



MD 4365 C1 2016.03.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4365** (13) **C1**
(51) Int.Cl.: *C07F 15/02* (2006.01)
C07D 213/88 (2006.01)
C12N 1/12 (2006.01)
C12R 1/89 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2014 0068 (22) Data depozit: 2014.07.09	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2015.08.31, BOPI nr. 8/2015
(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: COCU Maria, MD; RUDIC Valeriu, MD; BULHAC Ion, MD; RUDI Liudmila, MD; GUTIU Victoria, MD; CEPOI Liliana, MD; MISCU Vera, MD; CHIRIAC Tatiana, MD; DJUR Svetlana, 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[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3,5-trien-1,6-diolato- O^1, N^4, O^6]fier(III) nitrat și procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia

(57) Rezumat:

1
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[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3,5-trien-1,6-diolato- O^1, N^4, O^6]fier(III) nitrat.

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: $NaNO_3$ - 5,0; $NaCl$ - 7,0; KCl - 7,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 1,8;

2
 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_4 - 0,2; $ZnSO_4 \cdot 5H_2O$ - 0,00002; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ - 0,00005; $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ - 0,0003; H_3BO_3 - 0,0006; MoO_3 - 0,00002; $NaVO_3$ - 0,00005, compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3,5-trien-1,6-diolato- O^1, N^4, O^6]fier(III) nitrat – 0,01...0,011 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/cm², cu agitare lentă periodică.

Rezultatul constă în majorarea conținutului de fenoli în biomasa de microalgă.

Revendicări: 2

Figuri: 1

MD 4365 C1 2016.03.31

(54) Bis[1-phenyl-3-methyl-6-(pyridinium-4-yl)-4,5-diaza-hexa-1,3,5-triene-1,6-diolato- O^1, N^4, O^6]iron(III) nitrate 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[1-phenyl-3-methyl-6-(pyridinium-4-yl)-4,5-diaza-hexa-1,3,5-triene-1,6-diolato- O^1, N^4, O^6]iron(III) nitrate is claimed.

Also claimed is a process for cultivation of microalga *Porphyridium cruentum*, which consists in that microalga is cultivated on a nutrient medium containing, g/L: NaNO_3 – 5.0; NaCl – 7.0; KCl – 7.5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ –

2

1.8; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0.15; KBr – 0.05; KI – 0.05; K_2HPO_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; H_3BO_3 – 0.0006; MoO_3 – 0.00002; NaVO_3 – 0.00005, the compound bis[1-phenyl-3-methyl-6-(pyridinium-4-yl)-4,5-diaza-hexa-1,3,5-triene-1,6-diolato- O^1, N^4, O^6]iron(III) nitrate – 0.01...0.011 and distilled water up to 1 L, having the pH 6.8...7.2, at the temperature of 23...25°C, the illumination of 2000...3000 lx/cm², with periodic slow agitation.

The result consists in increasing the phenol content in the microalga biomass.

Claims: 2

Fig.: 1

(54) Бис[1-фенил-3-метил-6-(пиридиниум-4-ил)-4,5-диаза-гекса-1,3,5-триен-1,6-диолато- O^1, N^4, O^6]железо(III) нитрат 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[1-фенил-3-метил-6-(пиридиниум-4-ил)-4,5-диаза-гекса-1,3,5-триен-1,6-диолато- O^1, N^4, O^6]железо(III)] нитрат.

Также, заявляется способ культивирования микроводоросли *Porphyridium cruentum*, который состоит в том, что культивируется микроводоросль на питательной среде, которая содержит, г/л:

2

NaNO_3 – 5,0; NaCl – 7,0; 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; KBr – 0,05; KI – 0,05; K_2HPO_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; H_3BO_3 – 0,0006; MoO_3 – 0,00002; NaVO_3 – 0,00005, соединение бис[1-фенил-3-метил-6-(пиридиниум-4-ил)-4,5-диаза-гекса-1,3,5-триен-1,6-диолато- O^1, N^4, O^6]железо(III) нитрат – 0,01...0,011 и дистиллированную воду до 1 л, имея pH 6,8...7,2; при температуре 23...25°C, освещении 2000...3000 лк/см², с медленным периодическим перемешиванием.

Результат состоит в повышении содержания фенолов в биомассе 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

În ultimii ani chimia coordinativă a înregistrat realizări importante în domeniul sintezei și studiului liganzilor polidentati și al compușilor coordinativi ai metalelor 3d în baza hidrazidei acidului izonicotinic. Interesul față de acești compuși este sporit grație proprietăților biologice pronunțate, care se reflectă firesc și asupra aspectului practic (Sevim Rollas and Ş. Güniz Küçükgülzel. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. Molecules, 2007, p. 1910-1939).

