

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis*.

Este cunoscut procedeu de cultivare a spirulinei pe mediul nutritiv Zarrouk cu următoarea componență: $\text{NaHCO}_3 - 16,0$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - 0,5$, $\text{KNO}_3 - 3,75$, $\text{NaCl} - 1,0$, $\text{K}_2\text{SO}_4 - 5,0$, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,70$, $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,00022$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$, $\text{MoO}_3 - 0,000015$, $\text{FeSO}_4 - 0,024$, $\text{EDTA} - 0,24$ în decurs de 10...12 zile [1]. Dezavantajul acestui procedeu este perioada îndelungată de cultivare și prețul ridicat al mediului nutritiv utilizat.

Mai este cunoscut procedeu de cultivare a spirulinei pe mediul nutritiv modificat. Acest procedeu include prepararea mediului de cultivare cu următoarea compoziție, g/L: $\text{NaHCO}_3 - 16,8$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - 0,5$, $\text{NaNO}_3 - 2,5$, $\text{NaCl} - 1,0$, $\text{K}_2\text{SO}_4 - 0,5$, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$, $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,00022$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$, $\text{MoO}_3 - 0,000015$, $\text{FeSO}_4 - 0,001$, $\text{EDTA} - 0,08$, inocularea spirulinei (0,04 g/L), cultivarea ei la iluminarea de 15...24 mii erg/cm^2 și temperatura de $35 \pm 1^\circ\text{C}$ [2].

Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea că mediul utilizat și condițiile de cultivare nu asigură o productivitate înaltă (1,4...1,5 g/L) și nu permite obținerea unei biomase cu un conținut mai sporit de aminoacizi (2,5...3,2%) și peptide (3,5...5,5%).

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în elaborarea unui procedeu de cultivare a spirulinei care asigură sporirea productivității ei, precum și a conținutului de aminoacizi și peptide.

Procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* include însămânțarea spirulinei pe un mediu nutritiv, ce conține următoarele componente, g/L: $\text{NaHCO}_3 - 16,80$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - 0,50$, $\text{NaNO}_3 - 2,50$, $\text{NaCl} - 1,00$, $\text{K}_2\text{SO}_4 - 0,50$, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$, $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$, $\text{MoO}_3 - 0,000015$, $\text{FeSO}_4 - 0,01$, $\text{EDTA} - 0,08$ și apă; cultivarea ei la iluminare de 15...24 mii erg/cm^2 și temperatura de $35 \pm 1^\circ\text{C}$, adăugarea la a treia zi de cultivare în mediul nutritiv a unuia din compușii coordinați: $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, $[\text{Zn}(\text{CH}_2\text{ClCOO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, $[\text{Zn}(\text{CH}_2\text{BrCOO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, $[\text{Zn}(\text{CHBr}_2\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, $[\text{Zn}(\text{CCl}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, $[\text{Zn}(\text{CBr}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, după ce cultivarea se efectuează încă trei zile.

Rezultatul invenției constă în creșterea productivității spirulinei și în sporirea conținutului de peptide și aminoacizi în biomasă.

Rezultatul obținut se datorează disocierii compușilor coordinați utilizați și formării ionilor de Zn^{2+} , care influențează activitatea enzimelor zinccomponente, unele dintre care efectuează procesul de hidroliză a proteinelor, iar ligandul reprezentat prin unul din derivații halogenoacetați, care sunt incluși în unele căi metabolice aparte, conduce la sporirea conținutului de aminoacizi și peptide. Majorarea productivității poate fi explicată și prin participarea acetatului sau halogenoacetatului din compusul coordinațiv la sinteza acetyl CoA, care și intensifică procesul de fotosinteză și alte procese care se desfășoară în celulele spirulinei.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea componență (g/L): $\text{NaHCO}_3 - 16,8$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - 0,5$, $\text{NaNO}_3 - 2,5$, $\text{NaCl} - 1,0$, $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$, $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$, $\text{MoO}_3 - 0,000015$, $\text{FeSO}_4 - 0,001$, $\text{EDTA} - 0,08$.

La mediul preparat se adaugă suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,40...0,45 g/L.

Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 250 ml în 100 ml suspensie la temperatura de $35 \pm 1^\circ\text{C}$ și iluminarea de 15...24 mii erg/cm^2 , s.

În a treia zi de cultivare se adaugă $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}] - 0,010$ g/L, cultivarea continuă încă 3 zile cu respectarea parametrilor descriși mai sus, după care la ziua a șasea se determină productivitatea și conținutul de aminoacizi și peptide.

Productivitatea culturii de *S. platensis* în ziua a șasea este de 1,93 g/L biomasă absolut uscată. Ea conține 5,0% de aminoacizi și 9,55% de peptide.

Exemplul 2

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea componență (g/L): $\text{NaHCO}_3 - 16,8$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - 0,5$, $\text{NaNO}_3 - 2,5$, $\text{NaCl} - 1,0$, $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$, $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$, $\text{MoO}_3 - 0,000015$, $\text{FeSO}_4 - 0,001$, $\text{EDTA} - 0,08$.

La mediul preparat se adaugă suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,40...0,45 mL.

Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 250 ml în 100 ml suspensie la temperatura de $35 \pm 1^\circ\text{C}$ și iluminarea de 15...24 mii erg/cm^2 , s.

În a treia zi de cultivare se adaugă $[\text{Zn}(\text{CH}_2\text{ClCOO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}] - 0,015$ g/L, cultivarea continuă încă 3 zile cu respectarea parametrilor descriși mai sus, după care în ziua a șasea se determină productivitatea și conținutul de aminoacizi și peptide.

Productivitatea culturii de *S. platensis* în ziua a șasea este de 2,01 g/L biomasă absolut uscată. Ea conține 8,07% de aminoacizi și 9,15% de peptide.

Exemplul 3

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea componență (g/L): $\text{NaHCO}_3 - 16,8$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - 0,5$, $\text{NaNO}_3 - 2,5$, $\text{NaCl} - 1,0$, $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$, $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$, $\text{MoO}_3 - 0,000015$, $\text{FeSO}_4 - 0,001$, $\text{EDTA} - 0,08$.

La mediul preparat se adaugă suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,40...0,45 g/L.

Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 250 ml în 100 ml suspensie la temperatura de $35\pm 1^\circ\text{C}$ și iluminarea de $15\text{...}24$ mii erg/cm^2 , s.

În ziua a treia se adaugă $[\text{Zn}(\text{CCl}_3\text{COO})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}] - 0,015$ g/L, cultivarea continuă încă 3 zile cu respectarea parametrilor descriși mai sus, după care în ziua a șasea se determină productivitatea și conținutul de aminoacizi și peptide.

Productivitatea culturii de *S. platensis* în ziua a șasea este de 2,06 g/L biomasă absolut uscată. Ea conține 6,41% de aminoacizi și 9,48% de peptide.

Exemplul 4

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea componență (g/L): $\text{NaHCO}_3 - 16,8$, $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O} - 0,5$, $\text{NaNO}_3 - 2,5$, $\text{NaCl} - 1,0$, $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$, $\text{CaCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$, $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$, $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$, $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$, $\text{MoO}_3 - 0,000015$, $\text{FeSO}_4 - 0,001$, $\text{EDTA} - 0,08$.

La mediul preparat se adaugă suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,40...0,45 g/L.

Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 250 ml în 100 ml suspensie la temperatura de $35\pm 1^\circ\text{C}$ și iluminarea de $15\text{...}24$ mii erg/cm^2 , s.

În ziua a treia se adaugă $[\text{Zn}(\text{CH}_2\text{BrCOO})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}] - 0,015$ g/L, cultivarea continuă încă 3 zile cu respectarea parametrilor descriși mai sus, după care în ziua a șasea se determină productivitatea și conținutul de aminoacizi și peptide.

Productivitatea culturii de *S. platensis* în ziua a șasea este de 1,76 g/L biomasă absolut uscată. Ea conține 5,18% de aminoacizi și 10,96% de peptide.

