

MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII
INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE

Cu titlu de manuscris

CZU: 573.6+602.3 : 582.232.2+579.222.4

DJUR SVETLANA

**BIOTEHNOLOGII DE OBȚINERE A PREPARATELOR CU
CONȚINUT SPORIT DE SELENIU ȘI GERMANIU ÎN BAZA
BIOMASEI DE SPIRULINĂ**

167.01. BIOTEHNOLOGIE, BIONANOTEHNOLOGIE

Rezumatul tezei de doctor în științe biologice

CHIȘINĂU, 2021

Teza de doctor a fost elaborată în cadrul Laboratorului Ficobiotehnologie al Institutului de Microbiologie și Biotehnologie, Laboratorului Ficobiotehnologie al Universității de Stat din Moldova.

Conducător științific:

RUDIC Valeriu

dr. hab. șt. biol., prof. univ., acad., Om Emerit al Republicii Moldova

Referenți oficiali:

BURȚEVA Svetlana

dr. hab. șt. biol., prof. cercet., Institutul de Microbiologie și Biotehnologie

CHIRSANOVA Aurica

dr. șt. biol., conf. univ., Universitatea Tehnică a Moldovei

Componenta Consiliului Științific Specializat:

Președinte

STURZA Rodica

dr. hab. șt. tehn., prof. univ., Universitatea Tehnică a Moldovei

Secretar științific

CHISELIȚA Natalia

dr. șt., biol., Institutul de Microbiologie și Biotehnologie

Membrii

VOLOȘCIUC Leonid

dr. hab. șt. biol., prof. cercet., Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor

DIUG Eugen

dr. hab. șt. farm., prof. univ., Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

LEȘANU Mihai

dr. șt. biol., conf. univ., Universitatea de Stat din Moldova

ZOSIM Liliana

dr. șt. biol., conf. cercet., Universitatea de Stat din Moldova

Susținerea va avea loc la „29” ie ulie 2021, orele 14⁰⁰ în ședința Consiliului Științific Specializat **D.167.01-21-15** din cadrul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie, (MD 2028, or. Chișinău, str. Academiei 1, Sala „Mircea Ciuhrii” et. 2, biroul 253).

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la Biblioteca Științifică Centrală (Institut) Andrei Lupan (MD 2028, or. Chișinău, str. Academiei 5A), Biblioteca Centrală a Universității de Stat din Moldova (MD 2009, mun. Chișinău, str. Alexei Mateevici 60) și pe pagina web a ANACEC (www.cnaa.md).

Rezumatul a fost expediat la „23” ie iunie 2021.

Secretar științific

al Consiliului Științific Specializat:

dr. șt., biol.

CHISELIȚA Natalia

Conducător științific:

dr. hab. șt. biol., prof. univ., acad.,
Om Emerit al Republicii Moldova

RUDIC Valeriu

Autor:

DJUR Svetlana

© Djur Svetlana, 2021

CUPRINS

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII.....	4
CONȚINUTUL TEZEI.....	7
1. SELENIUL, GERMANIUL ȘI SPIRULINA - COMPONENTE DE VALOARE ALE PREPARATELOR ȘI SUPLIMENTELOR ALIMENTARE.....	7
2. OBIECTUL DE STUDIU ȘI METODELE DE CERCETARE.....	7
2.1 Obiectul de studiu.....	7
2.2 Compuși ai seleniului și germaniului.....	8
2.3 Metodele de cercetare.....	8
3. ELABORAREA BIOTEHNOLOGIEI DE OBȚINERE A PREPARATELOR CU CONȚINUT SPORIT DE SELENIU ÎN BAZA BIOMASEI DE SPIRULINĂ.....	8
3.1 Efectul unor compuși anorganici ai Se (IV) asupra producerii de biomasă, acumulării seleniului și compoziției biochimice a tulpinii cianobacteriei <i>Arthrospira platensis</i> CNMN-CB-11 (spirulina).....	8
3.2 Procedee de obținere a biomasei de spirulină cu conținut sporit de seleniu bioorganic..	10
3.3 Tehnologia integrată de obținere a preparatelor cu conținut sporit de seleniu în baza biomasei de spirulina.....	12
3.4 Concluzii la capitolul 3.....	15
4. ELABORAREA BIOTEHNOLOGIEI DE OBȚINERE A PREPARATELOR CU CONȚINUT SPORIT DE GERMANIU ÎN BAZA BIOMASEI DE SPIRULINĂ.....	16
4.1 Cantitatea de biomasă, nivelurile de acumulare a germaniului și compoziția biochimică a tulpinii cianobacteriei <i>Arthrospira platensis</i> CNMN-CB-11 (spirulina) la cultivare în prezența unor compuși anorganici și organici ai Ge (IV).....	16
4.2 Procedeu de obținere a biomasei de spirulină cu conținut sporit de germaniu.....	17
4.3 Tehnologia integrată de obținere în baza biomasei de spirulină a preparatelor cu conținut sporit de germaniu (sau germaniu și seleniu).....	19
4.4 Concluzii la capitolul 4.....	24
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI.....	25
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	26
LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI.....	29
ADNOTĂRI (română, rusă, engleză).....	32

