 2,25...4,66 ori sau cu 225...466%, comparativ cu cea mai apropiată soluție

(56) Referințe bibliografice citate in descriere:

1. Kleber R. de S. Santos, F.R. Jacinavicius, Celia L.S. Effects of the pH on growth and morphology of *Anabaenopsis elenkinii* Miller (Cyanobacteria) isolated from the alkaline shallowlake of the Brazilian Pantanal, *Fottea*, 2011, nr. 11(1), p. 119-126
2. Dobrojan S., Donțu N., Dobrojan G., Trofim A., Stratulat I., Popescu T., Semeniuc E., Negara C. Cultivarea algei *Anabaenopsis sp.* pe mediul de cultură Gromov-6. *Revista de Etnografie, Științele Naturii și Muzeologie*, 2012, nr. 16(29), p. 76-80

(57) Revendicări:

Mediu nutritiv pentru cultivarea algei *Anabaenopsis sp.*, care conține: HCO_3^- – 109,8...122,0 mg/L; NO_3^- – 1,39...1,80 mg/L; NH_4^+ – 3,51...4,63 mg/L; $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ – 2,4...3,0 me/L; Cl^- – 99,4...126,0 mg/L, având pH-ul 7,19...7,40; obținut prin amestecarea cu apă distilată a solului de cernoziom tipic – 33,4...66,7 g/L, lutului galben – 34,0...66,7 g/L, nisipului de carieră – 67,0...68,0 g/L, cu ulterioara filtrare prin tifon și 2 filtrări prin hârtie de filtru.

Șef Secție Examinare:

GROSU Petru

Examinator:

LUPAȘCU Lucian

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2014 0055

(22) Data depozit: 2014.06.04

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

(54) **Titlul: Mediu nutritiv pentru cultivarea algei *Anabaenopsis sp.***

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): “alge”, “alge cultivare”

Int.Cl: C12N 1/12 (2006.01)

"Worldwide" (Espacenet): “algae medium”, “algae cultivation clay”, “algae cultivation sand”, “algae cultivation soil”

Int.Cl: C12N 1/12 (2006.01)

EA, CIS (Eapatis): “питательная среда водоросли”

Int.Cl: C12N 1/12 (2006.01)

SU (nonpublic): “питательная среда водоросли”

Int.Cl: C12N 1/12 (2006.01)

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

<http://tinread.usm.md/opac/author/148560;jsessionid=AAF02BBECFAFCA65E1761F93925DF1B2>

Dobrojan S., Stratulat I., Dobrojan G., Trofim A., Donțu N. Unele aspecte fiziologice ale cultivării algei *Anabaenopsis sp.* pe diferite medii nutritive. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții, 2013, Numărul 1(319), p. 143-147

Dobrojan G., Dobrojan S., Stratulat I. Utilizarea metodei de cultivare semicontinuă a algei *Anabaenopsis sp.* pe mediul nutritiv Z-8. Studia Universitatis (Seria Științe Reale și ale Naturii), 2013, nr.1(61), p. 88-91

Stratulat I., Dobrojan S., Șalaru V. Cultivarea algei *Nostoc flagelliforme* pe diferite medii nutritive. Buletin Științific. Revista de Etnografie, Științele Naturii și Muzeologie (Serie Nouă), 2012, nr. 16(29), p. 81-86

Dobrojan S., Stratulat I., Dobrojan G., Popescu T., Negara C. Utilizarea mediului de cultură drew la cultivarea algei azotfixatoare *Anabaenopsis sp.* Studia Universitatis (Seria Științe Reale și ale Naturii), 2012, Nr. 1(51), p. 23-28

Dobrojan S., Gorbatenco C., Dobrojan G., Stratulat I. Studia Universitatis (Seria Științe Reale și ale Naturii). Cultivarea algei nostoc flagelliforme pe medii obținute pe baza deșeurilor de la complexele zootehnice. 2012, Nr. 1(51), p. 19-22

V. Documente considerate a fi relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 3417 G2 2008.06.30	1
A	MD 163 C2 1995.06.23	1
A	MD 169 C2 1995.07.20	1
A	MD 690 G2 1998.02.28	1
A	MD 691 G2 1997.11.30	1
A	MD 692 F1 1997.03.31	1
A	MD 693 F1 1997.03.31	1
A	MD 1723 G2 2002.03.31	1
A	MD 1866 G2 2002.10.31	1
A	MD 1946 G2 2003.03.31	1
A	MD 2046 G2 2003.09.30	1
A	MD 3780 G2 2009.08.31	1
A	MD 4253 C1 2013.10.31	1
A	MD 4254 C1 2013.10.31	1
A	MD 4255 C1 2013.10.31	1
A	UA 80004 U 2013.05.13	1
A	MD 4278 C1 2014.03.31	1
A	SU 1549994 A1 1990.03.15	1
A	JPS 5783279 A 1982.05.25	1
A	RU 1424149 C 1994.07.15	1
A	JPS 5754585 A 1982.04.01	1
A, D	Kleber R. de S. Santos, F.R. Jacinavicius., Celia L.S. Effects of the pH on growth and morphology of <i>Anabaenopsis elenkinii</i> Miller (Cyanobacteria) isolated from the alkaline shallowlake of the Brazilian Pantanal, Fottea, 2011, nr. 11(1), p. 119-126	1
A, D, C	Dobrojan S., Donțu N., Dobrojan G., Trofim A., Stratulat I., Popescu T., Semeniuc E., Negara C. Cultivarea algei <i>Anabaenopsis sp.</i> pe mediul de cultură Gromov-6. Revista de Etnografie, Științele Naturii și Muzeologie, 2012, nr. 16(29), p. 76-80	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	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată

documentul este luat in considerație de unul singur	
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	21.04.2015
Examinator	LUPAȘCU Lucian