

ELABORAREA PROCEDEELOR DE OBTINERE A BIOMASEI DE SPIRULINĂ CU CONȚINUT ÎNALT DE FIER CA PARTE COMPONENTĂ EFECTIVĂ

Liliana ZOSIM

LCȘ „Ficobiotehnologie”

Some procedures of the iron fortified spirulina biomass have been elaborated. These procedures provide a high iron content in biomass – 1,01-1,2% and can be used to obtain antianemic products.

Introducere

Statisticile Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) denotă că, pe plan mondial, anemia feriprivă este cea mai frecventă problemă nutrițională. Fierul intră în componența hemoglobinei - proteină cu rol important în transportul oxigenului care participă în reacțiile de oxidoreducere, iar carența lui în organismul uman duce la anemie. Preparatele utilizate în prezent pentru tratarea anemiei (ferogradumet, feroplex ș.a.) sunt slab efective, cauza fiind că fierul se află sub formă de săruri simple relativ toxice pentru organism, iar administrarea lor este însoțită de numeroase reacții adverse [1].

În cele mai frecvente cazuri, doza zilnică de fier indicată în tratamentul anemiilor fierodeficitare întrece norma zilnică necesară, fiind determinată de faptul că fierul din componența acestor preparate se asimilează prost, iar tratamentul se dovedește a fi inefficient. Din aceste considerente, remediile care urmează a fi utilizate în profilaxia și tratamentul acestor afecțiuni trebuie direcționate spre o eficiență sporită, reducând la minim apariția reacțiilor adverse și posibilitatea instalării stării de hemacromatoză. Cel mai adecvat în cazul dat ar fi să se folosească unii compuși organici ai fierului, deoarece sunt mai ușor asimilabili [2,3].

Compușii coordinativi trinucleari ai Fe(III) cu aminoacizii, precum și compușii heterotrinucleari ai Fe(III), deși reprezintă complecși ce conțin molecule de compuși organici, sunt obținuți în urma unor sinteze chimice și nu pot fi aplicați nemijlocit în tratamentul anemiilor fierodeficitare, deoarece pot fi toxici pentru organism. De aceea, a fost investigată posibilitatea de a utiliza unii compuși coordinativi ai Fe(III) în calitate de stimulatori chimici ai proceselor de creștere și dezvoltare a cianobacteriei *Spirulina platensis* și asupra capacității ei de a lega fierul, prin formarea de legături cu compușii organici intracelulari. Avantajul utilizării biomasei de spirulină îmbogățită cu fier în tratarea anemiilor este că în afară de fier ea mai conține și alte microelemente, precum și o gamă largă de substanțe bioactive: vitamine, ficobiliproteine, beta-caroten, acid gama-linolenic, acizi imunoactivi etc., sporind astfel eficacitatea tratamentului.

În contextul celor expuse, ne-am propus ca scop elaborarea unor noi procedee și tehnologii de obținere a biomasei de spirulină cu un conținut sporit de fier, ce ar putea servi drept sursă de obținere a unor preparate antianemice noi.

Material și metode

Obiectul de studiu a fost tulpina cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-01(CYANOPHYTA), depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nonpatogene de pe lângă Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM [4].

Pentru cultivare s-a utilizat mediul nutritiv Zarrouk cu o compoziție echilibrată a macro- și micronutrienților necesari creșterii și dezvoltării spirulinei. Cultivarea s-a efectuat în baloane Erlenmeyer a câte 250 ml cu 100 ml suspensie de spirulină, timp de 144 ore, respectându-se parametrii optimi ai cultivării pentru asigurarea biosintezei constituenților intracelulari ai spirulinei stabiliți în cercetările anterioare [5].

În calitate de reglatori ai conținutului de fier în biomasă au fost utilizați: clusterii trinucleari ai Fe cu aminoacizii $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Gly})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – $[\text{Fe}_3\text{O-Gly}]$, $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{Ala})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – $[\text{Fe}_3\text{O-Ala}]$, precum și compusul heterotrinuclear $[\text{Fe}_2\text{MgO}(\text{CCl}_3\text{COO})_6(\text{CH}_3\text{OH})_3]-[\text{Fe}_2\text{MgO}]$ în concentrații de 50 mg/l.

Analiza statistică și regresională a valorilor obținute în trei serii de determinări ale conținutului de fier în biomasă a fost realizată prin metodele propuse de Maximov și Dosphehov [6,7]. Planul experimental ”Mișcarea pe gradient” a fost alcătuit conform metodei descrise de Maximov.

Determinarea cantitativă a fierului a fost efectuată prin metoda colorimetrică bazată pe reacția fierului (III) cu rodanura de potasiu, care în mediu acid formează un complex de culoare roșie. Intensitatea culorii este direct proporțională cu concentrația fierului. Metoda dată permite de a determina 0,005-1,0 mg/ml Fe [8,9].

