



MD 4048 C1 2010.06.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4048** ⁽¹³⁾ **C1**

(51) Int. Cl.: *C12N 1/16* (2006.01)
C12R 1/865 (2006.01)
C12P 19/04 (2006.01)
C12P 39/00 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2010 0019 (22) Data depozit: 2010.02.11	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2010.06.30, BOPI nr. 6/2010
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: CHISELIȚA Oleg, MD; USATÎI Agafia, MD; TARAN Nicolae, MD; RUDIC Valeriu, MD; CHISELIȚA Natalia, MD; ADAJUC Victoria, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

((54) Tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* - sursă de β -glucani

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la o tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae*, utilizată pentru obținerea β -glucanilor.

Se propune o tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae*, depozitată în Colecția Națională de

2

5 Microorganisme Nematogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-Y-20 în calitate de sursă de β -glucani.

Revendicări: 1

10

MD 4048 C1 2010.06.30

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la o tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae*, utilizată pentru obținerea β -glucanilor.

5 Este cunoscută o tulpină de drojdii din genul *Saccharomyces* ce conține 10 % de β -glucani în biomasa uscată [1].

Este cunoscută o tulpină de drojdii din genul *Saccharomyces cerevisiae* ce conține până la 13 % de β -glucani în biomasa uscată [2].

Însă aceste tulpini posedă capacitatea joasă de sinteză a hidraților de carbon.

10 Soluția cea mai apropiată este tulpina *Saccharomyces cerevisiae*, care sintetizează 127,4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de β -glucani în biomasa uscată [3].

Dezavantajul celei mai apropiate soluții constă în cantitatea mică de β -glucani sintetizați.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unei tulpini cu posibilități sporite de biosinteză a β -glucanilor.

15 Esența invenției constă în aceea că se propune o tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 în calitate de sursă de β -glucani.

Tulpina a fost obținută prin metoda selecției în mai multe etape pe mediul must de bere de 7% lichid și agarizat, având ca material primar sedimentele levurilor provenite de la fermentarea vinului roșu Cabernet – 5 (sedimente oferite de Institutul de Vinificație a Republicii Moldova).

20 Caracteristicile morfologice ale tulpinii: celule ovale sau rotunde, înmugurire polară, uneori formează pseudohife.

Caracteristicile culturale ale tulpinii: tipul respirației – aerob, formează asce persistente direct din celula diploidă, ascospori neeliberați, rotunzi sau ovali netezi. Pe mediu solid formează cloni alb - roz, suprafața lucioasă, netedă, plată, diametrul 4...6 mm.

25 Caracteristicile fiziologo-biochimice ale tulpinii: nu formează peliculă. Fermentația +: nitrat-; urează-; testul diazonium blue B (DBB). Asimilează glucidele: D-glucoză, zaharoză, fructoză, D-maltoză, D-galactoză, D-manoză, D-tregaloză, D-xiloză.

Temperatura optimă de dezvoltare a culturii de drojdie este de +20...25°C, pH-ul inițial 5,5.

Pentru obținerea unei cantități sporite de β -glucani, tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 se cultivă în următoarele medii de cultură:

30 1) YPG, care conține, g/L: peptonă 20,0; glucoză 20,0; extract de drojdie 10 mL; apă potabilă 1000 mL.

La cultivare în profunzime pe mediul dat timp de 120 ore, tulpina sintetizează până la 15,3% β -glucani în biomasa uscată, ceea ce este cu 20,5% mai mult față de cea mai apropiată soluție.

35 2) Rieder, care conține, g/L: glucoză 30,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,7; KH_2PO_4 1,0; NaCl 0,5; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,4; autolizat de drojdie 10 mL; apă potabilă până la 1000 mL.

La cultivare în profunzime pe mediul dat timp de 120 ore, tulpina sintetizează până la 22,5 % β -glucani în biomasa uscată, ceea ce este cu 77,2% mai mult față de cea mai apropiată soluție.

40 Tulpina *Saccharomyces cerevisiae* este izolată în cultură pură și depozitată în Colecția națională de microorganisme nepatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-Y-20.

