

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la microbiologie, și poate fi utilizată pentru obținerea carotenoidelor.

În condiții favorabile de dezvoltare alga respectivă conține în componența sa carotenoida  $\beta$ -caroten, iar în condiții nefavorabile de dezvoltare  $\beta$ -carotenul se transformă în astaxantină.

Actualmente  $\beta$ -carotenul și astaxantina au o întrebuințare largă în industria alimentară, microbiologică, farmaceutică și cosmetică. Pe lângă acestea, ele se folosesc ca supliment nutritiv la creșterea animalelor [1].

Cel mai apropiat după esență și rezultatul obținut este procedeul de obținere a biomasei algei verzi *H. pluvialis* pe mediul nutritiv cu următoarea componență, mg/L:  $\text{NaNO}_3$  - 299...300;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 19,9...20,1;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 79,9...80,1;  $\text{NaCl}$  - 19,9...20,1;  $\text{CaCl}_2$  - 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;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  - 0,29...0,31;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  - 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; inoculatul de algă constituie 0,3 g/L în recalcul la biomasa absolut uscată. Cultivarea se realizează la intensitatea iluminării de 1500 lx, temperatura de 24...27°C, pH 6,8...7,0 [2].

Dezavantajul acestui procedeu constă în faptul că condițiile de cultivare menționate ale algei *H. pluvialis* nu asigură o productivitate înaltă și în conținut sporit de  $\beta$ -caroten în componența ei, adică biomasa absolut uscată constituie  $2,7 \pm 0,1$  g/L, iar conținutul brut final de  $\beta$ -caroten -  $70,3 \pm 0,9$  mg/L.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui procedeu nou de obținere a biomasei algei *Haematococcus pluvialis*, ce ar asigura un nivel înalt al productivității și ar garanta sporirea conținutului brut final de  $\beta$ -caroten în biomasă.

Esența invenției constă în aceea că se propune un procedeu de obținere a biomasei algei verzi *Haematococcus pluvialis* care include: pregătirea mediului nutritiv pe bază de apă distilată cu următoarea componență, mg/L:  $\text{NaNO}_3$  - 299...300;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 19,9...20,1;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 79,9...80,1;  $\text{NaCl}$  - 19,9...20,1;  $\text{CaCl}_2$  - 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;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  - 0,29...0,31;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  - 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. Inoculatul de algă constituie 0,3 g/L în recalcul la biomasa absolut uscată. Cultivarea se realizează la intensitatea iluminării de 1500 lx, temperatura de 24...26°C, pH 6,8...7,0, unde suplimentar la mediul nutritiv în a doua zi de cultivare se adaugă compusul tetranorditerpenic 9-episclareolidă ( $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_2$ ) în cantitate de 0,025...0,075 g/L.

Rezultatul invenției constă în faptul că procedeul propus asigură o productivitate sporită a *H. pluvialis* -  $3,3 \pm 0,2$  g/L biomasă absolut uscată față de cea mai apropiată soluție -  $2,7 \pm 0,1$  g/L, și un conținut brut final sintetizat de  $\beta$ -caroten -  $86,1 \pm 2,0$  mg/L față de  $70,0 \pm 0,9$  mg/L (soluția cea mai apropiată).

Rezultatul invenției este condiționat de prezența tetranorditerpenic 9-episclareolidei în mediul nutritiv la cultivarea algei *H. pluvialis*. Terpenoida respectivă este inclusă ușor în metabolismul algei datorită structurii sale chimice și a echipamentului enzimatic constituent al algei. Proprietățile și procedeul de obținere a compusului tetranorditerpenic 9-episclareolidă sunt descrise în Dragalin I., Dragalin A., Vlad P. Regruparea norambreinolidei catalizate cu sulfocationit în xilen// Analele științifice ale USM, seria "Științe chimico-biologice". Chișinău, 2001, p. 230-231, unde se menționează că din produsul reacției a fost separată  $\gamma$ -lactona, p. t.  $132,5-133,5^\circ\text{C}$  cu un randament de 21%, identificată ca 9-episclareolidă.

#### *Exemplu de realizare a invenției*

Se iau 5 vase cu volumul de 1 L, în care se toarnă câte 0,5 L mediu nutritiv pregătit pe bază de apă distilată cu următoarea componență în mg/L:  $\text{NaNO}_3$  - 300;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 20;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 80;  $\text{NaCl}$  - 20,  $\text{CaCl}_2$  - 47,4;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 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;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  - 0,3;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  - 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; EDTA - 7,5; apă distilată - până la 1 L. Inoculatul de algă cantitatea căruia constituie 0,3 g/L în recalcul la biomasă absolut uscată se introduce în mediul proaspăt pregătit. Cultivarea algelor se realizează la intensitatea iluminării de 1500 lx; temperatura de  $24 \dots 26^\circ\text{C}$ , pH 6,8...7,0, timp de 7 zile, iar suplimentar la mediul nutritiv, în a doua zi de cultivare, se adaugă compusul tetranorditerpenic 9-episclareolidă în cantitate de 0,05 g/L.

La a 7-a zi de cultivare se determină cantitatea biomasei de algă (în g/L) utilizând metoda fotocolorimetrică. După aceasta biomasă algei se aduce la concentrația de 10 mg/ml (reieșind de calculul la volumul necesar), prin centrifugare și aducere la volumul respectiv cu apă distilată, apoi se supune analizelor biochimice necesare. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul de mai jos.

Tabel

Productivitatea algei *H. pluvialis*

Nr.	Procedeu de cultivare	Biomasa absolut uscată inițială (g/L)	Biomasa absolut uscată finală (g/L)	Conținutul brut final de $\beta$ -caroten (mg/L)
1.	Procedeu conform soluției celei mai apropiate	0,3	2,7 $\pm$ 0,1	70,0 $\pm$ 0,9
2.	Procedeu propus în invenție	0,3	3,3 $\pm$ 0,2	86,1 $\pm$ 2,0

Datele în tabel demonstrează eficacitatea utilizării procedurii propus în scopul obținerii unei productivități înalte a algei *H. pluvialis* și a unui conținut sporit de  $\beta$ -caroten în biomasă, respectiv 3,3 $\pm$ 0,2 g/L biomasă absolut uscată și 86,1 $\pm$ 2,0 mg/L conținut brut final de  $\beta$ -caroten.