

STUDIUL INFLUENȚEI UNOR FACTORI FIZICO-CHIMICI ASUPRA CONȚINUTULUI DE POLIZAHARIDE INTRACELULARE PRODUSE DE CIANOBACTERIA *SPIRULINA PLATENSIS* LA CULTIVARE MIXOTROFĂ

Valentina BULIMAGA, Liliana ZOSIM, Alina TROFIM

Polizaharidele sunt resurse regenerabile care reprezintă o clasă importantă de materiale polimerice de interes biotehnologic, oferind o mare varietate de produse potențial utile omenirii. Exopolizaharidele (EPS) de origine cianobacteriană cu o nouă funcționalitate, proprietăți fizico-chimice reproductibile, costuri și aprovizionări stabile pot fi recunoscute ca o alternativă mai bună față de polizaharidele de origine algală. Cianobacteriile sunt mai potrivite decât macroalgele sau plantele superioare, deoarece se caracterizează printr-o rată de creștere ridicată, adaptabilitate înaltă, iar la cultivare în condiții controlate poate fi asigurată producerea unor cantități sporite de polizaharide. Numeroase polizaharide derivate din microorganisme sunt cunoscute a fi implicate în patogeneză, simbioză, formarea biofilmului, protecție la acțiunea factorilor de mediu și rezistență la stres. Totuși relativ puține polizaharide produse de cianobacterii sunt utilizate la nivel comercial.

Publicațiile din ultimii ani relatează unele tentative de inducere a sintezei exo- și endopolizaharidelor la *Spirulina sp.* Conform datelor din literatură unii factori de stress, precum și raportul C/N pot influența asupra sintezei exopolizaharidelor la alge și cianobacterii [3, p.1159]. Pentru sporirea producerii de exopolizaharide, a fost utilizat stresul prin crearea deficienței de fosfat sau nitrat sau prin adaos de surplus de NaCl (0,9M), cât și a nitratului (10 mM) la mediul de cultivare la *Spirulina subsalsa* [2, p.24].

Cercetările noastre anterioare au demonstrat efectul unor factori de stres asupra sintezei exopolizaharidelor produse de cianobacteria *Spirulina platensis*. Majorarea intensității de iluminare (până la 5500 lx) și suplimentarea cu NaCl (0,25M) la a 2-a etapă de cultivare au asigurat un spor cu 23,45% al conținutului total de polizaharide acide, comparativ cu conținutul acestora în proba de referință (cultivată la 3500lx). Adăugarea $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1-4 mg/l) n-a exercitat un efect semnificativ asupra conținutului de polizaharide acide și sulfatate în biomasa de spirulină, însă a stimulat considerabil producerea de exopolizaharide acide (până la 238,3 g/kg) la 5500lx [1, p.46].

Au fost studiate și efectele surselor de carbon organic asupra creșterii celulare și producției de exopolizaharide (EPS) la *Nostoc flagelliforme*. S-a stabilit că după 7 zile de cultivare, glicerolul, acetatul, zaharoza și glucoza au contribuit la creșterea densității finale a celulelor și a cantității de EPS, iar creșterea mixotrofă a condus la acumularea sporită a biomasei. Creșterea celulară a fost deosebit de ridicată la adaosul glucozei ca singura sursă de carbon. Pe de altă parte, producția de EPS la masa celulară uscată a fost semnificativ îmbunătățită prin adăugarea de acetat [5, p. 669].

Dacă pentru cianobacteriile fixatoare de azot au fost întreprinse unele studii privind producția de EPS prin adăugare de acetat ca sursă de carbon, atunci pentru cianobacteria *Spirulina platensis* nu sunt cunoscute studii privind cultivarea ei dirijată în scopul producerii de polizaharide prin modificarea sursei de carbon și cultivare în regim mixotrof. Astfel a prezentat interes studiul influenței acetatilor de Cu^{2+} și Zn^{2+} cu și fără adaos de glucoză, precum și a regimului de iluminare asupra productivității și conținutului de polizaharide intracelulare produse de cianobacteria *Spirulina platensis* la cultivare mixotrofă.

Rezultate și discuții. Atât în regim de iluminare 3500 lx, dar și la varierea în a 7-a zi a iluminării până la 5500lx la suplimentarea $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ și $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ fără adaos de glucoză, productivitatea are tendință de diminuare cu majorarea concentrației, astfel încât la administrarea concentrației maxime (7,5 mg/l) de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ valorile productivității sunt de 1,21 ori mai diminuate comparativ cu proba de referință. În variantele cu adaos de 2 g/l de glucoză la acetati productivitatea atinge valori care depășesc valorile probei de referință. Valorile maxime înregistrate au fost observate la varierea iluminării în a 7-a zi de cultivare până la 5500 lx (Fig.1, și 2).

