

**EFFECTUL STIMULATOR AL TRIS- β -AMINOETILATIILOR DE COBALT(III)
ASUPRA PRODUCTIVITĂȚII CIANOBACTERIEI *SPIRULINA PLATENSIS***

Aliona COTOVAIA, Aurelian GULEA, Sergiu ȘOVA, Daniela CIUMAC^{*}
Valentina BULMAGA^{*}, Ștefan ȚURCANU^{**}, Valeriu RUDIC^{***}**

Catedra Chimie Anorganică și Fizică

^{*}LCȘ „Ficobiotehnologie”

^{**}Universitatea Agrară de Stat din Moldova

^{***}Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM

As a result of cobalt (III) β -aminoethylate protonation reactions with sulfuric and nitric acids, several new coordination compounds of composition $[\text{Co}(\text{Hetm})_3](\text{NO}_3)_3$ (**1**) and $[\text{Co}(\text{Hetm})_3]_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**2**) have been synthesized. The reaction between β -aminoethanol and cobalt(III) nitrate, acetate and sulfate in neutral or slightly basic alcoholic media leads to the formation of cobalt (III) coordination compounds, which internal sphere includes both molecules of neutral β -aminoethanol (Hetm) and ions of its deprotonated form (etm). The general formula of the complexes can be given as $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3]\text{X}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, where $\text{X} = \text{NO}_3^-$ (**3**), CH_3COO^- (**4**), $1/2\text{SO}_4^{2-}$ (**5**); $n = 0, 7, \text{ or } 3$ correspondingly. The biologic activity study of the synthesized complexes revealed that the algae biomass obtained in the nutritive media, containing coordination compounds, depends on the internal coordination sphere of the cobalt compound.

Introducere

Deficiența bioelementelor (Zn, Fe, I, Cr, Se) este una dintre cele mai răspândite cauze care duc la apariția unor maladii grave (osteoporoză, anemie fierodeficitară, maladii imunodeficitare, diabet zaharat, cancer) și este evidentă necesitatea asigurării populației cu microelementele necesare pentru asigurarea homeostaziei. Pentru rezolvarea acestei probleme nu este suficientă doar asigurarea rației zilnice de microelemente pentru adulți și copii. Este necesar ca ea să survină în organism într-o formă optimă de aceste elemente pentru a fi asimilată. S-a constatat că elementele legate organic nu manifestă toxicitate și efecte secundare (alergii), spre deosebire de sărurile lor anorganice. Din acest punct de vedere, prezintă interes perspectiva utilizării materialului biologic în calitate de biotransformator și sursă de acumulare a mineralelor necesare homeostaziei organismului uman.

Multiplele cercetări efectuate în ultimul deceniu au demonstrat posibilitatea utilizării unor compuși coordinați ai Zn(II), Co(II), Co(III), Fe(II), Fe(III), Mn(II) la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-02, cu elaborarea ulterioară a procedeelelor de obținere a preparatelor sanogene. Astfel, a fost efectuată o serie întreagă de cercetări, care au demonstrat posibilitatea sporirii productivității spirulinei în cazul suplینirii mediului nutritiv cu unii compuși ai Fe, Zn, Co, Cu, Sn, Se, I [1-6].

Cobaltul este un element important pentru asigurarea activității vitaminei B₁₂ implicate în procesul de hematopoieză. Vitamina B₁₂, care face parte din familia corinoizilor, conține 4 analogi principali (ciancobalamina, hidroxicobalamina, acuacobalamina și metilcobalamina), care posedă o bioactivitate semnificativă. Analogii vitaminei B₁₂ sunt sintetizați de diferite grupe de alge și cianobacterii [7].

Anemia pernicioasă este o cauză comună a anemiei megaloblastice în lumea întreagă și, în special, în țările africane și europene, inclusiv în Republica Moldova. În prezent, cercetările sunt orientate spre găsirea unor noi suplimente de B₁₂, precum și spre dozarea componentului activ privind bioaccesibilitatea acestei vitamine, în special la vegetarieni [8]. În calitate de surse de B₁₂ sunt utilizate diferite specii de alge și cianobacterii, inclusiv spirulina [9]. S-a stabilit că la spirulină conținutul de pseudovitamină B₁₂ predomină față de cianocobalamina [7], iar conținutul de corinoid inactiv scade în cazul insuficienței ionilor de Co²⁺ [10].

Dat fiind rolul important al cobaltului în sinteza corinoizilor și deoarece în literatura de specialitate lipsesc date privind acțiunea ionilor de Co³⁺ asupra acumulării vitaminei B₁₂ în biomasa de spirulină, prezintă interes determinarea acțiunii unor compuși coordinați ai Co(III) asupra creșterii spirulinei și sintezei vitaminei B₁₂.

