

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis*, care reprezintă o sursă de ficobiliproteine și carotenoizi, folosiți în industria farmaceutică și alimentară precum, și în cosmetologie.

Este cunoscut un procedeu de cultivare a spirulinei, care prevede utilizarea mediului de cultivare cu următoarea compoziție (g/L): Na_2CO_3 – 9,00...12,00; $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ – 0,16...0,24; NaNO_3 – 0,48...0,72; KCl – 0,08...0,12; $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ – 0,22...0,32; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,064...0,096; NaCl – 1,44...2,20; H_3BO_3 – 0,0028; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,00181; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,00022; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,00008; MoO_3 – 0,000015; NH_4VO_3 – 0,000023; $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4) \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ – 0,000096; $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,0000479; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,000044; în calitate de sursă de fier – citratul amoniacal de fier – 0,008...0,012; apă de robinet – până la 1 L; cultivarea în regim de acumulare timp de 10 zile, pH-ul mediului 8...9, temperatura $35 \pm 1^\circ\text{C}$, iluminarea de 80 W/m² [1].

Dezavantajul acestui procedeu constă în durata îndelungată a procesului de cultivare (10 zile) pentru o productivitate a spirulinei de $1,4 \pm 1,6$ g/L.

Mai este cunoscut un procedeu de cultivare a spirulinei, în care se utilizează mediul nutritiv modificat Zarrouk cu următoarea compoziție, g/L: NaHCO_3 – 16,8; K_2HPO_4 – 0,1; KNO_3 – 3,75; NaCl – 1,0; K_2SO_4 – 3,75; CaCl_2 – 0,04; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,7; $\text{Fe}(\text{Lis})_2$ – 0,001...0,01; H_3BO_3 – 0,00286; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,00181; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,00022; MoO_3 – 0,000015, apă de robinet – până la 1 L; cultivarea în regim de acumulare, iluminarea 15...24 mii erg/cm², temperatura $35 \pm 1^\circ\text{C}$, pH-ul optim al mediului 9,5...10,0 [2].

Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea că mediul utilizat nu asigură o productivitate înaltă și nu permite obținerea unei biomase cu un conținut mai sporit de carotenoizi și ficobiliproteine.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în elaborarea unui procedeu de cultivare a spirulinei care asigură sporirea productivității ei, contribuind și la ameliorarea calității ei prin sporirea conținutului de carotenoizi și de ficobiliproteine.

Esența invenției constă în aceea că se propune un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis*, care include inocularea și cultivarea acesteia pe un mediu nutritiv cu următorul raport al ingredientelor, g/L de apă: NaHCO_3 – 16,8, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; NaNO_3 – 2,5; NaCl – 1,0; K_2SO_4 – 1,0; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,04; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,20; H_3BO_3 – 0,00286; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,00181; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,00022; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,00008; MoO_3 – 0,000015. La a treia zi de cultivare în acest mediu se adaugă unul dintre compușii coordinativi: azotat de hexa- μ -glicinato(O,O')- μ 3-oxotriacvotrițier(III)trihidrat - $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Gly})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; de hexa- μ -treoninato(O,O')- μ 3-oxotriacvotrițier(III)- $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Tre})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3$ sau de hexa- μ -alaninato(O,O')- μ 3-oxotriacvotrițier(III)tetrahidrat - $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Ala})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ în cantitate de 5...10 mg/L, totodată cultivarea se efectuează timp de 6 zile la temperatura de 30...35°C, la iluminarea de 3000...4000 lx.

Noutatea invenției constă în aceea că se propune un procedeu de cultivare a spirulinei, conform căruia în mediu la a treia zi de cultivare se adaugă unul din compușii coordinativi: $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Gly})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Tre})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3$ sau $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Ala})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

Rezultatul invenției constă în:

- asigurarea unei majorări a productivității spirulinei de 1,2...1,25 ori;
- sporirea conținutului de ficobiliproteine de 1,84...2,1 ori;
- sporirea conținutului de carotenoizi de 1,14...1,52 ori

în comparație cu cea mai apropiată soluție.

Rezultatul obținut se datorează faptului că compușii coordinativi utilizați: $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Gly})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Tre})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3$, $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Ala})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, fiind compuși trinucleari ce conțin 3 atomi de fier și 6 molecule de aminoacid, influențează asupra activității enzimelor care intensifică procesul de fotosinteză și respectiv crește productivitatea. Carbonul organic care intră în componența aminoacidului inclus în compusul utilizat sporește sinteza acetil CoA, care și intensifică procesul de ficobilinogeneză și de carotenogeneză.

