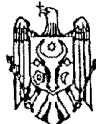




MD 3780 F1 2008.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3780** ⁽¹³⁾ **F1**
(51) Int. Cl.: *C12N 1/12* (2006.01)
A01G 33/00 (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 0291 (22) Data depozit: 2007.10.29	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2008.12.31, BOPI nr. 12/2008
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: RUDIC Valeriu, MD; BULIMAGA Valentina, MD; BIVOL Cezara, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) **Procedeu de cultivare a microalgei verzi *Dunaliella salina***

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la ficobiotehnologie, în particular la un procedeu de cultivare a microalgei verzi *Dunaliella salina* – sursă de substanțe biologice active valoroase și poate fi utilizată în industriile alimentară și farmaceutică, cosmetologie.

Procedeu propus include cultivarea *Dunaliella salina* pe un mediu nutritiv ce conține lichidul cultural rezultat de la cultivarea *Spirulina platensis*, ce conține ionii, mg/L: HCO₃⁻ 3050,0, NO₃⁻ 281,0,

2
Cl⁻ 596,2, SO₄²⁻ 97,53, K⁺ 400,0, Ca²⁺ 8,0, Mg²⁺ 24,32, Na⁺ 3800,0, la care se adaugă o sare de magneziu în concentrație de 20...50 mg/L Mg²⁺ și o soluție de HCl în până la pH-ul 8,5...9,0, iar apoi NaCl în concentrație de 60...125 g/L.

Revendicări: 1

10

MD 3780 F1 2008.12.31

MD 3780 F1 2008.12.31

3

Descriere:

Invenția se referă la ficobiotehnologie, în particular la un procedeu de cultivare a microalgei verzi *Dunaliella salina* – sursă de substanțe biologice active valoroase și poate fi utilizată în industriile alimentară și farmaceutică, cosmetologie.

5 Datorită componenței biochimice a microalgei, și în special β -carotenului, care este precursorul vitaminei A și al glicerolului, care intră în componența fosfolipidelor necesare membranelor biologice, biomasa de *Dunaliella salina* tot mai frecvent este utilizată ca sursă de antioxidanți naturali în cosmetologia contemporană. Este vorba despre metodele de bronzare artificială cu ajutorul preparatelor bogate în pigmenți carotenoidici produși din dunaliele sau metodele unicele de
10 tratament, utilizând sare de baie îmbogățită cu substanțe biologice din aceeași algă, care are efecte curative ce pot concura cu renumita sare din Marea Moartă sau diverse argile minerale.

Este cunoscut un procedeu de cultivare a microalgei verzi *Dunaliella salina* pe mediul care conține ape de scurgere de la complexe zootehnice. Conținutul de substanță organică, conform consumării chimice a oxigenului, urmează a fi nu mai mare de 1000 mg O_2/L , adăugând 6...12%
15 NaCl și 0,2% Na_2HCO_3 la o temperatură de 27...29°C și iluminare de 20...24 mii $erg/cm^2/s$ [1].

Mai este cunoscut procedeu de cultivare a microalgei verzi *Dunaliella salina* care include următoarele etape: prepararea mediului de cultivare din lichidul cultural rezultat la creșterea primară a dunalielei cu o concentrație de NaCl în limitele 174...254 g/dm^3 și o concentrație totală de materie
20 organică de 1540 mg/dm^3 , dintre care 41% a fost glicerol, tratarea biologică folosind bacteriile halofile proprii din lichidul cultural și adăugarea combinată a ionilor (NaCl în concentrație de 214 g/dm^3 , Mg^{2+} - 114 mg/dm^3 , K^+ - 131 mg/dm^3 , PO_4^{3-} - 40 mg/dm^3) pentru înlăturarea glicerolului, astfel încât după 2 zile de incubație în lichid cultural nu se identifică reziduuri de glicerol. Această combinație de ioni stimulează înlăturarea eficientă a glicerolului, deci și a substanței organice din apa reziduală de către bacteriile halofile. Acest reziduu lichid tratat în modul respectiv se reutilizează ca
25 mediu stimulator al carotenogenezei la *D. salina* [2].