Astfel, scopul lucrării este de a studia acțiunea unor compuși coordinați ai cobaltului(III) cu monoetanolamina în calitate de ligand asupra procesului de acumulare a biomasei de spirulină – sursă de vitamină B₁₂ și alte substanțe bioactive.

Material și metode

Obiectul cercetărilor expuse a fost tulpina cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-03(CYANOPHYTA), depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neputogene de pe lângă Institutul de Microbiologie și Biotehnologie.

Pentru cultivare s-a utilizat mediul nutritiv mineral modificat Gromov 16. 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 [11].

În calitate de reglatori ai creșterii și productivității cianobacteriei *Spirulina platensis* au fost utilizați compuși coordinați ai cobaltului: $[\text{Co}(\text{Hetm})_3](\text{NO}_3)_3$ (**1**), $[\text{Co}(\text{Hetm})_3]_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**2**), $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{NO}_3)_3$ (**3**), $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (**4**) și $\{[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3]\}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**5**) în concentrații de 1, 5, 10; 15, 20 mg/l.

Productivitatea spirulinei a fost determinată conform metodei descrise în [12].

Analiza statistică și regresională a valorilor obținute în trei serii de determinări ale productivității și conținutului de principii bioactive a fost realizată prin metodele propuse de Maximov [13].

Pentru sinteza compușilor coordinați au fost folosiți reagenți comerciali de calificarea „ppa” și „p”, care au fost utilizați fără purificare preventivă.

Tris-β-aminoetilatul de cobalt(III) a fost sintetizat după metoda descrisă în [14].

Sinteza $[\text{Co}(\text{Hetm})_3](\text{NO}_3)_3$ (1). La 2 g (0,0068 mol) de $\text{Co}(\text{etm})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dizolvate în 15 ml metanol se adaugă cu picătura soluție metanolică de acid azotic (0,87 ml soluție de 54% de HNO_3 (0,01 mol) diluate preventiv cu metanol). Soluția își schimbă culoarea din violet în roșu. Peste câteva zile din soluție se separă cristale roșii, care se filtrează prin filtru de sticlă, se spală cu etanol, eter și se usucă la aer.

Sinteza $[\text{Co}(\text{Hetm})_3]_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2). La 2 g (0,0068 mol) de $\text{Co}(\text{etm})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dizolvate în 15 ml metanol se adaugă cu picătura soluție metanolică de acid sulfuric (0,6 ml soluție de H_2SO_4 de 91% diluate preventiv cu metanol). Substanța microcristalină sedimentată se filtrează prin filtru de sticlă, se spală cu etanol, eter și se usucă la aer.

Sinteza $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{NO}_3)_3$ (3). La 5,82 g (0,02 mol) de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ se adaugă 5 ml de apă distilată, apoi 30 ml de etanol și la agitare continuă se adaugă 6 ml (0,1 mol) de monoetanolamină. Din soluția obținută peste două zile se depun cristale de culoare roșie, care se filtrează prin filtru de sticlă, se spală cu etanol și eter și se usucă la aer.

Sinteza $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (4). La 4,98 g (0,02 mol) de $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ se adaugă 5 ml de apă distilată, apoi 30 ml de etanol și la agitare continuă se adaugă 6 ml (0,1 mol) de monoetanolamină. Substanța microcristalină sedimentată se filtrează prin filtru de sticlă, se spală cu etanol și eter și se usucă la aer.

Sinteza $\{[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3]\}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (5). La 5,62 g (0,02 mol) de $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ se adaugă 5 ml de apă distilată, apoi 30 ml de etanol și la agitare continuă se adaugă 6 ml (0,1 mol) de monoetanolamină. La soluția obținută se adaugă soluție de hidroxid de potasiu (1,12 g (0,02 mol) KOH în minim de apă). Cristalele obținute se filtrează prin filtru de sticlă, se spală cu etanol și eter și se usucă la aer.

Concluziile despre compoziția și structura compușilor obținuți au fost făcute în baza rezultatelor analizei elementelor, analizei termice, spectroscopiei IR și analizei de difracție cu raze X.

Cobaltul, după descompunerea componentelor organice din compoziția complecșilor, a fost dozat în aceeași probă prin titrarea cu trilon-B la pH = 9, folosind ca indicator murexidul.

Determinarea cantitativă a carbonului și hidrogenului a fost efectuată conform metodei lui Korshun, iar a azotului – după metoda propusă de Dumas.

Analiza termică a fost efectuată la derivatograful tip Paulik-Paulik-Erdei în intervalul de temperaturi 20-800°C în atmosferă de aer, viteza de încălzire 5°/min., etalon – Al_2O_3 .

Spectrele IR au fost înregistrate la spectrofotometrul Perkin-Elmer FTIR 1650 (pastile cu KBr) în intervalul 400-4000 cm^{-1} .

