



MD 4227 B1 2013.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4227** <sup>(13)</sup> **B1**  
(51) Int.Cl: *C12N 1/16* (2006.01)  
*C12R 1/865* (2006.01)  
*C12P 19/04* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

<b>Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării</b>	
(21) Nr. depozit: a 2012 0096 (22) Data depozit: 2012.10.31	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2013.05.31, BOPI nr. 5/2013
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	
(72) Inventatori: MOLODOI Elena, MD; USATII Agafia, MD; FULGA Ludmila, MD; EFREMOVA Nadejda, MD; CHISELIȚA Natalia, MD; BORISOVA Tamara, MD	
(73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) **Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18**

(57) Rezumat:

1  
 Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 și poate fi utilizată pentru sporirea cantității de biomasă celulară și de manani pentru aplicare în vinificație, industria alimentară, farmaceutică.

2  
 Mediul nutritiv, conform invenției, conține, în g/L: extract de drojdie 10,0; peptonă 20,0; glucoză 43,0...46,0; hidrogenofosfat de amoniu 2,32...2,41 și apă potabilă până la 1L; pH-ul fiind de 5,5.

5  
 10  
 Revendicări: 1

MD 4227 B1 2013.05.31

**(54) Nutrient medium for the cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 yeast strain**

**(57) Abstract:**

1  
The invention relates to biotechnology, in particular to a nutrient medium for the cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 yeast strain and can be used to increase the quantity of cell biomass and mannans for use in the wine, food and pharmaceutical industries.

2  
The nutrient medium, according to the invention, comprises, in g/L: yeast extract 10.0; peptone 20.0; glucose 43.0...46.0; ammonium hydrophosphate 2.32...2.41 and drinking water up to 1 L; having the pH 5.5.

Claims: 1

**(54) Питательная среда для культивирования штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18**

**(57) Реферат:**

1  
Изобретение относится к биотехнологии, в частности к питательной среде для культивирования штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 и может быть использовано для увеличения количества клеточной биомассы и маннанов для применения в виноделии, пищевой промышленности, фармацевтики.

2  
Питательная среда, согласно изобретению, содержит, в г/л: экстракт дрожжей 10,0; пептон 20,0; глюкоза 43,0...46,0; гидрофосфат аммония 2,32...2,41 и питьевая вода до 1л; имея pH 5,5.

П. формулы: 1

**Descriere:**

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdii din genul *Saccharomyces* și poate fi utilizată pentru sporirea conținutului de manani în biomasa celulară cu aplicare în vinificație, industria alimentară, farmaceutică.

5 Sunt cunoscute diferite medii nutritive de cultivare a tulpinilor de drojdii din genul *Saccharomyces*, cu compoziția, g/L: peptonă – 20,0; extract de drojdie – 20,0; glucoză – 30,0; apă potabilă până la 1L [1] sau extract de drojdie – 5,0; glucoză – 50,0; apă potabilă până la 1L [2]. Neajunsul acestor medii nutritive constă în conținutul mic de manani  
10 acumulați în celulă.

Cea mai apropiată soluție a mediului nutritiv revendicat pentru cultivarea drojdiei *Saccharomyces cerevisiae* este mediul YPD, care conține, g/L: extract de drojdii – 10,0; peptonă – 20,0; glucoză -20,0; apă potabilă până la 1 L; pH – 5,5 [3].

15 La cultivarea tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 în condiții proximale biomasa celulară constituie  $5,56 \pm 0,01$  g/L, iar conținutul de manani  $0,564 \pm 0,02$  g/L.

Dezavantajul acestui mediu constă în faptul că nu se realizează pe deplin potențialul tulpinii de drojdie, astfel se obțin cantități mici de masă celulară și manani.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu de cultură care să asigure sporirea conținutului de biomasă celulară și manani.

20 Esența invenției constă în aceea că se propune mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdii *Saccharomyces cerevisiae* care conține, g/L: extract de drojdie – 10, peptonă – 20, glucoză – 43,0...46,0; hidrogenofosfat de amoniu – 2,32...2,41; apă potabilă până la 1 L, pH – 5,5.

25 Efectul biostimulator este determinat de sporirea conținutului de glucoză și suplimentarea mediului nutritiv cu hidrogenofosfat de amoniu, care participă ca precursor, dar și ca oligoelement, contribuind astfel la intensificarea multiplicării drojdiei și a biosintezei mananilor.

