ACADEMIA DE ŞTIINŢE A MOLDOVEI
INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ŞI BIOTEHNOLOGIE

Cu titlu de manuscris
C.Z.U 573.6.086.83 : 663.1

VALUȚA ANA

BIOTEHNOLOGIA CULTIVĂRII SURSEI DE ANTIOXIDANȚI – CIANOBACTERIA *NOSTOC LINCKIA*

167.01 - BIOTEHNOLOGIE, BIONANOTEHNOLOGIE

Autoreferatul tezei de doctor în științe biologice

CHIŞINĂU, 2015

Teza a fost elaborată în laboratorul Ficobiotehnologie al Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei

Conducător ştiinţific:

CEPOI Liliana, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător, specialitatea 167.01 – Biotehnologie, bionanotehnologie

Referenţi oficiali:

UNGUREANU Laurenția, doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător, Institutul de Zoologie al Academiei de Științe a Moldovei

ELENCIUC Daniela, doctor în științe biologice, Universitatea Academiei de Științe a Moldovei

Componenţa consiliului ştiinţific specializat:

RUDIC Valeriu, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, academician

CHIRIAC Tatiana, doctor în științe biologice, conferenţiar cercetător

USATÎI Agafia, doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător

ȘALARU Victor, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar

GUDUMAC Valentin, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

GULEA Aurelian, doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, academician

Susţinerea va avea loc la "___23___" "___octombrie___" ___2015___ la ora __14.00__ în şedinţa Consiliului ştiinţific specializat D 09.167.01 - 02 din cadrul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei , or. Chișinău, str. Academiei 1, sala 352

Teza de doctor şi autoreferatul pot fi consultate la Biblioteca ştiinţifică centrală "A. Lupan" a Academiei de Științe a Moldovei şi la pagina web a C.N.A.A. (www.cnaa.md).

Autoreferatul a fost expediat la "____" "_____" 2015.

Secretar ştiinţific al Consiliului ştiinţific specializat,
CHIRIAC Tatiana, doctor în științe biologice

Conducător ştiinţific,
CEPOI Liliana, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător

Autor,
VALUȚA Ana

© Valuța Ana, 2015

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea temei. Substanţele naturale cu proprietăţi antioxidante şi antiradicalice capătă o aplicare tot mai largă în industria alimentară, cosmetică, şi în special, în cea farmaceutică în calitate de remedii eficiente în contracararea acţiunii nefaste a radicalilor liberi şi în stoparea proceselor prooxidante, care generează diferite stări patologice [3, 13, 18, 23]. Cianobacteriile, printre care şi speciile genului *Nostoc* posedă un potenţial imens în calitate de surse pentru producerea de antioxidanţi, așa ca enzimele antioxidante, pigmenţii, polizaharidele funcţionale, vitaminele, compuşii fenolici, etc. [4, 5, 7, 10, 14, 17]. Intensitatea sintezei componentelor cu acţiune antioxidantă şi antiradicalică se modifică esenţial pe parcursul ciclului de dezvoltare a culturilor, dar şi sub acțiunea anumitor forțe externe. Raportul cantitativ al lor determină caracterul acţiunii antioxidante a biomasei şi a preparatelor complexe obţinute din ea. Tehnologiile de cultivare a cianobacteriilor și, în particular, a tulpinilor de *Nostoc linckia* în scopul de a obține diferiți antioxidanţi urmează a fi axate atât pe respectarea necesităților fiziologice ale culturii pe durata fluxului tehnologic, cât și pe utilizarea rațională a posibilităților de modificare a statutului antioxidant al biomasei.

Situația în domeniul de cercetare. Cererea de antioxidanţi naturali a dat un impuls simțitor cercetărilor orientate spre identificarea noilor surse, precum și a procedeelor de obținere a preparatelor antioxidante eficiente, standardizate și sigure pentru utilizare [6]. Biomasa cianobacteriilor conține numeroase componente care acționează ca antioxidanți preventivi, ”stingători” ai reacțiilor de autooxidare și ai oxigenului singlet, factori de chelare a metalelor cu valența variabilă, inhibitori ai enzimelor prooxidante [2, 12, 19]. *Nostoc linckia* conține un șir de substanțe cu efect antioxidant și antiradicalic așa ca pigmenții ficobilinici și cei carotenoizi, enzime antioxidante, polizaharide, inclusiv cele sulfatate ș.a [8, 9, 11, 16]. Sumând aici și faptul, că biomasa de *Nostoc linckia* este lipsită de efecte toxice asupra organismelor vii, fiind utilizat în hrana omului peste 2000 mii ani, considerăm oportune cercetările orientate spre elaborarea tehnologiilor de cultivare a acestui obiect biotehnologic în calitate de sursă de produse bioactive.

Problema de cercetare care reiese din analiza situației în domeniu constă în stabilirea parametrilor biotehnologici de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* în scopul utilizării biomasei obținute pentru producerea preparatelor cu efecte antioxidante pronunțate.

Scopul lucrării: elaborarea tehnologiei complexe nonpoluante de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia*, de obținere a preparatelor antioxidante și de valorificare a reziduului de biomasă.

Obiectivele lucrării: (1) Monitorizarea modificărilor biochimice și a activității antioxidante a biomasei și extractelor din ea pe durata dezvoltării culturii statice de *Nostoc linckia*; (2) Evidențierea

indicatorilor biotehnologici cu tangență la ciclul vital, utili pentru obținerea preparatelor antioxidante din biomasa de *Nostoc linckia*; (3) Stabilirea parametrilor biotehnologici optimi de extragere și păstrare pe termen lung a componentelor cu efect antioxidant din biomasa de *Nostoc linckia*; (4) Elucidarea particularităților modificării conținutului de componente antioxidante în biomasa cianobacteriei *Nostoc linckia* în condiții de stres oxidativ indus prin acțiunea compușilor Fe(III); (5) Studiul posibilității valorificării reziduului de biomasă de *Nostoc linckia* după extragerea componentelor cu efect antioxidant; (6) Elaborarea tehnologiei complexe de cultivare a *Nostoc linckia*, de obținere a preparatelor cu efect antioxidant și de utilizare a reziduului de biomasă.

Metodologia cercetării științifice. Pentru realizarea lucrării au fost utilizate metode standard care constituie baza metodologică a ficobiotehnologiei [21], teste biochimice standarde, teste antiradicalice (reducerea radicalilor nonbiologici $ABTS^{\cdot+}$ (2,2 azinobis 3-etilbenzotiazolină-6-acidului sulfonic) și $DPPH^{\cdot}$ (1,1 difenil-2-picril hidrazil)) și antioxidante (reducerea reagenților fosfo-molibdenic și Folin-Ciocalteu); metoda inhibării oxidării lipoproteinelor cu densitatea joasă, metoda de determinare a dialdehidei malonice (DAM) [1, 20, 22]. Calculul indicatorilor statistici descriptivi și corelaționali a fost efectuat utilizând softul UVWIN 5.0.5 și MS Excel.

Noutatea şi originalitatea ştiinţifică. Pentru prima dată este pusă problema elaborării unei tehnologii de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* ca sursă pentru obținerea preparatelor complexe cu efect antioxidant. Pentru prima dată a fost elaborată o tehnologie de cultivare a *Nostoc linckia*, care include etapa de valorificare a reziduului de biomasă după extragerea antioxidanților în calitate de biosorbent eficient pentru metalele grele și în calitate de matrice pentru biosinteza nanoparticulelor de argint.

Problema ştiinţifică importantă soluţionată în lucrare constă în identificarea elementelor-cheie ale procesului biotehnologic de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* cu scopul producerii preparatelor cu efect antioxidant și valorificării reziduului de biomasă.

Semnificația teoretică. Au fost acumulate și expuse rezultate noi despre importanța monitorizării modificărilor biochimice și a statutului antioxidant ale biomasei de *Nostoc linckia* pe durata ciclului culturii statice. A fost evidențiat pragul înalt de sensibilitate a culturii de *Nostoc linckia* față de compușii chimici cu metale în ceea ce privește modificarea statutului antioxidant al biomasei. A fost demonstrată eficiența biomasei reziduale de nostoc în calitate de biosorbent în sistemele multimetalice poluate și matrice pentru biosinteza nanoparticulelor de argint.

Valoarea aplicativă a lucrării. În cadrul acestei lucrări au fost elaborate părțile componente ale unei tehnologii complexe de cultivare a *Nostoc linckia* și utilizare eficientă a biomasei obținute,

care pot fi aplicate atât într-un ansamblu, cât și în calitate de unități autonome: procedee de obținere a biomasei de nostoc cu activitate antioxidantă înaltă; procedee de extragere eficientă a componentelor cu efect antioxidant din biomasa de nostoc; procedee de utilizare a reziduului de biomasă de nostoc după obținerea preparatelor antioxidante în calitate de biosorbent eficient și în calitate de matrice pentru biosinteza nanoparticulelor de argint.

Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere.

1. Fluctuațiile activității antioxidante în biomasa de *Nostoc linckia* pe durata ciclului vital reprezintă un indicator util în monitorizarea proceselor biotehnologice.
2. Extractele din biomasa de *Nostoc linckia* posedă activitate antioxidantă înaltă, iar stabilitatea lor poate fi fortificată și asigurată prin aplicarea metodelor adecvate de păstrare.
3. Efectul de sporire a activității antioxidante la *Nostoc linckia* poate fi atins prin utilizarea substanțelor cu potențial toxic înalt.
4. Preparatele antioxidante obținute în baza tehnologiei complexe elaborate sunt eficiente în calitate de protectori antioxidanți ai uleiurilor vegetale.
5. Biomasa reziduală de *Nostoc linckia*, provenită din tehnologia de extragere a antioxidanților, poate fi utilizată în calitate de biosorbent și de matrice pentru biosinteza nanoparticulelor de argint.

Implementarea rezultatelor ştiinţifice. Tehnologia de obținere a preparatului antioxidant NostocAntiOx a fost implementată la SRL „Ficotehfarm" (Act Nr.03/11 din 20.11.2014).

Aprobarea rezultatelor științifice. Materialele expuse au fost comunicate la: Conferinţa a V-a internațională "Actual Problems in Modern Phycology", Chișinău, 2014 ; a VI-a conferință internațională a tinerilor cercetători "Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution", Odessa ; Ucraina, 2013 ; Conferința științifică internațională interdisciplinară "Biologically active substances and materials : Fundamental and Applied Problems", Novii Svet, Ucraina, 2013 ; Cea de-a doua conferință internațională în Nanotehnologie și Inginerie biomedicală, Chișinău, Moldova, 2014 ; Conferința internațională dedicată celei de-a 55-a aniversare de la fondarea Institutului de Chimie al AȘM ; Chișinău, Moldova, 2014 ș.a.

Publicațiile la tema tezei. Rezultatele sunt reflectate în 24 publicaţii: 9 articole (2 – în reviste cu factor de impact; 2 - în monoautorat), 12 rezumate ale comunicărilor, 3 brevete de invenție.

Volumul și structura tezei. Teza constă din 4 capitole, are un volum de bază de 131 pagini, conţine 10 tabele, 49 figuri și 3 anexe. Lista surselor bibliografice citate include 292 titluri.

Cuvinte-cheie: Tehnologie de cultivare, cianobacterii, *Nostoc linckia*, extracte hidrice și etanolice, preparate antioxidante, biosorbent, bionanosinteză.

CONȚINUTUL TEZEI

1. ANTIOXIDANȚI DIN CIANOBACTERII – TEHNOLOGII DE OBȚINERE ȘI PERSPECTIVE DE UTILIZARE

Capitolul cuprinde analiză amplă a tehnologiilor contemporane de cultivare a cianobacteriilor. Sunt comparate sistemele deschise și închise în care are loc creșterea diferitor tulpini valoroase de cianobacterii, evidențiate avantajele și dezavantajele cultivatoarelor contemporane. Sunt analizați factorii de bază care influențează rezultatul procesului biotehnologic de obținere a biomasei cianobacteriene. Este prezentată o caracteristică detaliată a substanțelor cu efect antioxidant, care au fost depistate în biomasa cianobacteriilor. Se pune accent pe faptul, că biomasa cianobacteriilor include componente, care acoperă toată gama de mecanisme ale protecției antioxidante (de prevenire a formării radicalilor liberi; de stingere a radicalilor cu ajutorul componentelor enzimatice și non-enzimatice și de reparare a deteriorărilor, apărute ca rezultat al interacțiunii radicalilor liberi cu macromoleculele biologice). În acest compartiment este analizat și aspectul posibilității modificării cantitative și calitative a complexului de antioxidanți (ori a fiecărui component în parte) prin aplicarea diferitor factori fizici și chimici. Sunt aduse exemple de răspuns prompt al cianobacteriilor la stresul oxidativ prin modificări în conținutul antioxidanților cu masa moleculară mică.