Analiza cu raze X a monocristalelor a fost efectuată în laboratorul „Metode fizice de cercetare a corpului solid T.I. Malinovschi” al Institutului de Fizică Aplicată al AȘM.

Rezultate și discuții

Studiind interacțiunea monoetanolaminei (Hetm) cu sărurile de cobalt(II) în soluții apoase bazice, Brintzinger și Hesse au obținut cristale roșii-violete aciforme cu compoziția $[\text{Co}(\text{etm})_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ [15]. Autorii [14] obțin cristale

aciforme de culoare albastră-violetă cu aceeași compoziție și în baza analizei spectrelor de absorbție în domeniul vizibil și IR presupun că aceste modificări reprezintă doi izomeri geometrice *tris*- β -aminoetilatul de cobalt(III). Analiza cu raze X ale cristalelor roșii-violete [16] a demonstrat că acestea reprezintă izomerul cu configurație facială. Configurația meridională a formei albastre-violete a fost confirmată prin analiza cu raze X în [17].

Atomii de oxigen ai ligandului din *tris*- β -aminoetilatul de cobalt(III), fiind deprotonați, pot servi în calitate de donori în reacțiile cu acizii. În scopul studierii procesului de protonare, precum și a produșilor formați, au fost petrecute reacțiile *tris*- β -aminoetilatului de cobalt(III) cu acizii azotic și sulfuric.

Deoarece mediul bazic favorizează coordinarea monoetanolaminei în formă deprotonată, a prezentat interes sinteza și studiul produșilor de interacțiune a monoetanolaminei cu sărurile de cobalt(II) în mediu neutru sau slab bazic.

Analizând rezultatele obținute s-a stabilit că în rezultatul reacțiilor de protonare a *tris*- β -aminoetilatului de cobalt(III) se obțin compuși coordinativi cu compoziția $[\text{Co}(\text{Hetm})_3](\text{NO}_3)_3$ (**1**), $[\text{Co}(\text{Hetm})_3]_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**2**), în care ligandul este complet protonat, iar interacțiunea monoetanolaminei cu nitratul și acetatul de cobalt(II) în medii neutre duce la formarea compușilor $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{NO}_3)_3$ (**3**) și $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (**4**), în care ligandul coordonează la atomul de cobalt atât în formă monodeprotonată, cât și în formă protonată. Sulfatul de cobalt(II) formează compusul respectiv $\{[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3]\}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**5**) numai în medii slab bazice (la 1 mol de sare de cobalt revine 1 mol de KOH). Rezultatele analizei unor elemente pentru compușii sintetizați sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1

Rezultatele analizei unor elemente din componența compușilor 1-4

Nr. crt.	Compusul	Conținutul, %							
		Co		C		H		N	
		exp.	calc.	exp.	calc.	exp.	calc.	exp.	calc.
1	$[\text{Co}(\text{Hetm})_3](\text{NO}_3)_3$	13,60	13,78	16,56	16,82	4,77	4,91	19,71	19,63
2	$[\text{Co}(\text{Hetm})_3]_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	13,75	13,98	16,94	17,06	5,82	5,92	9,79	9,95
3	$[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{NO}_3)_3$	17,47	17,69	21,33	21,59	5,68	5,85	18,79	18,89
4	$[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	15,25	15,05	27,34	27,55	7,72	7,91	10,48	10,71
5	$\{[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3]\}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	18,16	18,09	21,91	22,08	6,24	6,44	12,69	12,88

Analiza termică (Tab.2) a arătat că toți compușii obținuți se descompun în câteva etape, care cuprind la început etapa de deshidratare (70-140°C), apoi are loc destrucția lor termooxidativă (190-440°C). Se observă că temperatura de descompunere a complexului este în funcție de natura anionului, precum și de compoziția sferei interne : $T_{\text{desc}}(\mathbf{5}) > T_{\text{desc}}(\mathbf{2}) > T_{\text{desc}}(\mathbf{4})$.

Tabelul 2

Rezultatele analizei termice

Nr. crt.	Compusul	N_{et}	T_{inc}	T_{sf}	Scăderea masei	Procesul
2	$[\text{Co}(\text{Hetm})_3]_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1	70	135	9	deshidratare
		2	280	420	45	termoliză
4	$[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1	75	140	16	deshidratare
		2	180	230	20	termoliză
		3	270	400	22	termoliză
5	$\{[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3]\}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	1	75	140	4	deshidratare
		2	190	250	27	termoliză
		3	310	440	28	termoliză

