



MD 3297 G2 2007.04.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 3297 (13) G2
(51) Int. Cl.: C12N 1/12 (2006.01)
C12N 1/38 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

<p>(21) Nr. depozit: a 2006 0137 (22) Data depozit: 2006.05.13</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2007.04.30, BOPI nr. 4/2007</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: RUDIC Valeriu, MD; COJOCARI Angela, MD; UNGUREANU Laurenția, MD; CEPOI Liliana, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD</p>	

(54) Procedeu de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* (Roth) Born et Flah CNM-CB-03

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la biotehnologie, în special la un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* (Roth) Born et Flah CNM-CB-03.
5
Procedeul de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* (Roth) Born et Flah CNM-CB-03 include inocularea cianobacteriei în cantitate de 0,2 g/L pe un mediu nutritiv cu următoarea componență, g/L:
10
K₂HPO₄ 0,2, MgSO₄·7H₂O 0,2, CaCl₂ 0,15, NaHCO₃ 0,2, microelemente, mg/L: ZnSO₄·7H₂O 0,22, MnSO₄ 1,81, CuSO₄·5H₂O 0,079, NaBO₃·4H₂O 2,63, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 1,0, FeSO₄·7H₂O 9,3, CaCl₂ 1,2, CoNO₃·2H₂O 0,02 și
15

2
EDTA 10,0 cu introducerea la a 5-a zi de cultivare a 1 mg/L de hidroxipicolinat de Fe(III) și cultivarea cianobacteriei la iluminarea de 3000 lx în primele 5 zile și de 2000 lx în următoarele 9 zile. Totodată la a 3-a zi de cultivare în mediul nutritiv se adaugă 0,4...0,6 g/L KNO₃.
Rezultatul invenției constă în sporirea productivității cianobacteriei cu un conținut înalt de ficobiline.
Revendicări: 1

MD 3297 G2 2007.04.30

MD 3297 G2 2007.04.30

3

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, în special la un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* (Roth) Born et Flah CNM-CB-03.

5 Ficobilinele sunt pigmenți hidrosolubili ai cianobacteriilor și algelor roșii, care pot fi utilizați în industria farmaceutică, pentru obținerea preparatelor fluorescente în imunodiagnostică și în calitate de coloranți naturali în industria alimentară, cosmetică și parfumerie.

10 Este cunoscut procedeu de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* pentru obținerea unei biomase bogate în ficobiline, care include cultivarea cianobacteriei pe mediul Gromov nr. 6 cu adaos de tribromacetat de mangan în concentrație de 10 mg/L, la temperatura de 28°C, iluminarea constantă de 3000 lx, cu agitare periodică. Procedeu de cultivare permite obținerea unei cantități de 0,14 g/L ficobiline [1].

Dezavantajul procedurii date este randamentul scăzut al ficobilinelor la un litru de mediu de cultură (0,14 g/L).

15 Soluția cea mai apropiată este procedeu de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* pentru obținerea unei biomase bogate în ficobiline, care include cultivarea cianobacteriei pe un mediu cu următoarea componență g/L: K_2HPO_4 0,2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,2, $CaCl_2$ 0,15, $NaHCO_3$ 0,2, microelemente, mg/L: $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,22, $MnSO_4$ 1,81, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0,079, $NaBO_3 \cdot 4H_2O$ 2,63, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ 1,0, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 9,3, $CaCl_2$ 1,2, $Co(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$ 0,02, EDTA 10,0, la care la ziua a 5-a de cultivare se adaugă 1 mg/L hidroxipicolinat de Fe(III). Primele 5 zile intensitatea luminii se menține la nivel de 3000 lx, apoi se reduce până la 2000 lx și se menține așa până în a 14-a zi de cultivare când se colectează biomasa [2]. Procedeu de cultivare permite obținerea unei cantități de 0,24 g/L ficobiline.

20 Dezavantajul procedurii date constă în aceea că în cazul utilizării mediului Gromov nr. 6 fără azot, productivitatea nostocului, iar în consecință și randamentul ficobilinelor la un litru de mediu, este scăzut (0,24 g/L).

25 Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în elaborarea unui procedeu de sinteză a ficobilinelor de către *Nostoc linckia*, în care productivitatea înaltă a culturii este asociată cu un conținut sporit de ficobiline.

30 Procedeu de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* (Roth) Born et Flah CNM-CB-03 soluționează problema pusă prin aceea că include inocularea cianobacteriei în cantitate de 0,2 g/L pe un mediu nutritiv cu următoarea componență, g/L: K_2HPO_4 0,2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,2, $CaCl_2$ 0,15, $NaHCO_3$ 0,2, microelemente, mg/L: $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,22, $MnSO_4$ 1,81, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0,079, $NaBO_3 \cdot 4H_2O$ 2,63, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ 1,0, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 9,3, $CaCl_2$ 1,2, $Co(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$ 0,02 și EDTA 10,0 cu introducerea la a 5-a zi de cultivare a 1 mg/L de hidroxipicolinat de Fe(III) și cultivarea cianobacteriei la iluminarea de 3000 lx în primele 5 zile și de 2000 lx în următoarele 9 zile. Totodată la a 3-a zi de cultivare în mediul nutritiv se adaugă 0,4...0,6 g/L KNO_3 .

