



MD 4366 B1 2015.08.31

## REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4366** (13) **B1**  
(51) Int.Cl: C07F 15/02 (2006.01)  
C07D 213/88 (2006.01)  
C12N 1/12 (2006.01)  
C12R 1/89 (2006.01)

## (12) BREVET DE INVENȚIE

<b>In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului</b>	
<p>(21) Nr. depozit: a 2014 0069 (22) Data depozit: 2014.07.09</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2015.08.31, BOPI nr. 8/2015</p>
<p>(71) Solicitanți: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD</p> <p>(72) Inventatori: COCU Maria, MD; RUDIC Valeriu, MD; BULHAC Ion, MD; RUDI Liudmila, MD; GUTIU Victoria, MD; CEPOI Liliana, MD; BALAN Cristina, MD; MISCU Vera, MD; CHIRIAC Tatiana, MD; GHELBET Viorica, MD</p> <p>(73) Titulari: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD</p>	

(54) Bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O<sup>1</sup>, N<sup>4</sup>, O<sup>6</sup>]fier(II) sulfat tetrahidrat și procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia

## (57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la chimie și biotehnologie, în special la sinteza unui nou compus coordinativ al fierului(II) cu proprietăți antioxidante, care poate fi utilizat în industria alimentară și în medicină, și la un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia.

Conform invenției, se revendică un compus coordinativ – bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O<sup>1</sup>, N<sup>4</sup>, O<sup>6</sup>]fier(II) sulfat tetrahidrat.

De asemenea, se revendică un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum*, care constă în aceea că se cultivă microalga pe un mediu nutritiv ce conține, g/L: NaNO<sub>3</sub> - 5,0;

2  
NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005, compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O<sup>1</sup>, N<sup>4</sup>, O<sup>6</sup>]fier(II) sulfat tetrahidrat – 0,011...0,012 și apă distilată până la 1 L; având pH-ul 6,8...7,2, la temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, cu agitare lentă periodică.

Rezultatul constă în majorarea conținutului de fenoli în biomasa de microalgă.

Revendicări: 2

Figuri: 1

MD 4366 B1 2015.08.31

**(54) Bis[1-phenyl-3-methyl-6-(pyridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-diene-1-hydroxy-6-olato(-2)- $O^1, N^4, O^6$ ]iron(II)sulphate tetrahydrate and process for cultivation of microalga *Porphyridium cruentum* with its use**

**(57) Abstract:**

1  
The invention relates to chemistry and biotechnology, in particular to the synthesis of a new coordinative compound of iron(II) with antioxidant properties that can be used in the food industry and in medicine, and to a process for cultivation of microalga *Porphyridium cruentum* with its use.

According to the invention, a coordinative compound – bis[1-phenyl-3-methyl-6-(pyridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-diene-1-hydroxy-6-olato(-2)- $O^1, N^4, O^6$ ]iron(II)sulphate tetrahydrate is claimed.

Also, claimed is a process for cultivation of microalga *Porphyridium cruentum*, which consists in that microalga is cultivated on a nutrient medium containing, g/L:  $\text{NaNO}_3$  – 5.0;  $\text{NaCl}$  – 7.0;  $\text{KCl}$  – 7.5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 1.8;

2  
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  – 0.15;  $\text{KBr}$  – 0.05;  $\text{KI}$  – 0.05;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0.2;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – 0.00002;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – 0.00005;  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – 0.0003;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  – 0.0006;  $\text{MoO}_3$  – 0.00002;  $\text{NaVO}_3$  – 0.00005, the compound bis[1-phenyl-3-methyl-6-(pyridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-diene-1-hydroxy-6-olato(-2)- $O^1, N^4, O^6$ ]iron(II)sulphate tetrahydrate – 0.011...0.012 and distilled water up to 1 L; having the pH 6.8...7.2, at the temperature of 23...25°C, the illumination of 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, with periodic slow agitation.