Compusul coordinativ este propus spre aplicare în biotehnologiile de tip intensiv în scopul obținerii de biomasă cu un potențial antioxidant sporit. Biomasă obținută este utilizată în calitate de materie primă pentru obținerea produselor antioxidante, care pot fi utilizate în procesarea produselor alimentare și în scopuri medicale în calitate de antioxidanți (Rudic Valeriu et al. Ficobiotehnologie – cercetări fundamentale și realizări practice. Tipografia "Elena V.I." SRL, Chișinău, 2007, 365 p).

Este cunoscut un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* pe mediul nutritiv ce conține, g/L: NaNO₃ - 5,0; NaCl - 7,0; KCl -7,5; MgSO₄·7H₂O - 1,8; Ca(NO₃)₂·4H₂O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K₂HPO₄ - 0,2; ZnSO₄·5H₂O - 0,00002; CuSO₄·5H₂O - 0,00005; MnSO₄·5H₂O - 0,0003; H₃BO₃ - 0,0006; MoO₃ - 0,00002; NaVO₃ - 0,00005 și apă distilată până la 1L; având pH-ul 6,8...7,2, la temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm², cu agitare lentă periodică. În prima zi de cultivare în mediul nutritiv se introduce compusul [Fe₃O(Gly)₆(H₂O)₃](NO₃)₇·3,5H₂O în cantitate de 0,01 g/L [1].

Conținutul de fenoli în biomasă de *Porphyridium* constituie 10,6...11,8 echivalent mg acid galic/g biomasă.

Neajunsul compusului și al procedurii cunoscut constă în conținutul redus de fenoli în biomasă de *Porphyridium*.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în sinteza unui compus nou și elaborarea unui procedeu eficient și reproductibil de sporire a conținutului de fenoli în biomasă de *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01.

Esența invenției constă în faptul că se propune un compus coordinativ nou – bis[1-fenil-3-metil-6-(piridiniu-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3,5-trien-1,6-diolato-*O*¹,*N*⁴,*O*⁶]fier(III) nitrat ([Fe(L-H)₂](NO₃)₃), obținut prin interacțiunea izonicotinoilhidrazonei 1-fenil-1,3-butandionei și a azotatului de Fe(III) în raport molar 2:1.

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: NaNO₃ - 5,0; NaCl - 7,0; KCl -7,5; MgSO₄·7H₂O - 1,8; Ca(NO₃)₂·4H₂O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K₂HPO₄ - 0,2; ZnSO₄·5H₂O - 0,00002; CuSO₄·5H₂O - 0,00005; MnSO₄·5H₂O - 0,0003; H₃BO₃ - 0,0006; MoO₃ - 0,00002; NaVO₃ - 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/cm², cu agitare lentă periodică, totodată mediul conține suplimentar compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridiniu-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3,5-trien-1,6-diolato-*O*¹,*N*⁴,*O*⁶]fier(III) nitrat în concentrație de 0,01...0,011 g/L.

Conținutul de fenoli, determinat prin metoda Folin-Ciocalteu, în biomasă de *Porphyridium* este de 13,9...14,2 echivalent mg acid galic/g biomasă.

Compusul sus-menționat, proprietățile lui și procedeu de obținere nu sunt descrise în literatură.

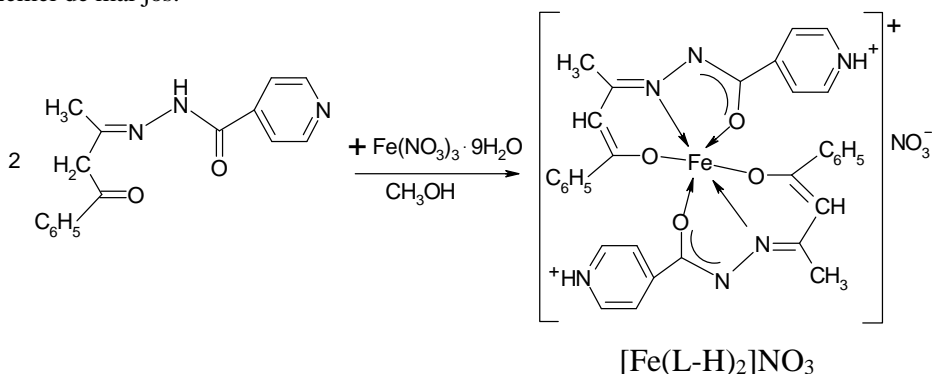
Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea conținutului de fenoli în biomasă microalgei *Porphyridium cruentum* cu 18...20% față de cea mai apropiată soluție. Administrarea compusului din prima zi de cultivare stimulează acumularea

componentelor fenolice in biomasa microalgei, care sporesc valoarea biomasei de *Porphyridium* în calitate de producător de antioxidanți.

