



MD 4356 C1 2016.02.29

## REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4356** (13) **C1**  
(51) Int.Cl.: *C07F 15/02* (2006.01)  
*C07D 213/86* (2006.01)  
*C12N 1/12* (2006.01)  
*C12R 1/89* (2006.01)

## (12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2014 0066 (22) Data depozit: 2014.07.09	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2015.07.31, BOPI nr. 7/2015
(71) Solicitanți: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	
(72) Inventatori: DRAGANCEA Diana, MD; RUDIC Valeriu, MD; BULHAC Ion, MD; RUDI Liudmila, MD; GUSINA Liudmila, MD; CEPOI Liliana, MD; CIOBOTARI Alina MD; MISCU Vera, MD; CHIRIAC Tatiana, MD; SADOVNIC Daniela, MD	
(73) Titulari: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) Bis[N'-(2-hidroxi-kO-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(-1)-  
k<sup>2</sup>N',O]fier(III) nitrat - apă (2/3) și procedeu de cultivare a microalgei  
*Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia

## (57) Rezumat:

Invenția se referă la chimie și biotehnologie, în special la sinteza unui nou compus coordinativ al fierului(III), care poate fi utilizat pentru obținerea unei biomase cu un potențial antioxidant sporit și care poate fi utilizată în industria alimentară și în medicină, și la un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia.

Conform invenției, se revendică un compus coordinativ – bis[N'-(2-hidroxi-kO-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(-1)-k<sup>2</sup>N',O]fier(III) nitrat - apă (2/3).

De asemenea, se revendică un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum*, care constă în aceea că se cultivă microalga pe un mediu nutritiv ce conține, g/L: NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8;

Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005, compusul bis[N'-(2-hidroxi-kO-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(-1)-k<sup>2</sup>N',O]fier(III) nitrat - apă (2/3) 0,01...0,012 g/L și apă distilată până la 1 L, având pH-ul 6,8...7,2; la temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, cu agitare periodică.

Rezultatul constă în majorarea conținutului de fenoli în extractul etanolic obținut din biomasa de microalgă.

Revendicări: 2

Figuri: 1

MD 4356 C1 2016.02.29

**(54) Bis[N'-(2-hydroxy-*kO*-benzylidene)pyridine-4-carbohydrazidate(-1)- $k^2N',O$ ]iron(III) nitrate - water (2/3) and process for cultivation of microalga *Porphyridium cruentum* with its use**

**(57) Abstract:**

1

The invention relates to chemistry and biotechnology, in particular to the synthesis of a new coordinative compound of iron(III) which can be used to produce a biomass with a high antioxidant capacity and which can be used in the food industry and in medicine, and to a process for cultivation of microalga *Porphyridium cruentum* with its use.

According to the invention, a coordinative compound – bis[N'-(2-hydroxy-*kO*-benzylidene)pyridine-4-carbohydrazidate(-1)- $k^2N',O$ ]iron(III) nitrate - water (2/3) is claimed.

A process for cultivation of microalga *Porphyridium cruentum* is also claimed, which consists in that microalga is cultivated on a nutrient medium containing, g/L: NaNO<sub>3</sub> - 5.0; NaCl – 7.0; KCl -7.5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1.8;

2

Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0.15; KBr - 0.05; KI - 0.05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0.2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0.00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0.00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0.0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0.0006; MoO<sub>3</sub> - 0.00002; NaVO<sub>3</sub> - 0.00005, the compound bis[N'-(2-hydroxy-*kO*-benzylidene)pyridine-4-carbohydrazidate(-1)- $k^2N',O$ ]iron(III) nitrate - water (2/3) - 0.01...0.012 g/L and distilled water up to 1 L, having the pH 6.8...7.2; at a temperature of 23...25°C, an illumination of 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, with periodic stirring.

The result consists in increasing the content of phenols in the ethyl extract obtained from microalga biomass.

Claims: 2

Fig.: 1

**(54) Бис[N'-(2-гидрокси-*kO*-бензилиден)пиридин-4-карбогидразидат(-1)- $k^2N',O$ ] железа(III) нитрат - вода (2/3) и способ культивирования микроводоросли *Porphyridium cruentum* с его использованием**

**(57) Реферат:**

1

Изобретение относится к химии и биотехнологии, в частности к синтезу нового координационного соединения железа(III), которое может быть использовано для получения биомассы с повышенным антиоксидантным потенциалом и которая может быть использована в пищевой промышленности и в медицине, и к способу культивирования микроводоросли *Porphyridium cruentum* с его использованием.

