



MD 2709 G2 2005.02.28

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **2709** ⁽¹³⁾ **G2**
(51) **Int. Cl.⁷**: C 12 N 1/14, 9/20,
(C 12N 1/14,
C 12 R 1: 845)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2004 0227 (22) Data depozit: 2004.09.16	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2005.02.28, BOPI nr. 2/2005
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: DESEATNIC Alexandra, MD; SIRBU Tamara, MD; TIURIN Jana, MD; LABLIUC Svetlana, MD; RUDIC Valeriu, MD; TURTĂ Constantin, MD; CEAPURIN Ludmila, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD	

(54) **Mediu nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii de micromicete**
Rhizopus arrhizus F 67

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la biotehnologie, în particular
la un mediu pentru cultivarea submersă a tulpinii de
micromicete *Rhizopus arrhizus*, care poate fi
utilizată în industria microbiologică pentru obținerea
enzimelor lipolitice.
Mediul nutritiv pentru cultivarea submersă a
tulpinii de micromicete *Rhizopus arrhizus* F 67
CNMN FD 03 conține făină de soia, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,
 KH_2PO_4 , compusul coordinativ $\text{CuGly}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ și apă
potabilă, având pH-ul inițial 7,0, ingredientele fiind
luate în următorul raport cantitativ, în g/L:

5	făină de soia	35,0
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1,0
	KH_2PO_4	5,0
	$\text{CuGly}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$	0,005...0,020
	apă potabilă	până la 1 L.

10 Rezultatul invenției constă în sporirea biosin-
tezei enzimelor lipolitice.
Revendicări: 1

MD 2709 G2 2005.02.28

3

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la medii de cultivare submersă a tulpinii de micromicete *Rhizopus arrhizus* F 67 CNMN FD 03, care poate fi utilizată în industria microbiologică pentru obținerea enzimelor lipolitice.

- 5 Este cunoscut mediul nutritiv cu următoarea compoziție, g: făină de soia - 35,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 1,0; KH_2PO_4 - 1,0; apă potabilă până la 1L pentru cultivarea submersă a tulpinii *Rhizopus arrhizus* F 67 CNMN FD 03 [1].

Dezavantajul mediului cu compoziția menționată constă în imposibilitatea culturii de a se realiza pe deplin, biosinteza lipazelor nu atinge un nivel maxim.

- 10 Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în crearea unui mediu nutritiv nou ce ar permite sporirea biosintezei enzimelor lipolitice.

Problema pusă se soluționează prin aceea că mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii *Rhizopus arrhizus* F 67 CNMN FD 03 conține făină de soia, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , compusul coordinativ $\text{CuGly}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și apă potabilă cu pH-ul inițial de 7,0, în următorul raport cantitativ al elementelor, g:

- 15 făină de soia 35,0
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0
 KH_2PO_4 5,0
 $\text{CuGly}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,005 ... 0,020
 apă potabilă până la 1L.

- 20 Doza inoculului constituie $5 \cdot 10^6$ spori/0,1 L mediu.

Rezultatul invenției constă în sporirea biosintezei enzimelor lipolitice cu aproximativ 50%, păstrând durată scurtă a cultivării – 48 de ore.

Activitatea lipolitică a mediului nutritiv pentru cultivarea tulpinii *Rhizopus arrhizus* F 67 CNMN FD 03, obținut pe baza mediului din soluția cea mai apropiată optimizat cu biostimulatorul $\text{CuGly}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, determinată prin metoda titrimetrică Ota-lamada este prezentată în tabel (Журнал «Неорганическая химия», 1967, т. 12, вып. 2, с. 499-505).

25

Concentrația biostimulatorului, g/L	Numărul de probe	Activitatea lipolitică,	
		U/mL	% față de martor
Mediul martor	10	38750±67	100,0
0,005	10	50850±87	131,2
0,010	10	58068±145	149,9
0,020	10	54442±162	140,5

- 30 Rezultatele demonstrează că pe mediul optimizat cu $\text{CuGly}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ în concentrație de 0,005, 0,010, 0,020 g/L are loc sporirea activității lipolitice cu 131,2....149,9% față de martor, concentrația optimă fiind 0,010 g/L.

Utilizarea complexului coordinativ $\text{CuGly}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ nu modifică durata cultivării, activitatea lipolitică maximă fiind înregistrată tot după 48 de ore de cultivare.

- 35 Exemplu de realizare a invenției

Cultivarea se realizează în baloane Erlemayer cu volumul de 0,75 L se iau 0,10 L de mediu prealabil sterilizat la 115°C timp de 30 min. Durata cultivării - 48 ore în condiții de agitare continuă la temperatura de 30°C.

- 40 Pentru obținerea mediului nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii de micromicete *Rhizopus arrhizus* F 67 CNMN FD 03 au fost luate ingredientele, in g:

- 45 făină de soia 35,0
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0
 KH_2PO_4 5,0
 $\text{CuGly}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,010
 apă potabilă până la 1L,
 pH inițial al mediului 7,0.

Doza inoculului constituie $5 \cdot 10^6$ spori/0,1 L mediu nutritiv*.

- 50 Cultivarea se realizează în baloane Erlemayer cu volumul de 0,75 L în care se pun 0,10 L de mediu în prealabil sterilizat la 115°C timp de 30 min. Durata cultivării - 48 ore în condiții de agitare continuă la temperatura de 30°C.

Activitatea lipolitică în varianta optimizată cu 0,010 g/L de $\text{CuGly}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ constituie 58068 U/mL.

* 5 mL suspensie apoasă de spori cu densitatea 10^6 spori/ml/100 mL mediu nutritiv.

MD 2709 G2 2005.02.28

4

(57) Revendicare:

Mediu nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii de micromicete *Rhizopus arrhizus* F 67 CNM FD 03, care conține făină de soia, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 și apă potabilă, având pH-ul inițial 7,0, caracterizat prin aceea că suplimentar mediul conține compusul coordinativ $\text{CuGly}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$, ingredientele fiind luate în următorul raport cantitativ, în g/L:

5	făină de soia	35,0
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1,0
	KH_2PO_4	5,0
	$\text{CuGly}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$	0,005...0,020
10	apă potabilă	până la 1 L.

15

(56) Referințe bibliografice:

1. MD 2458 G2 2004.05.31

Șef Secție:

GUȘAN Ala

Examinator:

BAZARENCO Tatiana

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2004 0227		
(22) Data depozit: 2004.09.16		
(51) ⁷ : C 12 N 1/14, C 12 N 9/20, (C 12 N 1/14, C 12 R 1:845)		
Titlul : Mediu nutritiv pentru cultivarea submersă a micromicetei <i>Rhizopus arrhizus</i> F 67 - producător de lipaze (71) Solicitantul : INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD Termeni caracteristici : mediu nutritiv, <i>Rhizopus arrhizus</i> , cultivarea		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl. (7))		
(MD, EA, SU) 1993-2004; EA 1996-2004; SU – colecția certificatelor de autori BRTȘ Int. Cl. ⁷ C 12 N 1/14, C 12 N 9/20, (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
A	MD 2458 G2 2004.05.31	1
A	SU 1581742 A1 1990.07.30	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		2004.12.09
Examinatorul		Bazarenco Tatiana

RAPORT DE DOCUMENTARE

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