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța problemei abordate. În ultimele decenii a crescut interesul către cultivarea în proporții industriale a cianobacteriilor și microalgelor în calitate de surse de compuși biologic activi cu valoare funcțională înaltă astfel ca aminoacizii, oligopeptidele, proteinele, lipidele, polizaharidele, pigmentii, enzimele antioxidante ș. a. Biomasa cianobacteriană și microalgă este o componentă prețioasă a diverselor produse (suplimente alimentare și preparate farmaceutice), iar îmbogățirea acesteia cu microelemente esențiale (fier, zinc, cupru, crom ș. a.) în formă biodisponibilă lărgeste considerabil posibilitățile utilizării ei în continuare în nutriție și în diverse domenii ale medicinei contemporane, care pune tot mai mult accentul pe prevenirea disfuncțiilor metabolice - cauză a patogenezei multor afecțiuni ale sistemelor cardiovascular și endocrin, nervos și hematopoietic [6, 13, 28]. Este evidentă necesitatea substituirii aditivilor și suplimentelor chimice de sinteză prin produse naturale, obținute în condiții ecologice monitorizate. Cianobacteriile și microalgele, datorită capacității de acumulare și biotransformare a bioelementelor, inclusiv a seleniului și germaniului, reprezintă materiile prime oportune pentru a fi valorificate în acest scop.

Din diversitatea de specii cianobacteriene și microalgale se remarcă specia *Arthrospira platensis* (spirulina) și diverse tulpini ale ei. Spirulina este cunoscută, în primul rând, pentru consumul în calitate de aliment/supliment. În prezent spirulina este valorificată și investigată în calitate de matrice pentru producerea pe scară largă a diferitor substanțe biologic active cu efecte benefice asupra sănătății. Spirulina posedă inclusiv, mecanisme de acumulare a elementelor în special a celor cu rol de bioelemente. La acest proces participă componentele sale structurale transformând elementele din forma lor anorganică în cea organică, care poate fi inclusă, datorită toxicității foarte scăzute și a biodisponibilității lor înalte în compoziția diverselor preparate și produse specializate [6, 12, 19-20, 28-29].

Obiect preferențial al ficobiotehnologiilor industriale moderne în majoritatea țărilor de pe glob, spirulina prezintă o serie de avantaje printre care: lipsa toxinelor, demonstrată prin testul ELISA, compoziția biochimică complexă reprezentată de cei circa 50 compuși biologic activi ai săi, inclusiv vitamine și microelemente și un metabolism foarte labil al acestora, precum și rezistența înaltă la diverși factori stresogeni ai mediului datorită mecanismelor de adaptare dezvoltate evolutiv. Durata ciclului de creștere foarte mică de 6-10 zile, permite obținerea în condiții industriale într-un termen foarte scurt a biomasei și compușilor biologic activi, iar proiectarea și construcția de cultivatoare cu includerea unor parametri de cultivare necesită costuri relativ mici [8]. În Republica Moldova spirulina este cultivată la întreprinderea ficologică FICOTEHFARM SRL cu sediul în mun. Chișinău și întreprinderea GIDROFIT cu sediul în

raionul Slobozia. Aceste întreprinderi propun spre consum atât biomasa de spirulină, cât și unele produse biologic active în baza ei.

Pentru ca biomasa în calitate de materie primă și produsele care, în special conțin bioelementele ca parte componentă distinctă a lor să fie competitive și funcționale, cercetările asupra spirulinei trebuie să precute și să ofere soluții referitor la compoziția optimală a mediului nutritiv; stabilirea parametrilor optimali de cultivare (pH-ul mediului, iluminarea și temperatura); căile de modificare a proceselor biosintetice în scopul acumulării compușilor biologic activi și a bioelementelor ca componente efective. Este important să se stabilească condițiile și să se elaboreze modele de evitare a stresului oxidativ indus de condițiile tehnologice. Tehnologiile intensive de cultivare a spirulinei în scopul încorporării unor bioelemente nespecifice condițiilor de cultivare presupun activarea și intensificarea activității biosintetice a cianobacteriei cu formarea și acumularea radicalilor liberi care pot compromite biomasa rezultată în calitate de materie primă pentru elaborarea produselor finale scontate. Este importantă selectarea și argumentarea tehnicilor și metodelor de verificare a calității biomasei rezultate în scopul evitării excesului de radicali sau remodelarea unor etape tehnologice în vederea obținerii unui profit din stresul oxidativ produs. Tehnicile de procesare și purificare trebuie să utilizeze solvenți nontoxici pentru a reduce costurile de producție, dar și pentru a asigura inofensivitatea preparatelor policomponente create în baza biomasei de spirulină.

