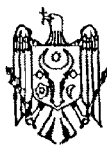




MD 4122 C1 2012.02.29

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4122** (13) **C1**
(51) Int.Cl: *C12N 1/12* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2011 0016 (22) Data depozit: 2011.02.24	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2011.07.31, BOPI nr. 7/2011
(71) Solicitant: RUDIC Valeriu, MD (72) Inventator: RUDIC Valeriu, MD (73) Titular: RUDIC Valeriu, MD	

(54) **Tulpină de algă *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl în calitate de sursă de substanțe biologice active**

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la biotehnologie și poate fi utilizată pentru obținerea substanțelor biologice active.

Tulpina de algă *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene a Republicii Moldova a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul

2
5 CNMN-CB-11 și poate fi utilizată în calitate de sursă de acizi glutamic și γ - linolenic, polizaharide sulfatate, fosfatidilinozitol și fosfatidilcolină.

10 Rezultatul constă în sporirea productivității algei și a cantității de acizi glutamic și γ - linolenic, polizaharide sulfatate, fosfatidilinozitol și fosfatidilcolină.

15
Revendicări: 1

MD 4122 C1 2012.02.29

(54) Strain of *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl alga as a source of biologically active substances

(57) Abstract:

1
The invention relates to biotechnology and
can be used for production of biologically
active substances.

Strain of *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl
alga is deposited with the National Collection
of Nonpathogenic Microorganisms of the
Republic of Moldova of the Institute of
Microbiology and Biotechnology of the ASM
under the number CNMN-CB-11 and can be
used as a source of glutamic and γ - linoleic

2
acids, sulphated polysaccharides,
5 phosphatidylinositol and phosphatidylcholine.

The result is to increase the productivity of
alga and the quantity of glutamic and γ -
10 linoleic acids, sulphated polysaccharides,
phosphatidylinositol and phosphatidylcholine.

15
Claims: 1

(54) Штамм водоросли *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl в качестве источника биологически активных веществ

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к биотехнологии
и может быть использовано для получения
биологически активных веществ.

Штамм водоросли *Spirulina platensis*
(Nordst) Geitl депонирован в Национальной
10 Коллекции Непатогенных Микро-
организмов Республики Молдова
Института Микробиологии и Био-
технологии АНМ, под номером CNMN-CB-
11 и может быть использован в качестве
источника глутаминовой и γ - линоленовой
15 кислоты, сульфатированных полисаха-

2
ридов, фосфатидилинозитола и фосфати-
дилхолина.

Результат состоит в повышении про-
дуктивности водоросли и увеличении коли-
чества глутаминовой и γ - линоленовой
10 кислоты, сульфатированных полисаха-
ридов, фосфатидилинозитола и фосфати-
дилхолина.

15
П. формулы: 1

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie și poate fi utilizată pentru obținerea substanțelor biologice active.

5 Biomasa de spirulină oferă un spectru deplin al aminoacizilor, prezenți atât în stare liberă, cât și legată. Un interes practic major îl prezintă aminoacizii imunoactivi, care joacă un rol esențial în procesele de protecție a organismului. Pe lângă cele menționate, acidul glutamic mai posedă și funcția de neuroprotecție. Polizaharidele sulfatate prezente în biomasa de spirulină manifestă activitate antitumorală, antivirală și imunostimulatoare. Frația fosfolipidelor esențiale include și fosfatidilinozitolul, care este recunoscut în calitate de normolipemiant și cardioprotector. Un alt component bioactiv din spirulină este acidul gras polinesaturat γ -linolenic, care se caracterizează prin acțiune antiaterogenă pronunțată.

10 Este cunoscută tulpina *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl, CALU-835. Biomasa absolut uscată a acestei tulpini conține 65...70% proteine, 10...15% hidrați de carbon, 3...5% lipide, 0,42...0,44% β -carotină, 80...100 mg/% acid ascorbic, 30...35 mg/% tocoferol, vitamine din grupa B, 0,36% acid glutamic, fitohormoni și alte substanțe biologice active [1].