The result consists in increasing the phenol content in the microalga biomass.

Claims: 2

Fig.: 1

**(54) Бис[1-фенил-3-метил-6-(пиридиниум-4-ил)-4,5-диаза-гекса-1,3-диен-1-гидрокси-6-олато(-2)- $O^1, N^4, O^6$ ]железа(II) сульфат тетрагидрат и способ культивирования микроводоросли *Porphyridium cruentum* с его использованием**

**(57) Реферат:**

1  
Изобретение относится к химии и биотехнологии, в частности к синтезу нового координационного соединения железа(II) с антиоксидантными свойствами, которое может быть использовано в пищевой промышленности и в медицине, и к способу культивирования микроводоросли *Porphyridium cruentum* с его использованием.

Согласно изобретению, заявляется координационное соединение – бис[1-фенил-3-метил-6-(пиридиниум-4-ил)-4,5-диаза-гекса-1,3-диен-1-гидрокси-6-олато(-2)- $O^1, N^4, O^6$ ]железа(II) сульфат тетрагидрат.

Также, заявляется способ культивирования микроводоросли *Porphyridium cruentum*, который состоит в том, что культивируется микроводоросль на питательной среде, которая содержит, г/л:  $\text{NaNO}_3$  – 5,0;  $\text{NaCl}$  – 7,0;  $\text{KCl}$  – 7,5;

2  
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 1,8;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  – 0,15;  $\text{KBr}$  – 0,05;  $\text{KI}$  – 0,05;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,2;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – 0,00002;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – 0,00005;  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – 0,0003;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  – 0,0006;  $\text{MoO}_3$  – 0,00002;  $\text{NaVO}_3$  – 0,00005, соединение бис[1-фенил-3-метил-6-(пиридиниум-4-ил)-4,5-диаза-гекса-1,3-диен-1-гидрокси-6-олато(-2)- $O^1, N^4, O^6$ ]железа(II) сульфат тетрагидрат – 0,011...0,012 и дистиллированную воду до 1 л; имея pH 6,8...7,2, при температуре 23...25°C, освещении 2000...3000 лк/см<sup>2</sup>, с медленным периодическим перемешиванием.

Результат состоит в повышении содержания фенолов в биомассе микроводоросли.

П. формулы: 2

Фиг.: 1

**Descriere:**

Invenția se referă la chimie și biotehnologie, în special la sinteza unui nou compus coordinativ al fierului(II) cu proprietăți antioxidante, care poate fi utilizat în industria alimentară și în medicină, și la un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia.

Compusul coordinativ este propus spre aplicare în biotehnologiile de tip intensiv în scopul obținerii de biomasă cu un potențial antioxidant sporit. Biomasă obținută este utilizată în calitate de materie primă pentru obținerea produselor antioxidante, care pot fi utilizate în procesarea produselor alimentare și în scopuri medicale în calitate de antioxidanți (Rudic Valeriu ș.a. Ficobiotehnologie - cercetări fundamentale și realizări practice. Tipografia "Elena V.I." SRL, Chișinău, 2007, 365 p.).

Este cunoscut procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* pe medii mineral nutritive ce conține, g/L: NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005 și apă distilată până la 1 litru; având pH-ul 6,8...7,2, la temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx, cu agitare lentă periodică. În prima zi de cultivare mediul este suplimentat cu compusul [Fe<sub>3</sub>O(Gly)<sub>6</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>7</sub>·3,5H<sub>2</sub>O în concentrația de 0,001 g/L. Conținutul de fenoli în biomasă de *Porphyridium* constituie 10,6...11,8 echivalent mg acid galic/g biomasă [1].

Neajunsul compusului și al procedurii cunoscute constă în conținutul redus de fenoli în biomasă de *Porphyridium*.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în sinteza unui compus nou și în elaborarea unui procedeu eficient și reproductibil de sporire a conținutului de fenoli în biomasă de *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01.