Rezultatul invenției este condiționat de aplicarea pentru prima dată a compusului $[\text{Fe}(\text{L}-\text{H})_2]\text{NO}_3$ in calitate de stimulator al biosintezei componentelor fenolice de către microalga *Porphyridium cruentum*.

Exemplu de obținere a compusului revendicat

În urma reacției dintre izonicotinoilhidrazona 1-fenil-1,3-butandionei și azotatul de fier(III) in raport molar de 2:1, la încălzire prin agitare, se obține combinația complexă sub formă de cristale de culoare verde-întunecată, care decurge conform schemei de mai jos:



Schema 1. Obținerea compusului $[\text{Fe}(\text{L}-\text{H})_2]\text{NO}_3$

Structura ligandului necoordinat stabilită cu raze X este descrisă în (Cocu Maria, Shova Sergiu, Gutium Victoria, Bulhac Ion. Synthesis and structure of new ligands based on isonicotinic hydrazide. The 5th Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics and at the Symposium in Memoriam of Acad. Boris LAZARENKO (1910-1979) "Electrical Methods of Materials Treatment". September 13 - 17, 2010, Chișinău, Republic of Moldova, MSP 11P, p. 80) și este prezentată în figură, în care la împachetarea cristalină are loc formarea legăturilor de hidrogen cu participarea grupelor C=O și NH. În spectrul IR al ligandului liber se manifestă benzile $\nu(\text{NH})=3218 \text{ cm}^{-1}$ și $\nu(\text{C}=\text{O})=1664 \text{ cm}^{-1}$ (Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. Издательство иностранной литературы, Москва, 1963, 592 p.).

Compusul obținut a fost caracterizat prin analiză chimică elementală și spectrele IR inregistrate in domeniul $4000 \dots 400 \text{ cm}^{-1}$.

In spectrul IR al compusului coordinativ al fierului $[\text{Fe}(\text{L}-\text{H})_2]\text{NO}_3$ dispăre banda $\nu(\text{NH})$, iar $\nu(\text{C}=\text{O})$ se deplasează la 1631 cm^{-1} (Накамото К. ИК спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений. Москва, Мир, 1991, 536 p). In spectrul IR al complexului spre deosebire de cel al ligandului liber se manifestă două benzi late de intensitate medie în regiunea $2600 \dots 2000 \text{ cm}^{-1}$, care pot fi atribuite oscilațiilor $\text{C}=\text{NH}^+$ din piridiniu, după cum și alte două la 1387 cm^{-1} foarte intensivă și 826 cm^{-1} medie, ce confirmă prezența ionului NO_3^- (Тарасевич Б. Н. ИК спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы, Москва, 2012, 54 p.).

Datele analizei elementale confirmă coordinarea a două molecule de izonicotinoilhidrazonă a 1-fenil-1,3-butandionei la un atom de fier.

Datele structurale ale ligandului necoordinat și cele spectrale ale ligandului și complexului fierului conduc la concluzia că ligandul coordinează la metal ca unul tridentat (setul de atomi ONO) și monodeprotonat cu delocalizarea electronilor pe legăturile N-C-O ale fragmentului amidic și migrația protonului de la grupa N-H a acestui fragment la atomul de azot heterociclic, confirmând componența complexului $[\text{Fe}(\text{L}-\text{H})_2]\text{NO}_3$ (Jin-Xiu Wang, Xiao-Zeng Li, Li-Na Zhu, Ji-Yao Wang, Hao Qu. Synthesis and Crystal Structure of a Fe(III) Complex with an Isonicotinyl Ligand, $[\text{Fe}(\text{N}-\text{Isonicotinamidosalicylaldimine})\text{Cl}_2]$. J. Chem. Crystallogr., 2010, 40, p. 726-730 DOI 10.1007/s10870-010-9726-6).

Exemplu de obținere a $[\text{Fe}(\text{L-H})_2]\text{NO}_3$

0,4 g izonicotinoilhidrazona 1-fenil-1,3-butandionei se dizolvă în 10 ml metanol. La soluția obținută se adaugă soluția formată din 0,2 g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ dizolvat în 10 ml metanol. Amestecul se încălzește timp de 10 min. Din soluția obținută de culoare neagră cad cristale mărunte de culoare verde-întunecată, care se separă de soluția-mamă prin filtrare, se spală cu metanol și eter dietilic și se usucă la aer.