Exemplul 5

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea componență (g/L): $\text{NaHCO}_3 - 16,8$, $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O} - 0,5$, $\text{NaNO}_3 - 2,5$, $\text{NaCl} - 1,0$, $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$, $\text{CaCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$, $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$, $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$, $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$, $\text{MoO}_3 - 0,000015$, $\text{FeSO}_4 - 0,001$, $\text{EDTA} - 0,08$.

La mediul preparat se adaugă suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,40...0,45 g/L.

Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 250 ml în 100 ml suspensie la temperatura de $35\pm 1^\circ\text{C}$ și iluminarea de $15\text{...}24$ mii erg/cm^2 , s.

În ziua a treia se adaugă $[\text{Zn}(\text{CHBr}_2\text{COO})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}] - 0,015$ g/L, cultivarea continuă încă 3 zile cu respectarea parametrilor descriși mai sus, după care în ziua a șasea se determină productivitatea și conținutul de aminoacizi și peptide.

Productivitatea culturii de *S. platensis* în ziua a șasea este de 1,72 g/L biomasă absolut uscată. Ea conține 6,42% de aminoacizi și 9,48% de peptide.

Exemplul 6

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea componență (g/L): $\text{NaHCO}_3 - 16,8$, $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O} - 0,5$, $\text{NaNO}_3 - 2,5$, $\text{NaCl} - 1,0$, $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$, $\text{CaCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$, $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$, $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$, $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$, $\text{MoO}_3 - 0,000015$, $\text{FeSO}_4 - 0,001$, $\text{EDTA} - 0,08$.

La mediul preparat se adaugă suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,40...0,45 g/L.

Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 250 ml în 100 ml suspensie la temperatura de $35\pm 1^\circ\text{C}$ și iluminarea de $15\text{...}24$ mii erg/cm^2 , s.

În ziua a treia se adaugă $[\text{Zn}(\text{CB}_3\text{COO})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}] - 0,015$ g/L, cultivarea continuă încă 3 zile cu respectarea parametrilor descriși mai sus, după care în ziua a șasea se determină productivitatea și conținutul de aminoacizi și peptide.

Productivitatea culturii de *S. platensis* în ziua a șasea este de 1,79 g/L biomasă absolut uscată. Ea conține 3,92% de aminoacizi și 10,53% de peptide.

Tabel

Productivitatea și conținutul de aminoacizi și peptide în biomasă *Spirulina platensis*

Procedeeul utilizat	Compusul	Concentrația, g/L	Productivitate a, g/L B.A.U.	Aminoacizi, % din biomasă	Peptide, % din biomasă
Conform celei mai apropiate soluții	$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,00022	$1,55\pm 0,05$	$3,17\pm 0,06$	$5,50\pm 0,13$
Conform invenției	$[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$	0,010	$1,93\pm 0,02$	$5,00\pm 0,02$	$9,55\pm 0,33$
	$[\text{Zn}(\text{CH}_2\text{ClCOO})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$	0,015	$2,01\pm 0,02$	$8,07\pm 0,03$	$9,15\pm 0,15$
	$[\text{Zn}(\text{CCl}_3\text{COO})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$	0,015	$2,06\pm 0,06$	$6,41\pm 0,09$	$9,48\pm 0,43$
	$[\text{Zn}(\text{CH}_2\text{BrCOO})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$	0,015	$1,76\pm 0,01$	$5,18\pm 0,03$	$10,96\pm 0,13$
	$[\text{Zn}(\text{CHBr}_2\text{COO})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$	0,015	$1,72\pm 0,02$	$6,42\pm 0,14$	$9,48\pm 0,44$
	$[\text{Zn}(\text{CB}_3\text{COO})_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$	0,015	$1,79\pm 0,01$	$3,92\pm 0,13$	$10,53\pm 0,15$

Datele din tabel relevă faptul că pentru cianobacteria cultivată conform procedurii produsă a crescut productivitatea spirulinei de 1,10...1,33 ori, conținutul de aminoacizi de 1,7...2,0 ori, iar conținutul de peptide de 1,24...2,55 ori în comparație cu rezultatele obținute în cea mai apropiată soluție.

Astfel, procedeul propus conform invenției asigură obținerea unei biomase de *Spirulina platensis* de o calitate înaltă și cu un conținut sporit de aminoacizi și peptide.