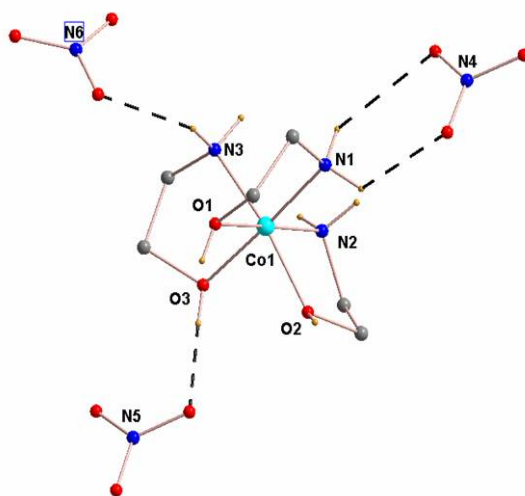
Din literatura de specialitate [18] se cunoaște că pentru obținerea informației despre structura probabilă a compușilor coordinativi este folosită pe larg spectroscopia IR, așa cum modul de vibrație a legăturilor într-un compus este influențat de orientarea legăturilor în jurul atomului central, precum și de configurația spațială a ionului complex. Astfel, se cunoaște că în spectrele de absorbție ale izomerilor *cis* pentru complecșii dietilendiaminici ai cobaltului(III) [19] se observă o scindare a benzilor de absorbție ale oscilațiilor de deformare pentru grupa amină în domeniile de 1600 și 870-900 cm^{-1} , pe când în spectrele izomerilor lor *trans* aceste scindări lipsesc. Deoarece în spectrele IR ale compușilor cercetați benzile de absorbție ale grupelor amine în aceste domenii sunt scindate, se poate presupune că atomii de cobalt se află într-o înconjurare facială a liganzilor. Numerele de undă ale unor benzi principale în spectrele IR pentru compușii studiați sunt prezentate în Tabelul 3.

Tabelul 3

Unele frecvențe caracteristice din spectrele IR

Nr. crt.	$\nu(\text{OH}, \text{H}_2\text{O})$	$\nu_s(\text{NH}_2)$	$\delta(\text{NH}_2)$	$\nu(\text{C-N})$	$\nu(\text{C-O})$	$\nu(\text{Co-O})$	$\nu(\text{Co-N})$
Hetm	3370	3170	1610	1170	1035		
1	3330	3020	1600, 1590 870, 860	1140	1050	470	580
2	3300	3015	1600, 1595 870, 855	1140	1050	470	580
3	3380	3000	1605, 1590 889, 864	1175	1051	454	586
4	3380	3000	1605, 1595 888, 862	1170	1051	450	586
5	3360	3000	1605, 1590 880, 860	1175	1050	460	585

Analiza roentgenostructurală a permis determinarea exactă a compoziției și structurii cristaline pentru compușii sintetizați. S-a stabilit că toți compușii au o configurație facială. În compușii **1** și **2** (Fig.1,2) sfera internă conține trei molecule de monoetanolamină coordonată bidentat la atomul de cobalt, pe când în compușii **3-5** (Fig.3-5) β -aminoetanolul coordonează la atomul de cobalt atât în formă protonată, cât și în formă anionică monodeprotonată, iar atomii de hidrogen servesc în calitate de punte între cei doi complecși octaedrici $[\text{Co}(\text{Hetm})_3]^{3+}$ și $[\text{Co}(\text{etm})_3]$.

Fig.1. Structura cristalină a compusului $[\text{Co}(\text{Hetm})_3](\text{NO}_3)_3$ (**1**).

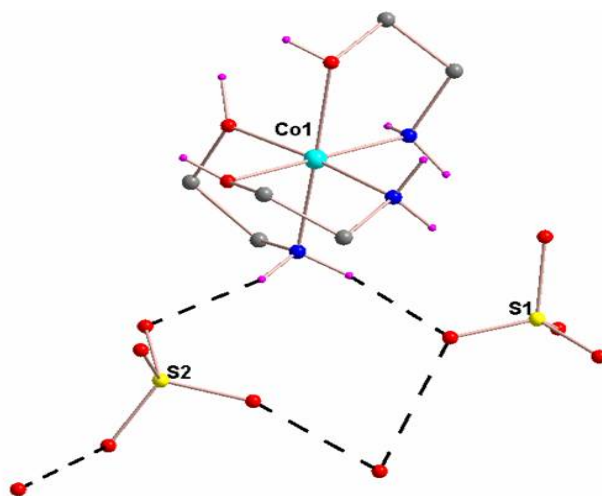


Fig.2. Structura cristalină a compusului $[\text{Co}(\text{Hetm})_2](\text{SO}_4)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2) (atomul de sulf S1 ocupă o poziție specifică în cristal, care coincide cu centrul de simetrie, având respectiv factorul de ocupare a poziției de 0,5 și, ca rezultat, raportul Co:S = 2:3).

