

Invenția se referă la biotehnologie, și anume la un procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* și poate fi aplicată în scopul obținerii de materie primă pentru elaborarea și fabricarea remediilor cu acțiune antimalignă și imunomodulatoare.

Bionanotehnologia, fiind rezultatul sinergiei dintre biologie și nanotehnologie, are cea mai bogată arie de studii interdisciplinare cu aplicații în diferite domenii. Nanotehnologiile, care au fost remarcate prin rezultate în biosinteza nanoparticulelor, studiul toxicității și aplicării lor în calitate de stimulatori s-au poziționat stabil în domeniul biologiei. A fost demonstrat efectul pozitiv al nanoparticulelor asupra creșterii și metabolismului celular. Tipul, dimensiunea și învelișul nanoparticulelor determină acțiunea lor asupra proceselor metabolice celulare.

În același timp, există probabilitatea ca utilizarea nanoparticulelor în calitate de stimulatori ai activității biosintetice a microalgelor și cianobacteriilor, precum și în scopul biofuncționalizării lor, să afecteze valoarea materiei prime și să prejudiceze calitatea produsului obținut. În aceste condiții, la elaborarea nanoprocedeelelor de cultivare a cianobacteriilor, în special a spirulinei, este necesar de a atrage o atenție deosebită siguranței produselor obținute.

Este cunoscut procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* pe mediul mineral nutritiv ce conține, în g/L: NaNO_3 -2,5, NaHCO_3 -8,0, NaCl -1,0, K_2SO_4 -1,0, Na_2HPO_4 -0,2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,2 și microelemente în mg/l: H_3BO_3 -2,86, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -1,81, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -0,08, MoO_3 -0,015 și 1,0 ml/L FeEDTA. Spirulina a fost cultivată în baloane Erlenmeyer de 500 ml cu un volum de cultură de 250 ml timp de șase zile, în condiții optime pentru creșterea spirulinei: temperatura de $30 \pm 2^\circ\text{C}$, pH 8-10 și iluminarea de 37-55 μM fotoni/ $\text{m}^2 \cdot \text{s}$. Suplimentar, la mediul nutritiv se adaugă nanoparticule de Ag de 12 nm cu înveliș din polietilenglicol (PEG) în concentrația de 0,025-0,5 μM /L. Adăugarea nanoparticulelor se realizează în prima zi a ciclului de cultivare [1].

Neajunsul acestui procedeu constă în acumularea în exces a produselor degradării oxidative a lipidelor, confirmată prin valori crescute ale dialdehidei malonice în biomasă.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în elaborarea unui procedeu eficient și reproductibil de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* în prezența nanoparticulelor de Ag(PEG), prin care se evită acumularea în exces a produselor degradării oxidative a lipidelor.

Conform invenției, procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* include cultivarea cianobacteriei pe mediul nutritiv ce conține, în g/L: NaNO_3 -2,5, NaHCO_3 -8,0, NaCl -1,0, K_2SO_4 -1,0, Na_2HPO_4 -0,2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,2, H_3BO_3 -0,00286, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -0,00181, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -0,00008; MoO_3 -0,000015, FeEDTA 1,0 ml/L și apă distilată restul, la temperatura de 30-32 $^\circ\text{C}$, pH 8,0-10,0 și iluminarea de 37-55 μM fotoni/ $\text{m}^2 \cdot \text{s}$ în regim continuu, timp de 6 zile, totodată în a cincea zi de cultivare în mediul nutritiv se adaugă nanoparticule de Ag în înveliș de polietilenglicol cu dimensiunea de până la 5 nm în concentrația de 0,10-0,12 μM /L.

Rezultatul invenției constă în reducerea conținutului dialdehidei malonice în biomasă, care nu depășește substanțial valorile de control (față de creșterea cu 26,2% a dialdehidei malonice în varianta celei mai apropiate soluții).

Astfel, procedeu propus se include în noua direcție de utilizare a nanoparticulelor în domeniul biotehnologiei în scopul obținerii unui produs calitativ și inofensiv.

Rezultatul obținut este condiționat de faptul că adăugarea nanoparticulelor se produce la sfârșitul fazei de creștere exponențială, ceea ce asigură reducerea timpului de contact al celulelor de spirulină cu nanoparticule.