Esența invenției constă în faptul că se propune un compus coordinativ nou - bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O<sup>1</sup>,N<sup>4</sup>,O<sup>6</sup>] fier(II) sulfat tetrahidrat, obținut prin interacțiunea izonicotinoilhidrazonei 1-fenil-1,3-butandionei și a sulfatului de fier(II) în raport molar de 2:1 ([Fe(L)<sub>2</sub>]SO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O).

De asemenea, se propune un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum*, care constă în aceea că se cultivă microalga pe un mediu nutritiv ce conține, g/L: NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005, suplimentat cu compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O<sup>1</sup>,N<sup>4</sup>,O<sup>6</sup>]fier(II) sulfat tetrahidrat - 0,011...0,012 și apă distilată până la 1 L; având pH-ul 6,8...7,2, la temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, cu agitare lentă periodică.

Conținutul de fenoli, determinat prin metoda Folin-Ciocalteu, în biomasă de *Porphyridium* este de 13,6...13,8 echivalent mg acid galic /g biomasă.

Compusul sus-menționat, proprietățile lui și procedeu de obținere nu sunt descrise în literatură.

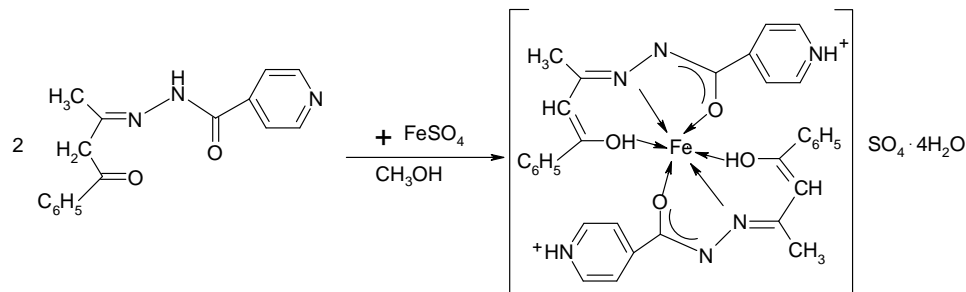
Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea conținutului de fenoli în biomasă microalgei *Porphyridium cruentum* cu 15...17% față de cea mai apropiată soluție. Administrarea compusului din prima zi de cultivare stimulează acumularea componentelor fenolice în biomasă microalgei, care sporesc valoarea biomasei de *Porphyridium* în calitate de producător de antioxidanți.

Rezultatul invenției este condiționat de aplicarea pentru prima dată a compusului bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O<sup>1</sup>,N<sup>4</sup>,O<sup>6</sup>]fier(II) sulfat tetrahidrat în calitate de stimulator al biosintezei componentelor fenolice de către microalga *Porphyridium cruentum*.

Exemplu de realizare a invenției

Metodă de obținere a compusului revendicat

În urma reacției dintre izonicotinoilhidrazona 1-fenil-1,3-butandionei și sulfatul de fier(II) în raport molar de 2:1, la agitare în atmosferă inertă se obține combinația complexă sub formă de cristale de culoare verde, care decurge conform schemei de mai jos:



Schema I. Obținerea compusului  $[\text{Fe}(\text{L})_2]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

5 Structura ligandului necoordinat stabilită cu raze X este prezentată în figură, în care la împachetarea cristalină are loc formarea legăturilor de hidrogen cu participarea grupelor C=O și NH. În spectrul IR al ligandului liber se manifestă benzile  $\nu(\text{NH})=3218 \text{ cm}^{-1}$  și  $\nu(\text{C}=\text{O})=1664 \text{ cm}^{-1}$ .

10 Compusul obținut a fost apreciat prin analiza chimică elementală și spectrele IR înregistrate în domeniul  $4000 \dots 400 \text{ cm}^{-1}$ .