Capitolul include o caracteristică comparativă a tehnologiilor contemporane de extragere a componentelor cu efect antioxidant din biomasa cianobacteriană. Este demonstrată cererea pronunțată pentru tehnologii simple, costeficiente de obținere a preparatelor antioxidante. După o analiză a domeniilor de utilizare a antioxidanților, se ajunge la concluzia, că *Nostoc linckia*, care și-a avut întrebuințare doar în calitate de biofertilizator, ori ca produs alimentar în zone geografice restrânse, poate deveni un obiect ficobiotehnologic valoros pentru obținerea produselor antioxidante, atât datorită componenței biomasei, cât și cerințelor minime în procesul de cultivare industrială. În final este formulată problema de cercetare și direcțiile de rezolvare a acesteia, sunt definite scopul și obiectivele prezentei lucrări.

2. ACTIVITATEA ANTIOXIDANTĂ ȘI COMPONENȚA BIOCHIMICĂ A BIOMASEI DE *NOSTOC LINCKIA* PE DURATA CICLULUI VITAL

În acest capitol sunt expuse rezultatele unui studiu al modificărilor productivității, componenței biochimice și statutului antioxidant al biomasei de *Nostoc linckia* pe durata ciclului vital în condiții de laborator și în condiții tehnologice de cultivare industrială. Figura 2.1 reflectă procesul de acumulare a biomasei de *Nostoc linckia* în condiții le laborator și în cultivator industrial.

În linii generale aspectul curbei de creștere în cele două cazuri este asemănător. Faza de latenţă (primele 24 ore), ca şi faza de accelerare a ritmului de creştere (a doua și a treia zi) în condiții de laborator este redusă la limite imperceptibile, deoarece inocularea s-a făcut în condiții și pe mediu de cultură identice cu cele în care a fost obținut inoculul. În condiții industriale se aplică un inocul mai consistent cu un conținut inițial de celule de 0,4 g/L (față de 0,2 g/L în laborator), ceea ce este dictat de specificul aplicării sistemelor industriale. În acest caz primele faze de creștere pot fi observate cu ușurință, ceea ce este determinat de adaptarea mai dificilă a culturii la condiții industriale care nu sunt identice condițiilor de obținere a inoculului.

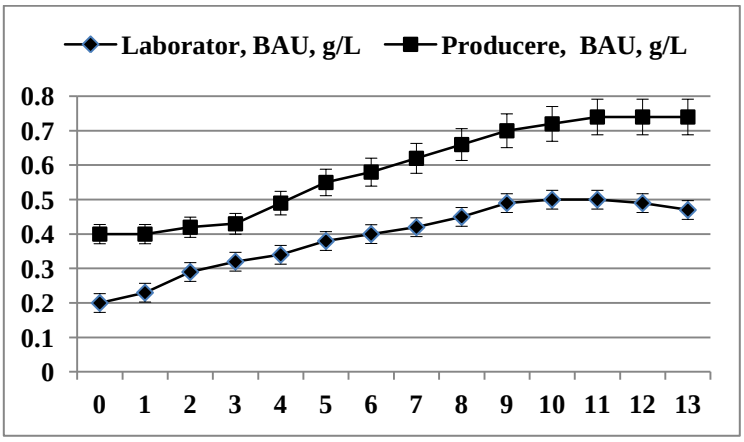

Fig. 2.1. Acumularea biomasei pe parcursul ciclului vital la *Nostoc linckia* în condiții de laborator și de producere

Pentru cultura statică de *Nostoc linckia* faza de multiplicare exponenţială este progresivă până la ziua 9 de cultivare în laborator și ziua a 10 în condiții de producere, ceea ce presupune o creştere a culturii la o rată constantă. La sfârșitul fazei exponenţiale, se evidenţiază o perioadă de încetinire a ritmului de creştere a tulpinii, după care cultura intră în faza staţionară (rata de creştere 0). În condiții de producere faza staționară este de durată mai lungă. Dacă cultura de laborator întră în faza de declin începând cu ziua a 12, cultura industrială și la cea de a 13 zi de cultivare este în fază staționară stabilă.

Pe durata ciclului vital se modifică și conținutul biochimic al biomasei de nostoc, iar de aici și caracterul acţiunii antioxidante a biomasei şi a preparatelor complexe obţinute din ea. În continuare au fost studiate modificările cantitative în principalele componente ale biomasei de nostoc (lipide, glucide, proteine, ficobiliproteine, fenoli). Unele din rezultate sunt prezentate în figura 2.2. Cantitatea de proteine este maximală în primele două zile de cultivare atât în condiții de laborator, cât și în cele de producere și se menține la un nivel înalt până la jumătatea fazei exponențiale de creștere, după care urmează o scădere, care este mai pronunțată în condiții de laborator. Aceste modificări cel mai probabil sunt determinate de micșorarea intensității proceselor enzimatice de protecție, adaptare și a celor metabolice de bază. Cantitatea de ficobiline este în ascensiune ușoară de la inoculare și până la finele etapei de creștere exponențială, după care

cantitatea lor în biomasă începe să scadă, ceea ce corespunde scăderii intensității fotosintezei în faza staționară și la începutul fazei de declin. Conținutul de fenoli în biomasa de nostoc pe durata ciclului vital este un indicator destul de stabil în timp. Un nivel mai ridicat al acestora se atestă la începutul și sfârșitul cultivării. Conținutul de lipide și glucide în biomasa de nostoc se menține stabil pe durata dezvoltării culturii staționare și doar începutul ciclului tehnologic se caracterizează prin conținut mai ridicat de glucide și mai scăzut de lipide comparativ cu celelalte etape de creștere.

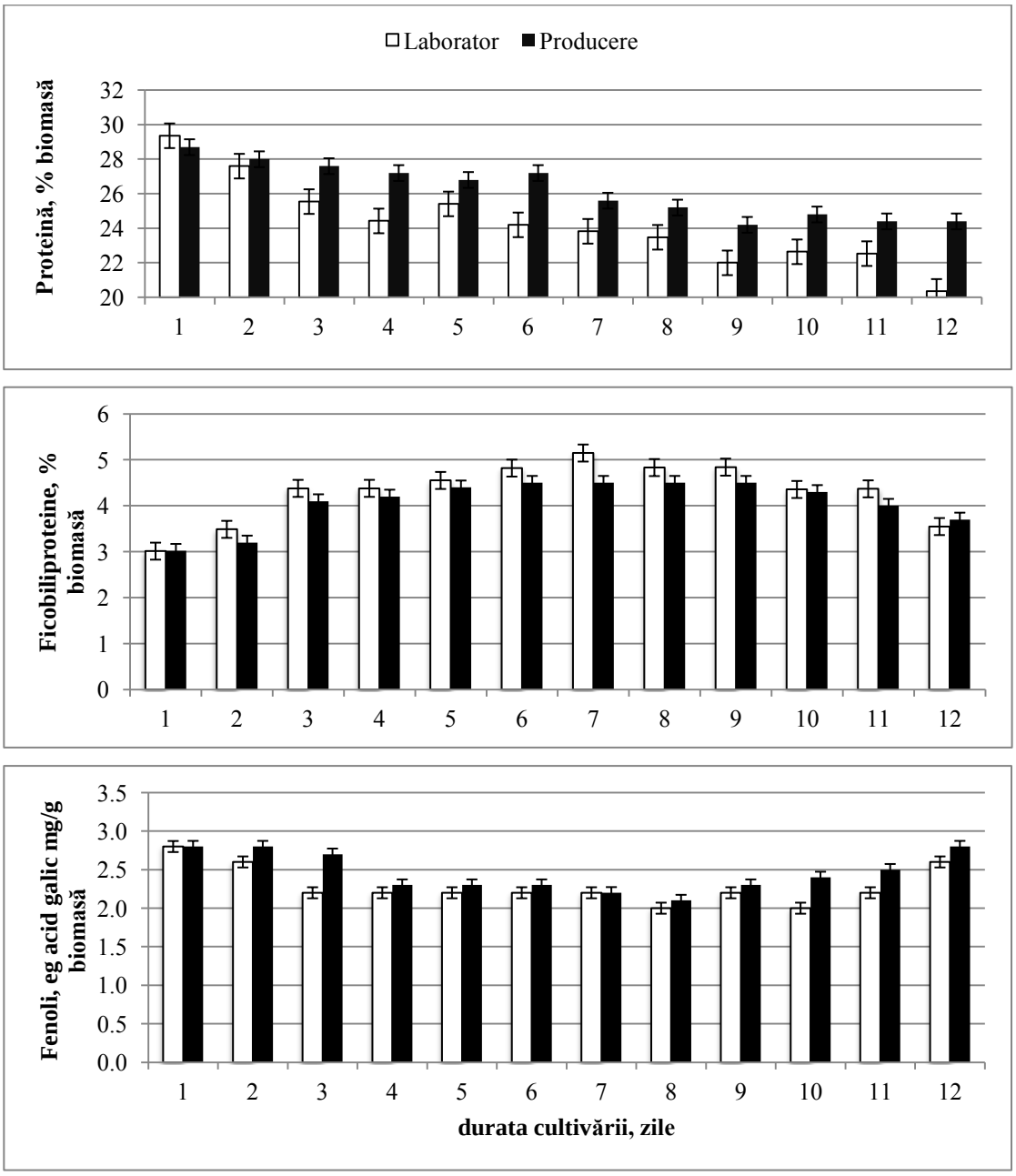

Fig.2.2. Conținutul proteinelor, ficobiliproteinelor și fenolilor în biomasa de *Nostoc linckia* pe durata ciclului vital în condiții de laborator și de producere.

În conformitate cu scopul general al acestei teze, monitorizarea activității antioxidante pe durata ciclului vital este una din principalele sarcini. Rezultatele testelor antioxidante cu utilizarea radicalilor nonbiologici $DPPH^{\cdot}$ şi $ABTS^{\cdot+}$ reflectă răspunsul antioxidant al culturii la cerinţele fiziologice pe parcursul ciclului vital (figura 2.3). Capacitatea de reducerea a radicalului DPPH a extractelor hidrice din biomasa de *Nostoc linckia* obținută în condiții de laborator este în limitele a 28-35 % inhibiție. Rezultatele testului DPPH în extractele hidrice corelează cu fazele de creştere a nostocului. Valorile maxime ale testului DPPH au fost înregistrate în ziua 1 (faza lag), ziua 4 (faza de accelerare a ritmului de creştere), ziua 7 (mijlocul fazei exponenţiale) şi ziua 10 (faza staţionară). Astfel, prin salturi ale inhibiţiei radicalului DPPH sunt marcate trecerile de la o condiţie fiziologică la alta. Testul ABTS de asemenea permite sesizarea fazei de latenţă la începutul ciclului vital asociat cu un nivel comparativ redus de inhibiţie a radicalului cation ABTS (65 şi 66 %, respectiv). După perioada de adaptare a culturii la condiţiile noi de mediu se observă tendinţa de sporire a activităţii antioxidante a extractelor hidrice din biomasa de nostoc, care atinge maximul în ziua 7 cu o valoare de 73,9 % inhibiţie $ABTS^{\cdot+}$. În faza staţionară, extractele hidrice manifestă o activitate antioxidantă de 66-69 % inhibiţie radical ABTS. În condiții de producere se înregistrează tendințe identice de variere a activității antiradicalice a extractelor hidrice din biomasa de nostoc, unica excepție constituind păstrarea nivelului de activitate la ziua a 12 de cultivare la nivelul valorilor anterioare.