Contactul nanoparticulelor cu celula spirulinei și acumularea lor cu fixarea în structurile celulare a modificat activitatea proceselor biosintetice. Totodată, vârsta culturii și reducerea timpului de contact cu nanoparticule au atenuat procesul de formare a radicalilor și acumularea în exces a produselor degradării oxidative a lipidelor în biomasă spirulinei.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea componență, în g/L: NaNO_3 -2,5; NaHCO_3 -8,0; NaCl -1,0; K_2SO_4 -1,0; Na_2HPO_4 -0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,2 și microelemente, în mg/L: H_3BO_3 -2,86; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -1,81; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -0,08; MoO_3 -0,015 și FeEDTA 1,0 ml/L și apă distilată restul. Cultura start este suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,3 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmeyer cu volumul de 500 ml și volumul de lucru de 250 ml la temperatura de 30 $^\circ\text{C}$, pH 8,0-10,0 și iluminarea de 37-55 μM fotoni/ $\text{m}^2 \cdot \text{s}$ în regim continuu.

La ziua a 5-a a ciclului de cultivare, la cultura de spirulină se adaugă 0,12 μM /L de nanoparticule de Ag(PEG) cu dimensiunea de până la 5 nm. Se mențin condițiile inițiale de cultivare. La sfârșitul ciclului de cultivare se colectează biomasă de spirulină și se determină componența biochimică. A fost obținut 1,23 g/L de biomasă, care conține 6,11% de lipide. Conținutul dialdehidei malonice determinat în biomasă este de 3,86%, ceea ce este la nivelul probei martor (spirulina cultivată în lipsa nanoparticulelor).

Exemplul 2

Se prepară mediul nutritiv cu următoarea componență, în g/L: NaNO_3 -2,5; NaHCO_3 -8,0; NaCl -1,0; K_2SO_4 -1,0; Na_2HPO_4 -0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,2 și microelemente, în mg/L: H_3BO_3 -2,86; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -1,81; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -0,08; MoO_3 -0,015 și FeEDTA 1,0 ml/L și apă distilată restul. Cultura start este suspensia de *Spirulina platensis* în cantitate de 0,3 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmeyer cu volumul de 500 ml și volumul de lucru de 250 ml la temperatura de 30 $^\circ\text{C}$, pH 8,0-10,0 și iluminarea de 37-55 μM fotoni/ $\text{m}^2 \cdot \text{s}$ în regim continuu.

La ziua a 5-a la cultura de spirulină se adaugă 0,10 μM /L nanoparticule de Ag(PEG) cu dimensiunea de până la 5 nm. Se mențin condițiile de cultivare. La sfârșitul ciclului de cultivare se colectează biomasă de spirulină și se

determină componența biochimică. A fost obținut 1,22 g/L de biomasă, care conține 6,02% de lipide. Conținutul dialdehidei malonice (DAM) determinat în biomasă este de 3,78%, ceea ce este la nivelul probei martor.

Tabel

Efectul cultivării în prezența AgNP(PEG) asupra compoziției biomasei de *Spirulina platensis*

Procedeul utilizat	Compusul AgNP(PEG), $\mu\text{M/L}$	Timpul administrării AgNP (ziua de cultivare)	Conținutul de biomasă, g/L (spor % față de martor)	Conținutul de lipide, % biomasă, (spor % față de martor)	Conținutul de DAM acumulat, % biomasă, (spor % față de martor)
Conform celei mai apropiate soluții	0,1	1 zi	1,25 (31,6)	6,2 (28,6)	4,83 (26,2)
Conform soluției revendicate	0,12	a 5-a zi	1,23 \pm 0,004 (29,0-30,0)	6,11 \pm 0,06% (25,5-28,0%)	3,86 \pm 0,1% (-)
	0,10	a 5-a zi	1,22 \pm 0,01 (27,4-29,5)	6,02 \pm 0,08% (23,0-26,5%)	3,78 \pm 0,13 (-)
Martor (Control)	-	-	0,95 \pm 0,02	4,82 \pm 0,04%	3,83 \pm 0,04

Astfel, conform datelor prezentate în tabel, prin aplicarea procedurii propus se obține o reducere semnificativă a valorilor dialdehidei malonice, care sunt la nivelul probei martor (*Spirulina* cultivată în lipsa nanoparticulelor) și cu 26% mai mici față de soluția proximală. Efectul de stimulare a activității biosintetice al AgNP(PEG) se păstrează.