Dezavantajul acestui procedeu constă în prezența în lichidul cultural a unor cantități sporite de glicerol, pentru înlăturarea căruia din lichidul cultural este necesar un consum suplimentar de săruri și o durată mare de timp (2 zile). El trebuie înlăturat, deoarece majorează presiunea osmotică externă asupra celulelor algale, influențând astfel negativ creșterea și dezvoltarea algei.

30 Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în elaborarea unui procedeu nou de cultivare a microalgei verzi *Dunaliella salina* cu reutilizarea lichidului cultural (apelor reziduale) de la producerea biotehologică a cianobacteriei *Spirulina platensis*.

Esența invenției constă în faptul că se propune un procedeu de cultivare a microalgei verzi *Dunaliella salina* care include următoarele etape: prepararea mediului de cultivare din lichid cultural, suplimentarea lui cu NaCl, totodată în calitate de lichid cultural este utilizat lichidul rezultat de la
35 cultivarea spirulinei ce conține ioni de, în mg/L : HCO_3^- - 3050,0, NO_3^- - 281,0, Cl^- - 596,2, SO_4^{2-} - 97,53, K^+ - 400,0, Ca^{2+} - 8,00, Mg^{2+} - 24,32, Na^+ - 3800,0, la care se adaugă 60...125 g/L NaCl, unde înainte de adăugarea NaCl la lichidul cultural se adaugă ioni de Mg^{2+} (20...50 mg/L) și soluție de HCl 1N pentru stabilirea valorii pH în limitele 8,5...9,0.

40 Rezultatul constă în sporirea productivității microalgei *D. salina* cu 12...15% și economisirea resurselor materiale (apă, săruri minerale) la reutilizarea lichidului cultural (apelor reziduale) rezultat de la cultivarea spirulinei.

Rezultatul se datorează reutilizării apelor reziduale de la cultivarea spirulinei ce conțin nu doar substanțe minerale, dar și substanțe organice și suplimentarea lui cu NaCl și ioni de Mg^{2+} .

45 Rezultatele analizei componenței biochimice a lichidului cultural al cianobacteriei *Spirulina platensis* sunt prezentate în tab. 1.

MD 3780 F1 2008.12.31

4

Tabelul 1

Compozența biochimică a lichidului cultural al cianobacteriei
Spirulina platensis

Nr. d/o	Substanța organică	Compozența biochimică
1	proteine	2,24
2	peptide	0,12
3	lipide	0,21
4	glicerol	-
5	hidrați de carbon	1,14

5

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

La 1 L de lichid cultural obținut de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* se adaugă 2 mL sol. 0,5M MgSO₄ · 7H₂O și 1N sol. HCl până la valoarea pH-ului 8,5...9,0 și se filtrează, după care la supernatantul obținut se adaugă NaCl în concentrație de 60 g/L. Se inoculează suspensia de *Dunaliella salina* în cantitate de 0,25 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer în decurs de 10 zile cu agitare periodică la intensitatea luminii de 4000 lucși și temperatura de 27°C, pH-ul mediului poate varia între 8,5...9,0. La a 10-a zi de cultivare suspensia a fost centrifugată și a fost determinată productivitatea algală și compozența biochimică. Rezultatele sunt expuse în tab. 2.

