

Invenția se referă la biotehnologie și poate fi utilizată pentru obținerea substanțelor biologice active.

Biomasa de spirulină oferă un spectru deplin al aminoacizilor, prezenți atât în stare liberă, cât și legați. Un interes practic major îl prezintă aminoacizii imunoactivi, care joacă un rol esențial în procesele de protecție a organismului. Pe lângă cele menționate, acidul glutamic mai posedă și funcția de neuroprotecție. Polizaharidele sulfatate prezente în biomasa de spirulină manifestă activitate antitumorală, antivirală și imunostimulatoare. Frația fosfolipidelor esențiale include și fosfatidilinozitolul, care este recunoscut în calitate de normolipemiant și cardioprotector. Un alt component bioactiv din spirulină este acidul gras polinesaturat γ -linolenic, care se caracterizează prin acțiune antiaterogenă pronunțată.

Este cunoscută tulpina *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl, CALU-835. Biomasa absolut uscată a acestei tulpini conține 65...70% proteine, 10...15% hidrați de carbon, 3...5% lipide, 0,42...0,44% β -carotină, 80...100 mg/% acid ascorbic, 30...35 mg/% tocoferol, vitamine din grupa B, 0,36% acid glutamic, fitohormoni și alte substanțe biologice active [1].

Mai este cunoscută tulpina *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl, CNM-CB-01, cu biomasa absolut uscată, care conține: 1,3...3,3% aminoacizi liberi, 5,5...6,5% oligopeptide, 62...70% proteine, 9...11% ficobiliproteide, 10...15% polizaharide, 3...5% lipide, 0,42...0,44% β -carotină, 30...35 mg/% tocoferol, 80...100 mg/% acid ascorbic, vitaminele grupei B, 1,0...1,2% acid γ -linolenic; 6,0...6,3% acid glutamic, fitohormoni și alte substanțe bioactive [2].

Dezavantajele tulpinilor menționate mai sus constau în conținutul redus al compușilor bioactivi de interes major, așa ca acidul glutamic, acidul γ -linolenic, fosfatidilinozitolul și polizaharidele sulfatate. Valorile acestor indici sunt date în tabel.

Tabel

Conținutul unor substanțe bioactive în biomasa a două tulpini de spirulină, % biomasa absolut uscată

Tulpina		Acidul glutamic	Acidul γ -linolenic	Fosfatidilinozitolul	Fosfatidilcolină	Polizaharide sulfatate
<i>Spirulina platensis</i> (Nordst) Geitl, CALU-835	Date din literatură	0,36	-	-	-	-
	Indici estimați	0,34...0,42	0,54...0,60	0,45...0,48	0,94...1,05	1,12...1,36
<i>Spirulina platensis</i> (Nordst) Geitl CNM-CB-01	Date din literatură	6,00...6,30	1,00...1,20	-	-	-
	Indici estimați	4,70...6,40	1,15...1,22	0,60...0,73	1,35...1,62	2,33...3,45

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unei tulpini noi de *Spirulina platensis*, biomasa căreia s-ar caracteriza printr-un conținut înalt de substanțe biologice active, în special de acid glutamic, acid γ -linolenic, fosfatidilinozitol, fosfatidilcolină și polizaharide sulfatate.

Esența invenției constă în faptul că se propune o tulpină de algă *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl care este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neputogene a Republicii Moldova a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-CB-11 și poate fi utilizată în calitate de sursă de acizi glutamic și γ -linolenic, polizaharide sulfatate, fosfatidilinozitol și fosfatidilcolină.

Rezultatul constă în sporirea productivității algei și a cantității de acizi glutamic și γ -linolenic, polizaharide sulfatate, fosfatidilinozitol și fosfatidilcolină.

Rezultatul tehnic al invenției, în comparație cu cea mai apropiată soluție, constă în sporirea conținutului a cinci componente bioactive de bază în biomasa absolut uscată a cianobacteriei: acid glutamic 8,10...9,64% (față de 4,70...6,40% la cea mai apropiată soluție); acid γ -linolenic 1,36...1,45% (față de 1,15...1,22% la cea mai apropiată soluție); polizaharide sulfatate 4,03...5,01% (față de 2,33...3,45% la cea mai apropiată soluție); fosfatidilinozitol 0,70...0,85% (față de 0,60...0,73% la cea mai apropiată soluție) și fosfatidilcolină 1,86...2,00% (față de 1,35...1,62% la cea mai apropiată soluție).

