

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

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 de 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 constituie 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 de 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/L și apă distilată până la 1 L. În calitate de stimulator al biosintezei lipidelor se utilizează nanoparticule de aur cu dimensiunea de 5 nm stabilizate în citrat, care se adaugă la mediul de cultivare în concentrație de 4,8-5,1 nM. Cultivarea se efectuează timp de 14 zile la temperatura constantă de 25-28°C, pH 6,8-7,2 și iluminarea continuă cu intensitatea de 50-57 μmol fotoni/m<sup>2</sup>.s și agitare lentă periodică.

Rezultatul tehnic al invenției constă în sporirea cu 52% a conținutului de lipide în biomasă microalgei *Porphyridium cruentum*.

Rezultatul invenției este condiționat de utilizarea nanoparticulelor de aur cu dimensiunea de 5 nm stabilizate în citrat, în calitate de stimulator al biosintezei lipidelor de către microalga marină de interes biotehologic *Porphyridium cruentum*, producător de lipide omega-3. Nanoparticulele pot induce în celulele microalgale un stres oxidativ moderat și drept rezultat stimularea sintezei lipidelor (Alishah Aratboni H. ș.a. Biomass and lipid induction strategies in microalgae for biofuel production and other applications. Microbial Cell Factories, 2019, nr. 18, p. 178).

#### *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; 1 mL/L de 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/L și apă distilată până la 1 L. La mediul preparat se adaugă 4,8 nM de nanoparticule de Au cu dimensiunea de 5 nm stabilizate în citrat. Cultura start este suspensia de *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01 în cantitate de 0,55 g/L. Cultivarea microalgei se efectuează în baloane Erlenmeyer de 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 21,54%±0,13.

##### *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; 1 mL/L de 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/L și apă distilată până la 1 L. La mediul preparat se adaugă 5,1 nM de nanoparticule de Au cu dimensiunea de 5 nm stabilizate în citrat. Cultura start este suspensia de *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01 în cantitate de 0,55 g/L. Cultivarea microalgei se efectuează în baloane Erlenmeyer de 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 21,62%±0,08.

Conținutul de lipide în biomasă de *Porphyridium cruentum*

Procedeu 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	4,8 nM, AuNP(citrat) 5 nm	21,54±0,13
	5,1 nM, AuNP(citrat) 5 nm	21,62±0,08

Astfel, datele din tabel demonstrează majorarea cu 52% a conținutului de lipide în biomasă microalgei *Porphyridium cruentum* conform procedurii propus în invenție față de cea mai apropiată soluție.