Rezultate și discuții

Rezultatele cercetărilor anterioare privind acumularea fierului în biomasa de spirulină au scos în evidență capacitatea înaltă a spirulinei de a acumula fier, utilizând în calitate de reglatori compuși coordinativi, dintre care au fost selectați 3 compuși: $[\text{Fe}_3\text{O-Gly}]$, $[\text{Fe}_3\text{O-Ala}]$ și $[\text{Fe}_2\text{MgO}]$ [10,11]. Aplicarea unui diapazon destul de vast de concentrații ale compușilor (5-50mg/l) a permis de a stabili gradientul procesului dat. După cum rezultă din aceste cercetări, acumularea fierului este proporțională cu majorarea concentrației compusului.

Conținutul „maxim” al fierului cu oscilări foarte neînsemnate între valorile obținute este realizat în biomasă pentru concentrația compușilor dați de 50 mg/l, suplimentați pe rate la diferite etape de creștere a spirulinei (1/2 în prima zi de cultivare și 1/2 în a treia zi), constituind valoarea maximă 1020 mg% $[\text{Fe}_2\text{MgO}]$, 1010% $[\text{Fe}_3\text{O-Ala}]$ și 1200 mg% $[\text{Fe}_3\text{O-Gly}]$ față de 180 mg% în biomasa cultivată fără adaos de compus coordinativ.

Teoretic, după cum demonstrează datele obținute în urma aplicării planului „Mișcarea pe gradient”, acest conținut poate fi majorat și în continuare în biomasă prin mărirea concentrației de compus. Însă, în procesele tehnologice de producere a biomasei de spirulină un indice important este valoarea productivității. Majorarea concentrației compușilor (mai mare de 50 mg/l) nu este binevenită, deoarece are loc scăderea esențială a productivității spirulinei [12]. De aceea, cea mai optimală s-a dovedit a fi concentrația compusului coordinativ de 50 mg/l.

Planul experimental de cercetare a procesului de acumulare a fierului în biomasă este prezentat în Tabelele 1 și 2.

Tabelul 1

Matricea dependenței procesului de acumulare a fierului în biomasa de spirulină de nivelul concentrației compusului

$[\text{Fe}_3\text{O-Ala}]$	„-”	40	785	897	112,5	$Y=897+112,5$
	„+”	50	1010			
$[\text{Fe}_3\text{O-Gly}]$	„-”	40	918	1059	141	$Y=1059+141$
	„+”	50	1200			
$[\text{Fe}_2\text{MgO}(\text{CCl}_3\text{COO})_6]$	„-”	30	805	912	107,5	$Y=912+107,5$
	„+”	40	1020			

Tabelul 2

Determinarea concentrației optime a compușilor coordinativi ce duc la acumularea maximală a fierului în biomasa de spirulină

Compusul coordinativ(factorul)	X1 $[\text{Fe}_3\text{O-Ala}]$	X3 $[\text{Fe}_3\text{O-Gly}]$	X3 $[\text{Fe}_2\text{Mg}(\text{CCl}_3\text{COO})_6]$			
Ecuatia de regresie	$Y=897+112,5$	$Y=1059+141$	$Y=912+107,5$			
Nivelul de bază \bar{y}	45	45	45			
Unitatea de variere, λ_1	2,5	2,5	2,5			
b_1	112,5	141	107,5			
$b_1*\lambda_1$	281,25	352,5	268,75			
K_1	1	1	1			
Pasul	1	1	1			
Rezultatele experiențelor	Concentrația compusului, mg/l	Conținutul de fier, mg/%	Concentrația compusului, mg/l	Conținutul de fier, mg/%	Concentrația compusului, mg/l	Conținutul de fier, mg/%
	45	885	45	1050	45	900
	46	920	46	1100	46	925
	47	945	47	1130	47	955
	48	970	48	1160	48	970
	49	985	49	1189	49	990
50	1010	50	1200	50	1020	

În baza rezultatelor obținute și luând în considerare cele menționate, deducem concentrația maximă a compușilor (50 mg/l) pentru acumularea fierului, ce este introdusă la cultura de spirulină pe rate: 25 mg/l în primele 12 ore și 25mg/l suplimentate ulterior în diapazonul de 36-48 ore ale procesului de cultivare. Biomasa de spirulină conține 1,01 și 1,2% fier în biomasa cultivată în prezența Fe₃O-Ala și a Fe₃O-Gly, respectiv, și 1,02% în cazul utilizării compusului heteropolinuclear Fe₂MgO, față de 0,178% în cazul probei martor (Fig. 1).