15 Mai este cunoscută tulpina *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl, CNM-CB-01, cu biomasa absolut uscată, care conține: 1,3...3,3% aminoacizi liberi, 5,5...6,5% oligopeptide, 62...70% proteine, 9...11% ficobiliproteide, 10...15% polizaharide, 3...5% lipide, 0,42...0,44% β -carotină, 30...35 mg/% tocoferol, 80...100 mg/% acid ascorbic, vitaminele grupei B, 20 1,0...1,2% acid γ -linolenic; 6,0...6,3% acid glutamic, fitohormoni și alte substanțe bioactive [2].

Dezavantajele tulpinilor menționate mai sus constau în conținutul redus al compușilor bioactivi de interes major, așa ca acidul glutamic, acidul γ -linolenic, fosfatidilinozitolul și polizaharidele sulfatate. Valorile acestor indici sunt date în tabel.

25

Tabel

Conținutul unor substanțe bioactive în biomasa a două tulpini de spirulină, % biomasă absolut uscată

30

Tulpina		Acidul glutamic	Acidul γ -linolenic	Fosfatidilinozitolul	Fosfatidilcolină	Polizaharide sulfatate
<i>Spirulina platensis</i> (Nordst) Geitl, CALU-835	Date din literatură	0,36	-	-	-	-
	Indici estimați	0,34...0,42	0,54...0,60	0,45...0,48	0,94...1,05	1,12...1,36
<i>Spirulina platensis</i> (Nordst) Geitl CNM-CB-01	Date din literatură	6,00...6,30	1,00...1,20	-	-	-
	Indici estimați	4,70...6,40	1,15...1,22	0,60...0,73	1,35...1,62	2,33...3,45

35 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unei tulpini noi de *Spirulina platensis*, biomasa căreia s-ar caracteriza printr-un conținut înalt de substanțe biologice active, în special de acid glutamic, acid γ -linolenic, fosfatidilinozitol, fosfatidilcolină și polizaharide sulfatate.

40 Esența invenției constă în faptul că se propune o tulpină de algă *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl care este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neptogene a Republicii Moldova a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-CB-11 și poate fi utilizată în calitate de sursă de acizi glutamic și γ -linolenic, polizaharide sulfatate, fosfatidilinozitol și fosfatidilcolină.

Rezultatul constă în sporirea productivității algei și a cantității de acizi glutamic și γ -linolenic, polizaharide sulfatate, fosfatidilinozitol și fosfatidilcolină.

45 Rezultatul tehnic al invenției, în comparație cu cea mai apropiată soluție, constă în sporirea conținutului a cinci componente bioactive de bază în biomasa absolut uscată a cianobacteriei: acid glutamic 8,10...9,64% (față de 4,70...6,40% la cea mai apropiată

soluție); acid γ -linolenic 1,36...1,45% (față de 1,15...1,22% la cea mai apropiată soluție); polizaharide sulfatate 4,03...5,01% (față de 2,33...3,45% la cea mai apropiată soluție); fosfatidilinozitol 0,70...0,85% (față de 0,60...0,73% la cea mai apropiată soluție) și fosfatidilcolină 1,86...2,00% (față de 1,35...1,62% la cea mai apropiată soluție).

5 Rezultatul tehnic obținut se datorează particularităților fiziologice și biochimice ale tulpinii, în special proceselor biosintetice, care decurg în acest organism. Ca rezultat al adaptării tulpinii la o temperatură mai joasă de cultivare are loc modificarea ciclurilor biosintetice cu deplasarea lor spre produsele nominalizate.