Aminoacizii pot servi și la sinteza aminoacizilor de novo, care sunt incluși în moleculele de ficobiliproteine.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea compoziție (g/L): NaHCO_3 – 16,8; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; NaNO_3 – 2,5; NaCl – 1,0; K_2SO_4 – 1,0; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,04; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,20; H_3BO_3 – 0,00286; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,00181; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,00022; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,00008; MoO_3 – 0,000015; apă de robinet până la 1 L. Se introduce suspensia de spirulină în cantitate de 0,4...0,45 g/L. Cultura de spirulină se transferă cantitativ (câte 500 mL) în retorte Erlenmayer cu volumul de 1 L. Cultivarea se desfășoară timp de 6 zile, respectând temperatura de 30°C și iluminarea de 3000 lx în primele 2 zile ale cultivării. În ziua a 3-a la cultura de spirulină se suplimentează $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Gly})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ în cantitate de 0,005 g/L. Pentru următoarele zile ale cultivării se menține temperatura de 35°C și iluminarea de 4000 lx. În ziua a 6-ea se determină productivitatea, după care cultura de spirulină se separă de lichidul cultural prin filtrare, iar în biomasa obținută se determină conținutul de ficobiliproteine și carotenoizi.

Productivitatea spirulinei în ziua a cincea este de 1,86 g/L biomasă absolut uscată. Biomasa de spirulină conține 21,68% ficobiliproteine și 1,24% carotenoizi.

Exemplul 2

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea compoziție (g/L): NaHCO_3 – 16,8; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; NaNO_3 – 2,5; NaCl – 1,0; K_2SO_4 – 1,0; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,04; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,20; H_3BO_3 – 0,00286; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,00181; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,00022; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,00008; MoO_3 – 0,000015; apă de robinet până la 1 L. Se introduce suspensia de spirulină în cantitate de 0,4...0,45 g/L. Cultura de spirulină se transferă cantitativ (câte 500 mL) în retorte Erlenmayer cu volumul

de 1 L. Cultivarea se desfășoară timp de 6 zile, respectând temperatura de 30°C și iluminarea de 3000 lx în primele 2 zile ale cultivării. În ziua a 3-a la cultura de spirulină se suplimentează 0,01 g/L $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Tre})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3$. Pentru următoarele zile ale cultivării se stabilește temperatura de 35°C și iluminarea de 4000 lx. În ziua a 6-ea se determină productivitatea, după care cultura de spirulină se separă de lichidul cultural prin filtrare, iar în biomasa obținută se determină conținutul de ficobiliproteine și carotenoizi.

Productivitatea culturii la ziua a șasea este de 1,87 g/L biomasă absolut uscată. Biomasa de spirulină conține 19,01% ficobiliproteine și 1,20% carotenoizi.

Exemplul 3

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea compoziție (g/L): NaHCO_3 – 16,8; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; NaNO_3 – 2,5; NaCl – 1,0; K_2SO_4 – 1,0; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,04; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,20; H_3BO_3 – 0,00286; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,00181; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,00022; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,00008; MoO_3 – 0,000015; apă de robinet până la 1 L. Se introduce suspensia de spirulină în cantitate de 0,4...0,45 g/L. Cultura de spirulină se transferă cantitativ (câte 500 mL) în retorte Erlenmayer cu volumul de 1 L. Cultivarea se desfășoară timp de 6 zile, respectând temperatura de 30°C și iluminarea de 3000 lx în primele 2 zile ale cultivării. În ziua a 3-a la cultura de spirulină se suplimentează 0,01 g/L $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Ala})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Pentru următoarele zile ale cultivării se stabilește temperatura de 35°C și iluminarea de 3000 lx. În ziua a 6-ea se determină productivitatea, după care cultura de spirulină se separă de lichidul cultural prin filtrare, iar în biomasa obținută se determină conținutul de ficobiliproteine și carotenoizi.

Productivitatea culturii în ziua a șasea este de 1,92 g/L biomasă absolut uscată. Biomasa de spirulină conține 21,06% ficobiliproteine și 1,60% carotenoizi.

Tabel

Unele caracteristici ale biomasei obținute la cultivarea *Spirulina platensis*

Procedul utilizat	Compusul coordinativ	Concentrația, g/L	Productivitatea, g/L	Ficobiliproteine, % din biomasă	Carotenoizi, % din biomasă
Conform celei mai apropiate soluții	Fe(Lis)2	0,001	1,454±0,06	10,32	1,05±0,05*
		0,010	1,237±0,05	1,21	0,50±0,01
Conform soluției propuse în invenție	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Gly})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0,005	1,86±0,07	21,68±0,58	1,24±0,032
		0,010	1,87±0,04	19,01±0,20	1,20±0,018
		0,010	1,92±0,04	21,06±0,09	1,60±0,052

Notă: *Productivitatea și conținutul de carotenoizi au fost determinate în condiții experimentale conform celei mai apropiate soluții.

Datele tabelului atestă creșterea productivității de 1,2...1,25 ori, sporirea conținutului de ficobiliproteine de 1,84...2,1 ori și a conținutului de carotenoizi de 1,14...1,52 ori în procedul propus în invenție față de procedul din cea mai apropiată soluție.