

Invenția se referă la ficobiotehnologie, în special la un procedeu de obținere a biomasei de *Spirulina platensis*, care poate fi utilizată în industria farmaceutică, medicina clinică și experimentală.

Se știe că superoxidismutaza (SOD) este o enzimă cu efect antioxidant, capabilă de a distruge radicalii liberi, protejând astfel organismul de acțiunea lor distrugătoare. De aceea este foarte actuală problema obținerii unor produse cu un conținut înalt de SOD, care ar putea fi utilizate atât ca supliment cu efect de lichidare a radicalilor liberi din organismul uman, cât și pentru obținerea unor preparate cu efect antioxidant și antiradicalic pentru profilaxia și combaterea cancerului, preîntâmpinarea îmbătrânirii pielii, protecția la iradiere etc.

Este cunoscut procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* în prezența citratului de Fe(III) și glicinatului de Mn(II) la realizarea căruia are loc majorarea activității SOD în biomasă. Dezavantajul constă în utilizarea compușilor în concentrații înalte – 60 și 40 mg/L, respectiv, ceea ce duce la diminuarea productivității spirulinei [1].

Mai este cunoscut procedeu de obținere a biomasei de spirulină [2] în care se utilizează mediul nutritiv modificat Zarrouk cu următoarea compoziție, g/L: NaHCO₃ – 16,8; K₂HPO₄ – 0,1; KNO₃ – 3,75; NaCl – 1,0; K₂SO₄ – 3,75; CaCl₂ – 0,04; MgSO₄ · 7H₂O – 0,7; H₃BO₃ – 0,00286; MnCl₂ · 4H₂O – 0,00181; ZnSO₄ · 7H₂O – 0,00022; MoO₃ – 0,000015, ce conține FeSO₄ · 7H₂O – 0,024; Fe-EDTA – 0,025 în calitate de sursă de Fe, apă – până la 1L; cultivarea are loc în regim de acumulare timp de 6 zile, iluminarea de 15...24 mii ergi/cm², s, temperatura de 35±1°C, pH-ul optim al mediului fiind 9,5...10,0.

Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea că mediul utilizat nu asigură o activitate suficient de înaltă a SOD în biomasa de spirulină.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în elaborarea unui procedeu de obținere a biomasei cianobacteriei de *Spirulina platensis* care ar asigura sporirea activității superoxidismutazei în biomasa de spirulină.

Procedeu de obținere a biomasei de *Spirulina platensis* include prepararea mediului nutritiv, care conține, g/L de apă: NaHCO₃ – 16,8; K₂HPO₄ – 1,0; KNO₃ – 3,75; NaCl – 1,0; K₂SO₄ – 3,75; CaCl₂ · 6H₂O – 0,04; MgSO₄ · 7H₂O – 0,70; H₃BO₃ – 0,00286; MnCl₂ · 4H₂O – 0,00181; ZnSO₄ · 7H₂O – 0,00022; CuSO₄ · 5H₂O – 0,00008; MoO₃ – 0,000015, FeSO₄ · 7H₂O – 0,024; Fe-EDTA – 0,025, inocularea suspensiei de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,40...0,45 g/L și cultivarea ei în decurs de 6 zile în regim de acumulare la iluminarea de 3400...4800 lx, la temperatura de 31...36°C și pH de 9,5...10,0. În prima zi de cultivare în mediu se adaugă suplimentar compusul coordinativ [Fe₂Mg(CCl₃COO)₆(CH₃OH)₃] în cantitate de 0,005...0,025 g/L.

Rezultatul invenției în comparație cu cea mai apropiată soluție constă în obținerea biomasei de spirulină cu o activitate a SOD de 2,2 mai sporită.

Rezultatul obținut se datorează faptului că compusul coordinativ utilizat [FeMgO(CCl₃COO)₆(CH₃OH)₃] provoacă stresul oxidativ în celulele de spirulină; datorită componenței chimice a liganzilor din sfera internă, care sunt reprezentanți de câte 6 resturi de tricloracetat și 3 molecule de metanol. Nu poate fi exclus și aportul fierului în procesul de formare a radicalilor liberi, ceea ce poate contribui la creșterea activității SOD.

