

Invenția se referă la biotehnologie, și anume la un procedeu de cultivare a microalgei *Dunaliella salina* CNMN-AV-01.

Nanotehnologiile au migrat rapid din domeniul tehnic în medicină, dar și în biotehnologie, creând un nou domeniu științifico-practic - bionanotehnologia. A fost extinsă aria aplicării nanoparticulelor. A fost demonstrat efectul pozitiv al nanoparticulelor asupra creșterii și a metabolismului celular. Dimensiunile mici ale nanoparticulelor favorizează interacțiunea lor cu suprafața celulară și pătrunderea în citosol. Nanoparticulele pot fi o sursă alternativă favorabilă oligoelementelor care au funcția de stimulatori ai activității biosintetice. Efectul stimulator al nanoparticulelor de argint a fost demonstrat în cazul cianobacteriei *Spirulina platensis*. Procedeu propus corespunde direcției de utilizare a nanoparticulelor în domeniul biotehnologiei.

Este cunoscut procedeu de cultivare a microalgei *Dunaliella salina* CNMN-AV-01 pe mediul mineral nutritiv Ben-Amotz ce conține NaCl 120,0 g/L. Mediul mineral este suplimentat cu 1,0 mg/L alanin de Fe(III) și 1,0 mg/L clorură de zinc. Durata cultivării este de 10 zile. Pe durata cultivării, la a 6-a zi, mediul mineral este suplimentat cu NaCl 120,0 g/L în scopul inducerii șocului osmotic. Conform procedurii, valoarea absolută a lipidelor obținute este de 165 mg/L [1].

Dezavantajul acestui procedeu constă în manipulări suplimentare de inducere a stresului salin pe durata cultivării și, ca urmare, creșterea duratei ciclului de desalinizare a biomasei după colectarea microalgei *Dunaliella salina* CNMN-AV-01.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui procedeu eficient și reproductibil de sporire a producerii de biomasă și a conținutului de lipide în biomasa microalgei *Dunaliella salina* CNMN-AV-01.

Esența invenției constă în aceea că se propune un procedeu de cultivare a microalgei *Dunaliella salina* CNMN-AV-01, care prevede cultivarea acesteia pe un mediu nutritiv mineral ce conține, g/L: NaCl - 120,0, NaHCO<sub>3</sub> - 4,2, MgSO<sub>4</sub> - 0,6, KNO<sub>3</sub> - 0,5, FeCl<sub>3</sub> - 0,0002, CaCl<sub>2</sub> - 0,033, KHPO<sub>4</sub> - 0,0272, EDTA - 0,0087, nanoparticule de argint cu dimensiunea de 5 nm - 0,0005...0,00055, la temperatura de 25...28°C, pH-ul 8,0 și iluminarea de 3000...4000 lx în regim continuu, în decurs de 8 zile.

Nanoparticulele de Ag sunt produse industrial, dimensiunile anunțate fiind de 5 nm.

Rezultatul invenției constă în asigurarea unei majorări a conținutului de lipide în biomasă, valoarea absolută a lipidelor fiind de 175...182 mg/L.

Rezultatul obținut este condiționat de efectul nanoparticulelor de Ag, care datorită dimensiunilor mici (5 nm) pătrund rapid în celule și stimulează reproducerea celulară, drept urmare durata ciclului de cultivare se reduce de la 10 zile (conform celui mai apropiat procedeu) la 8 zile. Contactul nanoparticulelor cu membrana celulară induce stimularea producerii lipidelor. Totodată, în biomasa microalgală nu se diminuează conținutul de β-caroten.

*Exemple de realizare a invenției*

*Exemplul 1*

Se prepară mediul mineral nutritiv Ben-Amotz ce conține, g/L: NaCl – 120,0; NaHCO<sub>3</sub> – 4,2, MgSO<sub>4</sub> – 0,6, KNO<sub>3</sub> – 0,5, FeCl<sub>3</sub> – 0,0002, CaCl<sub>2</sub> – 0,033, KHPO<sub>4</sub> – 0,0272, EDTA – 0,0087. La mediul preparat se adaugă nanoparticule de Ag cu dimensiunea de 5 nm în concentrație de 0,0005 g/L. Cultura start este suspensia de *Dunaliella salina* CNMN-AV-01 în cantitate de 0,2 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmeyer cu volumul de 500 ml și volumul de lucru de 300 ml la temperatura de 25°C, pH-ul 8,0 și iluminarea de 3000...4000 lx în regim continuu.

La ziua a 8-a se colectează biomasa microalgală și se determină conținutul de lipide. Valoarea absolută a lipidelor este de 175±2,5 mg/L.

*Exemplul 2*

Se prepară mediul mineral nutritiv Ben-Amotz ce conține, g/L: NaCl – 120,0, NaHCO<sub>3</sub> – 4,2, MgSO<sub>4</sub> – 0,6, KNO<sub>3</sub> – 0,5, FeCl<sub>3</sub> – 0,0002, CaCl<sub>2</sub> – 0,033, KHPO<sub>4</sub> – 0,0272, EDTA – 0,0087. La mediul preparat se adaugă nanoparticule de Ag cu dimensiunea de 5 nm în concentrație de 0,00055 g/L. Cultura start este suspensia de *Dunaliella salina* CNMN-AV-01 în cantitate de 0,2 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmeyer cu volumul de 500 ml și volumul de lucru de 300 ml la temperatura de 25°C, pH-ul 8,0 și iluminarea de 3000...4000 lx în regim continuu.

La ziua a 8-a se colectează biomasa microalgală și se determină conținutul de lipide. Valoarea absolută a lipidelor este de 182±1,4 mg/L (vezi tabelul de mai jos).

Tabel

Conținutul de lipide în biomasa microalgei *Dunaliella salina* CNMN-AV-01 la cultivare conform procedurii propus în invenție și celei mai apropiate soluții

Procedeu utilizat	Compusul (nanoparticule), concentrația g/L	Durata ciclului de cultivare, zile	Valoarea absolută a lipidelor, mg/L
Conform celei mai apropiate soluții	NaCl – 120,0 [Fe(ala)] – 0,001 ZnCl <sub>2</sub> – 0,001	10	165,0
Conform soluției revendicate	AgNP - 0,0005	8	175,0±2,5
	AgNP - 0,00055	8	182,0±1,4

Astfel, datele din tabel confirmă conținutul sporit de lipide în biomasa microalgei *Dunaliella salina* CNMN-AV-01, în condițiile ciclului de cultivare redus la 8 zile și salinitatea mediului de cultivare de NaCl 120 g/L în procedeul propus în invenție față de procedeul cel mai apropiat.