



MD 3605 F1 2008.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 3605 (13) F1  
(51) Int. Cl.: C12N 1/14 (2006.01)  
A01G 1/04 (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 2007 0098 (22) Data depozit: 2007.04.17	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2008.05.31, BOPI nr. 5/2008
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: STEPANOV Vitalie, MD; CHIRIAC Tatiana, MD; CEPOI Liliana, MD; RUDIC Valeriu, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) Mediu nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii *Pleurotus ostreatus* CNMN-FB-02

(57) Rezumat:

1	2
Invenția se referă la biotehnologie, și anume la medii nutritive pentru cultivarea submersă a tulpinii <i>Pleurotus ostreatus</i> CNMN-FB-02 – producătoare de biomasă fungică și enzime și poate fi aplicată în industria alimentară.	făină de porumb 18,5...20,5 extract de <i>Spirulina platensis</i> 0,23...0,93 apă potabilă până la 1 L. Revendicări: 1
Mediul nutritiv propus include, g/L: făină de soia 4,5...5,5	5
	10

MD 3605 F1 2008.05.31

## MD 3605 F1 2008.05.31

3

### Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, și anume la medii nutritive pentru cultivarea submersă a tulpinii *Pleurotus ostreatus* CNMN-FB-02 – producător de biomasă fungică și enzime și poate fi aplicată în industria alimentară.

5 Este cunoscut mediul nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii *P. ostreatus* ИМВF-1300 sau ВКМF-2469Д timp de 6...9 zile, care conține: glucoză (10,0...30,0 g/L),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2,5...10 g/L),  $\text{KHPO}_4$  (2,5...10 g/L),  $\text{MgSO}_4$  (0,25...1,0 g/L),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (1,0...5,0 g/L), extract de drojdii (0,05...0,5 g/L), apă – 1 L. Randamentul maximal al biomasei absolut usate (BAU) constituie 7,0...8,6 g/L [1].

10 Dezavantajul acestui mediu utilizat pentru cultivarea submersă a tulpinii *P. ostreatus* ИМВF-1300 sau ВКМF-2469Д constă în randamentul mic al activității biosintetice.

De asemenea este cunoscut mediul nutritiv mineral cu adaos hidrolizat de alge pentru cultivarea speciilor de bazidiomicete *Panus tigrinus*, *Pleurotus ostreatus*, *Schizophyllum commune* timp de 14 zile. Acumularea maximă a biomasei constituie 7,9...11,7 g/L s.u. [2].

15 Dezavantajul acestui mediu utilizat pentru cultivarea speciilor de bazidiomicete *Panus tigrinus*, *Pleurotus ostreatus* și *Schizophyllum commune* constă în randamentul mic al acumulării biomasei fungice.

În calitate de cea mai apropiată soluție pentru cultivarea submersă a tulpinii de bazidiomicete *P. ostreatus* CNMN-FB-02 – producător de biomasă fungică și de unele enzime hidrolitice, cum sunt celulozazele, a fost luat mediul nutritiv organic compus din făină de soia (5 g/L) și făină de porumb (20 g/L), apă până la 1 L. Randamentul maximal al biomasei absolut uscate (BAU) și al activității celulozice constituie 12...13 g/L, și respectiv 0,4...0,6 U/ml [3].

Dezavantajul celei mai apropiate soluții constă în faptul că mediul propus pentru cultivarea submersă a tulpinii de bazidiomicete *P. ostreatus* CNMN-FB-02 nu oferă condiții optime pentru majorarea activității biosintetice și realizarea deplină a potențialului culturii.

25 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este sporirea capacității biosintetice a producătorului.

Se propune un mediu nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii *P. ostreatus* CNMN-FB-02, care include, g/L:

făină de soia	4,5...5,5
făină de porumb	18,5...20,5
extract de <i>Spirulina platensis</i>	0,23...0,93
apă potabilă	restul.

Extractul de spirulina se prepară conform unei metode cunoscute (V. Rudic, V. Gudumac, M. Popovici. Fotobiotehnologie realizări noi în biomedicină. Chișinău, Cuant, 1995, p. 9-10).

30 Rezultatul invenției constă în obținerea unui randament superior al biomasei fungice și al activității celulozice până la 112% și, respectiv, 153%.

### Exemple de utilizare a mediului propus

*Exemplul 1.* Mediul nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii de bazidiomicete *P. ostreatus* CNMN-FB-02 se obține din, g/L:

făină de soia	5
făină de porumb	20
apă potabilă	restul.

35 Se sterilizează la temperatura de 121°C timp de 40 min în baloane Erlenmayer cu volumul de 750 ml, câte 150 ml de mediu nutritiv în fiecare. După răcirea mediului se adaugă extract de alge *Spirulina platensis*, în concentrația de 0,23 g/L s. u. Se inoculează 8...10% vol. de miceliu omogenizat de *P. ostreatus* CNMN-FB-02 și se cultivă până la 10 zile la temperatura de 27±1°C în condiții de agitare continuă pe un dispozitiv rotativ cu 180 rot./min.

40 Biomasa obținută crește sub formă de sfere rotunde sau stelate, unele puțin ovale cu diametrul de 1...4 mm, având culoare galbenă-deschisă și un miros plăcut de ciuperci. Substratul fermentabil (făina de soia și porumbul este integral convertit în biomasă).