Согласно изобретению, заявляется координационное соединение – бис[N'-(2-гидрокси-*kO*-бензилиден)пиридин-4-карбогидразидат(-1)- $k^2N',O$ ] железа(III) нитрат - вода (2/3).

Также, заявляется способ культивирования микроводоросли *Porphyridium cruentum*, который состоит в том, что культивируется микроводоросль на

2

питательной среде, которая содержит, г/л: NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl -7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005, соединение бис[N'-(2-гидрокси-*kO*-бензилиден)пиридин-4-карбогидразидат(-1)- $k^2N',O$ ] железа(III) нитрат - вода (2/3) - 0,01...0,012 г/л и дистиллированную воду до 1 л, имея pH 6,8...7,2; при температуре 23...25°C, освещении 2000...3000 лк/см<sup>2</sup>, с периодическим перемешиванием.

Результат состоит в повышении содержания фенолов в этиловом экстракте, полученном из биомассы микроводоросли.

П. формулы: 2

Фиг.: 1

**Descriere:**

Invenția se referă la chimie și biotehnologie, în special la sinteza unui nou compus coordinativ al fierului(III), care poate fi utilizat pentru obținerea unei biomase cu un potențial antioxidant sporit și care poate fi utilizată în industria alimentară și în medicină, și la un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia.

Este cunoscut procedeul de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* pe mediul nutritiv mineral ce conține, g/L: NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005 și apă distilată până la 1L; având pH-ul 6,8...7,2, la temperatura de 23...25°C și iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup> cu agitare lentă periodică. În prima zi de cultivare, mediul este suplimentat cu compusul [Fe<sub>3</sub>O(Gly)<sub>6</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>7</sub>·3,5H<sub>2</sub>O în concentrație de 0,01 g/L. Conținutul fenolilor în biomasa de *Porfiridium* constituie 10,6...11,8 echivalent mg acid galic /g biomasă (cea mai apropiată soluție) [1].

Neajunsul acestui compus și al procedurii cunoscut constă în conținutul redus de fenoli în biomasa de *Porfiridium*.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unui compus nou și elaborarea unui procedeu eficient și reproductibil de sporire a conținutului de fenoli în biomasa de *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM la data de 09.08.2004.

Esența invenției constă în faptul că se propune un compus coordinativ nou din clasa compușilor coordinativi ai fierului(III) cu baze Schiff - bis[N'-(2-hidroxi-κO-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(-1)-κ<sup>2</sup>N',O]fier(III) nitrat - apă (2/3), care sporește conținutul de fenoli în biomasa de *Porphyridium cruentum*.

De asemenea se propune un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum*, care constă în aceea că se cultivă microalga pe un mediu nutritiv ce conține, g/L: NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl -7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005 și apă distilată până la 1L, având pH-ul 6,8...7,2; la temperatura de 23...25°C și iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, cu agitare periodică, totodată mediul conține suplimentar compusul bis[N'-(2-hidroxi-κO-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(-1)-κ<sup>2</sup>N',O]fier(III) nitrat - apă (2/3) în concentrație de 0,01...0,012 g/L.

Compusul menționat, proprietățile lui și procedeul de obținere nu sunt descrise în literatură.

Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea conținutului de fenoli în biomasa microalgei *Porphyridium cruentum* cu 17...18% față de cea mai apropiată soluție. Administrarea compusului din prima zi de cultivare stimulează acumularea componentelor fenolice în biomasa microalgei, care sporesc valoarea biomasei de *Porfiridium* în calitate de producător de antioxidanți.

Rezultatul invenției este condiționat de aplicarea, pentru prima dată, a compusului bis[N'-(2-hidroxi-κO-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(-1)-κ<sup>2</sup>N',O]fier(III) nitrat - apă (2/3) în calitate de stimulator al biosintezei componentelor fenolice, care se determină în biomasa de *Porphyridium cruentum*. Compusul revendicat se obține la agitarea amestecului ce conține sarea Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O și ligandul izonicotinoilhidrazona-2-hidroxi-benzaldehidă (H<sub>2</sub>L) în raport molar de 1:2 în etanol. Reacția decurge timp de jumătate de oră.

Procedeul de obținere a compusului revendicat este simplu în executare, substanțele inițiale sunt accesibile, randamentul constituie 70%. Compusul este stabil la contact cu aerul, solubil în etanol la încălzire, acetonitril, practic insolubil în apă.

