

Invenția se referă la biotehnologie, și anume la un procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* în scopul obținerii de biomasă cu conținut sporit de lipide.

Ficobiotehologia este un nou domeniu de aplicare a nanoparticulelor. A fost demonstrat efectul stimulator al unor nanoparticule care se implică activ în metabolismul celular al microalgelor. Nanoparticulele pot fi considerate și drept o sursă alternativă de oligoelemente care au funcția de stimulatori ai multiplicării și activității biosintetice. Dimensiunile mici ale nanoparticulelor este unul din factorii determinanți în interacțiunea lor cu celula.

Este cunoscut procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01 pe mediul mineral cu următoarea componență: macroelemente (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; 1,0 mL soluție de microelemente ce conține (g/L): FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0,27; ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,02; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,05; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,3; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0,6; MoO<sub>3</sub> 0,02; NaVO<sub>3</sub> 0,05. Conform procedurii, în prima zi de cultivare, la suspensia de microalgă se adaugă compusul CoIII(DmgH)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L)Cl în concentrație de 0,014 g/L. Cultivarea se efectuează în baloane Erlenmeyer a câte 100 mL cu 50 mL de suspensie în următoarele condiții: pH 6,8-7,2, temperatura de 23-25°C, iluminarea de 2000-3000 lx/cm<sup>2</sup>, la agitare lentă periodică. Conținutul de lipide în biomasă obținută conform procedurii este de 14,15±1,02% [1].

Neajunsul acestui procedeu constă în conținutul redus de lipide în biomasă.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în sporirea conținutului de lipide în biomasă microalgei *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01.

Problema se rezolvă prin procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01, care include cultivarea pe un mediu nutritiv ce conține macroelemente, g/L: KCl 16,04; NaCl 12,52; KNO<sub>3</sub> 1,24; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2,5; CaCl<sub>2</sub> 0,118; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O 0,5; KI 0,05; KBr 0,05; 1 mL/L soluție de microelemente ce conține, mg/L: H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2,86; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 1,81; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,08; MoO<sub>3</sub> 0,015; FeEDTA 0,5 mL și apă distilată până la 1 L. În calitate de stimulator al sintezei lipidelor se utilizează nanoparticule de aur cu dimensiunea de 10 nm stabilizate în citrat (Sigma), care se adaugă la mediul de cultivare în concentrație de 0,023-0,027 nM. Cultivarea se efectuează timp de 14 zile la temperatură constantă de 25-28°C, pH 6,8-7,2 și iluminarea cu intensitatea de 50-57 μmol fotoni/m<sup>2</sup>.s, în regim continuu și agitare lentă periodică.

Rezultatul tehnic a invenției constă în sporirea cu 39% a conținutului de lipide în biomasă microalgei *Porphyridium cruentum*.

Rezultatul invenției se datorează aplicării nanoparticulelor de aur cu dimensiunea de 10 nm stabilizate în citrat, în calitate de stimulator al biosintezei lipidelor de către microalga de interes biotehologic *Porphyridium cruentum*, producător de lipide omega-3. Nanoparticulele pot induce în celulele microalgale o stare de stres oxidativ moderat, și drept urmare stimularea sintezei lipidelor (Alishah Aratboni H., Rafiei N., Garcia-Granados R. et al. Biomass and lipid induction strategies in microalgae for biofuel production and other applications. Microb Cell Fact, 2019, 18, 178, URL: <<https://doi.org/10.1186/s12934-019-1228-4>>).

Exemple de realizare a invenției

#### Exemplul 1

Se prepară mediul de cultivare cu următorul conținut de minerale: macroelemente (g/L): KCl 16,04; NaCl 12,52; KNO<sub>3</sub> 1,24; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2,5; CaCl<sub>2</sub> 0,118; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O 0,5; KI 0,05; KBr 0,05; 1mL/L soluție de microelemente ce conține (mg/L): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2,86; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 1,81; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,08; MoO<sub>3</sub> 0,015; 0,5 mL/L FeEDTA și apă distilată până la 1 L. La mediul preparat se adaugă 0,023 nM de nanoparticule de Au cu dimensiunea de 10 nm stabilizate în citrat. Cultura start este suspensia de *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01 în cantitatea de 0,55 g/L. Cultivarea microalgei se efectuează în baloane Erlenmeyer a câte 100 mL cu volumul suspensiei de 50 mL, la temperatura de 25°C, pH 6,8-7,2 și iluminarea cu intensitatea de 50-57 μmol fotoni/m<sup>2</sup>.s, în regim continuu și agitare lentă periodică. Durata ciclului de cultivare este de 14 zile. La finalul ciclului de cultivare biomasă se colectează și se determină conținutul de lipide. Conținutul lipidelor în biomasă este de 19,6±0,24%.

#### Exemplul 2

Se prepară mediul de cultivare cu următorul conținut de minerale: macroelemente (g/L): KCl 16,04; NaCl 12,52; KNO<sub>3</sub> 1,24; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2,5; CaCl<sub>2</sub> 0,118; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O 0,5; KI 0,05; KBr 0,05; 1mL/L soluție de microelemente ce conține (mg/L): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2,86; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 1,81; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,08; MoO<sub>3</sub> 0,015 și FeEDTA 0,5 mL/L. La mediul preparat se adaugă 0,027 nM de nanoparticule de Au cu dimensiunea de 10 nm, stabilizate în citrat. Cultura start este suspensia de *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01 în cantitate de 0,55-0,6 g/L. Cultivarea microalgei se efectuează în baloane Erlenmeyer a câte 100 mL cu volumul suspensiei de 50 mL la temperatura de 28°C, pH 6,8-7,2 și iluminarea cu intensitatea de 50-57 μmol fotoni/m<sup>2</sup>.s, în regim continuu și agitare lentă periodică. Durata ciclului de cultivare este de 14 zile. La finalul ciclului de cultivare, biomasă se colectează și se determină conținutul de lipide. Conținutul lipidelor în biomasă este de 19,7±0,12%.

Tabel

Conținutul de lipide în biomasă de *Porphyridium cruentum*

Procedeul aplicat	Compusul, concentrația	Conținutul de lipide, % BAU
Conform celei mai apropiate soluții	0,014 g/L, CoIII(DmgH) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> L)Cl	14,15±1,02
Conform soluției revendicate	0,023 nM, AuNP(citrat) 10 nm	19,60±0,24
	0,027 nM, AuNP(citrat) 10 nm	19,70±0,12

Astfel, datele din tabel demonstrează majorarea cu 39% a conținutului de lipide în biomasa microalgei *Porphyridium cruentum* conform procedurii revendicate față de cea mai apropiată soluție.