Sinteza complexului [Fe₂MgO(CCl₃COO)₆(CH₃OH)₃]

Trimetanol-hexakis S-N-tricloracetato(O,O') - μ₃-oxo-difer (III)magneziu (II)

2,4 g (0,06 moli) NaOH s-au dizolvat în 7 ml de apă. La soluția obținută s-au adăugat 9,81 g (0,06 moli) CCl₃COOH. Aparte, în 30 ml apă s-au dizolvat 10,0 g (0,025 moli) Fe(NO₃)₃ · 9H₂O și 26,8 g (0,125 moli) Mg(CH₃COO)₂ · 4H₂O. Soluțiile obținute s-au amestecat împreună. Amestecul obținut s-a încălzit timp de 2 ore la temperatura de 60±5°C cu agitare permanentă. La răcirea soluției se sedimentează un praf cristalin de culoare roșie-violet. Sedimentul format s-a filtrat și s-a dizolvat în amestec de metanol, acetonitril și toluen în raport volumetric de 0,5 : 1,0 : 25,0 (ml). Soluția obținută a fost păstrată la aer pentru cristalizare.

Peste 2 zile s-au depus monocristale prizmatice de culoare roșie, care au fost filtrate, spălate o dată cu metanol, apoi de trei ori cu toluen și uscate la aer. Randamentul după fier este de 4,55 g (57%). Substanța este bine solubilă în metanol, acetonitril, insolubilă în eter, toluen.

	C	H	Fe	Mg
găsit, %:	14,69	1,10	9,12	1,92
Pentru C ₁₅ H ₁₂ Cl ₁₈ O ₁₆ Fe ₂ Mg				
calculat, %:	14,74	0,99	9,14	1,99

Frecvențe analitice pentru liganzii carboxilici în spectrele IR sunt oscilațiile de valență ν_{as} și ν_s, ale grupelor COO⁻. Pentru clusterul sintetizat aceste două benzi sunt prezente în regiunea 1580 cm⁻¹ și 1450 cm⁻¹, respectiv, pentru oscilațiile asimetrice și simetrice ale grupei COO⁻.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea compoziție, g/L: NaHCO₃ – 16,8, K₂HPO₄ – 0,1, KNO₃ – 3,75, NaCl – 1,0, K₂SO₄ – 3,75, CaCl₂ · 6H₂O – 0,04, MgSO₄ · 7H₂O – 0,7, H₃BO₃ – 0,00286, MnCl₂ · 4H₂O – 0,00181, ZnSO₄ · 7H₂O – 0,00022, CuSO₄ · 5H₂O – 0,00008, MoO₃ – 0,000015, FeSO₄ · 7H₂O – 0,024, Fe-EDTA – 0,025, apă – până la 1L. Se introduce suspensia de spirulină în cantitate de 0,4 g/L. La prima zi de cultivare la mediul nutritiv se adaugă [Fe₂MgO(CCl₃COO)₆(CH₃OH)₃] în cantitate de 0,02 g/L. Cultivarea se desfășoară timp de 6 zile, respectând parametrii: temperatura de 32°C, pH-ul – 8...9, iluminarea de 3600 lx, în primele 2 zile ale cultivării. Pentru următoarele zile ale cultivării se menține temperatura de 34°C, pH-ul 9...10, iluminarea 4800 lx.

La ziua a 6-a se determină activitatea SOD. Productivitatea spirulinei la ziua a șasea este de 1,86 g/L biomasă absolut uscată.

Activitatea SOD în biomasa de spirulină este de 2,2 ori mai sporită față de soluția cea mai apropiată.

Tabel

Activitatea SOD în biomasa de *Spirulina platensis* obținută conform procedurii propus în invenție și celui din soluția cea mai apropiată

Procedul utilizat	Compusul	Concentrația, g/L	Activitatea SOD, unități convenționale	%
Conform celei mai apropiate soluții	FeSO ₄ · 7H ₂ O Fe-EDTA	0,024 0,025	0,42±0,24	100
Conform invenției	FeSO ₄ · 7H ₂ O Fe-EDTA [Fe ₂ MgO(CCl ₃ COO) ₆ (CH ₃ OH) ₃]	0,024 0,025 0,025	1,29±0,13	222,3