

Invenția se referă la ficobiotehnologie, în particular la un procedeu de obținere a biomasei cianobacteriei *Spirulina platensis* cu un conținut sporit de fier – sursă de produse nutriționale, inclusiv forme medicamentoase antianemice utilizate în industria ficobiotehologică, industria alimentară, farmaceutică, medicina clinică și experimentală.

Fierul este un element esențial pentru organismul uman. Insuficiența lui duce la anemie. Fierul anorganic nu poate fi absorbit atât de ușor ca fierul organic. Deoarece fierul din surse organice este mai bine asimilat, utilizarea lui este mai avantajoasă și mai eficientă.

Este cunoscut un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* cu un conținut sporit de ficobiliproteine și carotenoizi care include inocularea și cultivarea acestora pe un mediu nutritiv, conținând în g/L de apă:  $\text{NaHCO}_3 - 16,8$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - 1,0$ ,  $\text{NaNO}_3 - 2,5$ ,  $\text{NaCl} - 1,0$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,00022$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$ ,  $\text{MoO}_3 - 0,000015$  și unul din compușii coordinativi: azotat de hexa- $\mu$ -glicinato( $\text{O},\text{O}'$ )- $\mu_3$ -oxo-triacvotri fier(III)trihidrat-  $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Gly})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , hexa- $\mu$ -treoninato( $\text{O},\text{O}'$ )- $\mu_3$ -oxo-triacvotri fier(III)-  $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Tre})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3$  sau hexa- $\mu$ -alaninato ( $\text{O},\text{O}'$ )- $\mu_3$ -oxo-triacvotri fier(III)tetrahidrat- $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Ala})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , care se adaugă la mediu la a treia zi de cultivare în concentrație de 5...10mg/l, totodată cultivarea se efectuează 5...6 zile la temperatura 30...35° C la iluminarea 3000...4000Ix [1].

Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea, că cultivarea spirulinei pe mediul dat conform parametrilor descriși, deși utilizarea în calitate de sursă de fier a unuia din compușii menționați nu permite obținerea unei biomase de spirulină cu un conținut sporit de acest bioelement ca parte componentă efectivă – sursă de produse nutriționale, inclusiv forme medicamentoase fierocomponente antianemice. Compusul coordinativ este utilizat la a treia zi de cultivare în concentrații de 5-10 mg/l în scopul obținerii biomasei cu un conținut sporit de ficobiliproteine și carotenoizi și sursa de fier este inclusă pentru procesul de sinteză a acestor substanțe și nu pentru asigurarea unui conținut sporit al fierului în biomasă.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în elaborarea unui procedeu de obținere a biomasei de spirulină cu un conținut sporit de fier ca parte componentă, sursă de produse nutriționale, inclusiv forme medicamentoase fierocomponente antianemice.

Esența invenției constă în aceea că se propune un procedeu de obținere a biomasei de *Spirulina platensis*, care include: prepararea mediului de nutriție cu următoarea compoziție, (g/l):

$\text{NaHCO}_3 - 16,8$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - 1,0$ ,  $\text{NaNO}_3 - 2,5$ ,  $\text{NaCl} - 1,0$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,04$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,00022$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$ ,  $\text{MoO}_3 - 0,000015$ , apă și sursă de fier, inocularea spirulinei (0,4 g/l) și cultivarea ei în decurs de 6 zile în regim de acumulare la o iluminare de 3-4,8 mii luși, temperatura 30° – 35° C, pH optim al mediului – 9,5 – 10,0, unde în calitate de sursă de fier este utilizat compusul coordinativ  $[\text{Fe}_2\text{MgO}(\text{CCl}_3\text{COO})_6(\text{THF})_3]$ , care se adaugă la mediu în concentrații de 0,040 – 0,050 g/l în rate:  $\frac{1}{2}$  în prima zi de cultivare și  $\frac{1}{2}$  în a treia zi de cultivare.

Rezultatul tehnic obținut în comparație cu cea mai apropiată soluție constă în sporirea conținutului de fier în biomasă de spirulină de 3,8 – 5,7 ori.

