

Invenția se referă la un compus chimic nou în calitate de regulator al conținutului de fier la cultivarea biomasei de *Spirulina platensis* utilizată în medicină și industria alimentară.

Este cunoscut compusul hexa- μ -trichloracetato-(O,O')- μ_3 -oxo-tri(tetrahidrofuran)difer(III)magneziu care, fiind adăugat 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) în mediul de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* manifestă capacitatea de acumulare a fierului organic în biomasa de *Spirulina platensis*. Trichloracetatul heteronuclear de fier(III) și magneziu este un compus bioactiv, însă utilizarea lui pentru sporirea acumulării de fier în biomasa de spirulină nu este destul de eficientă. Dezavantajul utilizării acestui compus constă în faptul că conținutul de fier în biomasă nu depășește valoarea de 1%, deoarece în componența moleculei lui se conțin doar doi atomi de fier, iar administrarea lui în concentrații mai mari de 50 g/l duce la scăderea productivității spirulinei [1].

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în sinteza unui compus chimic nou al Fe(III) cu efect regulator asupra acumulării de fier în biomasă și elaborarea unui procedeu de utilizare a acestuia pentru obținerea biomasei de *Spirulina platensis* cu conținut înalt de fier.

Esența invenției constă în sinteza unui compus chimic nou, și anume a heptazotatului de hexa-(μ - β -alanin-(O,O'))- μ_3 -oxo-tri(aqua)trifler(III) 3,5-hidrat, în calitate de regulator al conținutului de fier la cultivarea biomasei cianobacteriei *Spirulina platensis*.

De asemenea, se revendică un procedeu de obținere a biomasei de *Spirulina platensis*, care include prepararea mediului nutritiv ce conține, g/l: NaHCO₃ 16,8; K₂HPO₄·3H₂O 1,0; NaNO₃ 2,5; NaCl 1,0; K₂SO₄ 1,0; CaCl₂·6H₂O 0,04; MgSO₄·7H₂O 0,20; H₃BO₃ 0,00286; MnCl₂·4H₂O 0,00181; ZnSO₄·7H₂O 0,00022; CuSO₄·5H₂O 0,00008; MoO₃ 0,000015 și apă restul. Pentru inoculare se utilizează 0,4 g/l suspensie de *Spirulina platensis* și se cultivă în decurs de 6 zile, la temperatura de 30...35°C, cu o iluminare de 3000...4800 lx și pH-ul mediului 9,5...10,0. Suplimentar în mediul nutritiv se adaugă heptazotat de hexa-(μ - β -alanin-(O,O'))- μ_3 -oxo-tri(aqua)trifler(III) 3,5-hidrat 0,04...0,05 g/l, porționat, în primele 4 zile de cultivare.

Criteriul de noutate al invenției este argumentat prin următoarele date, care definesc substanța chimică nouă.

Compoziția și structura chimică este stabilită prin metoda de difracție cu raze X, care indică formarea unei structuri m_3 -oxotrinucleare (v. figura) cu ionii de fier situați în vârful unui triunghi echilateral, legați printr-un oxigen central O²⁻, liganzi aminoacizi sub formă de zwitter-ioni, aflați în punte și molecule de apă ce completează numărul de coordinare al fierului până la 6.

Spectrul IR al compusului confirmă coordinarea aminoacidului la ionii de fier și formarea compusului: i) în domeniul 3400 și 3200...3050 cm⁻¹ se observă benzi largi de absorbție ce sunt atribuite vibrațiilor de valență $\nu(\text{OH})_{\text{H}_2\text{O}}$, și $\nu(\text{N-H})_{\text{NH}_3^+}$. Poziția acestor benzi, ușor deplasată spre energii mai mici, este determinată de implicarea grupărilor într-un sistem complicat al legăturilor de hidrogen; ii) vibrațiile de valență ale grupării carboxilice se regăsesc prin benzi de absorbție în domeniul 1600, 1435 cm⁻¹, deplasate spre lungimi de undă mai mari față de poziția acestora în spectrul aminoacidului liber, ceea ce indică coordinarea la ionul de metal; iii) prezența ionilor azotat în compoziția combinației se urmărește prin prezența benzilor de absorbție în domeniile: 1390, 830 și 700 cm⁻¹; iiiii) coordinarea la ionul de fier se confirmă prin apariția unor benzi noi în regiunile 430 cm⁻¹ și 628 cm⁻¹ ce sunt atribuite modurilor de vibrații și $\nu_d(\text{Fe-O})$ $\nu_{\text{as}}(\text{Fe}_3\text{O})$, respectiv. Aceste benzi nu sunt observate în spectrul ligandului carboxilic liber.

Spectrele Mössbauer ale combinației prezintă un dublet cu valorile deplasării de izomer 0,67 mm/s (300K) și 0,77 mm/s (80K) (valorile sunt calculate față de nitroprusiatul de sodiu) și valorile despiciării de quadrupol 0,67 mm/s (300K) și 0,62 mm/s (80K). Valorile calculate indică prezența ionilor de fier(III), spin înalt (S=5/2), aflați într-o înconjurare destul de simetrică.

Datele măsurătorilor magnetice la temperatura camerei cu momentul magnetic la un atom de fier ($\mu_{\text{ef}}=3,27$ M.B.) indică prezența ionilor de fier în stare de oxidare (3+) spin înalt.

Rezultatul invenției în comparație cu cea mai apropiată soluție constă în sporirea conținutului de fier în biomasa de spirulină de 1,25 ori.

Rezultatul obținut se datorează faptului că compusul conține în componența moleculei sale trei atomi de fier, ligandul beta-alanină din componența compusului coordinativ al fierului este inclus eficient în structura pereților celulari ai spirulinei și poate servi ca sursă pentru sinteza fitochelatinelor – liganzi eficienți pentru legarea fierului.