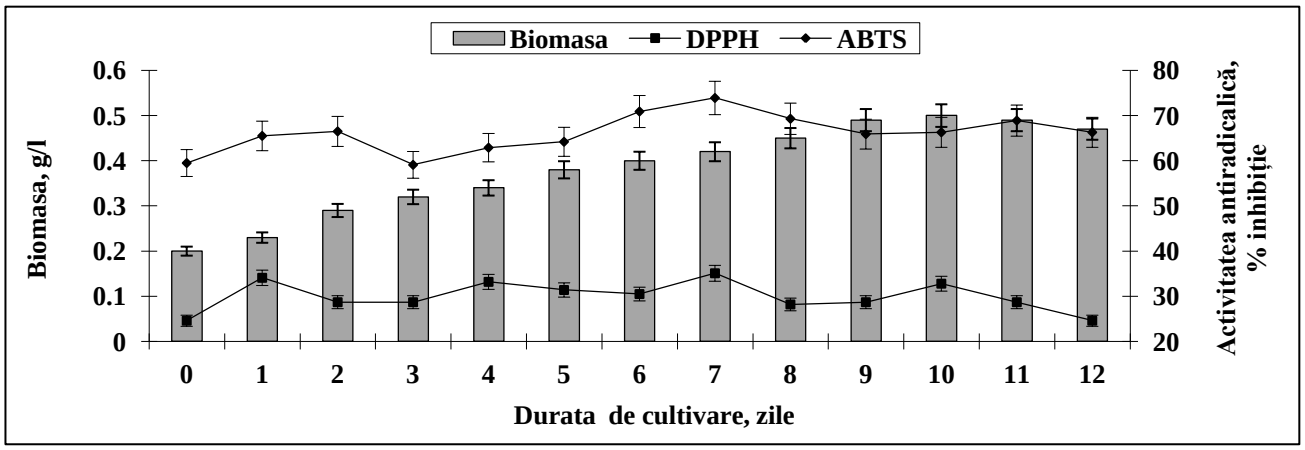

Fig. 2.3. Activitatea antiradicalică a extractelor hidrice din biomasa de *Nostoc linckia* pe parcursul ciclului vital în condiții de laborator

În continuare, a fost studiată activitatea antioxidantă a extractelor etanolice obţinute din aceeaşi biomasă de nostoc pe durata ciclului vital. Testele DPPH şi ABTS relevă un nivel mai mic de reducere comparativ cu cel înregistrat de extractele hidrice, iar activitatea antioxidantă nu este

marcată de fluctuaţii valorice importante pe parcursul fazelor de creştere, cu excepţia creşterii activităţii în primele 24 ore ce caracterizează momentul inoculării culturii (Fig. 2.4).

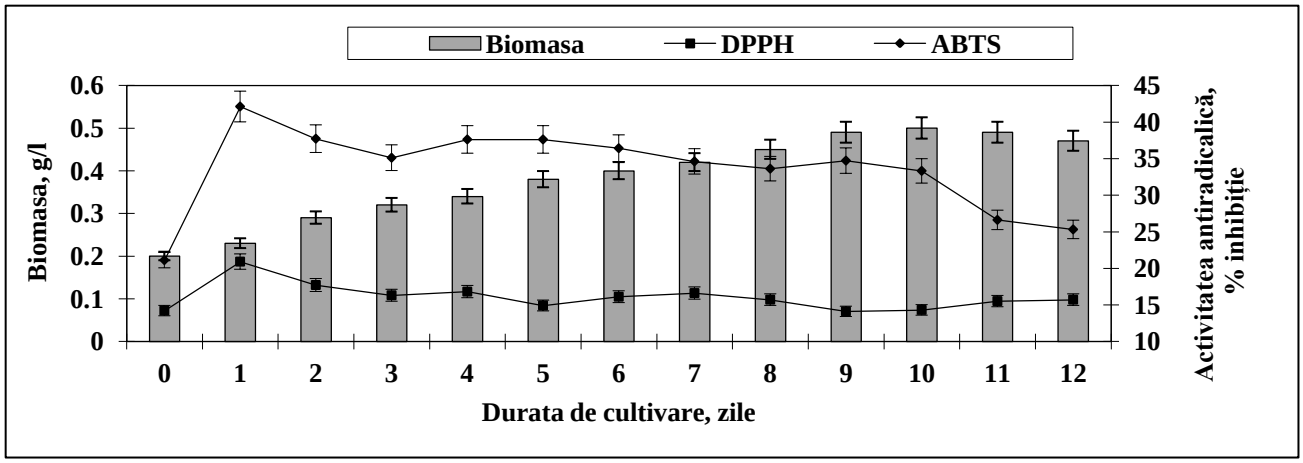

Fig. 2.4. Activitatea antiradicalică a extractelor etanolice din biomasa de *Nostoc linckia* pe parcursul ciclului vital în condiții de laborator

Rezultatele testelor pentru extractele etanolice nu sunt atât de informative, precum cele reflectate de aceste teste pentru extractele hidrice din biomasa de nostoc, de aceea am mai recurs la un test, și anume cel de determinare a capacității de reducere a reagentului fosfo-molibdenic (CRFM), care se aplică pentru extractele etanolice. Rezultatele sunt date în figura 2.5.

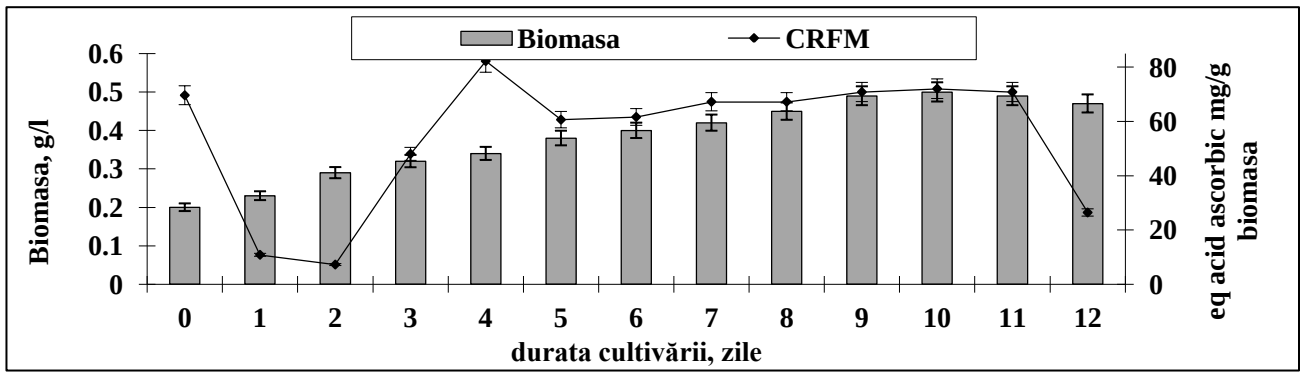

Fig. 2.5. Activitatea antioxidantă (capacitatea de reducere a reagentului fosfo-molibdenic CRFM în eq acid ascorbic mg/g biomasă) a extractelor etanolice din biomasa de *Nostoc linckia* pe parcursul ciclului vital în condiții de laborator

Rezultatele testului CRFM de asemenea evidențiază 2 momente-cheie în ciclul vital si anume faza de latență, caracterizată prin activitate minimă și începutul fazei de creștere exponențială cu activitatea maximală. În condiții de producere testele ABTS, DPPH și CRFM indică aceleași fluctuații cu mici diferențe valorice nesemnificative. Diferența principială a rezultatelor obținute pentru cultura industrială constă în faptul, că nici unul dintre teste nu înregistrează modificări esențiale la ziua a 12. Deci în condițiile de producere observăm fenomenul de prelungire a fazei

staționare, ceea ce oferă posibilitatea de colectare a biomasei pe o durată mai mare de timp fără a suporta efectele declinului culturii. Concluzia despre siguranță a biomasei se face în baza testului de determinare a dialdehidei malonice (DAM) [22]. Rezultatele testului demonstrează că nivelul produsului de peroxidare lipidică la începutul fazei staționate atât în condiții de laborator, cât si în cele de producere este unul dintre cele mai joase pe durata ciclului.

3. EXTRAGEREA ȘI PĂSTRAREA COMPONENTELOR CU EFECT ANTIOXIDANT DIN BIOMASA DE *NOSTOC LINCKIA*

Capitolul 3 este consacrat selectării parametrilor tehnologici optimi pentru obținerea extractelor antioxidante din biomasa de nostoc caracterizate prin activitate înaltă, precum și a condițiilor de păstrare a acestor extracte în scopul utilizării directe ori procesării ulterioare. În conformitate cu rezultatele expuse în capitolul precedent, colectarea biomasei pentru extragerea componentelor cu acțiune antioxidantă se efectuează la ziua a 10-a sau 11-a. În cadrul experiențelor au fost monitorizați doi parametri principali: concentrația soluției etanolice sau metanolice (20-96%), utilizate pentru extragere și durata procesului (6, 12, 24 ore). Activitatea antiradicalică a extractelor etanolice sunt prezentate în figura 3.1.

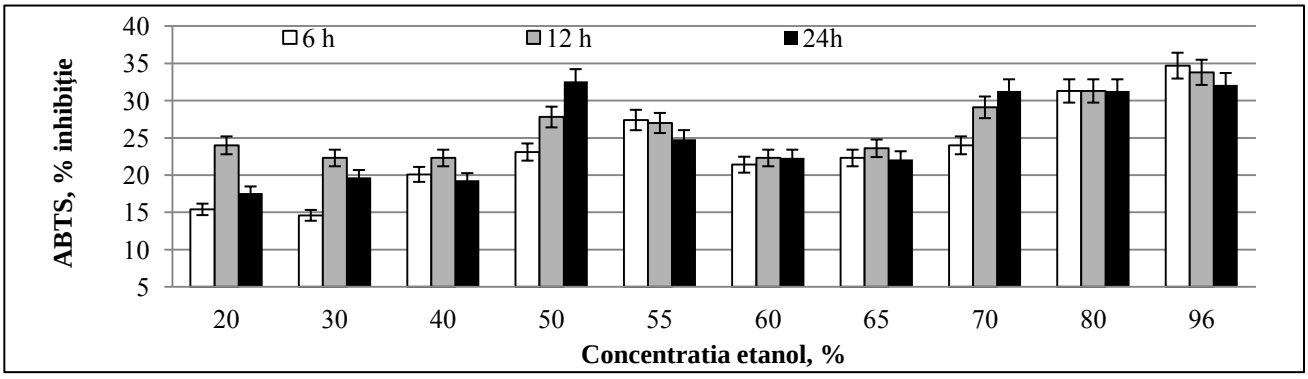

Figura 3.1. Activitatea antioxidantă (% inhibiţie ABTS) a extractelor etanolice din biomasa de *Nostoc linckia* în dependență de concentrația soluției și de durata extragerii (6 ore, 12 ore, 24 ore)

Pentru soluția hidro-etanolică de 10-50% și 70% creșterea timpului de extragere de la 6 la 12 ore contribuie la sporirea semnificativă a capacității antiradicalice a extractelor, iar mărirea duratei de extragere până la 24 ore este justificată doar în cazul extractului de 50% etanol. Extractele metanolice cu concentrație joasă de alcool se caracterizează prin activitate antiradicalică de cel mult 22%. Extractele obținute cu soluții metanolice de 65-96% au o activitate mai înaltă, dat nu o depășesc pe cea a extractelor etanolice. În cazul ambilor alcooli utilizați cea mai mare activitate

antioxidantă, în majoritatea cazurilor studiate, a fost înregistrată pentru extracţia de 12 ore. Astfel, durata extracţiei de 12 ore este optimală pentru obţinerea de produse antioxidante.

Analiza corelaţională dintre activitatea antioxidantă a extractelor şi concentraţia alcoolilor utilizaţi a arătat o relaţie strânsă între aceşti doi parametri: pentru alcoolul metilic în dependenţa de timpul de extragere R^2 = 0,687 … 0,797, iar pentru alcoolul etilic - R^2 = 0,581… 0,810.

În scopul sporirii randamentului de extragere a componentelor cu efect antioxidant au fost realizate extrageri succesive. La prima etapă se aplică extragerea cu apă distilată, după care biomasa este supusă unei extrageri suplimentare cu soluție hidro-etanolică de 10 - 96%.

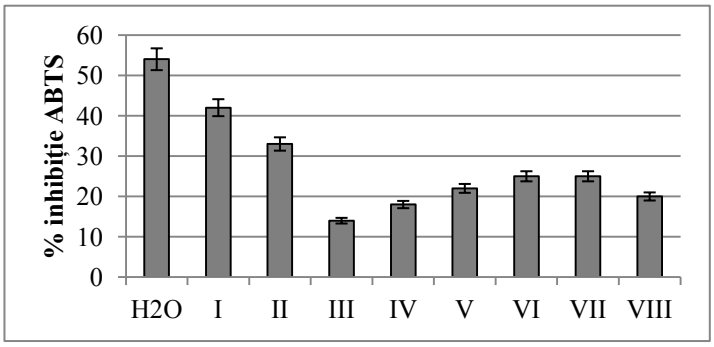

Figura 3.2. Activitatea antioxidantă (% inhibiţie ABTS) a preparatelor, obținute prin extragere succesivă din biomasa *de Nostoc linckia* (H_2O – prima extragere cu apă; a doua extragere cu etanol de: I- 10%; II- 20%, III- 30%, IV- 40, V-55%, VI-65%, VII- 80%, VIII- 96%)

Durata extracțiilor a fost de 6 ore. Rezultatele sunt prezentate în figura 3.2. Cele mai bune rezultate au fost obținute în cazul soluțiilor etanolice de 10 și 20%, activitatea antioxidantă a cărora a crescut cu 85 și 100% respectiv. În celelalte cazuri activitatea antioxidantă a extracte-lor a scăzut semnificativ (a celui de 55% - cu 20%, a celui de 65% - cu 26%, iar a celui de 96% - cu 42%.

