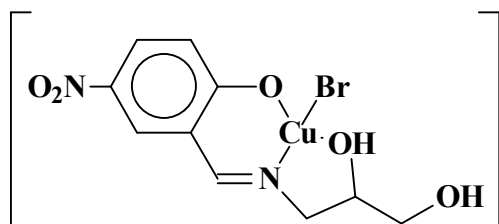


Invenția se referă la chimie și biotehnologie, și anume, la sinteza unui compus coordinativ nou din clasa salicilidenaminoalcoolaților metalelor de tranziție și la un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis*. Este cunoscut un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* pe mediul de cultivare Zarrouk, iluminarea 40W, temperatura 28...32°C, durata de cultivare 30 de zile, iar în a 16-a zi la acest mediu se adaugă 1...3 mg/L de  $\text{Cu}^{2+}$  [1].

Dezavantajul acestui procedeu constă în durata îndelungată de cultivare - 30 zile, precum și în faptul că nu asigură o rată de acumulare a cuprului suficient de înaltă la utilizarea  $\text{Cu}^{2+}$  în concentrații mai diminuate.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în extinderea arsenalului de reglatori asupra acumulării cuprului în biomasă și elaborarea unui procedeu de utilizare a acestuia pentru obținerea biomasei de *Spirulina platensis* cu conținut înalt de cupru.

Esența invenției constă în faptul că se propune un compus coordinativ bromo- $\{3-[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden})\text{-amino}]\text{-propan-1,2-dihidroxi}\}(1\text{-})\text{cupru}$  cu formula :



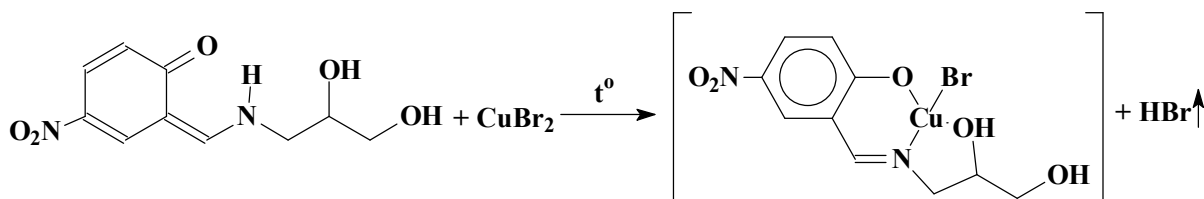
și un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis*, care include cultivarea pe un mediu nutritiv Zarrouk, ce conține, g/L:  $\text{NaNO}_3 - 2,5$ ;  $\text{NaHCO}_3 - 16,8$ ;  $\text{NaCl} - 1,0$ ;  $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$ ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,5$ ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,2$ ;  $\text{CaCl}_2 - 0,04$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,01$ ;  $\text{EDTA} - 0,08$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$ ;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,00022$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$ ;  $\text{MoO}_3 - 0,000015$  și apă distilată până la 1L, la pH 9,5...10,0, la o temperatură de 30...32°C, iluminare de 2000...3000 lx, totodată, în a 2-a zi de cultivare se adaugă bromo- $\{3-[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden})\text{-amino}]\text{-propan-1,2-dihidroxi}\}(1\text{-})\text{cupru}$ , în concentrație de 5...6 mg/L.

Complexul dat, proprietățile lui și procedeele de obținere nu sunt descrise în literatură.

Rezultatul tehnic constă în majorarea conținutului de cupru în biomasă cianobacteriei *Spirulina platensis* până la 10,39...11,14 mg% față de soluția ceea mai apropiată (5 mg%) sau de 2,08 ... 2,23 ori mai mult, precum și diminuarea duratei de cultivare de la 30 la 7 zile.

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul că pentru prima dată în calitate de reglator al conținutului de cupru la cianobacteria *Spirulina platensis* se propune bromo- $\{3-[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden})\text{-amino}]\text{-propan-1,2-dihidroxi}\}(1\text{-})\text{cupru}$ , care conține o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

Compusul revendicat se obține la interacțiunea soluțiilor etanolice fierbinți (50...55°C) a 6- $[(2,3\text{-dihidroxi-propilamino})\text{-metilen}]\text{-4-nitro-ciclohexa-2,4-dienonului}$  (formeii chinone a produsului de condensare a 3-amino-1,2-propandiolului cu aldehida 5-nitrosalicilică) și bromurii de cupru(2+), luate în raport molar de 1:1. Reacția decurge 50...60 min conform următoarei scheme :



Mecanismul prezentei reacții constă în faptul, că în timpul sintezei în amestecul reactant are loc adăția la ionul de cupru(2+) a unei molecule de 6- $[(2,3\text{-dihidroxi-propilamino})\text{-metilen}]\text{-4-nitro-ciclohexa-2,4-dienonului}$ , care în urma coordinării trece din forma chinonică în forma benzoică. Azometina obținută reprezintă 3- $[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden})\text{-amino}]\text{-propan-1,2-diolul}$ , care coordonează la ionul central ca ligand tridentat O,N,O monodeprotonat, formând două metalocicluri din șase și cinci atomi. Al patrulea loc în sfera internă a atomului central în particula complexă formată este ocupat de ionul de bromură.

