

Invenția se referă la chimie și biotehnologie, și anume la sinteza unui nou compus coordinativ al cobaltului(III) și la un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia.

Este cunoscut procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* pe un mediu nutritiv mineral ce conține, g/L: NaNO_3 - 5,0; NaCl - 7,0; KCl -7,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 1,8; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_4 - 0,2; 1,0 ml de soluție de microelemente care conține în g/l: $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 2,7; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,02; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,05; $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,3; H_3BO_3 - 0,6; MoO_3 - 0,02; NaVO_3 - 0,05 și apă distilată până la 1 L; cu pH-ul 6,8...7,2, la temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm². De asemenea este cunoscut compusul 1,2[Co(NH₃)Bren₂]S₂O₆ care se suplimentează în mediul mineral menționat în calitate de stimulator al conținutului de lipide și de acid eicosapentaenoic [1].

Neajunsul acestui procedeu și al compusului suplimentat constă în conținutul redus al lipidelor și al acidului eicosapentaenoic în BAU de *Porphyridium cruentum*.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui compus și a unui procedeu eficient și reproductibil pentru sporirea conținutului de lipide și de acid eicosapentaenoic în biomasa de *Porphyridium cruentum*.

Esența invenției constă în faptul că se propune un compus coordinativ – bis(dimetilgloximato)cloro(izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-naftaldehidă)cobalt(III).

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_3 - 5,0; NaCl - 7,0; KCl -7,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 1,8; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_4 - 0,2; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,00027; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 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; H_3BO_3 - 0,0006; MoO_3 - 0,00002; NaVO_3 - 0,00005; compusul bis(dimetilgloximato) cloro(izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-naftaldehidă)cobalt(III) - 0,010...0,014 g/L 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/cm².

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

Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea biomasei de *Porphyridium cruentum* cu un conținut de lipide mai mare cu 12,5...41,5% și a cantității acidului eicosapentaenoic de 2,0...2,5 ori mai mare față de cazul cea mai apropiată soluție. Administrarea compusului din prima zi de cultivare stimulează acumularea lipidelor și a acidului eicosapentaenoic în biomasa microalgei.

Rezultatul invenției este condiționat de utilizarea, pentru prima dată, a compusului bis(dimetilgloximato)cloro(izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-naftaldehidă)cobalt(III) în calitate de stimulator al acumulării lipidelor și a biosintezei acidului gras eicosapentaenoic în biomasa de *Porphyridium cruentum*. Compusul dat în concentrația propusă se manifestă în calitate de stimulator al lipidogenezei la *Porphyridium cruentum*, fapt confirmat prin lipsa unui efect inhibitor asupra producerii de biomasă.

Compusul revendicat se obține la interacțiunea soluției apoase de $[\text{Co}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{DmgH})_2]\text{H}_2\text{O}$ cu soluția de izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-naftaldehidă (H_2L) în amestecul de solvenți etanol-dimetilformamidă (2:1 după volum) în raport molar de 1:1. Reacția decurge timp de 10 min.

Procedeu de obținere a compusului revendicat este simplu în executare, substanțele inițiale sunt accesibile, randamentul constituie 82%. Compusul este stabil la contactul cu aerul, solubil în dimetilsulfoxidă, puțin solubil în dimetilformamidă, practic insolubil în alcooli și în apă.

Exemplu de obținere a bis(dimetilgloximato)cloro(izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-naftaldehidă)cobalt(III).

Soluția de 0,10 g (0,3 mmol) de $[\text{Co}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{DmgH})_2]\text{H}_2\text{O}$ în 10 ml de apă se amestecă cu soluția de 0,09 g (0,3 mmol) de izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-naftaldehidă (H_2L) în amestecul de solvenți ce conține 10 ml etanol și 5 ml dimetilformamidă. Amestecul obținut se încălzește pe o baie marină la 50°C cu agitare permanentă timp de 10 min. Din soluția de culoare cafenie-închisă se obține un precipitat de culoare maro, care este separat, spălat cu etanol, eter dietilic și uscat în aer.