Prin urmare este rentabilă aplicarea extragerii succesive doar pentru soluțiile hidro-etanolice cu conținut jos de etanol. Extractele etanolice de 65 și 96% cu durata procesului de 6 ore și extractele hidric și hidro-etanolic de 10 și 20% obținute prin extragere succesivă au fost păstrate timp de 3 luni în condiții de frigider (4^0C) în vase din sticlă fumurie. Rezultatele testului ABTS la diferite intervale de timp sunt prezentate în figura 3.3

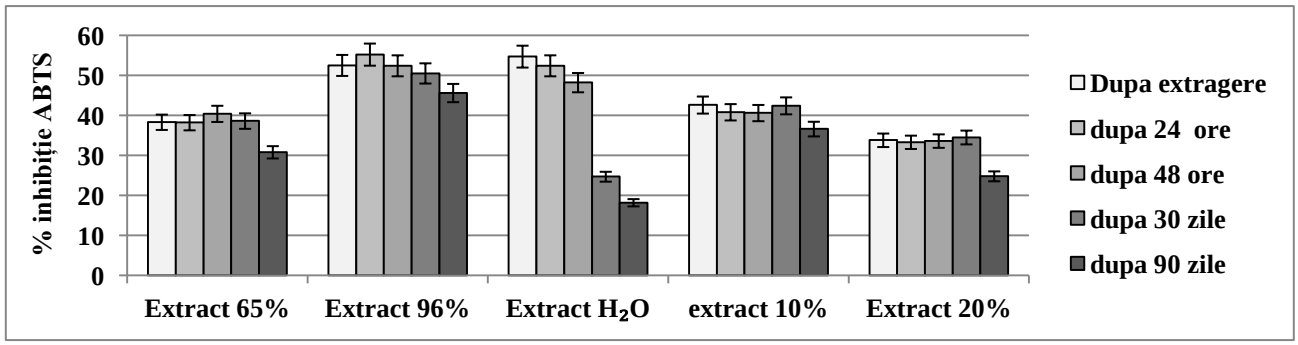

Figura 3.3. Modificarea activității antioxidante a extractelor în baza biomasei de *Nostoc linckia* pe durata păstrării la temperatura de $+4^0$C

Rezultatele monitorizării scot în evidență necesitatea modificării condițiilor de păstrare. Pentru toate extractele, activitatea antioxidantă se reduce spre a 3-a lună de păstrare cu 10-67%, cel mai vulnerabil fiind extractul hidric. Păstrarea probelor respective în vase din plastic la temperatura de 0^0C este mai eficientă, astfel după 90 zile de păstrare, activitatea antioxidantă a extractelor nu s-a modificat. Valorile testului ABTS sunt identice celor determinate în extractele native (figura 3.4).

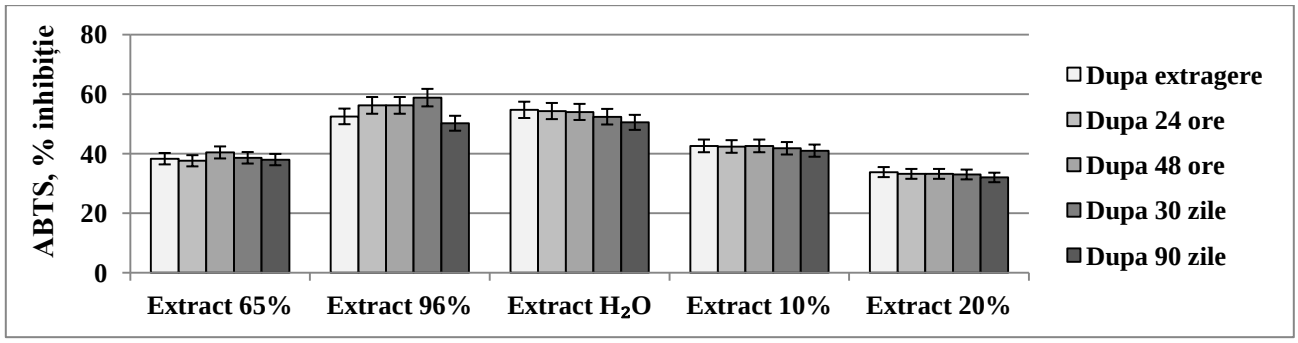

Figura 3.4. Modificarea activității antioxidant a extractelor în baza biomasei de *Nostoc linckia* pe durata păstrării la temperatura de 0^0C

În continuare a fost studiată posibilitatea utilizării stabilizatorilor extractelor din biomasa de *Nostoc linckia*. În acest scop extractele de 65% și 96% au fost suplimentate cu tocoferol, iar extractul hidric a fost suplimentat cu trolox și acid ascorbic. Pentru a evita suprapunerea efectului antioxidant al substanțelor active, cantitatea suplimentelor a fost de 0,001, 0,01 și 0,1 mg/ml. Preparatele au fost păstrate timp de 3 luni în condiții de frigider (4^0C) Cele mai valoroase rezultate au fost obținute în cazul extractului etanolic de 65% suplimentat cu tocoferol (figura 3.5). În extractul suplimentat cu tocoferol 0,1 mg/ml timp de 90 zile nu se modifică activitatea antioxidantă, ceea de oferă posibilități de a utiliza eficient această materie primă în activitățile ulterioare.

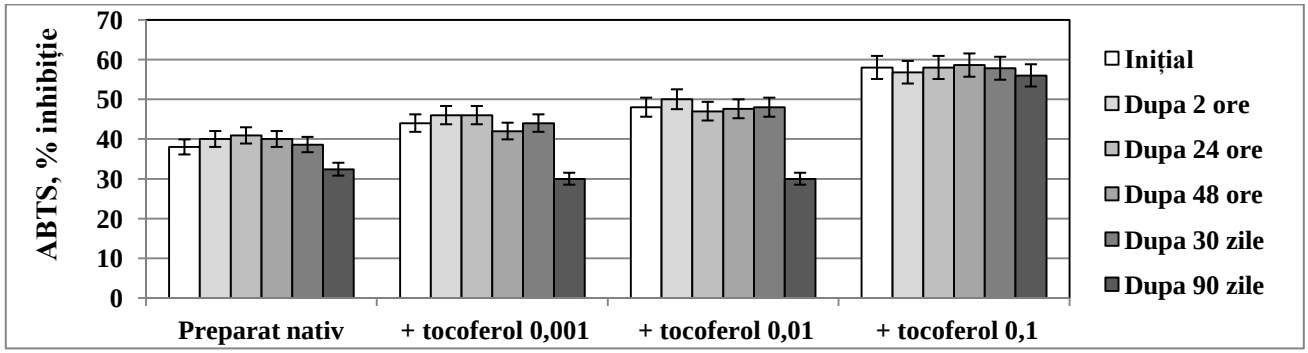

Figura 3.5. Modificarea activității antioxidant a extractului etanolic de 65% în baza biomasei de *Nostoc linckia*, suplimentat cu tocoferol, pe durata păstrării la temperatura de $+4^0$C

Extractele hidrice sunt, de obicei, foarte vulnerabile în ceea ce ține de deteriorarea oxidativă, de aceea protejarea lor constituie o sarcină primordială. Ttestele de păstrare a extractelor hidrice și

hidro-etanolic de 10% timp de 90 zile în condiții de suplimentare cu acid ascorbic sau cu trolox (0,001 mg/ml) demonstrează că în toate cazurile examinate după 90 zile de păstrare activitatea de reducere a radicalului ABTS a extractelor rămâne la nivelul inițial.

Capacitatea complexelor antioxidante de a reduce radicalii și de a preveni oxidarea poate fi verificată prin determinarea produselor degradării acidului tiobarbituric. În calitate de substrat ușor oxidabil au fost utilizate câteva tipuri de uleiuri vegetale, la care a fost adăugat extractul etanolic obținut în baza biomasei de nostoc prin extragere în alcool etilic timp de 12 ore. Nivelul de oxidare a uleiurilor a fost monitorizat prin cuantificarea MDA. Rezultatele determinării produselor de reacție ale acidului tiobarbituric sunt prezentate în Figura 3.6. Complexul antioxidant, obținut prin extragere etanolică este un factor important de protecție a uleiurilor, în special a a uleiurilor din semințe de in și de porumb.

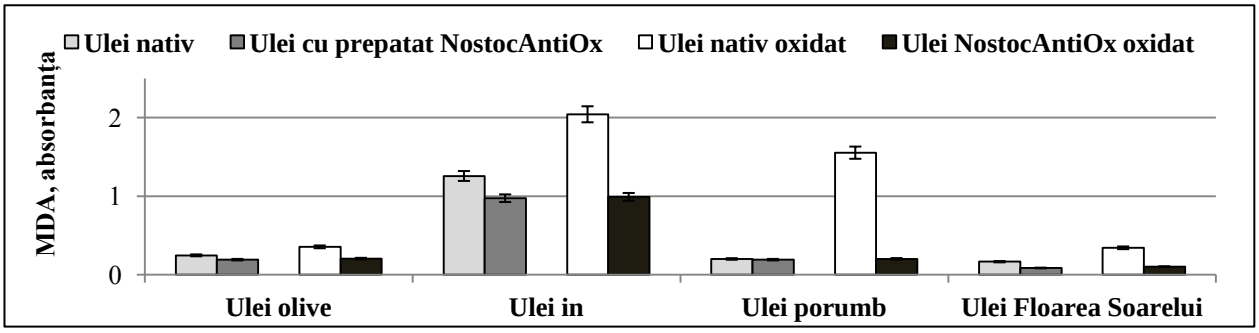

Fig. 3.6. Testul MDA, determinat pentru uleiurile vegetale native și suplimentate cu antioxidant, extract etanolic de 96% în baza biomasei de *Nostoc linckia*

Astfel, în cadrul acestui capitol au fost elucidate unele principii, ce stau la baza obținerii extractelor antioxidante stabile: utilizarea preferabilă a etanolului în extragerea componentelor antioxidante, eficiența extracțiilor succesive în sporirea activității extractelor cu concentrație joasă de alcool, stabilitatea înaltă a extractelor în caz de păstrare la 0^0C, posibilitatea sporirii termenului de păstrare a extractelor prin aplicarea stabilizatorilor.

4. ELABORAREA TEHNOLOGIILOR COMPLEXE NONPOLUANTE DE CULTIVARE A *NOSTOC LINCKIA* ȘI DE OBȚINERE A PREPARATELOR ANTIOXIDANTE

În acest capitol sunt descrise rezultatele studiului posibilității modificării statutului antioxidant al biomasei de nostoc prin acțiunea diferitor compuși chimici (compuși coordinativi cu diferiți liganzi). Spre deosebire de alte culturi ficologice [21,22], care au răspuns prompt la aceste acțiuni, nostocul s-a dovedit a fi destul de inert. Astfel, compușii coordinativi ai Fe(III) cu glicinații și

alaninații nu s-au manifestat în calitate de inductori ai stării de stres oxidativ și deci, de intensificare a proceselor de acumulare a componentelor cu acțiune antioxidantă în biomasa de nostoc.

În scopul de a spori activitatea antioxidantă a nostocului prin intermediul dirijării biosintezei de ficobiline în biomasă în calitate de reglatori au fost utilizați compuși ai fierului cu bazele Schiff obținuți prin condensarea 2,6 diacetilpiridinei cu hidrazida acidului izonicotinic (H_2L^1) și hidrazida acidului nicotinic (H_2L^2), sintezați de cercetătorii Institutului de Chimie sub conducerea dlui prof. Bulhac Ion. Rezultatele sunt prezentate pentru doi dintre cei mai eficienți compuși (figura 4.1).