Rezultatul invenției constă în obținerea până la 22,5 % de β -glucani în biomasa uscată.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

45 În baloane Erlenmeyer de 500 mL, în mediu de inoculare care cuprinde must de bere de 7%, în condiții aseptice, timp de 3 zile, pe agitator (200 rot/min), la temperatura de +20°C se prepară o suspensie de germeni, care se inoculează în 200 mL mediu de cultură steril YPG, care conține, g/L: peptonă 20,0; glucoză 20,0; extract de drojdie 10 mL; apă potabilă 1000 mL.

Durata cultivării în profunzime, pe agitator (200 rot/min), la temperatura de +20°C este de 120 ore.

50 Cultivarea în mediul și condițiile indicate asigură acumularea a 15,3% de β -glucani în biomasa uscată.

Exemplul 2

55 În baloane Erlenmeyer de 500 mL, în mediul de inoculare care cuprinde must de bere de 7%, în condiții aseptice timp de 3 zile, pe agitator (200 rot/min), la temperatura de +20°C se prepară o suspensie de germeni, care se inoculează în 200 mL mediu de cultură steril Rieder, ce conține, g/L: glucoză – 30,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,7; KH_2PO_4 1,0; NaCl 0,5; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,4; autolizat de drojdie 10 mL; apă potabilă până la 1000 mL.

Durata cultivării în profunzime, pe agitator (200 rot/min), la temperatura de +25°C este de 120 ore.

60 Cultivarea în mediul și condițiile indicate asigură acumularea a 22,5 % de β -glucani în biomasa uscată.

MD 4048 C1 2010.06.30

4

(57) Revendicări:

Tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 - sursă de β -glucani.

5

(56) Referințe bibliografice:

1. RU 2216595 C1 2003.11.20
2. Kwang Suk Kim, Hyun Shik Yun. Production of soluble β -glucan from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. Enzyme and Microbial Technology, 2006, 39, p. 496-500
3. Aguilar-Uscanga B. and Francois J.M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. Letters in Applied Microbiology, 2003, 37, p. 268-274

Șef Secție:

GROSU Petru

Examinator:

BAZARENCO Tatiana

Redactor:

UNGUREANU Mihail

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2010 0019	
(22) Data depozit: 2010.02.11	
(51) : Int. Cl.: C12N 1/16 (2006.01) C12R 1/865 (2006.01) C12P 19/04 (2006.01) C12P 39/00 (2006.01)	
(54) Titlul : Tulpină de drojdie <i>Saccharomyces cerevisiae</i> - sursă de β - glucani	
(71) Solicitantul : INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	
Termeni caracteristici : a) limba română: tulpină, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , β - glucani b) limba engleză: strain, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , β - glucan	
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.)	
Int. Cl.: C12N 1/16 (2006.01) C12R 1/865 (2006.01) C12P 19/04 (2006.01) C12P 39/00 (2006.01)	
II. Literatura tehnico-științifică consultată adăugător la minim de documentație (autori, titluri, editura, țara și data publicării)	
1. Kwang Suk Kim, Hyun Shik Yun. Production of soluble β -glucan from the cell wall of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Enzyme and Microbial Technology. 2006, 39, p. 496-500 2. Aguilar-Uscanga B. and Francois J.M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. Letters in Applied Microbiology. 2003, 37, p. 268-274	
III. Baze de date electronice consultate (denumirea BD și termen de documentare)	
1. MD 1993-2010 2. RU ФИПС 1994-2010 3. Esp@cenet 4. http://www2.viniti.ru/Биология , вып. микробиология общая; микробиология прикладная 1981-2010	

IV. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	RU 2216595 C1 2003.11.20	1
A	Kwang Suk Kim, Hyun Shik Yun. Production of soluble β -glucan from the cell wall of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Enzyme and Microbial Technology, 2006, 39, p. 496-500	1
A	Aguilar-Uscanga B. and Francois J.M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. Letters in Applied Microbiology, 2003, 37, p. 268-274	1
☐ Documentele următoare sunt indicate în rubrica IV		☐ Informația referitoare la brevete paralele se anexează
* categoriile speciale ale documentelor consultate:		P - document publicat înainte de data depozit, dar după data priorității invocate
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 evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
E - document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta data		X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat de unul singur
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate sau 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 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 divulgare		& - document care face parte din aceeași familie de documente
Data finalizării documentării		2010.04.15
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