15

Tabelul 2

Productivitatea și compozența biochimică a *Dunaliella salina*

Nr. d/o	Indicii cercetați	Compozența biochimică	
		Mediul propus	Mediul conform celei mai apropiate soluții
1	productivitatea, g/L	1,67	1,45
2	peptide, %	10,90	10,78
3	pigmenți carotenoidici, mg%	4,65	4,50

20

Exemplul 2

La 1 L de lichid cultural obținut de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* se adaugă 5 mL sol. 0,5M MgSO₄ · 7H₂O și 1N sol. HCl până la valoarea pH-ului 8,5...9,0 și se filtrează, după care la supernatantul obținut se adaugă NaCl în concentrație de 125 g/L. Se inoculează suspensia de *Dunaliella salina* în cantitate de 0,25 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer în decurs de 10 zile cu agitare periodică la intensitatea luminii de 4000 lucși și temperatura de 29°C, pH-ul mediului poate varia între 8,5...9,0. La a 10-a zi de cultivare suspensia a fost centrifugată și a fost determinată productivitatea algală și compozența biochimică. Rezultatele sunt expuse în tab. 3.

30

Tabelul 3

Productivitatea și compozența biochimică a *Dunaliella salina*

Nr. d/o	Indicii cercetați	Compozența biochimică	
		Mediul propus	Mediul conform celei mai apropiate soluții
1	productivitatea, g/L	1,62	1,45
2	peptide, %	11,07	10,78
3	pigmenți carotenoidici, mg%	4,92	4,50

35 Astfel, procedeul propus asigură sporirea productivității cu 12...15% și economisirea reagenților necesari pentru prepararea mediului nutritiv.

MD 3780 F1 2008.12.31

5

(57) Revendicări:

- 5 Procedeu de cultivare a microalgei verzi *Dunaliella salina*, care include cultivarea *Dunaliella salina* pe un mediu nutritiv ce conține lichidul cultural rezultat de la cultivarea unei alge, la care se adaugă NaCl și sare de magneziu, **caracterizat prin aceea că** se utilizează lichidul cultural rezultat de la cultivarea *Spirulina platensis*, ce conține ionii, mg/L: HCO_3^- 3050,0, NO_3^- 281,0, Cl^- 596,2, SO_4^{2-} 97,53, K^+ 400,0, Ca^{2+} 8,0, Mg^{2+} 24,32, Na^+ 3800,0, la care se adaugă o sare de magneziu în concentrație de 20...50 mg/L Mg^{2+} și o soluție de HCl 1N până la pH-ul 8,5...9,0, iar apoi NaCl în concentrație de 60...125 g/L.
- 10

15

(56) Referințe bibliografice:

1. Rudic Valeriu. Aspecte noi ale biotehnologiei moderne. Chișinău, Știința, 1993, p. 13
2. Santos C.A., Vieira A.M., Fernandes H.L., Empis J.A., Novais J.M. Optimisation of the biological treatment of hypersaline wastewater from *Dunaliella salina* carotenogenesis. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, v. 76, number 11, november 2001, p. 1147-1153

Șef Secție:

GROSU Petru

Examinator:

BAZARENCO Tatiana

Redactor:

CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2007 0291		
(22) Data depozit: 2007.10.29		
<p>(51) : Int.Cl: <i>C12N 1/12</i> (2006.01) <i>A01H 13/00</i> (2006.01) <i>A01G 33/00</i> (2006.01)</p> <p>Titlul : Procedeu de cultivare a microalgei verzi <i>Dunaliella salina</i></p> <p>(71) Solicitantul : UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD</p> <p>Termeni caracteristici : cultivare a microalgei verzi <i>Dunaliella salina</i>, lichidul cultural rezultat după cultivarea <i>Spirulina platensis</i></p>		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.		
(MD, EA, SU, inclusiv și colecția „nerepublică”)		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	Santos C.A.,Vieira A.M.,Fernandes H.L.,Empis J.A, Novais J.M. Optimisation of the biological treatment of hypersaline wastewater from <i>Dunaliella salina</i> carotenogenesis. Journal of Chemical Tehnology & Biotehnology, v. 76, number 11, november 2001, pp. 1147-1153	1
A	Rudic Valeriu. Aspecte noi ale biotehnologiei moderne. Chișinău, Știința, 1993, p. 13	
A	SU 1513911 A1	
<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 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 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		2008.10.13
Examinatorul		Bazarenco Tatiana

RAPORT DE DOCUMENTARE

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