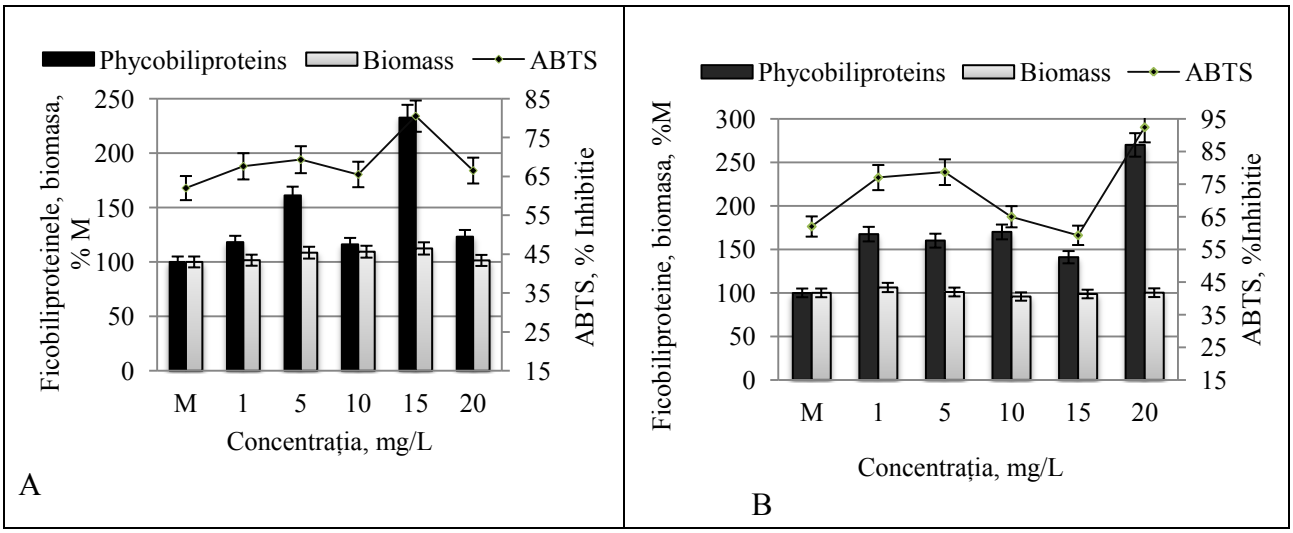

Fig. 4.1 . Conținutul total al ficobilinelor (% BAU) și valorile testului ABTS în extractele hidrice din biomasa de *Nostoc linckia* obținută în prezența $[Fe(H_2L^1)(H_2O)_2](NO_3)_3 \cdot 1.5H_2O$ (A) și $[Fe(H_2L^2)(H_2O)_2](NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ (B).

În ambele cazuri prezentate avem un efect de creștere a activității antiradicalice a extractelor hidrice din biomasă și a nivelului de pigmenți ficobilinici. În cazul primului compus activitatea antiradicalică atinge valoarea de 80% inhibiție radical ABTS la concentrația de 15 mg/L de compus, iar în cazul celui de-al doilea compus în cazul concentrației de 20 mg/L compus activitatea antiradicalică este de 92% inhibiție ABTS. Acești doi compuși asigură și o creștere semnificativă a conținutului de pigmenți ficobilinici în biomasa de nostoc de până la 2,3 ori față de martor.

Din gama de compuși testați încă doi au dus la creșterea vizibilă a activității antioxidante a biomasei de nostoc. Aceștia sunt N-($\Delta^{8,13}$-biciclohomofarnesenoilamino) carbazolul și 1-($\Delta^{8,13}$-biciclohomofarnesenoil)-3-amino-1,2,4-triazolul. Compușii nominalizați în cantitate de 50-100 mg/L asigură sporirea esențială a activității antioxidante a extractelor etanolice de 70% față de martor. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 4.1. Datele tabelului demonstrează creşterea activităţii antioxidante a extractului etanolic de 70% alcool etilic cu concentraţia de 1 mg/ml substanţa activă, obţinut în baza biomasei de nostoc de 2,11-2,73 ori față de varianta martor. Odată

cu creșterea activităţii antioxidante a extractului etanolic creşte și valoarea biomasei de nostoc în calitate de producător de substanţe antioxidante.

Tabel 4.1. Activitatea antioxidantă a extractului etanolic de 70% în baza biomasei de *Nostoc linckia*, rezultate la cultivarea în prezența stimulatorilor chimici

Compusul chimic	**Concentraţia compusului g/L**	**Activitatea antioxidantă, % inhibiţie DPPH**
Martor	-	28,03±0,72
1-($\Delta^{8,13}$-Biciclohomofarnesenoil)-3-amino-1,2,4-triazolul	0,050	60,14±1,09
	0,060	67,44±1,15
	0,100	59,16±2,04
N-($\Delta^{8,13}$-biciclohomofarnesenoilamino) carbazolul	0,050	64,35±0,98
	0,060	76,41±1,69
	0,100	71,24±1,48

Proprietăţile compușilor 1-($\Delta^{8,13}$-Biciclohomofarnesenoil)-3-amino-1,2,4-triazolul și N-($\Delta^{8,13}$-biciclohomofarnesenoil-amino)carbazolului prezintă interes pentru biotehnologie în calitate de stimulator al activităţii antioxidante a biomasei cianobacteriei *Nostoc linckia.* Aceste rezultate au stat la baza elaborării și obținerii a două brevete de invenție în colaborare cu colegii chimiști care au realizat sinteza compușilor - Brevetul MD 4326 și Brevetul MD 4327.

Cercetările ce au urmat au fost orientate spre evidențierea posibilităților de valorificare a biomasei reziduale de nostoc după extragerea componentelor antioxidante. În legătură cu creșterea interesului științific și practic față de biosinteza diferitor nanoparticule, biomasa reziduală după extragerea componentelor antioxidante a fost testată în calitate de matrice pentru biosinteza nanoparticulelor de argint. Rezultatele obținute pentru concentrația de argint în biomasă reziduală și soluția hidrică în comparație cu datele pentru biomasa nativă sunt date în Tabelul 4.2.

Tabelul 4.2. Modificarea conținutului de argint în soluția reactantă și în biomasă pe durata biosintezei nanoparticulelor

Condițiile experienței	**Concentrația argintului**							
	Soluție, mg/L				**Biomasă, mg/g**			
	Inițial	**24 ore**	**48 ore**	**72 ore**	**Inițial**	**24 ore**	**48 ore**	**72 ore**
Biomasă nativă + soluție $AgNO_3$ [36]	60,5±0,2	23,3±0,9	23,0±3,0	23,6±0,4	6,0±0,9	43,5±0,7	44,9±3,1	45,2±2,2
Biomasă reziduală + soluție $AgNO_3$	64,0±1,1	15,3±0,8	14,6±1,7	14,7±0,6	6,5±1.0	48,9±2,6	49,6±1,4	50,7± 0,9

Rezultatele obținute arată, că cantitatea de argint în soluție scade pe parcursul primelor 24 de ore și rămâne constantă până la sfârșitul experienței, atât la utilizarea biomasei native, cât și cu

reziduul de biomasă rămas după extragerea principiilor bioactive. Totodată, concentrația argintului în biomasa de nostoc crește, modificările principale în conținutul argintului producându-se în primele 24 ore de interacțiune cu nitratul de argint. Rezultatele obținute în experiența cu reziduul de biomasă sunt mai înalte comparativ cu biomasa nativă.

Probele de biomasă de nostoc au fost supuse vizualizării cu aplicarea metodei microscopiei electronice de baleiaj. În Figura 4.2 sunt prezentate imaginile, care demonstrează formarea conglomeratelor de nanoparticule de argint pe suprafața celulelor.

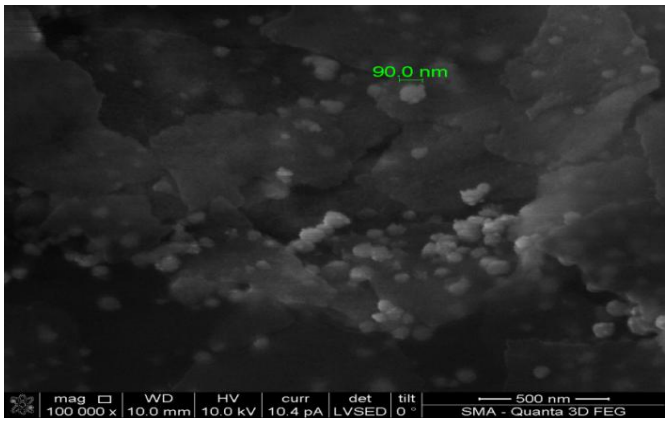

Fig. 4.2. Conglomerate de nanoparticule de argint extracelular la *Nostoc linckia*.

Trihoamele de nostoc sunt înconjurate de un strat de exopolizaharide, care poate rămâne legat covalent cu structurile membranei citoplasmatice, ori poate fi spălat în mediul extracelular în dependență de condițiile create. Anume acest strat este gazda conglomeratelor de nanoparticule metalice, care pot atinge până la 90 nm, in timp ce nanoparticulilele sunt de 4-6 nm.

Biomasa reziduală de nostoc a fost testată și în calitate de biosorbent pentru metale grele în sisteme polimetalice. Rezultatele obținute pentru apele reziduale cu conținut înalt de crom sunt prezentate în Tabelul 4.3.

Tabelul 4.3. Conținutul elementelor în biomasa nativă și reziduală de nostoc în dependență de timpul de contact cu apele reziduale ce conțin crom

Conținutul elementului în biomasă, µg/g	**Timpul de contact, min**			
	0; Martor	**5 min**	**15 min**	**30 min**
Biomasa nativă				
Cr	12.5±1.3	745±56	806±67	798±33
Fe	159 ± 11	990 ± 69	967 ± 67	937 ± 65
Ni	50 ± 4.5	260 ± 23	300 ± 27	303 ± 27
Zn	9.3 ± 0.8	70 ± 6.3	80 ± 7.2	82 ± 7.3
K	21300±2532	3777±447	3500±420	2906±348
Biomasa reziduală				
Cr	10.5±2.3	812±67	826±82	830±23
Fe	150 ± 33	1016 ± 64	1088 ± 34	1100 ± 45
Ni	32 ± 3	295 ± 33	345 ± 43	348 ± 47
Zn	6.8 ± 1.1	76 ± 4.2	85 ± 2.2	92 ± 3.7
K	4501±436	4334±276	4409±328	4396±284

Pornind de la faptul, că procesul de biosorbție este pur chimic, de scurtă durată și poate derula atât pe culturi vii, cât și pe material organic neviu, în acest compartiment al lucrării am decis să evaluăm capacitatea de biosorbție a reziduului de biomasă de nostoc rămasă după extragerea componentelor bioactive cu efect antioxidant în soluții polimetalice, ce simulează după componență apele rezultate de la solubilizarea alcalină a uraniului. Variantele experimentale au conținut doar soluțiile sărurilor de metale, în care metalele sunt prezente în cantități echivalente celor, care au fost determinate în condiții reale. Contactul între soluţiile studiate şi biomasa de nostoc a fost realizat prin adăugare la soluţia de cercetat a biomasei reziduale de nostoc în cantitate de 10 g biomasă absolut uscată la un litru de soluţie de cercetat. După expirarea timpului de contact biomasa reziduală de nostoc a fost separată de soluția reactantă.

Din datele Tabelului 4.4, se poate deduce că cel mai înalt nivel de retenţie se determină pentru Cu(II). Pentru acest element biomasa reziduală de nostoc asigură acumularea a circa 90% din cantitatea prezentă în soluţia reactantă, la timpul de contact de 30 minute.

Tabelul 4.4. Conţinutul de metale în soluție până la şi după contactul cu biomasa reziduală de nostoc

Metalul	**Concentraţia iniţială, mg/l**	**Concentraţia finală, mg/l**	**Nivelul de recuperare, %**	**Timpul util de contact, min**
Fe(III)	3190±322	1238±215	61,2	15
Zn(II)	88,6±2,2	24,20±1,9	72,7	15
Cr(III)	75,8±4,3	23,40±2,4	69,1	15
Cu(II)	148,4±24,6	20,84±0,2	85,9	30

Contactul între soluţiile contaminate şi biomasa reziduală de nostoc se face prin adăugare la soluţia contaminată a biomasei reziduale de nostoc în cantitate de 10g biomasă absolut uscată la un litru de soluţie. Timpul de contact este de 30 min, deoarece el asigură o retenţie maximală a fierului (III), zincului (II), cromului (III) şi a cuprului (II). După expirarea timpului de contact biomasa de nostoc se filtrează.

Aşa dar, procedeul de bioacumulare şi recuperare a microcomponentelor metalice de biomasă reziduală de *Nostoc linckia*, asigură conform regulamentului elaborat, acumularea în biomasă a 61,2% din fier (III), 72,7% din zinc (II), 69,1% din crom (III) şi 85,9% din cupru (II) prezente în soluția contaminată.

