



MD 4122 B1 2011.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 4122 (13) B1  
(51) Int. Cl.: C12N 1/12 (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 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 in calitate de sursă de  
substanțe biologice active

(57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la biotehnologie și poate  
fi utilizată pentru obținerea substanțelor bio-  
logic active.

Tulpina de algă *Spirulina platensis*  
(Nordst) Geitl este depozitată în Colecția  
Națională de Microorganisme Neapatogene a  
Republicii Moldova a Institutului de Micro-  
biologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul  
CNMN-CB-11 și poate fi utilizată în calitate  
de sursă de acizi glutamic și  $\gamma$  - linolenic,

2  
polizaharide sulfatate, fosfatidilinozitol și  
5 fosfatidilcolină.

Rezultatul constă în sporirea productivității  
algei și a cantității de acizi glutamic și  $\gamma$  -  
10 linolenic, polizaharide sulfatate, fosfatidilino-  
zitol și fosfatidilcolină.

Revendicări: 1

15

MD 4122 B1 2011.07.31

**(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  $\gamma$  - linoleic

2  
acids, sulphated polysaccharides,  
5 phosphatidylinositol and phosphatidylcholine.

The result is to increase the productivity of  
alga and the quantity of glutamic and  $\gamma$  -  
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 Микроорга-  
низмов Республики Молдова Института  
Микробиологии и Биотехнологии АНМ,  
под номером CNMN-CB-11 и может быть  
15 использован в качестве источника глутами-

2  
новой и  $\gamma$  - линоленовой кислоты, сульфати-  
5 рованных полисахаридов, фосфатидино-  
зитола и фосфатидилхолина.

Результат состоит в повышении про-  
дуктивности водоросли и увеличении коли-  
10 чества глутаминовой и  $\gamma$  - линоленовой  
кислоты, сульфатированных полисахари-  
дов, фосфатидинозитола и фосфати-  
15 дилхолина.

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

10 cardioprotector. Un alt component bioactiv din spirulină este acidul gras polinesaturat  $\gamma$ -linolenic, care se caracterizează prin acțiune antiaterogenă pronunțată. 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%  $\beta$ -carotină, 80...100 mg/% acid ascorbic, 30...35 mg/% tocoferol, vitamine din

15 grupa B, 0,36% acid glutamic, fitohormoni și alte substanțe biologice active [1]. 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%  $\beta$ -carotină, 30...35 mg/% tocoferol, 80...100 mg/% acid ascorbic, vitaminele grupei B, 20 1,0...1,2% acid  $\gamma$ -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  $\gamma$ -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, % biomasa absolut uscată

30

Tulpina		Acidul glutamic	Acidul $\gamma$ -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

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  $\gamma$ -linolenic, fosfatidilinozitol, fosfatidilcolină și polizaharide sulfatate.

35

Esența invenției constă în faptul că se propune o tulpină de algă *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl care este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene 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  $\gamma$ -linolenic, polizaharide sulfatate, fosfatidilinozitol și fosfatidilcolină.

40

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

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  $\gamma$ -linolenic

45

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 Căpriană.

15 În cultura algologic pură tulpina se multiplică intens pe mediul mineral lichid cu următoarea componență a macroelementelor, g/L:  $\text{NaNO}_3$  - 2,25;  $\text{NaHCO}_3$  - 8,0;  $\text{NaCl}$  - 1,01;  $\text{K}_2\text{SO}_4$  - 0,3;  $\text{NaHPO}_4$  - 0,20;  $\text{MgSO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,20;  $\text{CaCl}_2$  - 0,024; soluția de microelemente 1 mL/L, ce conține în mg/L:  $\text{H}_3\text{BO}_3$  - 2,86;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  - 1,81;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,22;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,08;  $\text{MoO}_3$  - 0,015; Fe-EDTA - 1,0 mL/L.

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  $\gamma$ -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  $\mu\text{m}$ , lățimea 6...8  $\mu\text{m}$ ) 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  $\mu\text{m}$ , 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 fiziologo - 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  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , 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  $\gamma$ -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 "pasaie 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**

15 În vasele de cultură cu un volum de 1 L cu mediu mineral lichid al macro- și microelementelor: macroelemente cu următoarea componență, g/L:  $\text{NaNO}_3$  - 2,25;  $\text{NaHCO}_3$  - 8,0;  $\text{NaCl}$  - 1,01;  $\text{K}_2\text{SO}_4$  - 0,3;  $\text{NaHPO}_4$  - 0,20;  $\text{MgSO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,20;  $\text{CaCl}_2$  - 0,024; microelemente - 1 mL/L, cu următoarea componență, mg/L:  $\text{H}_3\text{BO}_3$  - 2,86;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  - 1,81;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,22;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,08;  $\text{MoO}_3$  - 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  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , în ziua a 6-ea productivitatea ajunge până la 1,6 g/L biomasa absolut uscată, cu conținut de acid glutamic 9,3%; acid  $\gamma$ -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 biologice active.

**Șef Secție:** IUSTIN Viorel

**Examinator:** DUMANSCAIA Oliga

**Redactor:** CANȚER Svetlana