



MD 3297 G2 2007.04.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3297** <sup>(13)</sup> **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.

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: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,2, CaCl<sub>2</sub> 0,15, NaHCO<sub>3</sub> 0,2, microelemente, mg/L: ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,22, MnSO<sub>4</sub> 1,81, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,079, NaBO<sub>3</sub>·4H<sub>2</sub>O 2,63, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O 1,0, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 9,3, CaCl<sub>2</sub> 1,2, CoNO<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O 0,02 și

2  
5 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<sub>3</sub>.

10 Rezultatul invenției constă în sporirea productivității cianobacteriei cu un conținut înalt de ficobiline.

Revendicări: 1

15

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.

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 dat permite obținerea unei cantități de 0,14 g/L ficobiline [1].

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

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<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,2, CaCl<sub>2</sub> 0,15, NaHCO<sub>3</sub> 0,2, microelemente, mg/L: ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,22, MnSO<sub>4</sub> 1,81, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0,079, NaBO<sub>3</sub> · 4H<sub>2</sub>O 2,63, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O 1,0, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 9,3, CaCl<sub>2</sub> 1,2, Co(NO<sub>3</sub>) · 2H<sub>2</sub>O 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 dat permite obținerea unei cantități de 0,24 g/L ficobiline.

20 Dezavantajul procedurii dat 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.

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<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,2, CaCl<sub>2</sub> 0,15, NaHCO<sub>3</sub> 0,2, microelemente, mg/L: ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,22, MnSO<sub>4</sub> 1,81, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,079, NaBO<sub>3</sub>·4H<sub>2</sub>O 2,63, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O 1,0, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 9,3, CaCl<sub>2</sub> 1,2, CoNO<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O 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<sub>3</sub>.

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*

Cianobacteria *Nostoc linckia* este inoculată în cantitate de 0,2 g/L pe un mediu cu următoarea componență, g/L: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,2, CaCl<sub>2</sub> 0,15, NaHCO<sub>3</sub> 0,2, microelemente, mg/L: ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,22, MnSO<sub>4</sub> 1,81, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0,079, NaBO<sub>3</sub> · 4H<sub>2</sub>O 2,63, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O 1,0, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 9,3, CaCl<sub>2</sub> 1,2, Co(NO<sub>3</sub>) · 2H<sub>2</sub>O 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<sub>3</sub> 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:  $K_2HPO_4$  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,  $CoNO_3 \cdot 2H_2O$  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, caracterizat prin aceea că la a 3-a zi de cultivare în mediul nutritiv se adaugă 0,4...0,6 g/L  $KNO_3$ .

10

### (56) Referințe bibliografice:

1. Cojocaru A. Perspective de utilizare a compușilor coordinativi 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