Rezultatele investigațiilor expuse în această lucrare au permis a integra toate componentele și operațiunile tehnologice într-un flux tehnologic complex de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia*, de obținere a preparatelor antioxidante din biomasa acesteia și de utilizare a reziduului de biomasă. *Componenta tehnologica principală* în cadrul fluxului tehnologic integrat elaborat este redată de procedeele de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* care permit obţinerea cantităţii maximale de biomasă cu un statut antioxidant înalt. În expunerea rezultatelor acestei lucrări s-a demonstrat că atingerea acestui obiectiv este posibilă datorită utilizării unor compuși coordinativi noi: 1-($\Delta^{8,13}$-Biciclohomofarnesenoil)-3-amino-1,2,4-triazol și N-($\Delta^{8,13}$-biciclohomo-farnesenoilamino) carbazol, $[Fe(H_2L^1)(H_2O)_2](NO_3)_3 \cdot 1.5H_2O$ (unde L1 - hidrazida acidului izonicotinic) și $[Fe(H_2L^2)(H_2O)_2](NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ (unde L2 - hidrazida acidului inicotinic), compuși care suplimentați la mediul de cultivare al nostocului asigură creșterea potențialului antioxidant al biomasei acestei cianobacterii. Introducerea vectorilor de creștere a potențialului antioxidant al biomasei se face în prima zi de cultivare în următoarele cantități: 0,050 - 0,060 mg/L de 1-($\Delta^{8,13}$-Biciclohomofarnesenoil)-3-amino-1,2,4-triazol; 0,06 - 0,1mg/L de N-($\Delta^{8,13}$-biciclohomo-farnesenoilamino) carbazol; 15 mg/L de $[Fe(H_2L^1)(H_2O)_2](NO_3)_3 \cdot 1.5H_2O$ și 20 mg/L de $[Fe(H_2L^2)(H_2O)_2](NO_3)_3 \cdot 5H_2O$. *Cea de a doua componentă* a fluxului tehnologic este redată de etapele de obținere din biomasa de nostoc cu un potențial antioxidant înalt a noilor preparatelor antioxidante. Aceste etape includ extragerea componentelor antioxidante din biomasă, standardizarea și condiționarea preparatelor NostocAntiOx-1, NostocAntiOx-2, NostocAntiOx-3 și NostocAntiOx-4. *Ce-a de a treia componentă tehnologică* reprezintă valorificarea biomasei reziduale care rezultă din primele două etape tehnologice de obținere a biomasei și a complexelor antioxidante și constituie un agent eficace de purificare a apelor reziduale cu conținut de metale, asigurând recuperarea componentelor metalice: fier (III), zinc (II), crom (III, nichel (II), precum și o matrice conformă pentru biosinteza nanoparticulelor de argint.

În rezultatul combinării celor 3 componente tehnologice se obțin 4 preparate antioxidante noi: preparatul **NostocAntiOx-1**cu o capacitate de inhibiție a radicalului DPPH la nivelul de 60-67%, preparatul **NostocAntiOx-2** cu o capacitate de inhibiție a radicalului DPPH la nivelul de 71-76%, preparatul **NostocAntiOx-3** cu o capacitate de inhibiție a radicalului cation ABTS la nivelul de 80-83% și preparatul **NostocAntiOx-4** cu o capacitate de inhibiție a radicalului cation ABTS la nivelul de 90-95%.

Fgura 4.3 prezintă schema realizării tehnologiei complexe de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* și de obținere a preparatelor antioxidante NostocAntiOx-1 și NostocAntiOx-2.

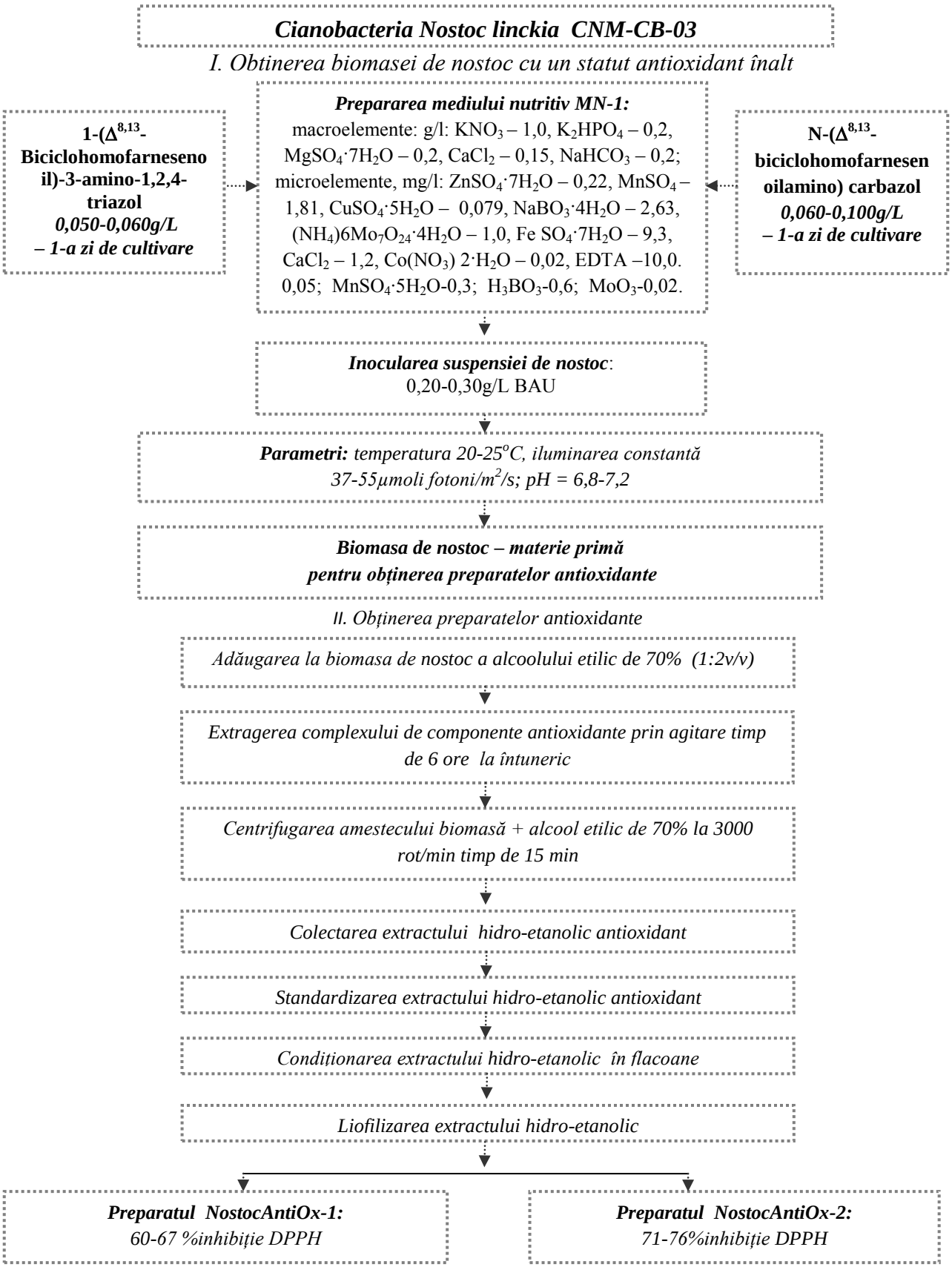

Fig. 4.3. Schema realizării tehnologiei complexe de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* și de obținere a preparatelor antioxidante ***NostocAntiOx-1 și NostocAntiOx-2***

CONCLUZII GENERALE ŞI RECOMANDĂRI

Realizarea cercetărilor şi analiza rezultatelor obţinute în cadrul tezei de doctor **„Biotehnologia cultivării sursei de antioxidanţi – cianobacteria *Nostoc linckia”*** au condus la formularea următoarelor concluzii:

1. Modificările cantitative ale principalelor componente ale biomasei de nostoc pe durata ciclului vital se înscriu în limite destul de restrânse, ceea ce caracterizează *Nostoc linckia* ca o cultură cu grad ridicat al homeostaziei, ceea ce uşurează semnificativ manipularea culturii în condiţii industriale şi simplifică procedurile din cadrul tehnologiilor aplicate.

2. Cei mai stabili parametri pentru cultura de nostoc în condiţii de laborator se obţin la începutul fazei staţionare. Această perioadă se caracterizează prin cel mai înalt nivel al biomasei, cea mai stabilă activitate antiradicalică şi antioxidantă şi nivel jos al dialdehidei malonice, de aceea este recomandată pentru colectarea biomasei în scopul obţinerii preparatelor antioxidante cu un grad înalt de siguranţă.

3. Extractele hidrice şi hidro-etanolice cu conţinut scăzut de etanol din biomasa de nostoc se caracterizează prin activitate antiradicalică pronunţată, iar stabilitatea lor poate fi asigurată de cantităţi minime de trolox ori acid ascorbic.

4. Stabilitatea extractelor hidro-etanoloce cu conţinut înalt de etanol poate fi asigurată prin aplicarea tocoferolului.

5. Complexul antioxidant obţinut prin extragere etanolică din biomasa de nostoc are capacitatea de a proteja uleiurile vegetale (în special de in şi porumb) de oxidarea agresivă, indusă de condiţiile de păstrare. Implicarea componentelor antioxidante din biomasa de nostoc în procesul de protecţie oxidativă este susţinută de testele antioxidante nespecifice care au demonstrat creşterea activităţii antioxidante a uleiurilor vegetale suplimentate cu complex antioxidant din nostoc.

6. Cultura de *Nostoc linckia* se caracterizează printr-un prag înalt de sensibilitate la acţiunea xenobioticelor, de aceea modificarea statutului antioxidant al biomasei poate fi realizată prin influenţa unor compuşi cu potenţial toxic înalt.

7. Compuşii fierului cu bazele Shiff care au în componenţa ligandului hidrazidele acidului nicotinic şi izonicotinic asigură o creştere semnificativă a activităţii antioxidante a biomasei, aceasta, în mare măsură, determinată de sporirea conţinutului de ficobiliproteine, care constituie una din componentele majore ori chiar dominante a extractului hidric din biomasa de nostoc.

8. Proprietăţile noilor compuşi 1-($\Delta^{8,13}$-Biciclohomofarnesenoil)-3-amino-1,2,4-triazolul și N-($\Delta^{8,13}$-biciclohomofarnesenoil-amino)carbazolului prezintă interes pentru biotehnologia cianobacteriei *Nostoc linckia* în calitate de stimulatori al activităţii antioxidante a biomasei, mărind activitatea antioxidantă a extractului hidroetanolic de 2,11-2,73 ori faţă de martor.

9. Biomasa reziduală de *Nostoc linckia*, poate fi utilizată în calitate de matrice pentru procesul de biosinteză a nanoparticulelor de argint și ca biosorbent eficient pentru metalele grele în sisteme policomponente, ceea ce oferă soluții originale pentru realizarea tehnologiilor de remediere a mediului ambiant.

10. Tehnologia complexă de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* este bazată pe cunoașterea și aplicarea particularităților și necesităților specifice ale culturii, componentele ce asigură obținerea preparatelor antioxidante și sunt orientate spre siguranță și stabilitate, iar componentele de utilizare a biomasei reziduale în scopul bioremedierii mediului transformă această tehnologie în una durabilă și prietenoasă mediului.

Problema ştiinţifică importantă soluţionată în lucrare constă în identificarea elementelor-cheie a procesului biotehnologic de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* cu scopul producerii preparatelor cu efect antioxidant și valorificării reziduului de biomasă.

Aportul personal: În materialele care reflectă conținutul brevetelor de invenție autoarei îi revine cota parte în corespundere cu lista autorilor. Toate celelalte rezultatele obținute, analiza lor, generalizările și concluziile aparțin autoarei.

Recomandări practice

1. Se recomandă utilizarea cianobacteriei *Nostoc linckia* în calitate de sursă ieftină și sigură de substanțe cu efect antioxidant.

2. Se recomandă utilizarea biomasei reziduale de nostoc, rămasă de la extragerea antioxidanților în calitate de biosorbent eficient pentru metalele grele și ca matrice pentru sinteza nanoparticulelor de argint.