S-a determinat, %: Co 9,55; C 48,50; H 4,68; N 15,67. Pentru $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{CoClN}_7\text{O}_6$ s-a calculat, %: Co 9,62; C 48,66; H 4,84; N 15,89.

Cercetarea sub microscop a compusului coordinativ sintetizat demonstrează că acesta posedă omogenitate fazică. Pentru a elucida compoziția și structura lui au fost utilizate metoda analizei elementelor, spectroscopia în IR și RMN.

În spectrul IR se manifestă o bandă lată la 3394 cm⁻¹, care este atribuită $\nu(\text{OH})$ fenolică ce participă la formarea legăturilor de hidrogen, 3194 cm⁻¹ ($\nu(\text{NH})$), 3052 cm⁻¹ ($\nu(\text{CH})$ in. arom.), 2836 cm⁻¹ ($\nu(\text{CH})$ ald.), 1672 cm⁻¹ ($\nu(\text{C}=\text{O})$), 1657 cm⁻¹ ($\nu(\text{C}=\text{N})$), 1623 cm⁻¹ ($\delta(\text{NH})$), 1598, 1507 și 1467 cm⁻¹ (inelul aromatic), 1453 și 1390 respectiv δ_{as} și δ_{s} (CH_3 dimetilgloxima, 1237 și 1085 respectiv ν_{as} și ν_{s} (NO)_{ionizat} dioxima, 977 cm⁻¹ ($\gamma(\text{CNO})$).

Din spectrele în IR este evident că atomul de cobalt(III) manifestă numărul de coordinare (6) și are o configurație spațială octaedrică distorsionată, în care doi monoanioni de dimetilgloximă, stabilizați cu două legături de hidrogen de tipul O-H...O, ocupă planul ecuatorial al octaedrului. Coordinata axială este ocupată de un anion de Cl⁻, în poziția *trans* față de care coordonează molecula de H_2L prin intermediul atomului de azot heterociclic.

Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor și cercetărilor spectroscopice a fost stabilită compoziția și structura probabilă a compusului revendicat. Aceasta este analogică cu un alt compus din această clasă, $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{DmgH})_2(\text{H}_2\text{L})\text{Cl}]$, unde H_2L este izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-benzaldehidă (Gusina L., Shova S., Bulhac I., Drăganca D. Synthesis and crystal structure of a cobalt(III) complex with dioxime and salicylaldehyde

isonicotinoilhidrazone ligands. A XXXI-a Conferință Națională de Chimie, 6-8 octombrie 2010, Râmnicu Vâlcea, România, p. 102), structura căruia a fost descifrată cu ajutorul razelor X.

Exemple de utilizare a compusului bis(dimetilglioximato)cloro(izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-haftaldehidă)cobalt(III) în calitate de stimulator al lipidogenezei la microalga *Porphyridium cruentum*.

Exemplul 1

Se prepară mediul nutritiv mineral cu următorul conținut al componentelor (g/L): NaNO_3 - 5,0; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 1,8; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_4 - 0,2; 1,0 ml de soluție de microelemente care conține, în g/l: $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,27; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,02; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,05; $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,3; H_3BO_3 - 0,6; MoO_3 - 0,02; NaVO_3 - 0,05 și apă distilată până la 1L. În prima zi de cultivare, la suspensia de microalgă, în calitate de stimulator al activității antioxidante se adaugă compusul bis(dimetilglioximato)cloro(izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-naftaldehidă)cobalt(III) în concentrație de 0,010 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 100 mL cu 50 mL de suspensie în următoarele condiții: pH-ul 6,8...7,2, temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm², la agitare lentă periodică. Conținutul de lipide în biomasa obținută constituie 13,50±0,64%, față de 12,0% BAU în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul). Conținutul acidului eicosapentaenoic este de 2,40% BAU față de 1,20% BAU în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul).