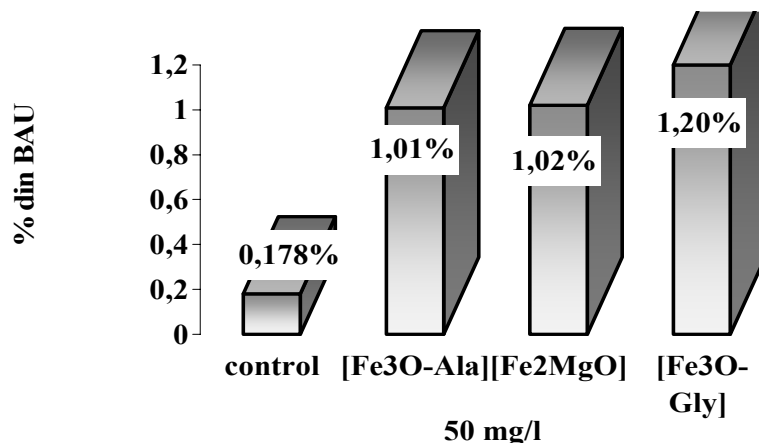


Fig.1. Cantitatea de fier determinată în biomasă la administrarea concentrației maxime (50 mg/l).

Rezumând asupra cercetărilor efectuate, propunem următoarele procedee noi de obținere a biomasei de spirulină cu conținut prognozat de fier ca parte componentă efectivă „SP-^{Fe1}”, „SP-^{Fe2}”, „SP-^{Fe3}”, care se realizează în următoarea succesiune:

✓ Se prepară mediul mineral nutritiv cu următoarea componentă: NaNO₃ – 2,25 g/l; NaHCO₃ – 8,0 g/l; NaCl – 1,0 g/l; K₂SO₄ – 0,3 g/l; Na₂HPO₄ – 0,20 g/l; MgSO₄·7H₂O – 0,20 g/l; CaCl₂ – 0,024 g/l; soluția de microelemente – 1 ml/l, ce conține H₃BO₃ – 2,86 mg/l; MnCl₂·4H₂O – 1,81 mg/l; CuSO₄·5H₂O – 0,08 mg/l; MoO₃ – 0,015 mg/l.

✓ Mediul mineral nutritiv în volum de 60l este pompat în una din cuvele instalației de cultivare. Se conectează dispozitivele de agitare și de iluminare. Iluminarea se asigură în limitele a 18-20 mii erg/cm², temperatura de cultivare 30-32°C, pH-ul mediului de cultivare 8-9.

✓ La 12 ore de la începutul perioadei de cultivare se introduc câte 25 mg/l [Fe₃O-Gly], [Fe₃O-Ala] și [Fe₂Mg(CCl₃COO)₆]. Cultivarea decurge conform parametrilor descriși. La începutul fazei exponențiale la cultură se suplimentează încă câte 25 mg/l de compuși. Cultivarea este continuată pe parcursul a 96 ore cu respectarea parametrilor: 20-24 mii erg/cm²·s, la temperatura de 35 ± 1°C, pH – 9-10.

✓ La ziua a 6-a biomasa se separă de lichidul cultural și se supune demineralizării de surplusul de săruri, utilizând în acest scop o soluție de acetat de amoniu de 1,5% și se determină cantitatea de fier.

Astfel, procedeele elaborate permit obținerea biomasei îmbogățite cu fier și vin să contribuie la soluționarea uneia dintre cele mai acute probleme cum este anemia fierodeficientă. Biomasa obținută poate fi utilizată atât pentru condiționarea unor produse nutraceutice fierocomponente, precum și pentru obținerea unor biopreparate antianemice cu conținut prognozat de acest bioelement și principii bioactive.

Concluzii:

Au fost elaborate 3 procedee de obținere a biomasei de spirulină cu conținut prognozat de fier ca parte componentă efectivă, a cărui valoare este de 1,01, 1,02 și 1,20%, respectiv.

Referințe:

1. <http://www.inoanpress.com/san/noi/s58.html> AGENDA MEDICALA 2000.
2. <http://www.biam2.org/>
3. www.I_clt.html.
4. Rudic V., Șalari V., Obuh P. Tulpina *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. Calu-835 – producător de biomasă. Brevet de invenție Nr. 169(MD) // BOPI. - 1995. - Nr.3.
5. Rudic V. Aspecte noi ale biotehnologiei. - Chișinău, 1993. - 140 p.

6. Максимов В.Н. Многофакторный эксперимент в биологии. - Москва: Изд-во МГУ, 1980. - 280 с.
7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. - Москва: Агропромиздат, 1985. - 351с.
8. Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений. - Москва: Агропромиздат, 1987. - 385 с.
9. Филиппович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. - Москва: Просвещение, 1982, с.284-286.
10. Zosim L. Studiul acumulării și repartizării fierului în diferite fracții bioactive componente ale biomasei de spirulină cultivată în prezența unor compuși coordinați ai Fe(III) // Analele Științifice ale Universității de Stat din Moldova. Seria „Științe chimico-biologice”. Ediție jubiliară. - Chișinău: CEP USM, 2006, p.171-174.
11. Zosim L. Studiul productivității și al procesului de acumulare a fierului în biomasă la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* în prezența unor compuși coordinați ai Fe(III) // Analele Științifice ale Universității de Stat din Moldova. Seria „Științe chimico-biologice”. - Chișinău: CEP USM, 2005, p.278-281.
12. Ibidem.

Prezentat la 06.02.2007