15 Spectrul în IR se caracterizează prin prezența a două benzi late în regiunea  $3500 \dots 3200 \text{ cm}^{-1}$ , care pot fi atribuite  $\nu(\text{OH})$  asociate, absorbție largă în regiunea  $3100 \dots 3000 \text{ cm}^{-1}$ , care conține câteva benzi  $\nu(\text{CH})$  ale inelelor benzenic și heterociclic,  $2930 \dots 2850 \text{ cm}^{-1}$   $\nu(\text{CH}_3)$ , două benzi late de intensitate slabă la  $2612$  și  $2148 \text{ cm}^{-1}$ , care pot fi atribuite oscilațiilor  $=\text{NH}^+$  (azotul heterociclic protonat) (Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. Издательство иностранной литературы, Москва, 1963, 592 p., Накамото К. ИК спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений. Москва, Мир, 1991, 536 p., Тарасевич Б. Н. ИК спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы, Москва, 2012, 54 p.).

20 Dispariția benzii de absorbție  $\nu(\text{C}=\text{O})$  a fragmentului hidrazidei acidului izonicotinic și manifestarea unei benzi intensive la  $1303 \text{ cm}^{-1}$  confirmă faptul că ligandul coordinează la atomul de fier în formă enolică. Banda de intensitate medie la  $1631 \text{ cm}^{-1}$  este atribuită oscilațiilor  $\nu(\text{C}=\text{N})$  și  $\nu(\text{C}=\text{C})$ . Oscilațiile  $\nu(\text{N}-\text{N})$  se manifestă printr-o bandă de intensitate medie la  $841 \text{ cm}^{-1}$ . Prezența celei mai intensive benzi de absorbție la  $1079 \text{ cm}^{-1}$  indică cu siguranță prezența anionului  $\text{SO}_4^{2-}$  în complex.

25 Conform datelor analizei elementale și spectroscopiei IR pentru complexul dat se propune formula  $[\text{Fe}(\text{L})_2]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ .

30 Datele structurale ale ligandului necoordinat și cele spectrale ale ligandului și complexului fierului conduc la concluzia că ligandul coordinează la metal ca unul tridentat (setul de atomi ONO) și nedeprotonat cu delocalizarea electronilor pe legăturile N-C-O ale fragmentului amidic și migrația protonului de la grupa N-H a acestui fragment la atomul de azot heterociclic, confirmând componența complexului  $[\text{Fe}(\text{L})_2]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Jin-Xiu Wang, Xiao-Zeng Li, Li-Na Zhu, Ji-Yao Wang, Hao Qu. Synthesis and Crystal Structure of a Fe(III) Complex with an Isonicotinyl Ligand,  $[\text{Fe}(\text{N-Isonicotinamidosalicylaldimine})\text{Cl}_2]$ . J. Chem. Crystallogr. (2010) 40: 726-730 DOI 10.1007/s10870-010-9726-6).

35 Metodă de obținere a  $[\text{Fe}(\text{L})_2]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Reacția are loc în atmosferă inertă, prin barbotare cu argon.

40 0,2 g de izonicotinoilhidrazona 1-fenil-1,3-butandionei se dizolvă în 10 ml metanol. La soluția obținută se adaugă soluția formată din 0,1 g  $\text{FeSO}_4$  dizolvat în 5 ml de apă. Din soluția obținută de culoare neagră cad cristale mărunte de culoare cafenie, care se separă de soluția-mamă prin filtrare, se spală cu metanol și eter dietilic și se usucă la aer.

Se obțin 0,14 g (randamentul reacției este de 44,6%).

Compusul este solubil în cloroform, dimetilformamidă, dimetilsulfoxidă, etanol, metanol și insolubil în apă.

45 Rezultatele analizei elementale pentru  $[\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_4\text{Fe}]\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ( $M = 786 \text{ g}$ ):

găsit: C, 46,45; H, 4,64; N, 10,85; Fe, 8,00.

calculat: C, 48, 58; H, 4,83; N, 10,69; Fe, 7,13.