În condiții identice de cultivare, la suplimentarea mediului de cultivare cu compusul $1,2[\text{Co}(\text{NH}_3)\text{Bren}_2]\text{S}_2\text{O}_6$ în concentrație de 0,01g/L a fost obținută biomasa de *Porphyridium cruentum*. Conținutul de lipide în biomasa obținută constituie 12,0±0,22%, conținutul acidului eicosapentaenoic este de 1,20%±0,14 BAU (vezi tabelul).

Exemplul 2

Se prepară mediul nutritiv mineral cu următorul conținut al componentelor (g/L): NaNO_3 - 5,00; NaCl - 7,0; KCl - 7,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 1,8; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 0,15; KBr - 0,05; KI - 0,05; K_2HPO_4 - 0,2; 1,0 ml de soluție de microelemente care conține, în g/l: $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,27; $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,02; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,05; $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,3; H_3BO_3 - 0,6; MoO_3 - 0,02; NaVO_3 - 0,05 și apă distilată până la 1 L. În prima zi de cultivare, la suspensia de microalgă, în calitate de stimulator al activității antioxidante se adaugă compusul bis(dimetilglioximato)cloro(izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-naftaldehidă)cobalt(III) în concentrație de 0,014 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmayer a câte 100 mL cu 50 mL suspensie în următoarele condiții: pH-ul 6,8...7,2, temperatura de 23...25°C, iluminarea de 2000...3000 lx/cm², la agitare lentă periodică. Conținutul de lipide în biomasa obținută constituie 14,15±1,02%, față de 10,0% BAU în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul). Conținutul de acid eicosapentaenoic este de 2,02% BAU față de 0,8% BAU în cazul celei mai apropiate soluții (vezi tabelul).

În condiții identice de cultivare, cu suplimentarea mediului de cultivare cu compusul $1,2[\text{Co}(\text{NH}_3)\text{Bren}_2]\text{S}_2\text{O}_6$ în concentrație de 0,014 g/L a fost obținută biomasa de *Porphyridium cruentum*, în care conținutul de lipide constituie 10,0±0,6%, conținutul de acid eicosapentaenoic este de 0,8%±0,12 BAU (vezi tabelul).

Tabel

Conținutul de lipide și acid eicosapentaenoic în biomasa de *Porphyridium cruentum*, obținută la cultivarea conform procedurii revendicat și celei mai apropiate soluții

Procedeele utilizat	Concentrația compusului, g/L	Conținutul de lipide, % BAU/conținutul de acid eicosapentaenoic, % BAU
Procedeele cunoscute + $1,2[\text{Co}(\text{NH}_3)\text{Bren}_2]\text{S}_2\text{O}_6$	0,010	12,0±0,22 / 1,2±0,14
	0,014	10,0±0,6 / 0,8±0,12
Procedeele revendicate (cu compusul $\text{Co}^{\text{III}}(\text{DmgH})_2(\text{H}_2\text{L})\text{Cl}$)	0,010	13,5±0,64 / 2,4±1,10
	0,014	14,15±1,02 / 2,02±1,02

Datele din tabel demonstrează creșterea conținutului de lipide în biomasa de *Porphyridium cruentum* cu 12,5...41,5% conform procedurii revendicate față de procedura cel mai apropiată și sporul de 2,0...2,5 ori a conținutului de acid eicosapentaenoic. Biomasa microalgei *Porphyridium cruentum* reprezintă o sursă de acid gras omega-3 și acid eicosapentaenoic, iată de ce posibilitatea sporirii biosintezei acidului eicosapentaenoic în biomasa microalgei, prezintă interes pentru ficobiotehnologie.

Proprietățile compusului bis(dimetilglioximato)cloro(izonicotinoilhidrazonă-2-hidroxi-1-haftaldehidă)cobalt(III) prezintă interes pentru biotehnologie în calitate de stimulator al lipidogenezei la microalga *Porphyridium cruentum*.