Exemplu de obținere a compusului bis[N'-(2-hidroxi-κO-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(-1)-κ<sup>2</sup>N',O]fier(III) nitrat - apă (2/3).

La soluția de 0,10 g (0,25 mmol) de Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O în 20 ml de etanol se adaugă 0,12 g (0,5 mmol) de izonicotinoilhidrazona-2-hidroxi-benzaldehidă (H<sub>2</sub>L). Amestecul obținut se încălzește la baia marină cu agitare permanentă timp de 30 min. La răcire, din

soluția de culoare cafenie-închisă se obține un precipitat fin de culoare neagră, care se separă, se spală cu etanol, eter dietilic și se usucă în aer. Randamentul este de 0,11 g (70%).

S-a determinat, %: C 50,03; H 4,90; N 15,78. Pentru  $C_{26}H_{23}FeN_7O_{8,5}$  s-a calculat, %: C 49,94; H 3,71; N 15,68.

Cercetarea sub microscop a compusului coordinativ sintetizat demonstrează că acesta posedă omogenitate fazică. Pentru a elucida compoziția și structura lui s-a aplicat metoda analizei elementelor și spectroscopia în IR.

În spectrul IR al ligandului necoordinat se observă o bandă pronunțată la  $1678\text{ cm}^{-1}$ , care corespunde oscilațiilor de valență ale grupei  $\nu(\text{C}=\text{O})$ . În spectrul complexului această bandă dispăre în urma fenomenului de enolizare. De asemenea, în spectrul compusului fierului dispăre banda de absorbție  $\nu(\text{NH})$ , însă apar benzi de absorbție noi, și anume: la  $2567$  și  $2118\text{ cm}^{-1}$  caracteristice pentru oscilațiile  $\text{PyH}^+$ , apărute în urma transferului protonului de la grupa NH la azotul heterociclic, formand  $\text{PyH}^+$  (S. B. Kalia, K. Lumba, G. Kaushal, M. Sharma. Indian J. Chem., 2007, 46A, 1233-1239; J.-X. Wang, X.-Z. Li, L.-N. Zhu, J.-Y. Wang, H. Qu. J. Chem. Crystallogr., 2010, V40, 726-730; Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. Изд-во Иностранной литературы. Москва, 1963, 590 p.).

Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor și cercetărilor spectroscopice a fost stabilită compoziția și structura compusului revendicat. Ionul de fier(III) manifestă numărul de coordinare 6 cu două molecule de ligand tridentat ONO și are o configurație spațială octaedrică cu ionul nitrat în sfera externă. Structura propusă pentru compusul coordinativ:  $\text{bis}[\text{N}'\text{-(2-hidroxi-}\kappa\text{O-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(1-}\kappa^2\text{N',O)fier(III) nitrat}$  – apă (2/3) este prezentată în figură.

Exemple de aplicare a compusului  $\text{bis}[\text{N}'\text{-(2-hidroxi-}\kappa\text{O-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(1-}\kappa^2\text{N',O)fier(III) nitrat}$  – apă (2/3) în calitate de biostimulator al sintezei componentelor fenolice în biomasa microalgei *Porphyridium cruentum*.

#### Exemplul 1

Se prepară mediul nutritiv mineral cu următorul conținut al componentelor (g/L):  $\text{NaNO}_3$  - 5,0;  $\text{NaCl}$  - 7,0;  $\text{KCl}$  - 7,5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 1,8;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  - 0,15;  $\text{KBr}$  - 0,05;  $\text{KI}$  - 0,05;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 0,2;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,00002;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,00005;  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,0003;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  - 0,0006;  $\text{MoO}_3$  - 0,00002;  $\text{NaVO}_3$  - 0,00005 și apă distilată până la 1L. În prima zi de cultivare, la suspensia de *Porfiridium*, în calitate de biostimulator al sintezei fenolilor, se adaugă compusul  $\text{bis}[\text{N}'\text{-(2-hidroxi-}\kappa\text{O-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(1-}\kappa^2\text{N',O)fier(III) nitrat}$  – apă (2/3) în concentrație de 0,01 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 1000 ml cu 500 ml suspensie în următoarele condiții: pH-ul 6,8...7,2, temperatura de 23...25°C, iluminare 2000...3000 lx, cu agitare lentă periodică. La ziua a 10-a, biomasa de *Porfiridium* se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării și se standardizează după biomasă. În biomasa obținută se determină conținutul fenolilor cu aplicarea metodei Folin-Ciocalteu.