50 Exemple de aplicare a compusului bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diazahexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- $O^1, N^4, O^6$ ] fier(II) sulfat tetrahidrat în calitate de

stimulator al acumulării componentelor fenolice în biomasa microalgei *Porphyridium cruentum*.

Exemplul 1

Se prepară mediul mineral nutritiv cu următorul conținut al componentelor (g/L):  
 5 NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05;  
 KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O -  
 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005 și apă distilată până la 1 litru.  
 În prima zi de cultivare la suspensia de *Porphyridium*, în calitate de stimulator al  
 biosintezei fenolilor, se adaugă compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-  
 10 hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O<sup>l</sup>, N<sup>t</sup>, O<sup>6</sup>] fier(II) – sulfat tetrahidrat în concentrație de  
 0,011 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 1000 ml cu 500 ml  
 suspensie în următoarele condiții: pH-ul 6,8...7,2, temperatura de 23...25°C, iluminarea de  
 2000...3000 lx, agitare lentă periodică. La ziua a 10-a, biomasa de *Porphyridium* se separă  
 de lichidul cultural, se supune demineralizării și se standardizează după biomasa. În  
 15 biomasa obținută se determină conținutul de fenoli cu aplicarea metodei Folin-Ciocalteu.

Biomasa de *Porphyridium* conține 13,6±0,06 (p<0,5) mg acid galic echivalent/g  
 biomasa, față de 11,8 mg acid galic echivalent/g biomasa în cazul celei mai apropiate  
 soluții (vezi tabelul). Sporul conținutului de fenoli este de 15%.

Exemplul 2

Se prepară mediul mineral nutritiv cu următorul conținut al componentelor (g/L):  
 20 NaNO<sub>3</sub> - 5,0; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 1,8; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 0,15; KBr - 0,05;  
 KI - 0,05; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00002; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,00005; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O -  
 0,0003; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,0006; MoO<sub>3</sub> - 0,00002; NaVO<sub>3</sub> - 0,00005 și apă distilată până la 1 litru.  
 În prima zi de cultivare la suspensia de *Porphyridium*, în calitate de stimulator al  
 biosintezei fenolilor, se adaugă compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-  
 25 hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)-O<sup>l</sup>, N<sup>t</sup>, O<sup>6</sup>] fier(II) sulfat tetrahidrat în concentrație de  
 0,012 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 1000 ml cu 500 ml  
 suspensie în următoarele condiții: pH-ul 6,8...7,2, temperatura de 23...25°C, iluminarea de  
 2000...3000 lx, agitare lentă periodică. La ziua a 10-a, biomasa de *Porphyridium* se separă  
 de lichidul cultural, se supune demineralizării și se standardizează după biomasa. În  
 30 biomasa obținută se determină conținutul de fenoli cu aplicarea metodei Folin-Ciocalteu.  
 Biomasa de *Porphyridium* conține 13,8±0,04 (p<0,5) mg acid galic echivalent/g biomasa,  
 față de 0,88 mg acid galic echivalent/g biomasa în cazul celei mai apropiate soluții (vezi  
 tabelul). Sporul conținutului de fenoli este de 17%.

Tabel

Conținutul de fenoli în biomasa de *Porphyridium cruentum*, obținută la cultivare  
 conform procedurii revendicate și celei mai apropiate soluții

Procedeele aplicate	Concentrația compusului, g/L	Conținutul de fenoli, echivalent mg acid galic /g biomasa
Cea mai apropiată soluție	0,01	10,6...11,8
Soluția revendicată	0,011	13,6±0,06
	0,012	13,8±0,04

Datele din tabel demonstrează o creștere a conținutului de fenoli în biomasa de  
 40 *Porphyridium cruentum* cu 15...17% conform procedurii revendicate, față de procedeele cel  
 mai apropiate. Biomasa microalgei *Porphyridium cruentum* reprezintă o sursă modernă de  
 substanțe antioxidante, iată de ce sporul conținutului de fenoli este un factor al creșterii  
 valorii porfiridiumului în calitate de producător de substanțe cu efect antioxidant.  
 Proprietățile compusului bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-  
 45 hidroxi-6-olato(-2)-O<sup>l</sup>, N<sup>t</sup>, O<sup>6</sup>] fier(II) sulfat tetrahidrat prezintă interes pentru biotehnologie  
 în calitate de stimulator al producerii fenolilor, compuși cu proprietăți antioxidante, în  
 biomasa microalgei *Porphyridium cruentum*.