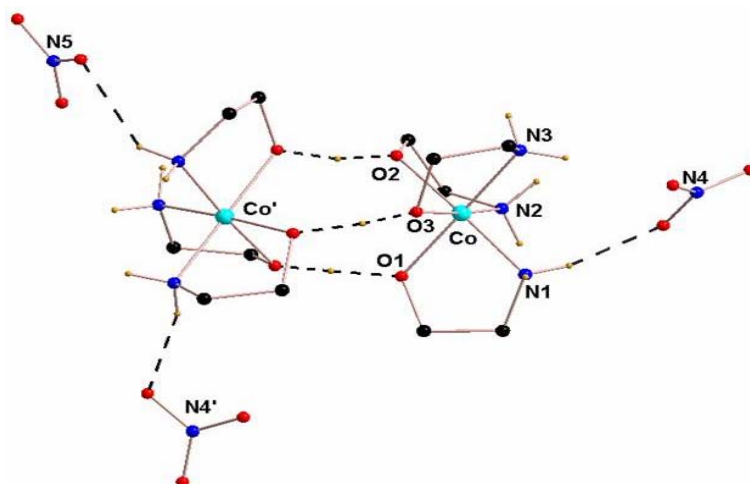


Fig.3. Structura cristalină a compusului $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{NO}_3)_3$ (3).

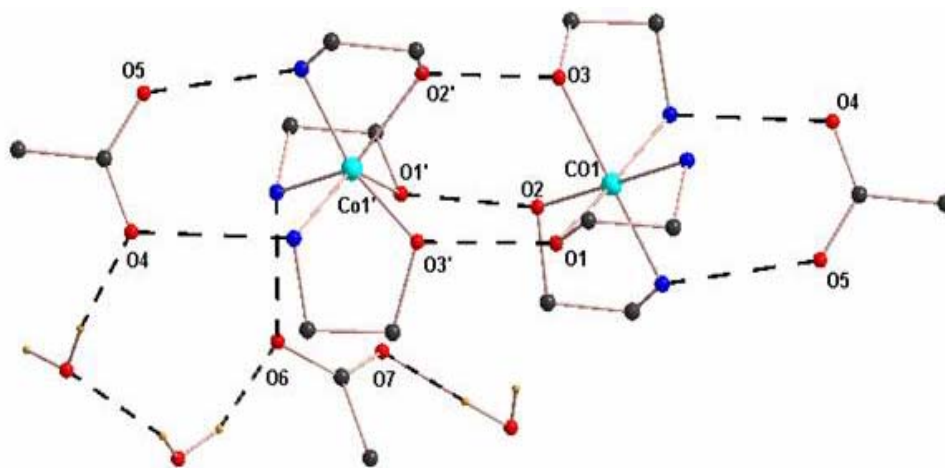


Fig.4. Structura cristalină a compusului $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (4).

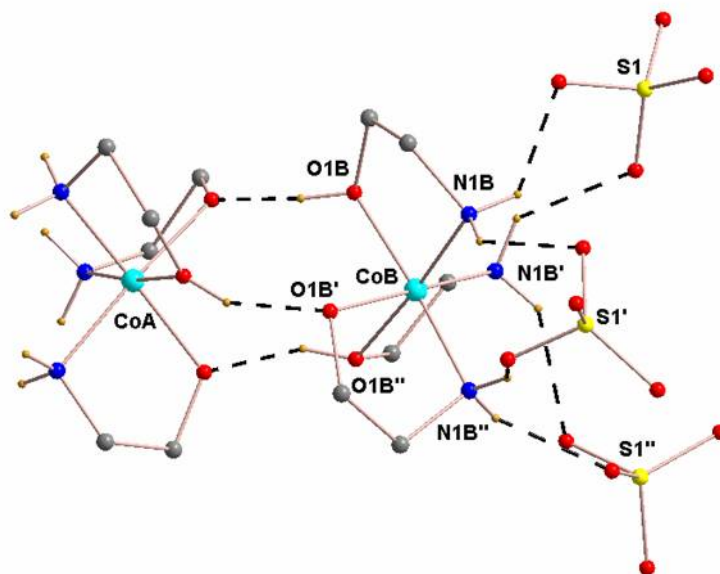


Fig.5. Structura cristalină a compusului $\{[Co(Hetm)_3][Co(etm)_3]\}_2(SO_4)_3 \cdot 3H_2O$ (5).

Rezultatele testării compușilor coordinativi sintetizați asupra productivității spirulinei sunt prezentate în Tabelul 4. Cercetările efectuate anterior au fost axate pe studiul acțiunii sărurilor anorganice de cobalt asupra productivității spirulinei [20] și reglării conținutului de iod în biomasă [21]. Studiile mai recente au demonstrat că adăugarea concomitentă a iodurii de potasiu și a azotatului de cobalt(II) în mediul de cultivare a spirulinei a permis obținerea unei biomase cu un conținut majorat de iod. Acest fapt se datorează micșorării toxicității iodurii în urma complexării cu ionii de cobalt [22]. În lucrarea de față s-a pus scopul de a studia influența sărurilor complexe de cobalt(III) asupra productivității cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-02.