10 Tulpina propusă a fost colectată dintr-un bazin acvatic artificial din apropierea satului Căpřiana.

În cultura algologic pură tulpina se multiplică intens pe mediul mineral lichid cu următoarea componență a macroelementelor, g/L: NaNO₃ - 2,25; NaHCO₃ - 8,0; NaCl - 1,01; K₂SO₄ - 0,3; NaHPO₄ - 0,20; MgSO₃·7H₂O - 0,20; CaCl₂ - 0,024; soluția de microelemente 1 mL/L, ce conține în mg/L: H₃BO₃ - 2,86; MnCl₂·4H₂O - 1,81; ZnSO₄·7H₂O - 0,22; CuSO₄·5H₂O - 0,08; MoO₃ - 0,015; Fe-EDTA - 1,0 mL/L.

15 În condiții optime de cultivare tulpina respectivă are o productivitate de 1,5...1,6 g/L cu conținut de acid glutamic 8,10...9,64%; acid γ -linolenic 1,36...1,45%; polizaharide sulfatate 4,03...5,01%, fosfatidilinozitol 0,70...0,85%, și fosfatidilcolină 1,86...2,00%.

Caracterele morfo - culturale ale tulpinii

20 Tulpina prezintă forme filamentoase homocite de culoare verde închisă. Trihomele sunt alcătuite din celule cilindrice (lungimea 8...10 μ m, lățimea 6...8 μ m) absolut identice, cu excepția celulelor terminale, care se îngustează spre capătul trihomului și sunt ușor rotunjite. Creșterea lor are loc ca rezultat al diviziunii transversale a celulelor. Celulele conțin granule, situate în apropierea pereților celulari.

25 Trihomele sunt separate, nu se ramifică și nu se răsucesc în formă de spirală. Diametrul trihomei este de 6...8 μ m, iar lungimea de 0,14...1,30 mm. Ele nu formează teci mucozitare.

În mediu lichid formează suspensie practic uniformă cu tendință neînsemnată de acumulare la hotarul lichid-aer.

Caracterele fiziologice - biochimice

30 Tulpina microalgei verzi *Spirulina platensis* (Nordst) GEITL CNMN-CB-11 crește bine pe mediul SP1, componența căruia a fost menționată mai sus.

Temperatura optimă este de 26 \pm 2°C, pH 8...9. Intensitatea optimă a luminii este de 1500...2000 lx.

Tulpina se adaptează ușor la variații neînsemnate ale condițiilor de cultivare.

35 În condiții optime de cultivare tulpina respectivă are o productivitate de 1,5...1,6 g/L cu conținut de acid glutamic 8,10...9,64%; acid γ -linolenic 1,36...1,45%; polizaharide sulfatate 4,03...5,01%, fosfatidilinozitol 0,70...0,85% și fosfatidilcolină 1,86...2,00%.

Gradul de puritate a tulpinii

40 Tulpina a fost obținută prin metoda "pasaje repetate" în cultura algologic pură și acumulată în mediul lichid și agarizat SP1. La cultivarea în masă poate fi infectată cu alge și cianobacterii. Contaminarea poate fi evitată prin respectarea condițiilor de alcalinitate a mediului de cultură.

Exemplu de realizare a invenției

45 În vasele de cultură cu un volum de 1 L cu mediu mineral lichid al macro- și microelementelor: macroelemente cu următoarea componență, g/L: NaNO₃ - 2,25; NaHCO₃ - 8,0; NaCl - 1,01; K₂SO₄ - 0,3; NaHPO₄ - 0,20; MgSO₃·7H₂O - 0,20; CaCl₂ - 0,024; microelemente - 1 mL/L, cu următoarea componență, mg/L: H₃BO₃ - 2,86; MnCl₂·4H₂O - 1,81; ZnSO₄·7H₂O - 0,22; CuSO₄·5H₂O - 0,08; MoO₃ - 0,015; Fe-EDTA - 1,0 mL/L, pregătit pe apă distilată, se introduce inoculum de 0,40...0,45 g/L în recalcul la biomasa absolut uscată. Cultivarea se realizează la intensitatea luminii de 1500...2000 lx timp de 6 zile, la temperatura de 26 \pm 1°C, în ziua a 6-ea productivitatea ajunge până la 1,6 g/L biomasa absolut uscată, cu conținut de acid glutamic 9,3%; acid γ -linolenic 1,39%; polizaharide sulfatate 4,76%, fosfatidilinozitol 0,79% și fosfatidilcolină 1,94%.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD 169 C2 1995.03.31
2. Rudic V., Rudi L., Cepoi L. Aspecte biotehnologice de reglare a biosintezei acizilor grași polienici la *Spirulina platensis* CNM-CB-01. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Seria Științele vieții. Chișinău, 2007, nr.1 (301), p. 135-142