3. Se recomandă utilizarea preparatelor elaborate pentru prevenirea râncezirii uleiurilor vegetale prețioase.

Sugestii privind cercetări de perspectivă

1. Este oportun de a realiza testarea *in vivo* a acțiunii preparatelor antioxidante și antiradicalice elaborate.

2. Este indicată elaborarea preparatelor în baza polizaharidelor sulfatate din biomasa de *Nostoc linckia*

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. In: LWT- Food Sc. and Tec., 1995, v. 28, p. 25-30.
2. Carocho M. et al. A Review on Anti- oxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. In: Food and Chemical Toxicology, 2013, vol. 51, p. 15-25.
3. Cepoi L., et al. Antioxidative activity of ethanol extracts from *Spirulina platensis* and *Nostoc linckia* measured by various methods. In: Analele Universităţii din Oradea, 2009, V XVI/2, p. 43-48
4. Desai S. H., Atsumi S. Photosynthetic approaches to chemical biotechnology. In: Current Opinion in Biotechnology, 2013, vol. 24, p. 81-86
5. Gantar M. et al. Isolation, characterization and antioxidative activity of C-phycocyanin from *Limnothrix sp*. strain 37-2-1. In: Journal of Biotechnology, 2012, vol. 159, p. 21– 26
6. Gülçin I. Antioxidant properties of resveratrol: a structure-activity insight. In: Innov Food Sci Emerg Technol, 2010, vol. 11, p. 210-218.
7. Gupta V. et al. New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (blue-green algae) - prospects and challenges. In: Algal Research, 2013, vol. 2, p. 79–97.
8. Han P-P. et al. Comparative metabolomic analysis of the effects of light quality on polysaccharide production of cyanobacterium *Nostoc flagelliforme* . In: Algal Research, 2015, vol. 9, p. 143-150.
9. Hashtroudi M.S. et al. Analysis of *Anabaena vaginicola* and *Nostoc calcicola* from Northern Iran, as rich sources of major carotenoids. In: Food Chemistry, 2013, vol. 136 (3–4), p. 1148-1153
10. Ji L. L., Cui G. Y, Zhao X. X. Antioxidant activities of phycobiliproteins isolated from wild *Nostoc commune*. *In:* Advances in Biomedical Engineering, 2011, vol. 3-5, p. 34-43
11. Johnson E.M., Kumar K., Das D. Physicochemical parameters optimization, and purification of phycobiliproteins from the isolated *Nostoc* sp. In: Bioresource Technology. 2014, vol. 166, p. 541-554.
12. Kancheva V.D. Phenolic antioxidants – radical-scavenging and chain-breaking activity: a comparative study. In: Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2009, vol.111, p.1072–1089.
13. Li H. B. et al. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. In: Food Chemistry, 2007, vol. 102, p. 771–776.
14. Li H. et al. Antioxidant and moisture-retention activities of the polysaccharide from *Nostoc commune*. In: Carbohydrate Polymers, 2011, vol. 83, p. 1821–1827.
15. Ngo D.-H. et al. Marine food-derived functional ingredients as potential antioxidants in the food industry: An overview. In:Food Research International. 2011, vol. 44, p. 523–529.
16. Ogura R. et al. Biochemical characterization of an L-tryptophan dehydrogenase from the photoautotrophic cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. In: Enzyme and Microbial Technology. 2014, vol. 60, p. 40-46.
17. Pandey U., Pandey J. Enhanced production of biomass, pigments and antioxidant capacity of a nutritionally important cyanobacterium *Nostochopsis lobatus*. In: Bioresource Technology. 2008, vol. 99, p. 4520–4523
18. Plaza M., Cifuentes A., Ibanez E. In the search of new fuctional food ingredients from algae. In: Trends in Food Science and Technology. 2008, vol. 19, p. 31-39
19. Pokorny´ J. Are natural antioxidants better – and safer – that synthetic antioxidants? In: Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2007, vol. 109, p. 629–642.

20. Re R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. In: Free Radical Biology and Medicine. 1999, vol.10, p. 1231-1237.
21. Rudic, V. ș.a. Ficobiotehnologie – cercetări fundamentale şi realizări practice. Chişinău: Elena VI, 2007, 362 p.
22. Sadovnic D. Tehnologii de obţinere a preparatelor antioxidante şi antiradicalice din biomasa algei roșii *Porphyridium cruentum CNM-AR-01*. Teză de doctor în biologie. Chișinău, 2014, 159 p.
23. Shanab S. et al. Aqueous extracts of microalgae exhibit antioxidant and anticancer activities. In: Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2012, p. 608-615

PUBLICAȚIILE LA TEMA TEZEI:

2. Articole în diferite reviste ştiinţifice

2.1. în reviste internaţionale cotate ISI şi SCOPUS

1. Zinicovscaia I., Cepoi L., Rudi L., Chiriac T., Valuta A., Duca Gh., Kirkesali E., Frontasyeva M., Culicov O., Pavlov S., Bobrikov I. Biochemical changes in cyanobacteria during the synthesis of silver nanoparticles. In: *Canadian Journal of Microbiology*, 2015, 61(1), p.13-21 (IF:1.316).
2. Zinicovscaia I.,Cepoi L., Valuta A., Rudi L., Culicov O., Frontasyeva M., Kirkesali E., Pavlov S., Mitina T. *Nostoc linckia* as biosorbent of chromium and nickel from electroplating industry wastewaters. In: Journal of Materials Science and Engineering B. 2014, vol. 4, no. 8, p.242-247. ISSN: B 2161-6221.
3. Valuta A., Cepoi L., Rudi L., Bulhac I., Bouros P., Bologa O. Phycobiliprotein accumulation in cyanobacterium *Nostoc linckia* and modification of antioxidant activity. In: The Annals of Oradea University, Biology Fascicle. 2015, Tom XXII, Issue: 1, p. 13-19.

2.3. în reviste din Registrul Naţional al revistelor de profil, cu indicarea categoriei

Reviste de categoria B:

4. Rudi L., Cepoi L., Miscu V., Chiriac T., Valuța A., Djur S., Sadovnic D., Rudic V. Determinarea dependenței corelaționale dintre valorile testului ABTS și conținutul de carotenoizi în extractele etanolice din biomasa algei verzi *Haematococcus pluvialis*. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2013, nr.3(321), p. 146-153.
5. Valuța A. Activitatea antiradicalică a extractelor din cianobacteria *Nostoc linckia* pe durata ciclului vital. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2013, nr. 3(322), p.154-167.
6. Valuța A. Activitatea antioxidantă a extractelor etanolice din biomasa cianobacteriei *Nostoc linckia* CNMN CB-03. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2014, nr. 1(322), p. 133-139.
7. Rudi L., Cepoi L., Miscu V., Chiriac T., Valuța A., Codreanu S., Sadovnic D., Rudic V. Producerea de biomasă şi carotenoizi de către alga verde *Haematococcus pluvialis* pe durata ciclului vital sub influența metalocomplexelor Co (II) cu bazele *Schiff*. În: Buletinul AŞM, Ştiinţele vieţii. 2014, nr. 2 (323), p.163-171.

3. Articole în culegeri ştiinţifice

3.2. culegeri de lucrări ale conferinţelor internaţionale

8. Valuța A., Cepoi L., Rudi L., Bulhac I., Bouroş P., Bologa O. Impact of iron (III) Schiff base complexes on phycobiliprotein accumulation in cyanobacteruimn *Nostoc linckia*. International

Scientific Conference on Microbial Biotechnology (2nd edition), Chişinău, Moldova, October 9-10, 2014, p. 90-92. ISBN 978-9975-4432-8-9.

9. Sadovnic D., Cepoi L., Rudi L., Valuţa A., Chiriac T., Codreanu S., Miscu V., Cojocari A. Activitatea antioxidantă a preparatului etanolic în baza biomasei de *Porhyridium cruentum*. V International Conference „Actual Problems in Modern Phycology", Chişinău, Moldova, November 3-5, 2014, p. 89-94. ISBN 978-9975-71-577-5.

4. Materiale/ teze la forurile ştiinţifice

4.1. conferinţe internaţionale (peste hotare)

10. Valuta A., Sadovnic D., Rudi L.; Cepoi, L. Monitoring of antioxidant activity of *Nostoc linckia* biomass during cultivation cycle by DPPH assay. Proceedings of the VI international young scientists conference „Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution.", dedicated to 150 anniversary from the birth of Vladimir Lipskiy, may 13-17, 2013, Odesa, Ukraine, p. 311.
11. Rudi L., Cepoi L., Miscu V., Chiriac T., Ghelbet V., Sadovnic D., Valuta A., Djur S., Chelmenciuc V. Ethanol extracts of astaxanthin from biomass of *Haematoccus pluvialis* flotow CNM-AV-05. IInternational Interdisciplinary Scientific Scientific Conference „Biologically active substances and materials: Fundamental and Applied Problems", May 27-June 1, 2013, Novy Svet, AR Crimea, Ukraine, p.326.
12. Rudi L., Cepoi L., Miscu V., Chiriac T., Ghelbet V., Sadovnic D., Valuta A., Djur S., Chelmenciuc V. Antioxidant and antiradical activity of astaxanthin-oilbased preparations from *Haematococcus pluvialis*. International Interdisciplinary Scientific Scientific Conference „Biologically active substances and materials: Fundamental and Applied Problems", May 27-June 1, 2013, Novy Svet, AR Crimea, Ukraine, p.328.
13. Rudi L., Cepoi L., Miscu V., Chiriac T., Ghelbet V., Sadovnic D., Valuta A., Djur S., Chelmenciuc V. Antioxidant activity of ethanolic extracts from *Porphyridium cruentum* biomass. International Interdisciplinary Scientific Scientific Conference „Biologically active substances and materials: Fundamental and Applied Problems", May 27-June 1, 2013, Novy Svet, AR Crimea, Ukraine, p.330.
14. Sadovnic D., Valuta A., Rudi L., Cepoi L. Antioxidant acrivity of *Nostoc linckia* biomass during its cultivation cycle. Тезисы Международной научно практической конференции молодых ученных „PONTUS EUXINUS", по проблемам водных экосистем, посвященной 50 летию образования Института биологии южных морей Национальной академии наук Украины. Севастополь, 2013, с.160-161.

4.2. conferinţe internaţionale în republică

15. Cepoi L., Rudi L., Chiriac T., Valuţa A., Zinicovscaia I., Mitina T., Duca Gh., Kirkesali E., Frontasyeva M., Pavlov S. Microalgae as possible silver "nanofactories". 2nd International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering, Chișinău, Republic of Moldova, Aprilie 18-20, 2013, p.433-434.
16. Valuta A., Rudi L., Cepoi L., Bulhac I., Bourosh P., Bologa O., Danilescu O. The action of Fe(III) complexes with Schiff base ligands on the antioxidant and biosynthetic activity of cyanobacteria *Nostoc linckia.* International Conference dedicated to the 55-th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry of the Academy of Sciences of Moldova. Chişinău, Moldova, May 28-30, 2014, p.133. ISBN 978-9975-62-371-1.
17. Miscu V., Rudi L., Cepoi L., Codreanu S., Valuta A., Cristea-Dencicov L., Rudic V. Correlation dependencies in carotenoid accumulation troughout life cycle of green alga

Haematococcus pluvialis. International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (2nd edition), Chişinău, Moldova, October 9-10, 2014, p. 152-153. ISBN 978-9975-4432-8-9.

18. Rudi L., Cepoi L., Miscu V., Valuta A., Ghelbet V., Băţ C., Rudic V. The role of constituitive lipids in the cell antioxidant defence. International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (2nd edition), Chişinău, Moldova, October 9-10, 2014, p. 164. ISBN 978-9975-4432-8-9.
19. Zinicovscaia I., Cepoi L., Valuţa A., Rudi L., Frontasyeva M.V., Culicov O. Biosynthesis of selenium and titanium nanoparticles by cyanobactrerium *Nostoc linckia.* International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (2nd edition), Chişinău, Moldova, October 9-10, 2014, p. 198. ISBN 978-9975-4432-8-9.

4.3. conferinţe cu participare internaţională

20. Rudi L., Cepoi L., Miscu V., Chiriac T., Valuța ., Djur S., Chelmenciuc V., Rudic V. Determinarea corelării dintre activitatea antioxidantă a extractelor etanolice din biomasa *Haematococcus pluvialis* și conținutul de carotenoizi. In: Al III-lea Simpozion național cu participare internațională „Biotehnologii avansate – realizări și perspective", 24-25 octombrie 2013, Chișinău, Moldova, Teze/com. șt., p.60.
21. Valuţa A. Modificarea activității antioxidante a extractului ficobiliproteic din cianobacteria *Nostoc linckia* pe parcursul ciclului vital. Al III-lea Simpozion național cu participare internațională „Biotehnologii avansate – realizări și perspective", 24-25 octombrie 2013, Chișinău, R. Moldova, Teze/com. șt., p.61.