Tabelul 4

**Productivitatea cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-02
la cultivare în prezența unor compuși coordinativi ai cobaltului(III)**

C, mg/l	Productivitatea, g/l (% M)				
	$[Co(Hetm)_3]$ (NO ₃) ₃ (1)	$[Co(Hetm)_3]_2$ (SO ₄) ₃ ·4H ₂ O (2)	$[Co(Hetm)_3]$ [Co(etm) ₃](NO ₃) ₃ (3)	$[Co(Hetm)_3]$ [Co(etm) ₃] (CH ₃ COO) ₃ ·7H ₂ O (4)	$\{[Co(Hetm)_3]$ [Co(etm) ₃]\} ₂ (SO ₄) ₃ ·3H ₂ O (5)
1	1,35±0,06 (96,43)	1,60±0,18 (114,29)	1,60±0,33* (114,29)	1,70±0,25 (121,43)	1,80±0,06* (128,57)
5	1,50±0,03* (107,14)	1,62±0,09 (115,71)	1,62±0,18 (115,71)	1,80±0,06 (128,57)	1,86±0,16 (132,86)
10	1,45±0,05 (103,57)	1,70±0,33 (121,43)	1,70±0,08 (121,43)	1,75±0,15* (125,00)	1,80±0,13 (128,57)
15	1,25±0,01 (89,29)	1,50±0,06* (107,14)	1,50±0,06 (107,14)	1,60±0,03 (114,29)	1,50±0,019 (107,14)
20	0,98±0,03 (70,00)	1,47±0,012* (105,00)	1,47±0,28 (105,00)	1,50±0,28 (107,14)	1,00±0,04* (71,43)
0	1,4±0,28 (100)				

*p<0,05

S-a stabilit că biomasa algală obținută la cultivare în mediile nutritive cu adaos de compuși complecși este influențată diferit și depinde de compoziția sferei interne a complexului de cobalt, în special de numărul atomilor de cobalt, legați cu forma protonată sau neprotonată a etanolaminei. Astfel, compusul coordinativ (1), care conține un singur atom de cobalt legat cu trei resturi de aminoetilată, influențează nesemnificativ asupra productivității în concentrații de 1-10 mg/l. Odată cu creșterea concentrației productivitatea scade. Ceilalți patru compuși testați au o influență pozitivă asupra creșterii și productivității spirulinei pentru toate concentrațiile utilizate, cu excepția compusului coordinativ (5), care la concentrația de 20 mg/l duce la micșorarea productivității cu 28,57% față de proba martor. Pe de altă parte, acest compus, ce are în componența sa patru atomi de cobalt, în limitele de concentrații 1-10 mg/l (ceea ce corespunde cu $0,307 \cdot 10^{-5}$ - $3,07 \cdot 10^{-5}$ mmol/l Co^{3+}) contribuie la o majorare semnificativă a productivității cu 28,57- 32,86%, cu un spor maxim de 1,33 ori față de proba de referință la concentrația de 5 mg/l ($1,53 \cdot 10^{-5}$ mmol/l). Complecșii (2) și (3), care diferă după starea ligandului (protonată (2) sau molecule protonate și anioni de aminoetilată (3)) au o influență similară asupra productivității. Cu toate că complecșii $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (4) și $\{[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3]\}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (5) au o compoziție identică a sferei interne și concentrații apropiate ale cobaltului, efectul mai esențial al compusului coordinativ (5) ar putea fi legat de un grad de disociere mai înalt al ionului complex și influenței ulterioare a ionilor de Co^{3+} asupra proceselor biosintetice, care se derulează în celulele cianobacteriene. Gradul de disociere mai scăzut al ionului complex în compusul 4 poate fi datorat influenței restului acid acetat din sfera externă, care poate imobiliza ionii de hidrogen ce leagă complecșii $[\text{Co}(\text{Hetm})_3]^{3+}$ și $[\text{Co}(\text{etm})_3]$.

Rezultatele obținute corelează cu datele din literatură privind influența cobaltului asupra productivității unor alge și cianobacterii. La concentrații relativ joase de Co^{2+} a fost observată o creștere a evoluției O_2 pentru algele *Monoraphidium minutum* și *Nityshia perminuta*, însă odată cu creșterea concentrației acești ioni aveau efect inhibitor asupra asimilării oxigenului. În anumite concentrații Co^{2+} influențează asupra transportului de electroni și asupra activității PS II. De asemenea, și la cianobacteria *Synechocystis PCC 6803* s-a stabilit că 10 mmol CoCl_2 stimulează viteza transportului de electroni în PS II [23].

