



MD 1672 Z 2023.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1672** (13) **Z**
(51) Int.Cl: *C12N 1/20* (2006.01)
C12N 1/30 (2006.01)
C07C 229/60 (2006.01)
C12R 1/465 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

(21) Nr. depozit: s 2022 0059 (22) Data depozit: 2022.09.08	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2023.02.28, BOPI nr. 2/2023
(71) Solicitant: IP INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE, MD (72) Inventatori: BÎRSA Maxim, MD; BURȚEVA Svetlana, MD; SÎRBU Tamara, MD; GARBUZNEAC Anastasia, MD; ȘEPTIȚCHI Vladimir, MD (73) Titular: IP INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE, MD	

(54) **Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06**

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la biotehnologie, în special la mediile de cultivare a streptomicetelor.

Mediul nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, conform invenției, conține, g/L: făină de porumb 20,0,

2
făină de soia 10,0, glucoză 10,0, NaCl 5,0, CaCO₃ 1,0, acid 4-aminobenzoic 1,37 și apă distilată restul, pH inițial 7,0-7,2.

Rezultatul invenției constă în sporirea sintezei lipidelor cu 32,28 %, fosfolipidelor cu 111,5 % și steridelor cu 366,66 %.

Revendicări: 1

MD 1672 Z 2023.09.30

(54) Nutrient medium for submerged cultivation of *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 strain

(57) Abstract:

1
The invention relates to biotechnology, in particular to nutrient media for cultivation of streptomycetes.

The nutrient medium for submerged cultivation of *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 strain, according to the invention, comprises, g/L: corn flour 20.0, soy flour 10.0, glucose 10.0, NaCl 5.0, CaCO₃ 1.0,

2
4-aminobenzoic acid 1.37, distilled water the rest, initial pH 7.0-7.2.

The result of the invention consists in increasing the synthesis of lipids by 32.28%, phospholipids by 111.5% and sterides by 366.66%.

Claims: 1

(54) Питательная среда для культивирования штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к биотехнологии, в частности к питательным средам для культивирования стрептомицетов.

Питательная среда для глубинного культивирования штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, согласно изобретению, содержит, г/л: муку кукурузную 20,0, муку соевую 10,0,

2
глюкозу 10,0, NaCl 5,0, CaCO₃ 1,0, 4-аминобензойную кислоту 1,37, дистиллированную воду остальное, исходный pH 7,0-7,2.

Результат изобретения заключается в повышении синтеза липидов на 32,28%, фосфолипидов на 111,5% и стеридов на 366,66%.