Sinteza $[\text{Fe}_3\text{O}(\beta\text{-Ala})_6(\text{H}_2\text{O})_3](\text{NO}_3)_7 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$

Combi-nația complexă $[\text{Fe}_3\text{O}(\beta\text{-Ala})_6(\text{H}_2\text{O})_3](\text{NO}_3)_7 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$ (I) se obține la interacțiunea azotatului de fier(III) monohidrat cu β -alanină în raport molar de 1:2.

1,61 g (0,004 moli) de azotat de fier monohidrat și 0,712 g (0,008 moli) de β -alanină se dizolvă în 15...20 ml de apă la agitare. La volumul obținut se adaugă 2...3 picături de acid azotic diluat. Soluția de amestec se filtrează și se lasă la evaporare în timp până la formarea unui precipitat cristalin de culoare roșie-închis.

Randamentul este de 65%. Combi-nația se dizolvă foarte bine în apă, și mai puțin în solvenți organici.

Pentru formula $\text{C}_{18}\text{H}_{55}\text{Fe}_3\text{N}_{13}\text{O}_{40,5}$

determinat, %: Fe – 13,00; C – 16,90; H – 4,05; N – 14,20;

calculat, %: Fe – 13,20; C – 17,04; H – 4,33; N – 14,35.

*Exemple de realizare a invenției**Exemplul 1*

În experiențe s-a cercetat acțiunea compusului coordinativ sintetizat asupra procesului de acumulare a fierului în biomasa de *Spirulina platensis*. Schema experiențelor prevede următoarele etape.

Se prepară mediul mineral nutritiv cu următoarea componență: NaNO₃ 2,25 g/l; NaHCO₃ 8,0 g/l; K₂SO₄ 0,20 g/l; Na₂HPO₄ 0,20 g/l; MgSO₄·7H₂O 0,20 g/l; CaCl₂ 0,024 g/l; soluția de microelemente 1 ml/l, ce conține H₃BO₃ 0,00286 g/l; MnCl₂·4H₂O 0,00181 mg/l; ZnSO₄·7H₂O 0,00022 g/l; CuSO₄·5H₂O 0,00008 g/l; MoO₃ 0,000015 g/l, apă până la 1 litru.

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 prima zi de cultivare în calitate de fier se adaugă (0,010 g/l) de compus heptaazotat de hexa-(μ-β-alanin-(O,O'))-μ₃-oxo-tri(aqua)trifier(III) 3,5-hidrat. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmeyer a câte 250 ml cu 100 ml suspensie în următoarele condiții: 4,8 mii luși, temperatura 32°C. În ziua a doua, a treia și a patra de cultivare se mai adaugă câte 0,010 g/l de compus coordinativ (cantitatea totală fiind de 0,040 g/l).

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

Biomasa obținută conține 950 mg fier și poate fi utilizată drept sursă pentru obținerea unor produse nutriționale, inclusiv a unor forme medicamentoase antianemice.

Exemplul 2

În experiențe s-a cercetat acțiunea compusului coordinativ sintetizat asupra procesului de acumulare a fierului în biomasa de *Spirulina platensis*. Schema experiențelor prevede următoarele etape.

Se prepară mediul mineral nutritiv cu următoarea componență: NaNO₃ 2,25 g/l; NaHCO₃ 8,0 g/l; NaCl 1,0 g/l; K₂SO₄ 0,3 g/l; Na₂HPO₄ 0,20 g/l; MgSO₄·7H₂O 0,20 g/l; CaCl₂ 0,024 g/l; soluția de microelemente 1 ml/l, ce conține H₃BO₃ 0,00286 g/l; MnCl₂·4H₂O 0,00181 mg/l; ZnSO₄·7H₂O 0,00022 g/l; CuSO₄·5H₂O 0,00008 g/l; MoO₃ 0,000015 g/l, apă până la 1 litru.

La mediul preparat se adaugă suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,50 g/l.

La mediul preparat ce conține suspensia de spirulină, în prima zi de cultivare în calitate de fier se adaugă (0,0125 g/l) de compus heptaazotat de hexa-(μ-β-alanin-(O,O'))-μ₃-oxo-tri(aqua)trifier(III) 3,5-hidrat. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmeyer a câte 250 ml cu 100 ml suspensie în următoarele condiții: 4,8 mii luși, temperatura 32°C. În ziua a doua, a treia și a patra de cultivare se mai adaugă câte 0,0125 g/l de compus coordinativ (cantitatea totală fiind de 0,050 g/l).

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

Biomasa obținută conține 1250 mg fier și poate fi utilizată drept sursă pentru obținerea unor produse nutriționale, inclusiv a unor forme medicamentoase antianemice.

Rezultatele obținute sunt prezentate în tabel.

Acumularea fierului în biomasa de spirulină la cultivare în prezența unor reglatori chimici (compuși coordinativi ai Fe(III))

Procedul utilizat	Compusul	Concentrația, g/l	Conținutul de fier în biomasa de spirulină, %	Productivitatea, g/l în 6 zile
Conform celei mai apropiate soluții	[Fe ₂ MgO(CCl ₃ COO) ₆ (THF) ₃],	0,040	0,8±0,06	0,95±0,09
	[Fe ₂ MgO(CCl ₃ COO) ₆ (THF) ₃]	0,050	1,02±0,07	0,90±0,05
Conform invenției	[Fe ₃ O(β-Ala) ₆ (H ₂ O) ₃](NO ₃) ₇ ·3,5H ₂ O	0,040	0,96±0,04	1,1±0,07
	[Fe ₃ O(β-Ala) ₆ (H ₂ O) ₃](NO ₃) ₇ ·3,5H ₂ O	0,050	1,25±0,03	1,1±0,09