Se obțin 0,15 g (randamentul reacției este de 44,6%).

Compusul este solubil în cloroform, dimetilformamidă, dimetilsulfoxid, etanol, metanol și insolubil în apă.

Rezultatele analizei elementale pentru $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{N}_7\text{O}_7\text{Fe}$ (M = 678 g):

găsit: C, 57,37; H, 4,31; N, 14,17; calculat: C, 56,64; H, 4,13; N, 14,45.

Exemple de aplicare a compusului $[\text{Fe}(\text{L-H})_2]\text{NO}_3$ în calitate de stimulator al acumulării componentelor fenolice în biomasa microalgei *Porphyridium cruentum*

Exemplul 1

Se prepară mediul mineral nutritiv cu următorul conținut al componentelor (g/L): NaNO_3 - 5,0; NaCl - 7,0; 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; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_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; H_3BO_3 - 0,0006; MoO_3 - 0,00002; NaVO_3 - 0,00005 și apă distilată până la 1litru. În prima zi de cultivare la suspensia de *Porphyridium*, în calitate de stimulator al biosintezei fenolilor, se adaugă compusul $[\text{Fe}(\text{L-H})_2]\text{NO}_3$ 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, iluminarea de 2000...3000 lx/cm², agitare lentă periodică. La ziua a 10-a, biomasa de *Porphyridium* se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării și se standardizează după biomasă. În biomasa obținută se determină conținutul de fenoli cu aplicarea metodei Folin-Ciocalteu.

Biomasa de *Porphyridium* conține 13,9±0,06 (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%.

Exemplul 2

Se prepară mediul mineral nutritiv cu următorul conținut al componentelor (g/L): NaNO_3 - 5,0; NaCl - 7,0; 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; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_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; H_3BO_3 - 0,0006; MoO_3 - 0,00002; NaVO_3 - 0,00005 și apă distilată până la 1L. În prima zi de cultivare la suspensia de *Porphyridium*, în calitate de stimulator al biosintezei fenolilor, se adaugă compusul $[\text{Fe}(\text{L-H})_2]\text{NO}_3$ în concentrație de 0,011 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/cm², agitare lentă periodică. La ziua a 10-a, biomasa de *Porphyridium* se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării și se standardizează după biomasă. În biomasa obținută se determină conținutul de fenoli cu aplicarea metodei Folin-Ciocalteu.

Biomasa de *Porphyridium* conține 14,24±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 20%.

Tabel

Conținutul de fenoli în biomasa de *Porphyridium cruentum*, obținută la cultivare conform procedurii revendicat și celei mai apropiate soluții

Procedeeul utilizat	Concentrația compusului, g/L	Conținutul de fenoli, echivalent mg acid galic /g biomasă
Cea mai apropiată soluție	0,01	10,6-11,8
Conform soluției revendicate	0,01	13,9±0,06
	0,011	14,24±0,04

5 Datele din tabel demonstrează o creștere a conținutului de fenoli în biomasa de
Porphyridium cruentum cu 18...20% conform procedeuului revendicat, față de
procedeuul cel mai apropiat. Biomasa microalgei *Porphyridium cruentum* reprezintă
o sursă modernă de substanțe antioxidante, iată de ce sporul conținutului de fenoli
este un factor al creșterii valorii porfiridului în calitate de producător de
substanțe cu efect antioxidant. Proprietățile compusului $[\text{Fe}(\text{L}-\text{H})_2]\text{NO}_3$ prezintă
interes pentru biotehnologie în calitate de stimulator al biosintezei fenolilor, compuși
cu proprietăți antioxidante, în biomasa microalgei *Porphyridium cruentum*.
10

(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[1-fenil-3-metil-6-(piridinum-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3,5-trien-1,6-diolato- O^1, N^4, O^6]fier(III) nitrat, 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_3 - 5,0; NaCl - 7,0; 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; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_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; H_3BO_3 - 0,0006; MoO_3 - 0,00002; NaVO_3 - 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/cm², cu agitare lentă periodică, **caracterizat prin aceea că** mediul conține suplimentar compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinum-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3,5-trien-1,6-diolato- O^1, N^4, O^6]fier(III) nitrat în concentrație de 0,01...0,011 g/L.

Șef adjunct Direcție Brevete:

IUSTIN Viorel

Șef Secție Examinare:

LEVIȚCHI Svetlana

Examinator:

LUPAȘCU Lucian