Biomasa se filtrează, se usucă la 105°C până la o masă constantă și se cântărește. Activitatea celulozică este determinată colorimetric și este exprimată în unități convenționale la 1 ml de lichid cultural (U/ml).

45 În varianta martor extractul de *Spirulina platensis* lipsește. Valoarea acumulării biomasei miceliene este de 14,5 g/L s.u., activitatea celulozică de 0,82 U/ml. Față de martor acest mediu nutritiv asigură o majorare de 1,12 ori a biomasei miceliene și de 1,32 ori a activității celulozice (vezi Tabelul).

*Exemplul 2.* Mediul nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii *P. ostreatus* CNMN-FB-02 se obține din, g/L:

făină de soia	5
făină de porumb	20
apă potabilă	restul.

Se prepară ca și în exemplul 1, la care se adaugă extract de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,46 g/L s. u.

## MD 3605 F1 2008.05.31

4

Biomasa obținută crește sub formă de sfere rotunde sau stelate, unele puțin ovale cu diametrul de 1...3 mm având un miros caracteristic de ciuperci. Valoarea acumulării biomasei miceliene este de 13,6 g/L s. u., activitatea celulazică de 0,83 U/ml. Față de cea mai apropiată soluție acest mediu nutritiv asigură o majorare de 1,34 ori a activității celulazice.

5 *Exemplul 3.* Mediul nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii *P. ostreatus* CNMN-FB-02 se obține din, g/L:

făină de soia	5
făină de porumb	20
apă potabilă	restul.

Se prepară ca și în exemplul 1, la care se adaugă extract de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,93 g/L s. u.

10 Biomasa obținută crește sub formă de sfere rotunde sau stelate cu diametrul de 1...1,5 mm și are un miros plăcut de ciuperci. Valoarea acumulării biomasei miceliene este de 11,9 g/L s.u., activitatea celulazică de 0,95 U/ml. Față de cea mai apropiată soluție acest mediu nutritiv asigură o majorare de 1,53 ori a activității celulazice.

Tabel

15 Activitatea biosintetică a tulpinii *Pleurotus ostreatus* CNMN-FB-02 cultivată submers pe mediul nutritiv cu extract de *Spirulina platensis*

Variantele mediilor	Concentrația extractului de <i>S. platensis</i> , g/L s.u.	Biomasa, g/L s.u.	Activitatea celulazică, U/ml
Cea mai apropiată soluție (martor)	0	13,0	0,62
Mediul nutritiv propus	0,23	14,5	0,82
	0,46	13,7	0,83
	0,93	11,9	0,95

20 După cum se vede din tabel, cultivarea tulpinii de bazidiomicete *P. ostreatus* CNMN-FB-02 pe mediul nutritiv propus asigură în comparație cu cea mai apropiată soluție o majorare de până la 112% a biomasei culturale și până la 153% a activității celulazice. Biomasa posedă un miros plăcut de ciuperci și poate fi utilizată ca supliment alimentar valoros.

### (57) Revendicare:

25 Mediul nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii *Pleurotus ostreatus* CNMN-FB-02, care include, g/L:

făină de soia	4,5...5,5
făină de porumb	18,5...20,5
extract de <i>Spirulina platensis</i>	0,23...0,93
apă potabilă	până la 1 L.

### (56) Referințe bibliografice:

- SU 1697627 A1 1991.12.15
- Бисько Н.А., Бухало А.С., Вассер С.П. и др. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубоинной культуре. Киев, Наукова Думка, 1983, с. 243-244
- MD 3015 G2 2006.03.31

Șef Secție: GROSU Petru

Examinator: BAZARENCO Tatiana

Redactor: LOZOVANU Maria

## RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2007 0098		
(22) Data depozit: 2007.04.17		
(51) : <b>Int.Cl:</b> <i>C12N 1/14</i> (2006.01) Alți indici de clasificare: C 12 N 1/14; A 01 G 1/04 <b>Titlul</b> : Mediu nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii <i>Pleurotus Ostreatus</i> CNMN-FB-02		
(71) Solicitantul : INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD Termeni caracteristici : cultivarea submersă, Mediu nutritiv, <i>Pleurotus Ostreatus</i> , bazidomicete, <i>Spirulina platensis</i>		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.		
(MD, EA, SU, inclusiv și colecția „nerepublică”)		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	SU 1697627 A1 1991.12.15	1
A	Бисько Н.А., Бухало А.С., Вассер С.П. и др. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре. Киев, Наукова Думка, 1983, с. 243-244	1
A	MD 3015 G2 2006.03.31	1
<input type="checkbox"/> Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II		<input type="checkbox"/> Informația referitoare la brevete paralele se anexează
<b>* categoriile speciale ale documentelor consultate:</b>		<b>P</b> - document publicat înainte de data de depozit dar după data priorității invocate
A - document care definește stadiul anterior general		<b>T</b> - 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 evidența principiul sau teoria care conține baza invenției
E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după aceasta data		<b>X</b> - 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)		<b>Y</b> - 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		<b>&amp;</b> - document care face parte din aceeași familie de documente
Data finalizării documentării		2008.03.17
Examinatorul		Bazarenco Tatiana

## RAPORT DE DOCUMENTARE

<b>Informația referitoare la brevete paralele</b>		<b>(21) Nr deposit:</b>	
Date de identificare ale documentelor citate in raport	Data publicării	<b>Brevete paralele</b>	Data publicării
1	2	3	4