7. Brevete de invenţii, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenţii

7.1. Brevete de invenție

22. Brevet de invenție MD 4253 C1, MD, C07F15/06. Sulfato-bis(nicotinoilhidrazon)-2,6-diacetilpiridin-cobalt(II) monometanol trihidrat şi procedeu de cultivare a microalgei *Porphyridium cruentum* cu utilizarea acestuia / Rudic V., Danilescu O., Bulhac I., Cepoi L., Rudi L., Bologa O., Rija A., Miscu V., Chiriac T., Valuţa A. (MD). Cererea depusă 11.05.2012, BOPI nr.10/2013.
23. Brevet de invenție MD 4326 B1, MD, C07D 209/86. Compusul N-(D ^{8,13} -biciclohomofarnesenoilamino)carbazol şi procedeu de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* cu utilizarea acestuia / Cucicova C., Rudic V., Arîcu A., Cepoi L., Rudi L., Secara E., Valuţa A., Barbă A., Miscu V., Vlad P., Chiriac T.(MD). Cererea depusă 22.10.2013,
24. Brevet de invenție MD 4327 B1, MD, C07D 249/14. Compusul 1-(D ^{8,13} -biciclohomofarnesenoil)-3-amino-1,2,4-triazol şi procedeu de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* cu utilizarea acestuia / Cucicova C., Rudic V., Arîcu A., Cepoi L., Rudi L., Secara E., Valuţa A., Barbă A., Miscu V., Vlad P., Chiriac T. (MD). Cererea depusă 22.10.2013.

ADNOTARE

Valuța Ana „Biotehnologia cultivării sursei de antioxidanți – cianobacteria *Nostoc linckia”*. Teză de doctor în științe biologice, Chișinău, 2015.

Teza conține introducere, patru capitole, concluzii și recomandări, bibliografie cu 292 titluri, 3 anexe, 131 pag text de bază, 49 figuri, 10 tabele. Rezultatele sunt publicate în 24 lucrări.

Cuvintele cheie: Tehnologie de cultivare, cianobacterii, *Nostoc linckia*, extracte hidrice și etanolice, preparate antioxidante, biosorbent, bionanosinteză.

Domeniul de studiu: 167.01 - Biotehnologie, bionanotehnologie.

Scopul lucrării: elaborarea tehnologiei complexe nonpoluante de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* și de obținere a preparatelor cu efect antioxidant.

Obiectivele lucrării: Monitorizarea modificărilor biochimice și a activității antioxidante a biomasei și extractelor din ea pe durata dezvoltării culturii statice de *Nostoc linckia*; Evidențierea indicatorilor biotehnologici cu tangență la ciclul vital, utili pentru obținerea preparatelor antioxidante din biomasa de *N. linckia*; Stabilirea parametrilor biotehnologici optimi de extragere și păstrare pe termen lung a componentelor cu efect antioxidant din biomasa de *N.linckia*; Elucidarea particularităților modificării conținutului componentelor antioxidante în biomasa cianobacteriei *N. linckia* în condiții de stres oxidativ indus prin acțiunea compușilor Fe(III); Studiul posibilității valorificării reziduului de biomasă de *N. linckia* după extragerea componentelor antioxidante; Elaborarea tehnologiei complexe de cultivare a *N. linckia*, de obținere a preparatelor cu efect antioxidant și de utilizare a rezuduului de biomasă în calitate de matrice pentru bionanosinteză și în calitate de biosorbent în purificarea mediului.

Noutatea și originalitatea ştiinţifică. Pentru prima dată este pusă problema elaborării unei tehnologii complexe de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* ca sursă pentru obținerea preparatelor cu efect antioxidant. Pentru prima dată a fost demonstrată eficiența biomasei reziduale de nostoc în calitate de matrice pentru sinteza nanoparticulelor de argint. Pentru prima dată a fost elaborată o tehnologie de cultivare a *Nostoc linckia*, care include etapa de valorificare a reziduului de biomasă după extragerea antioxidanților în calitate de biosorbent eficient pentru metalele grele.

Problema ştiinţifică importantă soluţionată în lucrare constă în identificarea elementelor-cheie a procesului biotehnologic de cultivare a cianobacteriei *Nostoc linckia* cu scopul producerii preparatelor cu efect antioxidant și valorificării reziduului de biomasă.

Semnificaţia teoretică. Au fost acumulate și expuse rezultate noi despre importanța monitorizării modificărilor biochimice și a statutului antioxidant ale biomasei de *Nostoc linckia* pe durata ciclului culturii statice. A fost evidențiat pragul înalt de sensibilitate a culturii de *Nostoc linckia* față de compușii chimici cu metale în ceea ce privește modificarea statutului antioxidant al biomasei. A fost demonstrată eficiența biomasei de nostoc în calitate de matrice pentru bionanosinteză și în calitate de biosorbent în sistemele multimetalice poluate.

Valoarea aplicativă a lucrării. În cadrul acestei lucrări au fost elaborate părțile componente ale unei tehnologii complexe de cultivare a *Nostoc linckia* și utilizare eficientă a biomasei obținute, care pot fi aplicate atât într-un ansamblu, cât și în calitate de unități autonome: procedee de obținere a biomasei de nostoc cu activitate antioxidantă înaltă; procedee de extragere eficientă a componentelor cu efect antioxidant din biomasa de nostoc; procedee de obținere a biomasei de nostoc cu nanoparticule de Ag; procedee de utilizare a reziduului de biomasă de nostoc după obținerea preparatelor antioxidante în calitate de biosorbent eficient.

Implementarea rezultatelor ştiinţifice. Tehnologia de obținere a preparatului antioxidant NostocAntiOX a fost implementată la SRL „Ficotehfarm” (Act Nr.03/11 din 20.11.2014).

АННОТАЦИЯ

Валуца Анна “Биотехнология культивирования источника антиоксидантов – цианобактерии *Nostoc linckia*". Диссертация канд. биологических наук, Кишинев, 2015 .

Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и рекомендаций, библиографического списка из 292 наименований, 3 приложения, 131 страниц основного текста, 49 рисунков, 10 таблиц. Результаты исследований опубликованы в 24 работах.

Ключевые слова: технология культивирования, цианобактерии, *Nostoc linckia*, водные и спиртовые экстракты, антиоксидантные препараты, биосорбент, бионаносинтез.

Область исследования: 167.01 – Биотехнология, бионанотехнология.

Цель: Разработка комплексной экологически чистой технологии выращивания цианобактерии *Nostoc linckia*, получения препаратов, обладающих антиоксидантным эффектом и переработки отходов биомассы.

Задачи работы: мониторинг биохимического состава и изменений антиоксидантной активности экстрактов биомассы на протяжении цикла развития статической культуры *Nostoc linckia*; выявление битехнологических показателей, имеющих отношение к жизненному циклу, важных для получения антиоксидантных препаратов из биомассы *Nostoc linckia;* оценка изменения содержания антиоксидантных веществ в биомассе цианобактерии в условиях окислительного стресса, вызванного координационными соединениями Fe(III); изучение возможности использования отходов биомассы после экстракции антиоксидантов; разработка комплексной биотехнологии культивирования *Nostoc linckia* и получения антиоксидантных препаратов, а также использования отходов биомассы в качестве матрицы для биосинтеза наночастиц серебра и в качестве эффективного биосорбента металлов для очистки окружающей среды.

Научная новизна и оригинальность. Впервые поставлена задача разработки технологии культивирования цианобактерии *Nostoc linckia* в качестве сырья для получения комплексных антиоксидантных препаратов. Впервые была доказана возможность использования отходов биомассы ностока в качестве матрицы для бионаносинтеза. Впервые была разработана технология культивирования ностока, которая включает также и этап использования отходов биомассы в качестве эффективного биосорбента.

Важная научная задача, решенная в данной работе, состоит в том, что были выявлены основные составляющие биотехнологического процесса культивирования цианобактерии *Nostoc linckia* в целях получения антиоксидантных препаратов и переработки отходов биомассы.

Теоретическое значение. Были накоплены новые данные о значении мониторинга биохимических изменений и изменений антиоксидантного статуса биомассы *ностока* на протяжении жизненного цикла. Был выявлен высокий порог чувствительности культуры *Nostoc linckia* по отношению к химическим соединениям, содержащим металлы. Была доказана эффективность использования отходов биомассы ностока в качестве сорбента.

Практическое значение. Были разработаны способы получения биомассы ностока с высокой антиоксидантной активностью; способы экстракции антиоксидантов из биомассы ностока; способы получения биомассы ностока с наночастицами серебра и с высокой антиоксидантной активностью; способы использования остатка биомассы в качестве биосорбента и матрицы для биосинтеза наночастиц серебра.

Внедрение результатов. Технология получения антиоксидантного препарата NostocAntiOX была внедрена на ООО "Ficotehfarm " (Акт о внедрении № 01-10 от 20.10.2013).

ANNOTATION

Valuta Ana „**Biotechnology for cultivation of the source of antioxidants – cyanobacterium *Nostoc linckia*"** PhD thesis in biological sciences, Chisinau, 2015

The thesis consists of an introduction, four chapters, conclusions and recommendations, bibliography list with 292 references. It comprises 131 pages of the main text, 49 figures, 10 tables and 3 annexes. The results were published in 24 scientific papers.

Keywords: Technology of cultivation, cyanobacteria, *Nostoc linckia*, aqueous and ethanolic extracts, antioxidant preparation, biosorbent, and bionanosynthesis.

Field of study: 167.01 – Biotechnology, Bionanotechnology.

Aim: to develop cultivation technologies of cyanobacteria *Nostoc linckia*, obtaining the antioxidant preparations and valorization of the biomass residue.

Objectives: Monitoring the biochemical changes and antioxidant activity of biomass and extracts during static culture of *Nostoc linckia* development; Highlighting the biotechnology indicators with tangency to vital cycle, useful for antioxidant preparations obtaining from biomass of *Nostoc linckia*; Determining the optimal biotechnological parameters for extraction and long term storage of antioxidant components from *Nostoc* biomass; Elucidation of the peculiarities for modification of antioxidant content in the biomass of cyanobacteria *Nostoc linckia* under oxidative stress induced by Fe(III) compounds; Study the possibility of recovery of biomass residue after extraction of *Nostoc linckia* antioxidant components; Development of complex technology of *Nostoc linckia* cultivation, antioxidant preparations obtaining; use of biomass residue as an effective biosorbent in the environmental purification technologies and for silver nanoparticles biosynthesis.

Scientific novelty of research. For the first time the problem of developing the cultivation technology of cyanobacteria *Nostoc linckia* as a source for obtaining the antioxidant complex preparations was stated.

Important scientific problem, solved in this research work, is to identify the key-elements of the biotechnology process of *Nostoc linckia* cultivation in order to use biomass for production of antioxidant preparations.

Theoretical signification. There were collected and exposed new results about the importance of monitoring the changes in biochemical and antioxidant status of *Nostoc linckia* biomass during static culture cycle. It was revealed high sensitivity threshold of the culture of *Nostoc linckia* to chemical compounds with metals in terms of modifying the antioxidant status of biomass. It was demonstrated effectiveness of *Nostoc* biomass as biosorbent in polluted multimetallic systems and as matrix for bionanosynthesis.

Practical value. In this paper were making the parts of complex technology of *Nostoc linckia* cultivation and efficient use of biomass, which can be applied as a whole and as autonomous units: procedures for *Nostoc* biomass with high antioxidant activity; efficient extraction procedures of antioxidant components from *Nostoc* biomass; procedures for obtaining the biomass with silver nanoparticles; procedures for the use of biomass residue after obtaining the antioxidant preparations as effective biosorbent.

Implementation of scientific results. Technology of obtaining the antioxidant preparation AON was implemented at LTD "Ficotehfarm" (Implementation Act Nr. 03/11 from 20.11.2014).

VALUȚA ANA

BIOTEHNOLOGIA CULTIVĂRII SURSEI DE ANTIOXIDANȚI – CIANOBACTERIEA *NOSTOC LINCKIA*

167.01 - BIOTEHNOLOGIE, BIONANOTEHNOLOGIE

Autoreferatul tezei de doctor în științe biologice

Aprobat spre tipar:	Formatul hârtiei 60x84 1/16
Hârtie ofset. Tipar ofset.	Tirajul 100 ex.
Coli de tipar: 1,0	Comanda nr.1216

Tipografia „Biotehdesign,, MD 20…, Chişinău, str. Puschin, 8