

Invenția se referă la biotehnologia microbiologică, în special la mediile de cultură pentru cultivarea algei verzi *Haematococcus pluvialis* - sursă de o gamă largă de carotenoizi, în special de β -caroten și astaxantin.

În prezent β -carotenul și astaxantinul sunt carotenoizii de bază, utilizați în calitate de coloranți naturali în industria alimentară și ca remediu bioactiv în industria farmaceutică și cosmetică, datorită proprietăților sale antioxidante, anticancerogene și imunostimulatoare. De asemenea, se utilizează ca supliment nutritiv în acvacultură, gospodăria avicolă și zootehnie [1, 2, 3].

Se cunoaște mediul de cultură pentru alga *Haematococcus pluvialis*, Gromov 6, care conține, în mg/L: KNO_3 - 1000; K_2HPO_4 - 200; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 200; CaCl_2 - 150; NaHCO_3 - 200; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 1,81; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,079; $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 2,63; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 9,3; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - 0,02; EDTA - 3; apă distilată - până la 1 L. [4].

Neajunsul acestui mediu constă în nivelul scăzut al productivității algei (0,5-0,7 g/L biomasă absolut uscată (BAU)) și un conținut scăzut de carotenoizi sumari ($3,504 \pm 0,113\%$ din BAU).

Cel mai apropiat după compoziție și rezultatul obținut este mediul nutritiv Bristol [5], cu următoarea componență (mg/L):

NaNO_3	250
KH_2PO_4	250
NaCl	50
CaCl_2	50
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	150
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,22
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,81
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,08
MoO_3	0,015
H_3BO_3	2,86
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	6,0
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,044
EDTA	1
apă distilată	până la 1L.

Neajunsul acestui mediu constă în lipsa unor cantități echilibrate ale componentelor mediului nutritiv și productivitate scăzută ($0,975 \pm 0,051$ g/L BAU în a 7-a zi de cultivare).

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în propunerea unui mediu nutritiv nou, cu o componență mai echilibrată de constituente chimice, ce asigură o productivitate a algei mai sporită, cu un conținut mai ridicat de carotenoizi sumari.

Esența invenției constă în aceea că se propune un mediu nou pentru cultivarea algei verzi *Haematococcus pluvialis*, care conține: NaNO_3 ; KH_2PO_4 ; NaCl ; CaCl_2 ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; MoO_3 ; H_3BO_3 ; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; EDTA, unde în calitate de sursă de cationi Mo^{6+} se adaugă $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, iar în calitate de sursă de cationi Mn^{2+} se adaugă $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ și suplimentar mediul conține K_2HPO_4 în următorul raport cantitativ al elementelor, mg/L:

NaNO_3	299...302
KH_2PO_4	19,9...20,1
K_2HPO_4	79,9...80,1
NaCl	19,9...20,1
CaCl_2	46,9...47,1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	9,9...10,1
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,099...0,11
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1,49...1,51
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,079...0,081
H_3BO_3	0,29...0,31
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,29...0,31
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	16,9...17,1
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,19...0,21
EDTA	7,4...7,6
apă distilată	până la 1 L

Rezultatul invenției constă în faptul că mediul propus asigură un nivel înalt al productivității culturii de algă - cu 129% față de soluția cea mai apropiată. Cultura de algă crescută pe mediul dat sintetizează cu 2,197% mai mulți carotenoizi sumari în comparație cu soluția cea mai apropiată.

Rezultatul invenției este condiționat de faptul că în mediul nutritiv propus raportul dintre cationii și anionii sărurilor minerale constituente este echilibrat atât cantitativ, cât și calitativ, asigurând optim necesitatea algei *Haematococcus pluvialis* în ele.

Exemplu de realizare a invenției

În baloane cotate se pregătesc mediile nutritive minerale Bristol (soluția cea mai apropiată), cu următoarea componență (mg/L): NaNO_3 - 250; KH_2PO_4 - 250; NaCl - 50; CaCl_2 - 50; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 150; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,22; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 1,81; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,08; MoO_3 - 0,015; H_3BO_3 - 2,86; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 6,0; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - 0,044; EDTA - 1; apă distilată - până la 1 L; și mediul propus în invenție, cu următoarea componență (mg/L): NaNO_3 - 300; KH_2PO_4 - 20; K_2HPO_4 - 80; NaCl - 20; CaCl_2 - 47; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 10; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,1; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - 1,5; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,08; H_3BO_3 - 0,3; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 0,3; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 17,0; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - 0,2; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - 0,2; EDTA - 7,5; apă distilată - până la 1 L. În 5 vase se toarnă câte 0,5 L de mediu nutritiv Bristol, iar în celelalte 5 vase se toarnă câte 0,5 L de mediu nutritiv propus. Se introduce inoculat de algă ce constituie 0,3 g/L calculate față de BAU. Cultivarea se realizează în aceleași condiții, adică la intensitatea luminii 1500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$, temperatura $26 \pm 1^\circ\text{C}$, pH - 6,8-7,0.

În cazul mediului nutritiv Bristol, productivitatea în ziua a 7-a de cultivare a algei *Haematococcus pluvialis* atinge la $0,975 \pm 0,051$ g/L BAU ce conține (în %): proteină - $26,954 \pm 0,023$, clorofile sumare - $1,124 \pm 0,011$, carotenoizi sumari - $4,907 \pm 0,013$.

În cazul utilizării mediului nutritiv propus, productivitatea algei studiate în ziua a 7-a de cultivare ajunge la 2,234 g/L BAU, ce conține (în %): proteină - $27,235 \pm 0,009$, clorofile sumare - $1,103 \pm 0,020$, carotenoizi sumari - $7,824 \pm 0,023$.