35 Rezultatul invenției constă în:

- sporirea productivității cianobacteriei *Nostoc linckia* (2,3 g/L față de 1,86 g/L în cazul celei mai apropiate soluții);

40 - sporirea randamentului de ficobiline (0,33 g/L față de 0,24 g/L în cazul celei mai apropiate soluții).

Rezultatul obținut se explică prin două mecanisme: în caz când în mediu lipsește azotul, cianobacteria *Nostoc linckia* include mecanismele de fixare a azotului atmosferic, iar ionii de fier sunt utilizați, în primul rând, pentru sinteza nitrogenazei și nu sunt accesibili pentru sinteza ficobilinelor; prezența azotului facilitează sinteza proteinelor, inclusiv și a apoproteinei din componența ficobilinelor.

45 *Exemplu de realizare a invenției*

50 Cianobacteria *Nostoc linckia* este inoculată în cantitate de 0,2 g/L pe un mediu cu următoarea componență, g/L: K_2HPO_4 0,2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,2, $CaCl_2$ 0,15, $NaHCO_3$ 0,2, microelemente, mg/L: $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,22, $MnSO_4$ 1,81, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0,079, $NaBO_3 \cdot 4H_2O$ 2,63, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ 1,0, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 9,3, $CaCl_2$ 1,2, $Co(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$ 0,02, EDTA 10,0. Primele 5 zile intensitatea luminii se menține la nivel de 3000 lx. La ziua a 3-a de cultivare la mediul nutritiv se adaugă KNO_3 în cantitate de 0,5 g/L. La ziua a 5-a de cultivare la mediul nutritiv se adaugă 1 mg/L hidroxipicolinat de Fe(III). La a 6-a zi de cultivare intensitatea luminii se reduce până la 2000 lx și se menține la acest nivel până la a 14-a zi de cultivare, când se colectează biomasa prin centrifugare. Cantitatea de biomasă a constituit 2,3 g/L, iar conținutul total de ficobiline a constituit 14,2% la BAU. Ca rezultat randamentul ficobilinelor este de 0,33 g/L.

MD 3297 G2 2007.04.30

4

(57) Revendicare:

Procedeu de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* (Roth) Born et Flah CNM-CB-03 ce include inocularea cianobacteriei în cantitate de 0,2 g/L pe un mediu nutritiv cu următoarea componență, g/L: K₂HPO₄ 0,2, MgSO₄·7H₂O 0,2, CaCl₂ 0,15, NaHCO₃ 0,2, microelemente, mg/L: ZnSO₄·7H₂O 0,22, MnSO₄ 1,81, CuSO₄·5H₂O 0,079, NaBO₃·4H₂O 2,63, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 1,0, FeSO₄·7H₂O 9,3, CaCl₂ 1,2, CoNO₃·2H₂O 0,02 și EDTA 10,0 cu introducerea la a 5-a zi de cultivare a 1 mg/L de hidroxipicolinat de Fe(III) și cultivarea cianobacteriei la iluminarea de 3000 lx în primele 5 zile și de 2000 lx în următoarele 9 zile, **caracterizat prin aceea că** la a 3-a zi de cultivare în mediul nutritiv se adaugă 0,4...0,6 g/L KNO₃.

10

(56) Referințe bibliografice:

1. Cojocaru A. Perspective de utilizare a compușilor coordinați ai manganului în biotehnologie. Cercetări în domeniul chimiei. Realizări și perspective. V. II, Chișinău, Știința, p. 214...217
2. Rudic V., Cojocari A., Cepoi L., Codreanu S., Miscu V., Rudi L. Elaborarea tehnologiilor noi de obținere a biomasei de *Nostoc* cu conținut sporit de ficobiliproteine. Analele științifice ale USM. Seria Științe Chimico-Biologice, Chișinău, 2003, p. 190...193

Șef Secție:

GROSU Petru

Examinator:

BANTAȘ Valentina

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2006 0137	(85) Data fazei naționale PCT:	
(22) Data depozit: 2006.05.13	(86) Cerere internațională PCT:	
Prioritatea invocată : (31) nr.: 32) data : 33) țara : (51) : Int.Cl: C12N 1/12 (2006.01) C12N 1/38 (2006.01) Alți indici de clasificare: Titlul : Procedeu de cultivare a cianobacteriei Nostoc Linckia (Roth) Born et Flah CNM-CB-03 (71) Solicitantul : INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD Termeni caracteristici: cultivare a cianobacteriei Nostoc linckia		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl. (7))		
MD 1994-2005, EA 1996-2005, SU fond BRTȘ, inclusiv și colecția „nerepublică”		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 286 G2 1995.09.30	1
A	Cojocar A. Perspective de utilizarea compușilor coordinați ai manganului în biotehnologie. Cercetări în domeniul chimiei. Realizări și perspective. Vol. II, Chișinău, Știința, p. 214...217	1
A	Rudic V., Cojocar A., Cepoi L., Codreanu S., Mîscu V., Rudi L. Elaborarea tehnologiilor noi de obținere a biomasei de <i>Nostoc</i> cu conținut sporit de ficobiliproteine. Analele științifice al USM. Seria Științe chimico-biologice, Chișinău, 2003, p. 190...193	1
<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 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 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 finalizării documentării 2006.12.11		
Examinatorul Bantaș Valentina,		