



MD 1748 G2 2001.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 1748⁽¹³⁾ G2

(51) Int. Cl.⁷: C 12 N 1/14, 9/24;
C 12 S 3/12; C 12 R 1:845

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2000 0117	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
(22) Data depozit: 2000.07.14	2001.09.30, BOPI nr. 9/2001
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD	
(72) Inventatori: DESEATNIC Alexandra, MD; TIURIN Jana, MD; GĂRBĂLĂU Nicolae, MD; COROPCEANU Eduard, MD; LABLIUC Svetlana, MD; BOLOGA Olga, MD	
(73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD	

(54) Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de funghi *Rhizopus arrhizus*,
variante

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la biotehnologie, în particu-
lar la mediile de cultivare a tulpinii de funghi
Rhizopus arrhizus și poate fi utilizată la obținerea
enzimelor pectolitice, aplicate în industria alimen-
tară, eterooleaginoasă etc.

Esența invenției constă în aceea că mediile
nutritive pentru cultivarea tulpinii de funghi
Rhizopus arrhizus conțin borhot de sfeclă, făină de
porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de
magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă. În calitate
de biostimulator mediile conțin suplimentar unul

2
5 din compușii coordinați din clasa bis-
dimetilgloximaților de Co(III) având formula
 $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ sau
sau
 $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, unde DH este radi-
10 calul de dimetilgloximat, iar Thio - tiocarbamida.
Rezultatul invenției constă în sporirea
biosintezei și activității enzimelor pectolitice.
Revendicări: 2

15

MD 1748 G2 2001.09.30

MD 1748 G2 2001.09.30

3

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un mediu de cultivare a tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* și poate fi utilizată la obținerea enzimelor pectolitice, aplicate în industria alimentară, eterooleaginoasă etc.

5 Este cunoscut procedeul de cultivare a tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* [1], în care ca mediu nutritiv optim se utilizează compoziția cu următorul raport al ingredientelor, g/L:

	borhot de sfeclă	45,0
	făină de porumb	15,0
	glucoză	1,0
	sulfat de amoniu	1,0
10	sulfat de magneziu	0,7
	sulfat de zinc	0,25
	apă potabilă	până la 1 L.

Dezavantajul procedurii constă în faptul că pe mediul cu componența sus-menționată biosinteza enzimelor pectolitice și activitatea lor sunt joase.

15 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în sporirea biosintezei și activității enzimelor pectolitice.

Problema se soluționează prin aceea că se propune mediul de cultivare a tulpinii *Rhizopus arrhizus*, care conține borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă. Mediul solicitat suplimentar conține în calitate de biostimulator unul din compușii coordinativi din clasa *bis*-dimetilglioximaților Co(III) având formula $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ sau $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, unde DH este radicalul dimetilglioximatului, iar Thio - tiocarbamida, în următorul raport al ingredientelor, g/L:

	borhot de sfeclă	22,0...23,0
	făină de porumb	14,0...16,0
	glucoză	0,9 ... 1,1
25	sulfat de amoniu	0,9 ... 1,1
	sulfat de magneziu	0,6 ... 0,8
	sulfat de zinc	0,24 ... 0,26
	dimetilglioximatul de Co(III)	0,001...0,005
	apă potabilă	până la 1 L.

30 Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei și activității enzimelor pectolitice.

Activitatea enzimelor pectolitice a lichidelor culturale (LC) ale tulpinii *Rhizopus arrhizus*, obținute la utilizarea mediului conform celei mai apropiate soluții și optimizate (cu adaosul biostimulatorilor: $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ și $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) este reprezentată în tabel.

35 Efectul biostimulator este cauzat de includerea într-un singur compus chimic individual a trei microelemente: Co, Si și F, necesare dezvoltării unor microorganisme.

Activitatea enzimelor pectolitice a lichidelor culturale (LC) ale tulpinii *Rhizopus arrhizus* este determinată prin metoda interferometrică și este reprezentată în unități convenționale la 1 mL (u.c./mL).

Variantele mediilor	Numărul de probe	Concentrațiile biostimulatorului, mg/L	Activitatea enzimelor pectolitice, u. c./mL
Cea mai apropiată soluție (control)	10	-	35,0±0,5
$[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$	10	1	52,1±0,2
	10	5	91,9±0,6
	10	10	92,8±0,3
$[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	10	1	55,7±0,3
	10	5	99,3±0,7
	10	10	99,4±0,5

40 În varianta de control dioximații cobaltului cu fluorul lipsesc și activitatea este egală cu 35,0 u. c./mL. Din tabel se vede că în cazul utilizării variantelor de medii optimizate (cu concentrațiile substanțelor de 1 mg/L și 5 mg/L) activitatea enzimelor pectolitice ale tulpinii *Rhizopus arrhizus* este superioară considerabil în comparație cu cea mai apropiată soluție. Activitatea maximă a pectinazelor a fost înregistrată la concentrația de 5 mg/L de

MD 1748 G2 2001.09.30

4

substanță. Sporirea concentrației compușilor complecși de la 5 la 10 mg/L este inefficientă, deoarece activitatea pectolitică crește neînsemnat.