Rezultatul tehnic obținut se datorează faptului că ligandul din compusul coordinativ utilizat al Fe este inclus eficient în fracțiile de aminoacizi liberi, peptide, proteine și proteide, glucide, iar fierul.. – prin mecanisme de absorbție și includere legate de prezența unor chelatori din rândul unor constituenți majori ai biomasei, care prin grupele funcționale de o reactivitate chimică pronunțată ( $\text{COO}^-$ ,  $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{SH}$ ,  $\text{S-S-}$ ,  $\text{OH}$ ), grupele alcoolilor primari și secundari, cetogrupele, devin liganzi intracelulari eficienți pentru fier. Putem presupune că în procesul de cultivare a spirulinei, acumularea acestui bioelement, semnificativ pentru procesele vieții are loc în baza unui mecanism de absorbție ionică pe contul transportului activ de asemenea se pot implica și unele mecanisme realizate de sistemele energetice fermentative și de absorbție, legate de membrane și biocationi. Acest mecanism implică și stereospecificitatea unor enzime membranare, activate de către ionii de  $\text{Fe}^{3+}$ , precum și unele grupe speciale de transportatori membranari (ionofori feric specifici - siderofori) capabili de a extrage ionii de fier din mediul nutritiv și de a-l transporta în interiorul celulei.

Sinteza compusului coordinativ  $[\text{Fe}_2\text{MgO}(\text{CCl}_3\text{COO})_6(\text{THF})_3]$  s-a efectuat conform descrierii [2].

Exemplu de realizare a invenției

Se prepară mediul mineral nutritiv cu următoarea componentă g/l:  $\text{NaHCO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - 16,8$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - 1,0$ ,  $\text{NaNO}_3 - 2,5$ ,  $\text{NaCl} - 1,0$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 0,04$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,20$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00022$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$ ,  $\text{MoO}_3 - 0,000015$ . La mediul preparat se adaugă suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,40 g/l. La mediul preparat ce conține suspensia de spirulină, în calitate de sursă de fier se suplimentează  $\frac{1}{2}$  (0,025 g/l)  $[\text{Fe}_2\text{MgO}(\text{CCl}_3\text{COO})_6(\text{THF})_3]$ .

Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmeyer a câte 250 ml cu 100 ml suspensie în următoarele condiții: 4 mii luși, temperatura 32° C, pH-ul mediului de cultivare: 8-9 în primele 3 zile ale cultivării. În a treia zi de cultivare se adaugă restul cantității de  $[\text{Fe}_2\text{MgO}(\text{CCl}_3\text{COO})_6(\text{THF})_3] - 0,025$  g/l, cultivarea este continuată pe parcursul a trei zile cu respectarea parametrilor: 4,8 mii luși, la: temperatura de 35°C, pH-9-10.

La ziua a șasea biomasa se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării de surplusul de săruri, utilizând în acest scop o soluție de acetat de amoniu de 1,5% și se determină cantitatea de fier.

Biomasa obținută conține 1020mg% fier și poate fi utilizată drept sursă pentru obținerea unor produse nutriționale, inclusiv forme medicamentoase antianemice.

## Tabel

Conținutul fierului în biomasa *Spirulina platensis* la cultivarea conform procedurii propusă în invenție și celui din soluția cea mai apropiată

Procedura utilizată	Compusul	Concentrația	Conținutul fierului în biomasa de spirulină, %
Conform soluției celei mai apropiate	$\text{Fe}_3\text{O}(\text{Ala})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,05 0,010	$0,178 \pm 0,01$ $0,293 \pm 0,02$
Conform soluției propuse în invenție	$[\text{Fe}_2\text{MgO}(\text{CCl}_3\text{COO})_6(\text{THF})_3]$	0,050	$1,02 \pm 0,07$

Datele tabelului demonstrează majorarea de 3,8-5,7 ori a conținutului de fier în biomasa de spirulină în procedura propusă în invenție față de procedura - prototip