Rezultatul tehnic obținut se datorează particularităților fiziologice și biochimice ale tulpinii, în special proceselor biosintetice, care decurg în acest organism. Ca rezultat al adaptării tulpinii la o temperatură mai joasă de cultivare are loc modificarea ciclurilor biosintetice cu deplasarea lor spre produsele nominalizate.

Tulpina propusă a fost colectată dintr-un bazin acvatic artificial din apropierea satului Căpriană.

În cultura algologic pură tulpina se multiplică intens pe mediul mineral lichid cu următoarea componență a macroelementelor, g/L: NaNO_3 - 2,25; NaHCO_3 - 8,0; NaCl - 1,01; K_2SO_4 - 0,3; NaHPO_4 - 0,20; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,20; CaCl_2 - 0,024; soluția de microelemente 1 mL/L, ce conține în mg/L: H_3BO_3 - 2,86; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 1,81; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,22; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,08; MoO_3 - 0,015; Fe-EDTA - 1,0 mL/L.

În condiții optime de cultivare tulpina respectivă are o productivitate de 1,5...1,6 g/L cu conținut de acid glutamic 8,10...9,64%; acid γ -linolenic 1,36...1,45%; polizaharide sulfatate 4,03...5,01%, fosfatidilinozitol 0,70...0,85%, și fosfatidilcolină 1,86...2,00%.

Caracterele morfo - culturale ale tulpinii

Tulpina prezintă forme filamentoase homocite de culoare verde închisă. Trihomele sunt alcătuite din celule cilindrice (lungimea 8...10 μm , lăţimea 6...8 μm) absolut identice, cu excepţia celulelor terminale, care se îngustează spre capătul trihomului şi sunt uşor rotunjite. Creşterea lor are loc ca rezultat al diviziunii transversale a celulelor. Celulele conţin granule, situate în apropierea pereţilor celulari.

Trihomele sunt separate, nu se ramifică şi nu se răsucesc în formă de spirală. Diametrul trihomei este de 6...8 μm , iar lungimea de 0,14 ...1,30 mm. Ele nu formează teci mucozitare.

În mediu lichid formează suspensie practic uniformă cu tendinţă neînsemnată de acumulare la hotarul lichid-aer.

Caracterele fiziologice - biochimice

Tulpina microalgei verzi *Spirulina platensis* (Nordst) GEITL CNMN-CB-11 creşte bine pe mediul SP1, componenţa căruia a fost menţionată mai sus.

Temperatura optimă este de $26\pm 2^\circ\text{C}$, pH 8...9. Intensitatea optimă a luminii este de 1500...2000 lx.

Tulpina se adaptează uşor la variaţii neînsemnate ale condiţiilor de cultivare.

În condiţii optime de cultivare tulpina respectivă are o productivitate de 1,5...1,6 g/L cu conţinut de acid glutamic 8,10...9,64%; acid γ -linolenic 1,36...1,45%; polizaharide sulfatate 4,03...5,01%, fosfatidilinozitol 0,70...0,85% şi fosfatidilcolină 1,86...2,00%.

Gradul de puritate a tulpinii

Tulpina a fost obţinută prin metoda "pasaşe repetate" în cultura algologic pură şi acumulată în mediul lichid şi agarizat SP1. La cultivarea în masă poate fi infectată cu alge şi cianobacterii. Contaminarea poate fi evitată prin respectarea condiţiilor de alcalinitate a mediului de cultură.

Exemplu de realizare a invenţiei

În vasele de cultură cu un volum de 1 L cu mediu mineral lichid al macro- şi microelementelor: macroelemente cu următoarea componenţă, g/L: NaNO_3 - 2,25; NaHCO_3 - 8,0; NaCl - 1,01; K_2SO_4 - 0,3; NaHPO_4 - 0,20; $\text{MgSO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,20; CaCl_2 - 0,024; microelemente - 1 mL/L, cu următoarea componenţă, mg/L: H_3BO_3 - 2,86; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 1,81; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,22; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,08; MoO_3 - 0,015; Fe-EDTA - 1,0 mL/L, pregătit pe apă distilată, se introduce inoculum de 0,40...0,45 g/L în recalcul la biomasa absolut uscată. Cultivarea se realizează la intensitatea luminii de 1500...2000 lx timp de 6 zile, la temperatura de $26\pm 1^\circ\text{C}$, în ziua a 6-ea productivitatea ajunge până la 1,6 g/L biomasă absolut uscată, cu conţinut de acid glutamic 9,3%; acid γ -linolenic 1,39%; polizaharide sulfatate 4,76%, fosfatidilinozitol 0,79% şi fosfatidilcolină 1,94%.