Procedeele de obținere a compusului revendicat este simplu în executare, substanțele inițiale accesibile, randamentul constituie 76% față de cel teoretic calculat. Complexul este stabil în contact cu aerul, solubil în apă și alcooli, bine solubil în dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, practic insolubil în eter.

Exemplu de obținere al bromo- $\{3-[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden})\text{-amino}]\text{-propan-1,2-dihidroxi}\}(1\text{-})\text{cupru}$ . La soluția etanolică, care conține 10 mmol de bromură de cupru în 20 mL etanol, încălzită și amestecată în permanență cu ajutorul agitatorului magnetic, se adaugă 30 mL de soluție alcoolică ce conține 10 mmol de 6- $[(2,3\text{-dihidroxi-propilamino})\text{-metilen}]\text{-4-nitro-ciclohexa-2,4-dienon}$ . După aceasta amestecul reactant se refluxează ascendent pe parcurs de 50...60 min. La răcire și evaporare lentă din soluție se depun cristale mărunte de culoare verde, care se filtrează prin filtru de sticlă, se spală cu cantități mici de etanol, eter dietilic și se usucă la aer.

S-a determinat, % : C - 31,20; H - 3,07; Br - 20,59; Cu - 16,40, N - 7,07. Pentru  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{BrCuN}_2\text{O}_5$  s-a calculat, % : C - 31,39; H - 2,90; Br - 20,88; Cu - 16,61; N - 7,32.

Determinarea conductibilității electrice molare a bromo- $\{3-[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden})\text{-amino}]\text{-propan-1,2-dihidroxi}\}$  (1)-cupru revendicat în dimetil-formamidă a demonstrat, că el este un neelectrolit [ $\kappa=5 \text{ Ohm}^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$ ,  $20^\circ\text{C}$ ,  $C_M=0.001 \text{ mol/L}$ ].

Cercetarea magnetochimică a complexului revendicat la temperatura camerei ( $292^\circ\text{K}$ ) a demonstrat, că valoarea calculată a momentului lui magnetic efectiv este apropiat de valoarea de spin pentru un electron necuplat ( $\mu_{\text{ef}} = 1,87 \text{ m. B}$ ). Acest fapt ne permite să presupunem, că substanța cercetată are structură monomerică.

În scopul determinării modului de coordonare a ligandului la ionul de cupru(2+) a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor IR ale compusului declarat, 6- $[(2,3\text{-dihidroxi-propilamino})\text{-metilen}]\text{-4-nitro-ciclohexa-2,4-dienonului}$  și a complexelor metalelor 3d cu liganzii asemănători, descriși în literatură. S-a stabilit că 3- $[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden})\text{-amino}]\text{-propan-1,2-dihidroxi}$  obținut în complexul revendicat se comportă ca un ligand tridentat mono-deprotonizat, coordonându-se la ionul central prin intermediul atomilor de azot azometinic, oxigeni fenolic și alcoolici, cu formarea a două metalocicluri din cinci și șase atomi. În favoarea acestui fapt indică dispariția din spectrul IR al substanței revendicate a benzilor de absorbție  $\nu(\text{NH})$  și  $\nu(\text{C=O})$ , care în 6- $[(2,3\text{-dihidroxi-propilamino})\text{-metilen}]\text{-4-nitro-ciclohexa-2,4-dienonă}$  liberă se observă corespunzător în domeniile  $3450\dots 3150$  și  $1637 \text{ cm}^{-1}$ . În spectrul complexului apare banda  $\nu(\text{C=N})$ , care este deplasată cu  $22 \text{ cm}^{-1}$  spre frecvențe mai mici [în complexii metalelor 3d cu liganzii asemănători, descriși în literatură ea se observă în domeniul  $1630\dots 1625 \text{ cm}^{-1}$ ]. În afară de această, în domeniul  $530\dots 400 \text{ cm}^{-1}$  apar patru benzi de absorbție noi, care conform datelor din literatură corespund  $\nu(\text{Cu-N}) = 525$  și  $410 \text{ cm}^{-1}$  și  $\nu(\text{Cu-O}) = 480$  și  $465 \text{ cm}^{-1}$ .

Analiza termogravimetrică a substanței sintetizate a arătat că descompunerea ei termică are loc într-o singură etapă. Pe curba DTA a complexului se observă un efect exotermic la  $550^\circ\text{C}$  și este legat cu destrucția termooxidativă a ligandului coordinat.

Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor și cercetărilor fizico-chimice, a fost stabilită compoziția și structura probabilă a compusului declarat.

Exemplu de utilizare a bromo- $\{3-[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden})\text{-amino}]\text{-propan-1,2-dihidroxi}\}$  (1)-cupru în calitate de reglator al acumulării cuprului în biomasa de spirulină.

#### Exemplul 1

Se prepară mediul mineral nutritiv Zarrouk cu următorul conținut al ingredientelor (g/L):  $\text{NaNO}_3 - 2,5$ ;  $\text{NaHCO}_3 - 16,8$ ;  $\text{NaCl} - 1,0$ ;  $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$ ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,5$ ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,2$ ;  $\text{CaCl}_2 - 0,04$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,01$ ;  $\text{EDTA} - 0,08$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$ ;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,00022$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$ ;  $\text{MoO}_3 - 0,000015$  și apă distilată până la 1L. La mediul preparat se adaugă suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de  $0,4 \text{ g/L}$ . În a doua zi de cultivare la suspensia de spirulină, în calitate de reglator al conținutului de cupru în biomasă se suplimentează  $5 \text{ mg/L}$  de bromo- $\{3-[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden})\text{-amino}]\text{-propan-1,2-dihidroxi}\}$  (1)-cupru unde concentrația  $\text{Cu}^{2+}$  este  $0,84 \text{ mg/L}$ . Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmeyer a câte  $250 \text{ mL}$  cu  $100 \text{ mL}$  suspensie în următoarele condiții: iluminarea de  $2000\dots 3000 \text{ lx}$ , la  $\text{pH } 9,5\dots 10,0$  și la o temperatură de  $30^\circ\text{C}$ . La ziua a șaptea biomasa se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării și se determină conținutul de cupru.

Biomasa obținută conține  $10,39 \text{ mg\%}$  de cupru din biomasa absolut uscată (BAU) față de  $5,0 \text{ mg\%}$  în cazul soluției celei mai apropiate (Tabelul).

#### Exemplul 2

Se prepară mediul mineral nutritiv Zarrouk cu următorul conținut al ingredientelor (g/L):  $\text{NaNO}_3 - 2,5$ ;  $\text{NaHCO}_3 - 16,8$ ;  $\text{NaCl} - 1,0$ ;  $\text{K}_2\text{SO}_4 - 1,0$ ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,5$ ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,2$ ;  $\text{CaCl}_2 - 0,04$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,01$ ;  $\text{EDTA} - 0,08$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3 - 0,00286$ ;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0,00181$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,00022$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,00008$ ;  $\text{MoO}_3 - 0,000015$  și apă distilată până la 1L. La mediul preparat se adaugă suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de  $0,4 \text{ g/L}$ . În a doua zi de cultivare la suspensia de spirulină, în calitate de reglator al conținutului de cupru se suplimentează  $6 \text{ mg/L}$  de bromo- $\{3-[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden})\text{-amino}]\text{-propan-1,2-dihidroxi}\}$  (1)-cupru unde concentrația  $\text{Cu}^{2+}$  este  $1,0 \text{ mg/L}$ . Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmeyer a câte  $250 \text{ mL}$  cu  $100 \text{ mL}$  suspensie în următoarele condiții: iluminarea de  $2000\dots 3000 \text{ lx}$ , la  $\text{pH } 9,5\dots 10,0$  și la o temperatură de  $32^\circ\text{C}$ . La ziua a șaptea biomasa se separă de lichidul cultural, se supune demineralizării și se determină conținutul de cupru.

Biomasa obținută conține  $11,14 \text{ mg\%}$  cupru din BAU față de  $5,0 \text{ mg\%}$  în cazul soluției celei mai apropiate (Tabelul).

Conținutul de cupru în biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* la cultivare conform procedurii propus în invenție și din soluția cea mai apropiată

| Procedeele utilizat                  | $\text{Cu}^{2+}$ adăugat, mg/L | Conținutul de $\text{Cu}^{2+}$ acumulat în biomasă, mg% |
|--------------------------------------|--------------------------------|---|
| Conform soluției celei mai apropiate | 1,0                            | $5,0 \pm 0,58$  |
| Conform soluției propuse în invenție | 0,84<br>1,0                    | $10,39 \pm 0,55$<br>$11,14 \pm 0,70$                    |

Datele tabelului demonstrează majorarea de 2,08 ... 2,23 ori a conținutului de cupru în biomasa de spirulină în procedeul propus în invenție față de procedeul cel mai apropiat.  
Proprietățile depistate ale bromo- $\{3-[(2\text{-hidroxi-5-nitro-benziliden)-amino}]\text{-propan-1,2-dihidroxi}\}$ (1-)cupru prezintă interes pentru biotehnologie din punct de vedere al extinderii arsenalului de reglatori ai conținutului de cupru în biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*.