30 Rezultatul tehnic al invenției constă în sporirea cantității de biomasă cu 56,5...60,4% și a manoproteinelor cu 68...86% față de cea mai apropiată soluție, datorită includerii în mediul nutritiv a cantităților optimizate de glucoză și de hidrogenofosfat de amoniu, care participă în metabolismul drojdiilor ca substrat pentru multiplicarea și biosinteza mananilor.

*Exemple de realizare a invenției**Exemplul 1*

35 În baloane Erlenmayer cu mediu must de bere 7% substanță uscată, în condiții aseptice, se prepară suspensia de germeni, timp de 48 ore, la 20...25°C, pe agitator 200 rpm.

40 Suspensia de germeni, în volum de 5%, se inoculează în 200 ml de mediu de cultură steril cu următoarea componență, g/L: extract de drojdie – 10,0; peptonă – 20,0; glucoză – 43,0; hidrogenofosfat de amoniu – 2,41; apă potabilă până la 1 L; pH – 5,5.

Durata de cultivare în profunzime e de 120 ore, la temperatura de 20...25°C.

45 În varianta de control productivitatea tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 este de  $5,56 \pm 0,01$  g/L biomasă uscată și conținutul de manani  $0,564 \pm 0,02$  g/L, iar în varianta optimizată  $8,92 \pm 0,21$  g/L biomasă uscată și, respectiv,  $0,947 \pm 0,05$  g/L manani.

*Exemplul 2*

50 În baloane Erlenmayer cu mediu must de bere 7% substanță uscată, în condiții aseptice, se prepară suspensia de germeni, timp de 48 ore, la 20... 25<sup>0</sup> C, pe agitator 200 rpm.

Suspensia de germeni, în volum de 5%, se inoculează în 200 ml mediu de cultură steril cu următoarea componență, g/L: extract de drojdie – 10,0; peptonă – 20,0; glucoză – 46,0; hidrogenofosfat de amoniu – 2,32; apă potabilă până la 1 L; pH – 5,5.

Durata de cultivare în profunzime 120 ore, la temperatura de 20... 25°C.

55 În varianta de control productivitatea tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 este de  $5,56 \pm 0,01$  g/L biomasă uscată și conținutul de manani de  $0,564 \pm 0,02$  g/L, iar în varianta optimizată  $8,70 \pm 0,98$  g/L biomasă uscată și, respectiv,  $1,050 \pm 0,13$  g/L manani.

**(56) Referințe bibliografice citate în descriere:**

1. Aguilar-Uscanga Blanca, Arrizon Javier, Ramirez Jesus and Solis-Pacheco Josue. Effect of Agave tequilana juice on cell wall polysaccharides of three *Saccharomyces cerevisiae* strains from different origins. *Antonie van Leeuwenhoek. International Journal of General and Molecular Microbiology*, 2007, vol. 91, nr. 2, p. 151-157
2. Nguen T.H., Fleet G.H., Rogers P.L. Compositions of the cell walls of several yeast species. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1998, vol. 50, p. 206-212
3. Gonzalez-Ramos D., Munoz A., Ortiz-Julien A., Palacios A., Heras J.M. and Gonzalez R. A *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strain overproducing mannoproteins selected through classical genetic methods. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 2010, vol. 44, nr. 4, p. 243-249

**(57) Revendicări:**

Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, care conține extract de drojdie, peptonă, glucoză, hidrogenofosfat de amoniu și apă potabilă, având pH-ul 5,5, componentele fiind luate în următorul raport, g/L:

extract de drojdie	10,0
peptonă	20,0
glucoză	43,0...46,0
hidrogenofosfat de amoniu	2,32...2,41
apă potabilă	până la 1L.

<b>Șef Secție:</b>	IUSTIN Viorel
<b>Examinator:</b>	LUPAȘCU Lucian
<b>Redactor:</b>	LOZOVANU Maria

**RAPORT DE DOCUMENTARE**

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2012 0096

(22) Data depozit: 2012.10.31

(71) Solicitant: **INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD**

(54) **Titlul: Mediu nutritiv pentru cultivarea *Saccharomyces cerevisiae* - sursă de manani**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** *C12N 1/16* (2006.01)

*C12R 1/865* (2006.01)

*C12P 19/04* (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): “*Saccharomyces* mediu nutritiv”, “hidrogenofosfat de amoniu drojdii multiplicare”, “hidrogenofosfat de amoniu stimulare manani drojdii ”