**(56) Referințe bibliografice citate în descriere:**

1. Sadovnic D. Tehnologii de obținere a preparatelor antioxidante și antiradicalice din biomasa algei roșii *Porphyridium cruentum* CNM-AR-01. Teză de doctor în biologie, Chișinău, 2014

**(57) Revendicări:**

1. Compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- $O^1$ ,  $N^4$ ,  $O^6$ ]fier(II) sulfat tetrahidrat, care sporește conținutul de fenoli în biomasa de *Porphyridium cruentum*.

2. Procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum*, care constă în aceea că se cultivă microalga pe un mediu nutritiv ce conține, g/L:  $NaNO_3$  - 5,0;  $NaCl$  - 7,0;  $KCl$  - 7,5;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  - 1,8;  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  - 0,15;  $KBr$  - 0,05;  $KI$  - 0,05;  $K_2HPO_4$  - 0,2;  $ZnSO_4 \cdot 5H_2O$  - 0,00002;  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  - 0,00005;  $MnSO_4 \cdot 5H_2O$  - 0,0003;  $H_3BO_3$  - 0,0006;  $MoO_3$  - 0,00002;  $NaVO_3$  - 0,00005 și apă distilată până la 1L; având pH-ul 6,8...7,2, la temperatura de 23...25°C și iluminarea de 2000...3000 lx/cm<sup>2</sup>, cu agitare lentă periodică, **caracterizat prin aceea că** mediul conține suplimentar compusul bis[1-fenil-3-metil-6-(piridinium-4-il)-4,5-diaza-hexa-1,3-dien-1-hidroxi-6-olato(-2)- $O^1$ ,  $N^4$ ,  $O^6$ ]fier(II) sulfat tetrahidrat în concentrație de 0,011...0,012 g/L.

Șef Secție Examinare:

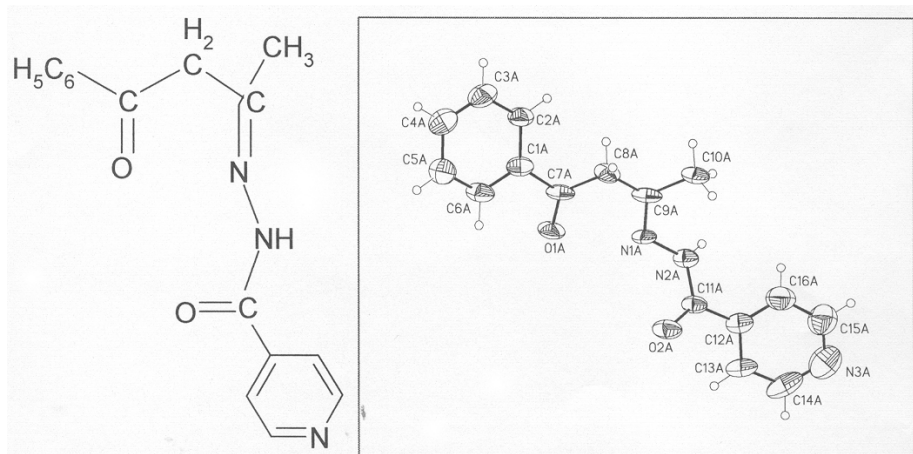
GROSU Petru

Examinator:

LUPAȘCU Lucian

Redactor:

LOZOVANU Maria



Structura ligandului necoordinat stabilită cu raze X