

Descriere:

Invenția se referă la tulpinile de microorganisme - producătoare de substanțe bioactive, în special la o tulpină de *Porphyridium cruentum*, care poate fi întrebuințată în industria microbiologică, pentru obținerea ficoeretrinei, acizilor grași polinesaturați, în special a celui arahidonic și ecosapentaenic, a polizaharidelor intra- și extracelulare etc.

Este cunoscută tulpina de *Porphyridium cruentum* (1,2,3,4), care se cultivă cu succes pe medii minerale naturale (apă de mare) și artificiale - mediul Gromov nr. 12, prezentându-se ca sursă de substanțe bioactive.

Neajunsul ei constă în productivitate mică - 4-6 g/l biomasă uscată, în cazul unui inoculum de 1 g/l, cantitate mică de proteine - 20% în biomasă uscată către ziua a 7-a de cultivare.

Tulpina propusă de noi, de asemenea, poate fi cultivată pe apă de mare, precum și pe medii minerale artificiale, caracterizându-se prin faptul că această tulpină produce 6 g/l masă celulară uscată și 2 g/l exopolizaharide, pornind de la un inoculum de 0,5 g/l. Masa celulară produsă are următoarea componență biochimică: proteine - 35%, glicerină - 3-4%, lipide generale - 10%, acid arahidonic - 1,5%, acid ecosapentaenic - 1,6%, glucide intracelulare - 15-20%.

Tulpina a fost obținută din cultura algei marine roșii *Porphyridium cruentum*, oferită în anul 1989 de profesorul V.Upitis (or.Riga) prin metoda selecției în mai multe etape pe mediu lichid și agarizat Gromov nr. 12 (3), care conține, în g/l: KCl - 16, NaCl - 12,5, MgSO₄•7H₂O - 2,46, KNO₃ - 1,24, K₂HPO₄-0,496, Ca(NO₃)₂•4H₂O - 0,26, KBr - 0,05, KI - 0,05, microelemente.

Caracterele morfo-culturale ale tulpinii.

La cultivare pe mediu lichid celulele sunt solitare, iar la suprafața lichidului formează pelicule și conglomerate neregulate. Celulele sunt sferice cu diametrul de 6,0-10,0 μm. Nucleul celular are formă rotundă, în celulă este prezent un pirenoid stelat, lamelele căruia formează o rețea. Peretele celular este integral, înconjurat de capsulă polizaharidă. Straturile externe ale capsulei treptat se dizolvă în mediul de cultură, mărindu-i viscozitatea.

Pe mediu agarizat formează colonii regulate de formă rotundă cu diametrul de 2,0-2,5 mm, înconjurată de o aureolă de polizaharide cu grosimea de 1,0-1,5 mm. Pe mediu lichid suspensia de alge are culoare roșie, cu manta brună intensă în caz de iluminare puternică, iar în lipsă de azot și magneziu - cu manta galben-verzuie. Celulele aderează la pereții vasului de cultură, mai ales la contactul cu aerul. La cultivarea în mediu lichid în condiții staționare formează pelicule neregulate.

Caracterele fiziologo-biochimice.

Tulpina crește bine pe mediul mineral cu următoarea componență, în g/l: NaCl - 7, KCl - 7,5, MgSO₄•7H₂O - 1,8, NaNO₃ - 5, K₂HPO₄ - 0,2, Ca(NO₃)₂•4H₂O - 0,15, KBr - 0,04, KI - 0,05; microelemente, în mg/l: FeCl₃ - 27, ZnSO₄ - 0,02, CuSO₄ - 0,05, MnSO₄ - 0,3, H₃BO₃ - 0,6, MoO₃ - 0,02, NaVO₃ - 0,05.

Tulpina se caracterizează printr-o productivitate înaltă. Pe mediu mineral în ziua a 7-a biomasă porfiridiumului atinge 6 g/l masă celulară și până la 2 g/l exopolizaharide.

Tulpina este foarte sensibilă la variația temperaturii.

Pentru cultivarea ei temperatura optimală este în intervalul de 21-26°C. Creșterea algei la temperatură înaltă este urmată de schimbări esențiale în structura și fiziologia algei. Dimensiunile celulelor scad treptat și ajung la 4,0-4,5 μm. Se micșorează și diametrul capsulei mucilaginoase, încetează formarea peliculelor, celulele se depun la fundul vaselor, culoarea devine brună sau brună-galbenă. Mai sus de 35°C divizarea celulelor încetează.

Gradul de puritate a tulpinii.

Tulpina *Porphyridium cruentum* CNN-AROI este extrasă în cultură algologică pură.

La cultivarea în masă poate fi infectată cu alge și cianobacterii. Contaminarea poate fi evitată prin menținerea pH-ului la un nivel slabacid-neutru (6,6-7,0).

Tulpina poate crește fără inhibarea proceselor de divizare în intervalul de pH - 5,2-8,4.

Masa biologică uscată de *Porphyridium* are următoarea compoziție, în %: proteină - 35, glicerină - 3-4, lipide generale - 9-10, acid arahidonic - 1,5, acid ecosapentaenic - 1,6, glucide intracelulare - 15-20.

Efectul tehnic al invenției constă în:

- obținerea unui nivel înalt de productivitate: 6 g/l masă celulară plus 2 g/l exopolizaharide în comparație cu prototipul - 4-6 g/l biomasă uscată;

- obținerea unei cantități considerabile de substanțe biologice active: proteină - 35%, glicerină - 3-4%, lipide generale - 10%, acid arahidonic - 1,5%, acid ecosapentaenic - 1,6%, glucide intracelulare - 15-20%. Prototipul conține doar 20% proteină.

Tulpina *Porphyridium cruentum* CNM-AR 0I se folosește în modul următor.

Exemplul 1.

În vasele de cultură cu volumul de 1l cu mediu mineral lichid cu următoarea componență, în g/l: NaCl - 7, KCl - 7,5, MgSO₄•7H₂O - 1,8, NaNO₃ - 5, K₂HPO₄ - 0,2, Ca(NO₃)₂•4H₂O - 0,15, KBr - 0,04, KI - 0,05; microelemente, pH 6,8-7,0, pregătit pe apă distilată, se introduce inoculat în cantitate de 0,5 g/l masă uscată. Cultivarea se realizează la intensitatea luminii de 12 mii erg/cm²s, la temperatura de 25-26°C.

Productivitatea în ziua a 7-a ajunge la 6 g/l masă celulară și conține: proteine - 35%, glucide - 15%, lipide generale - 9%, acid arahidonic - 1,45%, acid ecosapentaenic - 1,6%.

Exemplul 2.

În vasele de cultură cu volumul de 1l cu mediu mineral lichid cu următoarea componență, în g/l: NaCl - 12, KCl - 16, MgSO₄•7H₂O - 2,5, KNO₃ - 1,26, K₂HPO₄ - 0,49, Ca(NO₃)₂•4H₂O - 0,30, KBr - 0,05, KI - 0,05; microelemente, pH 7,0-7,8, pregătit pe apă distilată, se introduce inoculum în cantitate de 0,5 g/l masă uscată. Cultivarea se efectuează la intensitatea luminii de 10 mii erg/cm²s, la temperatura de 23-24°C.

Productivitatea în ziua a 7-a este de 5,6 g/l masă celulară, și conține: proteine - 20%, glucide - 20%, lipide generale - 10%, acid arahidonic - 1,5%, acid ecosapentaenic - 1,6%.