П. формулы: 1

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

- 5 Invenția se referă la biotehnologie, în special la mediile de cultivare a streptomicetelor.
Este cunoscut mediul pe bază de făină de porumb și făină de soia, folosit la cultivarea streptomicetelor [1]. Dezavantajul acestui mediu constă în asigurarea unui nivel scăzut de sinteză a lipidelor, fosfolipidelor și steridelor.
- 10 În calitate de soluție proximală este mediul nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii *Streptomyces massasporeus* CNMN-36 pe bază de făină de porumb și făină de soia, care conține, g/L: făină de porumb 20,0; făină de soia 10,0; glucoză 10,0; NaCl 5,0; CaCO₃ 1,0 [2].
Dezavantajul acestui mediu constă în asigurarea unui nivel comparativ scăzut de sinteză a lipidelor, fosfolipidelor și steridelor.
- 15 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu nutritiv de cultivare submersă a tulpinii *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, care să asigure sporirea productivității lipidelor, fosfolipidelor și steridelor.
- 20 Esența invenției constă în faptul că se propune un mediu nutritiv optimizat pentru cultivarea submersă a tulpinii *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, timp de 5 zile, ce conține, g/L: făină de porumb 20,0; făină de soia 10,0; glucoză 10,0; NaCl 5,0; CaCO₃ 1,0; acid 4-aminobenzoic 1,37 g/l; apă distilată până la 1 litru; pH inițial – 7,0-7,2, care asigură stimularea sintezei lipidelor, fosfolipidelor și steridelor.
- Rezultatul tehnic al invenției constă în sporirea sintezei lipidelor cu 32,28 %, fosfolipidelor cu 111,5 % și steridelor cu 366,66 %, față de mediul proximal.
- 25 Rezultatul invenției este determinat de acidul 4-aminobenzoic (vitamina B₁₀) suplimentat în mediul nutritiv, care este un stimulator de creștere pentru multe microorganisme capabile să sintetizeze metaboliți necesari la menținerea echilibrului microflorei intestinale (Kim W.G., Ryoo I.J., Park J.S., Yoo I.D. Benzastatins H and I, new benzastatin derivatives with neuronal cell protecting activity from *Streptomyces nitrosporeus*. J. Antibiot., 2001, vol. 54, p. 513-516; Kim W.G., Yoo I.-D. Benzastatin J, a new demethylated derivative of benzastatin B produced by controlled fermentation of *Streptomyces nitrosporeus*. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2002, 12(5), p. 838-840). În cazul streptomicetelor – majorarea biosintezei de lipide, fosfolipide și steride.
- 30 Datele prezentate reprezintă media a 10 probe.
Exemplu de realizare a invenției
- 35 Tulpina *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 a fost cultivată pe mediul cu următoarea componență, g/L: făină de porumb 20,0; făină de soia 10,0; glucoză 10,0; NaCl 5,0; CaCO₃ 1,0 (mediul proximal); mediul proximal + 0,685 g/L acid 4-aminobenzoic (variante I); mediul proximal + 1,37 g/L acid 4-aminobenzoic (variante II); mediul proximal + 2,74 acid 4-aminobenzoic (variante III), apă distilată până la 1 litru.
- 40 Cultivarea are loc în baloane Erlenmeyer (V= 1000 mL) cu 200 mL de mediu, pe agitator la temperatura de 27°C. După 5 zile de cultivare se determină cantitatea lipidelor în biomasă, după metoda cunoscută Folch (Кейтс М. Техника липидологии. Москва, Мир, 1975, p. 146-148), fosfolipidelor și steridelor, determinate pe plăcile de siluol în sistemul hexan - eter dietilic - acid acetic glacial.
- 45 Conform datelor prezentate în Tabel, constatăm că concentrația optimă de acid 4-aminobenzoic suplimentată în mediul nutritiv la care se obțin cele mai mari valori de lipide, fosfolipide și steride este de 1,37 g/L. Valorile indicilor menționați în această variantă au constituit: lipide – 1963,05 mg/L, fosfolipide – 550 mg/L, și steride – 420 mg/L.

Tabel

Dependența productivității *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 de concentrația acidului 4-aminobenzoic în mediul nutritiv

50

Mediul nutritiv	Biomasa	Lipide		Fosfolipide		Steride	
	g/L	mg/L	%	mg/L	%	mg/L	%
Mediul proximal	7,99±1,12	1483,92±190	100	260	100	90	100
Varianta I – Med. proximal + 0,685 g/L acid 4-aminobenzoic	10,91±1,07	1496,49±140	100,84	510	196,1	260	288,88
Varianta II - Med. proximal +	24,99±1,1	1963,05±80	132,28	550	211,5	420	466,66

1,37 g/L acid 4-aminobenzoic							
Varianta III Med. proxim + 2,74 g/L acid 4-aminobenzoic	15,41±0,78	1854,12±120	124,94	530	203,9	300	333,33

Reieșind din rezultatele obținute concludem că mediul nutritiv propus, cu 1,37 g/L de acid 4-aminobenzoic, prezintă avantaje față de mediul proxim, cantitatea lipidelor crește cu 32,28%, cantitatea fosfolipidelor cu 111,5% și cu 366,66% cantitatea steridelor.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Zhou H., Jiang Y., Xu Y.-X., Qian S.-H., Miao L. Research on quorum sensing inhibitory activity and culture condition of a marine *Streptomyces parvulus*. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(10), p. 137-143
2. Братухина А.А. Влияние лиофилизации на биосинтетическую активность *Streptomyces massaporeus* CNMN-36. Buletinul AȘM, Științele vieții, 2007, nr. 3 (303), p. 118-122

(57) Revendicări:

Mediu nutritiv pentru cultivarea submersă a tulpinii *Streptomyces massaporeus* CNMN-Ac-06, care conține, g/L: făină de porumb 20,0, făină de soia 10,0, glucoză 10, 0, NaCl 5,0, CaCO₃ 1,0, acid 4-aminobenzoic 1,37 și apă distilată restul, pH inițial 7,0-7,2.