S-a observat că enzima Mg^{2+} dependentă – glutaminsintetaza este activată de către cobalt la spirulină, procesul fiind independent de ATP [24]. Algele unicelulare *Monoraphidium minutum* și *Nityshia perminuta* (diatomee) au fost cultivate în prezența unor concentrații diverse de Co^{2+} [25]. S-a atestat un efect pozitiv al acestor ioni asupra creșterii *Monoraphidium minutum* și un spor al productivității cu 8-13% în limitele de concentrații de 0,1-0,5 ppm Co^{2+} și cu 5-9% în cazul *Nityshia perminuta* la concentrații de 0,5-1,5 ppm. În aceste limite de concentrații se încadrează și compusul (5), care a contribuit la un spor maxim al productivității spirulinei la concentrațiile de 0,18-1,8 ppm ($0,307$ - $3,07 \cdot 10^{-5}$ mmol/l).

Astfel, putem concluziona că compușii cercetați au un efect pozitiv asupra creșterii și productivității cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM CB-02 în limite joase de concentrații ale $\text{Co}(\text{III})$.

Concluzii

1. În rezultatul reacției de protonare a *tris*- β -aminoetilatului de cobalt(III) cu acizii azotic și sulfuric au fost obținuți compușii $[\text{Co}(\text{Hetm})_3](\text{NO}_3)_3$ (1) și $[\text{Co}(\text{Hetm})_3]_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2), în care ligandul se află în formă complet protonată.
2. S-a stabilit că interacțiunea monoetanolaminei cu sărurile de cobalt(II) în medii alcoolice neutre și slab bazice duce la formarea compușilor coordinativi, care conțin în calitate de ligand atât molecule de β -aminoetanol, cât și anioni de β -aminoetilată: $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{NO}_3)_3$ (3), $[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3](\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (4) și $\{[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3]\}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (5).
3. Compoziția și structura compușilor cercetați au fost stabilite în baza rezultatelor analizei elementelor, analizei termogravimetrice, spectroscopiei IR și concretizate prin analiza cu raze X ale monocristalelor.
4. Testarea compușilor coordinativi sintetizați asupra productivității cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-02 a arătat că biomasa algală obținută depinde de compoziția sferei interne a complexului de cobalt, în special, de cantitatea de cobalt (mmol/l).
5. Compusul $\{[\text{Co}(\text{Hetm})_3][\text{Co}(\text{etm})_3]\}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (5), care are în compoziția sferei interne patru atomi de cobalt, în limitele de concentrații 1-10 mg/l (ceea ce corespunde cu $0,307 \cdot 10^{-5}$ - $3,07 \cdot 10^{-5}$ mmol/l Co^{3+}) contribuie la o majorare semnificativă a productivității cu 28,57- 32,86%, cu un spor maxim de 1,33 ori față de proba de referință, la concentrația de 5 mg/l ($1,53 \cdot 10^{-5}$ mmol/l).

Referințe:

1. Cogne G., Lehmann B., Dussap C-G., Gros J-B. Uptake of macrominerals and trace elements by the cyanobacterium *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis* PCC8005) under photoautotrophic conditions: culture medium optimization // *Biotechnol Bioeng.* - 2003. - Vol.81. - No5. - P.588-593.
2. Cotovaia A. Crystal and biological investigation of cobalt (III) of tris- β -aminoethylate modifications // A XXVIII-a Conferință națională de chimie. Călimănești-Căciulata, Vâlcea România. 6-8 octombrie 2004, p.231.
3. Gulea A., Cotovaia A., Shova S., Novitchi Gh., Rudic V. Cobalt(III) complexes with monoethanolamine. // Abstracts of the 1-st International Conf. of the Moldavian Chemical Society „Achievements and perspectives of modern Chemistry”. - Chișinău, 2003, p.92.
4. Kahn Z., Bhadouria P., Bisen P.S. Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina platensis* // *Curr. Pharm. Biotechnol.* - 2005. - Vol.6. - No5. - P.373.
5. Rudic V., Bulimaga V., Zosim L., Chiriac T., Turtă C., Lăzărescu A. Nanobiotechnology of iron rich spirulina cultivation as a source of antianemic products // Abstracts of 4-th International conference on „Microelectronics and Computer Science”. - Chișinău, 2005, p.288-291.
6. Рудик В.Ф., Грамма С.Б., Гуля А.П. Влияние координационных соединений металлов на продуктивность и биохимический состав *Dunaliella Salina meog.* // *Альгология.* 1995. - Т.5. - №1. - С.93.
7. Watanabe F., Katsura H., Takenaka S., Fujita T., Abe K., Tamura Y., Nakatsuka T., Nakano Y. Pseudovitamin B(12) is the predominant cobamide of an algal health food, spirulina tablets // *J. Agric. Food Chem.* - 1999. - Vol.47. - No.11. - P.4736-4741.
8. Stabler S., Allen R. Vitamin B₁₂ deficiency as a worldwide problem // *Annu Rev. Nutr.* - 2004. - Vol.24. - P.299-326.
9. Kittaka-Katsura H., Fujita T., Watanabe F., Nakano Y. Purification and characterization of a corrinoid compound from *Chlorella* tablets as an algal health food // *J. Agric. Food Chem.* - 2002. - Vol.50. - No.17. - P.4994-4997.
10. Watanabe F., Miyamoto E., Nakano Y. Inactive corrinoid-compound significantly decreases in *Spirulina platensis* grown in a cobalt-deficient medium // *J. Agric. Food Chem.* - 2001. - Vol.49. - No.11. - P.5685-5688.
11. Rudic V. Aspecte noi ale biotehnologiei moderne. - Chișinău: Știința, 1993. - 140 p.
12. Rudic V., Gudumac V., Popovici M. Ficobiotehnologie – realizări noi în biomedicină. - Chișinău: Cuant, 1995, p.206.
13. Максимов В. Многофакторный эксперимент в биологии. - Москва: Изд-во МГУ, 1980. - 280 с.
14. Удовенко В.В., Степаненко О.Н. О геометрических изомерах трис- $[\beta$ -аминоэтилата]-кобальта (III) // *Журнал неорганической химии.* - 1969. - Т.14. - №1. - С.1581.
15. Brintzger H., Hesse B. Preparation of tris-(monoethanolamine) cobalt(III) // *Z. anorg. und allgem. Chem.* - 1941. - B.248. - No1. - P.35.
16. Гуля А.П., Кокунов Ю.В., Шова С.Г. и др. Полиэдрическая изомерия фас-(β -аминоэтилата)-кобальта(III) тригидрата // *Доклады АН СССР.* - 1989. - Т.3. - №3. - С.627.
17. Котоява А.С., Шова С.Г., Симонов Ю.А., Рошу Т., Гуля А.П. Строение и свойства новых кристаллических форм трис-(аминоэтанолато-О,N)кобальта(III) // *Координационная химия.* - 2006. - Т.32. - №11. - С.874.
18. Накамото К. Инфракрасные спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений. - Москва: Мир, 1991, с.540.
19. Baldwin M.E. The Infrared Spectra of Cobalt(III) Ethylenediamine Complexes. Part I. Vibrational of the Ethylenediamine Chelate Ring // *J. Chem. Soc.* - 1960. - No5. - P.4369.
20. Sharma R., Panigrahi S., Azeez P. Effect of cobalt on the primary productivity of *Spirulina platensis* // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* - 1987. - Vol.39. - No.4. - p.716–720.
21. Kotinskii A., Chernukhina L., Donchenko G., Palivoda O., Kostenko I., Stepanenko S., Palivoda K. Effect of iodine and cobalt salts on content of biologically active substances in spirulina biomass // *Ukr Biokhim Zh.* - 2004. - Vol.76. - No.2. - P.112-116.
22. Bulimaga V., Zosim L., Ciurac D., Bejan T., Chiriac T., Djur S. Biomasa de spirulină îmbogățită cu iod- sursă alternativă de iod // *Studia Universitatis (USM, Chișinău).* Seria „Științe ale naturii”. - 2007. - Nr.1. - P.55-60.
23. Tiwari S., Mohanty P. Cobalt chloride induced stimulation of photosystem II electron transport in *Synechocystis* PCC 6803 cells // *Photosynth. Res.* - 1993. - No.38. - P.463-469.
24. Dang H., Solovieva N., Evstegneeva Z., Kretovisc V. Purification, physiochemical properties and kinetics of *Spirulina platensis* glutamine synthetase // *Appl. Biochem. and Microb.* - 1988. - Vol.23. - No.6. - P.621-626.
25. Sheekh M.M., Naggar A.H., Osman M.E.H., Mazaly E.El. Effect of cobalt on growth, pigments and the photosynthetic electron transport in *Monoraphidium minutum* and *Nitzschia perminuta* // *Braz. J. Plant Physiol.* - 2003. - Vol.15. - No.3. - P.123-125.

Notă: Lucrarea a fost realizată cu suportul financiar din cadrul Proiectului 07.407.04.04.PA „Noi biotehnologii ecologice în creșterea, reproducerea și dezvoltarea tineretului animalier” din cadrul Programului de Stat „Elaborarea și implementarea sistemului de agricultură ecologică”.

Prezentat la 05.02.2008