Biomasa de *Porfiridium* conține  $13,8 \pm 0,04$  ( $p < 0,5$ ) mg acid galic echivalent/g biomasă, față de 11,8 mg acid galic echivalent/g biomasă în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul). Sporul conținutului de fenoli este de 17%.

#### Exemplul 2

Se prepară mediul nutritiv mineral cu următorul conținut al componentelor (g/L):  $\text{NaNO}_3$  - 5,0;  $\text{NaCl}$  - 7,0;  $\text{KCl}$  - 7,5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 1,8;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  - 0,15;  $\text{KBr}$  - 0,05;  $\text{KI}$  - 0,05;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 0,2;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,00002;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,00005;  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,0003;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  - 0,0006;  $\text{MoO}_3$  - 0,00002;  $\text{NaVO}_3$  - 0,00005 și apă distilată până la 1L. În prima zi de cultivare, la suspensia de *Porfiridium*, în calitate de biostimulator al sintezei fenolilor, se adaugă compusul  $\text{bis}[\text{N}'\text{-(2-hidroxi-}\kappa\text{O-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(1-}\kappa^2\text{N',O)fier(III) nitrat}$  – apă (2/3) în concentrația de 0,012 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 1000 ml cu 500 ml suspensie în următoarele condiții: pH-ul 6,8...7,2, temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx, cu agitare lentă periodică. La ziua a 10-a, biomasa de *Porfiridium* se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării și se standardizează după biomasă. În biomasa obținută se determină conținutul fenolilor cu aplicarea metodei Folin-Ciocalteu.

Biomasa de *Porphyridium* conține  $14,0 \pm 0,05$  ( $p < 0,5$ ) mg acid galic echivalent/g biomasă, față de 11,8 mg acid galic echivalent/g biomasă în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul). Sporul conținutului de fenoli este de 18%.

Tabel

- 5 Conținutul fenolilor în extractul etanolic de 96%, obținut în baza biomasei de *Porphyridium cruentum*, la cultivarea conform procedurii revendicate și celei mai apropiate soluții

Procedeu aplicat	Concentrația compusului, g/L	Conținutul fenolilor, echivalent mg acid galic /g biomasă
Conform celei mai apropiate soluții [Fe <sub>3</sub> O(Gly) <sub>6</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> ](NO <sub>3</sub> ) <sub>7</sub> ·3,5H <sub>2</sub> O	0,01	10,6...11,8
Conform soluției revendicate	0,01	13,8±0,04
	0,012	14,0±0,05

- 10 Datele din tabel demonstrează o creștere a conținutului de fenoli în biomasa de *Porphyridium cruentum* cu 17...18% conform procedurii revendicate, față de procedeu din cea mai apropiată soluție. Biomasa microalgei *Porphyridium cruentum* reprezintă o sursă modernă de substanțe antioxidante, iar de ce sporul conținutului de fenoli este un factor al creșterii valorii microalgei în calitate de producător de substanțe cu efect
- 15 antioxidant.

Proprietățile compusului bis[N'-(2-hidroxi-κO-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(-1)-κ<sup>2</sup>N',O]fier(III) nitrat – apă (2/3) prezintă interes pentru biotehnologie în calitate de biostimulator al sintezei fenolilor, compuși cu proprietăți antioxidante, în biomasa microalgei *Porphyridium cruentum*.

20

#### (56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Sadovnic D. Tehnologii de obținere a preparatelor antioxidante și antiradicalice din biomasa algei roșii *Porphyridium cruentum* CNM-AR-01. Teză de doctor în biologie, Chișinău, 2014

#### (57) Revendicări:

1. Compusul bis[N'-(2-hidroxi-κO-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(-1)-κ<sup>2</sup>N',O]fier(III) nitrat - apă (2/3), care sporește conținutul de fenoli în biomasa de *Porphyridium cruentum*.

2. Procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum*, care constă în aceea că se cultivă microalga pe un mediu nutritiv ce conține, g/L: NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005 și apă distilată până la 1L, având pH-ul 6,8...7,2; la temperatura de 23...25°C și iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, cu agitare periodică, caracterizat prin aceea că mediul conține suplimentar compusul bis[N'-(2-hidroxi-κO-benziliden)piridin-4-carbohidrazidat(-1)-κ<sup>2</sup>N',O]fier(III) nitrat - apă (2/3) în concentrație de 0,01...0,012 g/L.

Șef adjunct Direcție Brevete:

IUSTIN Viorel

Șef Secție Examinare:

LEVIȚCHI Svetlana

Examinator:

LUPAȘCU Lucian