(57) Revendicări:

Tulpină de algă *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-11 în calitate de sursă de substanțe biologic active.

Șef Secție: IUSTIN Viorel

Examinator: DUMANSCAIA Oliga

Redactor: CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii	
(21) Nr. depozit: a 2011 0016	(32) Data de prioritate recunoscută:
(22) Data depozit: 2011.02.24	Raport de documentare internațională: <input type="checkbox"/> da
(54) Titlul: Tulpină de algă <i>Spirulina platensis</i> (Nordst) Geitl in calitate de sursă de substanțe biologice active	
(71) Solicitant: RUDIC Valeriu, MD	
(51) (Int.Cl): Int. Cl.: C12N 1/12 (2006.01)	
II. Condiții de unitate a invenției:	<input checked="" type="checkbox"/> satisface <input type="checkbox"/> nu satisface
Note:	
III.Revendicări: claritatea, susținerea de descriere	<input checked="" type="checkbox"/> satisface <input type="checkbox"/> nu satisface
Note:	
IV. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare)	
MD (Documentare Invenții (inclusiv cereri nepublicate)) - 1993-2010	
a) Int. Cl.: C12N 1/12 (2006.01)	
b) termeni caracteristici in limba romană: Tulpină, CNMN-CB-11, „Spirulina platensis”	
"Worldwide" (Espacenet) – 1976 - 2010	
a) Int. Cl.: C12N 1/12 (2006.01)	
b) termeni caracteristici in limba engleză: Stain, CNMN-CB-11, „Spirulina platensis”	
EA, CIS (Eapatis) – 1997 -2010	
a) Int. Cl.: C12N 1/12 (2006.01)	
b) termeni caracteristici in limba rusă: IIIТАММ, CNMN-CB-11, „Spirulina platensis”	
SU – 1924 - 1993	
a) Int. Cl.: C12N 1/12 (2006.01)	
b) termeni caracteristici in limba rusă: IIIТАММ, CNMN-CB-11, „Spirulina platensis”	
RoPatentSearch -	
a) Int. Cl.: C12N 1/12 (2006.01)	
b) termeni caracteristici in limba romană: Tulpină, CNMN-CB-11, „Spirulina platensis”	
V. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate	
1. MD 169 C2 1995.03.31	
2. Rudic V., Rudi L., Cepoi L. Aspecte biotehnologice de reglare a biosintezei acizilor grași polienici la <i>Spirulina platensis</i> CNM-CB-01. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Seria Științele vieții. Chișinău, 2007, nr.1 (301), p. 135-142	

VI. Documente considerate a fi relevante	
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente
	Numărul revendicării vizate
A, D	MD 169 C2 1995.03.31 1
A, D, C	Rudic V., Rudi L., Cepoi L. Aspecte biotehnologice de reglare a biosintezei acizilor grași polienici la Spirulina platensis CNM-CB-01. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Seria Științele vieții. Chișinău, 2007, nr.1 (301), p. 135-142
	1

* categoriile speciale ale documentelor citate:	
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 evidența principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicand activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării	04.05.2011
Examinator	DUMANSCAIA Oliga