**Int.Cl:** *C12N 1/16, C12R 1/865, C12P 19/04*

**"Worldwide" (Espacenet):** “*Saccharomyces* nutrient medium”, “diammonium hydrogen phosphate yeast multiplication”, “ diammonium hydrogen phosphate mannane yeasts synthesis ”

**Int.Cl:** *C12N 1/16, C12R 1/865, C12P 19/04*

**EA, CIS (Eapatis):** “*Saccharomyces* питательная среда”, ” водородфосфат диаммония дрожжи размножение”, ” водородфосфат диаммония синтез маннанов у дрожжей”, ” *Saccharomyces cerevisiae* культивирование”

**Int.Cl:** *C12N 1/16, C12R 1/865, C12P 19/04*

**SU (nonpublic):** “*Saccharomyces* питательная среда”, ” водородфосфат диаммония дрожжи размножение”, ” водородфосфат диаммония синтез маннанов у дрожжей”, ” *Saccharomyces cerevisiae* культивирование”

**Int.Cl:** *C12N 1/16, C12R 1/865, C12P 19/04*

**RO-Patent:** “*Saccharomyces* mediu nutritiv”, “hidrogenofosfat de amoniu drojdii multiplicare”, “hidrogenofosfat de amoniu stimulare manani drojdii ”

**Int.Cl:** *C12N 1/16, C12R 1/865, C12P 19/04*

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

<http://vinograd.info/knigi/teoriya-i-praktika-vinodeliya/usloviya-razvitiya-i-aktivnosti-drozhzhey-10.html>

<http://bibliofond.ru/view.aspx?id=524335>

<http://www.dncran.ru/vestnik1.pdf>

<http://www.dncran.ru/vestnik.pdf>

Ш.А. Абрамов, С.Ц. Котенко, Д.А. Эфендиева, Э.А. Халилова, Э.А. Исламмагомедова, С.М. Даунова. Новая питательная среда для выращивания дрожжей. Прикладная биохимия и микробиология, 1995, т. 31, № 2, с. 232–233

Абрамов Ш.А., Котенко С.Ц., Рамазанов А.Ш, Исламова Ф.И. Содержание витаминов в дрожжах рода *Saccharomyces* в зависимости от состава питательной среды. Прикладная биохимия и микробиология, 2003, т. 39, №4, с. 438–440.

Исламова Ф.И. Морфологические и биотехнологические особенности дрожжей рода *Saccharomyces* в зависимости от состава питательной среды : Автореф. дис. канд. биол. наук. Махачкала, 2002.

#### V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 4044 C1 2010.05.31	1
A	MD 4086 C1 2010.12.31	1
A	MD 1328 G2 1999.09.30	1
A	US 2012225462 A1 2012.09.06	1
A	CN 102311927 A 2012.01.11	1
A	RU 2215781 C2 2003.11.10	1
A	RU 2000111086 A 2002.07.27	1
A,	GB 155287 A 1922.03.09	1
A, D	Aguilar-Uscanga Blanca, Arrizon Javier, Ramirez Jesus and Solis-Pacheco Josue. Effect of Agave tequilana juice on cell wall polysaccharides of three <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strains from different origins. Antonie van Leeuwenhoek. International Journal of General and Molecular Microbiology, 2007, vol. 91, nr. 2, p. 151-157	1
A, D	Nguyen T.H., Fleet G.H., Rogers P.L. Compositions of the cell walls of several yeast species. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1998, vol. 50, p. 206-212	1
A, D., C	Gonzalez-Ramos D., Munoz A., Ortiz-Julien A., Palacios A., Heras J.M. and Gonzalez R. A <i>Saccharomyces cerevisiae</i> wine yeast strain overproducing mannoproteins selected through classical genetic methods. J. Int. Sci. Vigne Vin, 2010, 44, n. 4, p. 243-249	1

#### \* categoriile speciale ale documentelor citate:

<b>A</b> – document care definește stadiul anterior general	<b>T</b> – 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
<b>X</b> – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	<b>E</b> – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
<b>Y</b> – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când	<b>D</b> – document menționat în descrierea cererii de brevet

documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	
<b>O</b> - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	<b>C</b> – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	<b>&amp;</b> – document, care face parte din aceeași familie de brevete
<b>P</b> - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	<b>L</b> – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării	2013.03.21
Examinator	LUPAȘCU Lucian