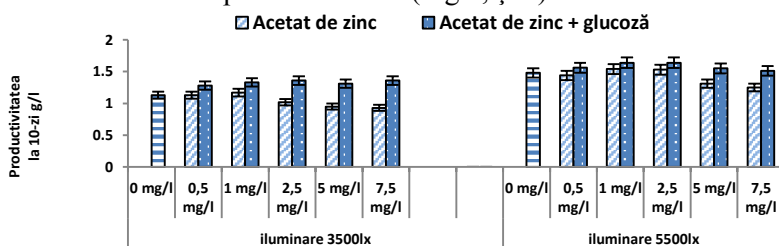


Fig. 1. Productivitatea cianobacteriei *Spirulina platensis* cultivată în prezența acetatului de zinc cu și fără adaos de glucoză la varierea iluminării din ziua a 7-a până la 5500 lx

A fost determinată productivitatea la 10-a zi și la suplimentarea $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ în regim mixotrof (Fig.2). La cultivare în regim de iluminare 3500 lx toxicitatea acetatului de cupru este mai pronunțată în probele fără adaos de glucoză, iar concentrația de 5 mg/l s-a dovedit a fi letală în ambele variante atât cu glucoză, cât și fără adaosul ei. La cultivare cu varierea din ziua a 7-ea a regimului de iluminare doza de 5 mg/l nu este letală. Acest fapt se datorează sintezei mai sporite a expopolizaharidelor la iluminare mai intensă și legarea parțială a ionilor de Cu^{2+} prin complexare, pe de o parte, și de rata de creștere mai sporită a culturii la iluminare 5500lx, pe de altă parte (Fig.2)

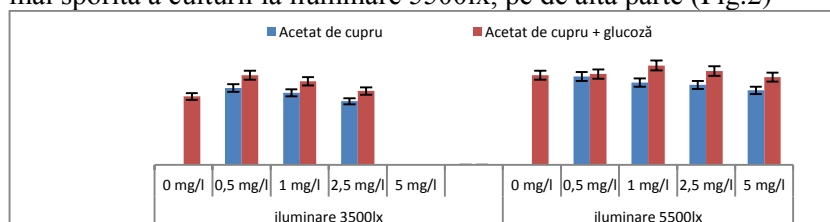


Fig. 2. Productivitatea cianobacteriei *Spirulina platensis* cultivată în prezența acetatului de cupru cu și fără adaos de glucoză la varierea iluminării din ziua a 7-ea până la 5500 lx

Un efect de stimulare mai intens (16,4% din BAU) asupra acumulării polizaharidelor intracelulare a fost observat la administrarea acetatului de cupru cu adaos de glucoză (2g/l) la cultivare în regimul de iluminare, 3500 lx. Totuși luând în considerare corelația dintre valorile productivității spirulinei și conținutul de polizaharide în biomasă, varianta optimă poate fi considerată cea cu varierea iluminării din ziua a 7-ea la 5500 lx la concentrația acetatului de cupru de 2,5 mg/l (Fig.2-3).

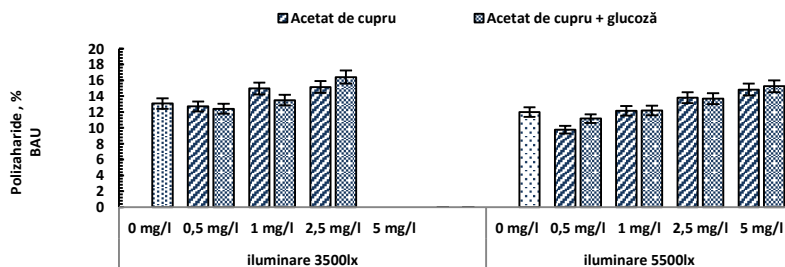


Fig. 3. Conținutul de polizaharide produse de cianobacteria *Spirulina platensis* în prezența acetatului de cupru cu și fără adaos de glucoză la 3500 x și la varierea iluminării din ziua a 7-ea până la 5500 lx

Din punctul de vedere al valorificării biotehnologice a exo- și endopolizaharidelor într-un flux tehnologic integrat, pe viitor se recomandă cultivarea spirulinei cu suplimentarea acetatului de cupru în concentrații de 2-2,5 mg/l cu adaos de glucoză (2g/l), concomitent cu varierea regimului de iluminare din a 7-a zi la 5500 lx. Adaosul de glucoză diminuează efectul toxic al ionilor de Cu^{2+} și contribuie la majorarea productivității spirulinei, comparativ cu probele suplimentate cu acetat fără glucoză.

Referințe:

1. BULIMAGA, V., PISOVA, M., ZOSIM, L. Sinteza orientată a polizaharidelor acide la cianobacteria *Spirulina platensis* CNM CB-02. În: *Studia Universitatis, Seria „Științe reale și ale naturii”*, 2017, nr.1(101), p.46-50.
2. CHAKRABORTY, T., SEN, A.K. and PAL, R. Stress induced extra cellular polysaccharide of *Spirulina subsalsa* and its chemical characterization. In: *J. Algal Biomass Utiln*, 2015, vol.6, no.3, p. 24-38.
3. DELATTRE, C., PIERRE, G., LAROCHE, C., MICHAUD, P. Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides. În: *Biotechnol Adv.* 2016, vol.34, no.7, p.1159-1179.
4. EL-BAKY, H., EL-BAZ, F., EL-LATIFE, S. Induction of Sulfated Polysaccharides in *Spirulina platensis* as Response to Nitrogen Concentration and its Biological Evaluation. In: *J. Aquac Res Development*, 2013, vol. 5, no.1, p.1-8.
5. HAIFENG, Yu. Effect of mixed carbon substrate on exopolysaccharide production of cyanobacterium *Nostoc flagelliforme* in mixotrophic cultures. In: *Journal of Applied Phycology*, 2012, vol.24, no.4, p. 669-673.

Cercetările au fost efectuate în cadrul proiectului 15.817.05.02F finanțat de la bugetul de stat.