5 Exemplul 1

Tulpina *Rhizopus arrhizus* este cultivată timp de 48 ore în baloane Erlenmayer cu volumul de 1000 mL cu 250 mL de mediu și se sterilizează la 115°C timp de 30 min.

Compoziția mediului, g/L:	
borhot de sfeclă	22,0...23,0
făină de porumb	14,0...16,0
glucoză	0,9...1,1
sulfat de amoniu	0,9...1,1
sulfat de magneziu	0,6...0,8
sulfat de zinc	0,24...0,26

15 [Co(DH)₂(Thio)₂]₃F[SiF₆]·1,5H₂O 0,001...0,005
apă potabilă până la 1 L.

După 48 ore de cultivare a tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus* activitatea enzimelor pectolitice în varianta de control constituie 35,0 u. c./mL, iar varianta cu dioximatul cobaltului(III) cu fluor 91,9 u. c./mL.

20 Exemplul 2

Tulpina de fungi *Rhizopus arrhizus* se cultivă timp de 48 ore în baloane Erlenmayer cu volumul de 250 mL cu 100 mL de mediu cu compoziția indicată mai jos și se sterilizează la 115°C timp de 30 min.

Compoziția mediului, g/L:	
borhot de sfeclă	22,0...23,0
făină de porumb	14,0...16,0
glucoză	0,9...1,1
sulfat de amoniu	0,9...1,1
sulfat de magneziu	0,6...0,8
sulfat de zinc	0,24...0,26

30 [Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]·3H₂O 0,001...0,005
apă potabilă până la 1 L.

În varianta de control activitatea constituie 35,0 u. c./mL, iar în varianta optimizată cu adăugarea a 5 mg/L de [Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆]·3H₂O activitatea pectolitică constituie 99,3 u. c./mL.

MD 1748 G2 2001.09.30

5

(57) Revendicări:

1. Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus*, care conține borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă, **caracterizat prin aceea că** suplimentar conține bis-dimetilglioiximatul de Co(III) cu formula $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ în următorul raport al ingredientelor, g/L:
- | | |
|---|---------------|
| borhot de sfeclă | 22,0...23,0 |
| făină de porumb | 14,0...16,0 |
| glucoză | 0,9... 1,1 |
| sulfat de amoniu | 0,9 ... 1,1 |
| sulfat de magneziu | 0,6 ... 0,8 |
| sulfat de zinc | 0,24...0,26 |
| $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_3\text{F}[\text{SiF}_6] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$, | 0,001...0,005 |
- 15 unde DH - radicalul de dimetilglioiximat, iar Thio - tiocarbamida, apă potabilă până la 1 L.
2. Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Rhizopus arrhizus*, care conține borhot de sfeclă, făină de porumb, glucoză, sulfat de amoniu, sulfat de magneziu, sulfat de zinc și apă potabilă, **caracterizat prin aceea că** suplimentar conține bis-dimetilglioiximatul de Co(III) cu formula $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ în următorul raport al ingredientelor, g/L:
- | | |
|---|---------------|
| borhot de sfeclă | 22,0...23,0 |
| făină de porumb | 14,0...16,0 |
| glucoză | 0,9...1,1 |
| sulfat de amoniu | 0,9...1,1 |
| sulfat de magneziu | 0,6...0,8 |
| sulfat de zinc | 0,24...0,26 |
| $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, | 0,001...0,005 |
- 25 unde DH - radicalul de dimetilglioiximat, iar Thio - tiocarbamida, apă potabilă până la 1 L.
- 30

(56) Referințe bibliografice:

1. Десятник А.А., Тюрина Ж.П., Виноградова С.П., Лаблюк С.В. Эффективные технологии производства новых ферментных препаратов микробного происхождения и их использование в перерабатывающих отраслях. Обзорная информация, Ин-т техн.-экон. инф. Кишинэу, 1998, с. 16-24

Șef Secție: CRASNOVA Nadejda
Examinator: BAZARENCO Tatiana
Redactor: CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2000 0117		
(22) Data depozit: 2000.07.14		
(51) Int. Cl. (7) : C 12 N 1/14 ; C 12 R 1: 845 Alți indici de clasificare:		
(54) Titlul : Medii de cultivare a microorganismului <i>Rhizopus arrhizus</i> - producător de pectinaze		
(71) Solicitantul : Institutul de Microbiologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD		
Termeni caracteristici : mediile nutritive pentru cultivare a fungilor <i>Rhizopus Arrhizus</i> , cultivarea microorganismelor		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indicii de clasificare)		
C.I.B. 7: C 12 N 1/14 ; C 12 R 1: 845		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
<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 depozitului național reglementat dar după data priorității invocate
A - document care definește statutul general al tehnicii		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 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 data 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		& - document care face parte din aceeași familie de documente
Data efectuării documentării	08.06.2001	
Examinatorul	Bazarenco Tatiana	

1	2	3	4