Seleniul este unul dintre microelementele, deficitul cărora este cel mai frecvent determinat în populația planetei. Seleniul pătrunde în organismul uman din sol prin produsele de origine vegetală și animală, astfel încât nivelul de asigurare cu acest microelement depinde de condițiile geochimice ale habitatului [16]. Seleniul este absolut necesar pentru dezvoltarea normală a oricărui organism viu [5, 11, 14, 17]. Acest microelement activează procesele de respirație tisulară, reglează reacțiile de oxido-reducere, influențează activitatea imună, metabolismul proteic, în particular metabolismul aminoacizilor ce conțin sulf, este parte componentă a majorității hormonilor și enzimelor. Rolul seleniului în organism este determinat, în principal, de includerea lui în componența glutathionperoxidazei, enzimă antioxidantă din clasa peroxidazelor [24].

Germaniul este nu mai puțin important pentru organismul uman. Germaniul participă în procesul de transport al oxigenului în țesuturi prevenind astfel, starea de hipoxie în acestea. Germaniul blochează radicalii liberi în organism și intervine pozitiv în sistemul imunitar al organismului prin activarea macrofagelor și limfocitelor T. De asemenea, acest oligoelement posedă proprietăți antifungice, antivirale, antibacteriene și previne apariția metastazelor [9, 18, 21-23, 25].

Astfel, spirulina întrunește toate criteriile, atât cele de calitate, cât și cele tehnologice pentru a obține din biomasa sa produse (preparate și suplimente) ce conțin în cantități sporite aceste două oligoelemente importante pentru organismul uman și animal, biotransformate de către compușii săi biologic activi în procesul de cultivare a ei în condiții dirijate.

Scopul lucrării: Elaborarea unor biotehnologii de obținere a preparatelor cu conținut sporit de seleniu și germaniu în baza biomasei tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 (spirulina).

Obiectivele cercetării:

1. Stabilirea efectului unor compuși anorganici ai Se (IV), anorganici și organici ai Ge (IV) asupra capacității de producere a biomasei și de acumulare a seleniului și germaniului de către tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11;
2. Evaluarea modificărilor produse în conținutul unor componente biologic active majore (proteine, ficobiliproteine, glucide, lipide) din compoziția biomasei pe fonul seleniului și germaniului acumulat de către tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11;
3. Elaborarea procedeeleor de cultivare a tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 în condițiile care asigură obținerea unei biomase cu conținut sporit de seleniu și germaniu biotransformate;
4. Elaborarea schemelor tehnologice de obținere în cadrul unui singur flux a produselor (preparatelor și suplimentelor) ce conțin seleniul și/sau germaniul ca parte componentă efectivă.

Ipoteza de cercetare:

Capacitatea tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 (spirulina) de a acumula în condiții controlate și a biotransforma prin compușii săi biologic activi seleniul și germaniul, precum și procedeele inofensive de extragere succesivă a lor în cadrul unui singur ciclu tehnologic, asigură obținerea unor produse (preparate și suplimente) ce conțin ca parte componentă distinctă aceste două oligoelemente cu proprietăți biologice importante.

Sinteza metodologiei de cercetare și justificarea metodelor de cercetare alese:

Setul de metode selectate în cercetare este cel aplicat în ficobiotehnologia modernă și a inclus un șir de tehnici și procedee analitice adaptate la obiectul de studiu. Aceste metode se referă la determinarea conținutului de biomasă produsă de către tulpina utilizată în studiu, precum și la determinarea cantității acumulate de seleniu și germaniu, dar și a principalilor indicatori de calitate (proteinele, ficobiliproteinele, glucidele, lipidele) în această biomasă. Pentru a monitoriza siguranța biomasei de spirulină și a preparatelor cu conținut sporit de seleniu și germaniu au fost utilizate două teste: testul de reducere a radicalului cation ABTS și testul dialdehidei malonice (DAM). Pentru stabilirea veridicității și autenticității datelor experimentale

obținute a fost aplicat instrumentarul standard de analiză statistică (din componența Microsoft Excel 2010).

CONȚINUTUL TEZEI

1. SELENIUL, GERMANIUL ȘI SPIRULINA - COMPONENTE DE VALOARE ALE PREPARATELOR ȘI SUPLIMENTELOR ALIMENTARE

Capitolul include o analiză a datelor existente la momentul actual în literatura de specialitate cu privire la importanța seleniului și a germaniului pentru organismul uman, asupra diferitor preparate ce conțin aceste oligoelemente, precum și asupra formei lor din aceste preparate. Este elucidat metabolismul seleniului și germaniului în organism, precum și importanța acestor elemente pentru sănătate.

Actualitatea și necesitatea obținerii de noi preparate polifuncționale care conțin seleniu și germaniu în baza cianobacteriei *Arthrospira platensis* (spirulina) a fost argumentată în rezultatul unei analize, la nivel mondial, a pieței moderne a preparatelor și suplimentelor alimentare ce conțin seleniul sau germaniul. Este prezentată valoarea cianobacteriei *Arthrospira platensis* ca obiect biotehnologic, datorită utilizării sale cu succes în calitate de materie primă pentru fabricarea produselor farmaceutice și alimentare.

Arthrospira platensis rămâne în continuare o sursă promițătoare de compuși biologic activi și poate fi considerată un biotransformator eficient al oligoelementelor din formele anorganice în cele organice și poate fi utilizată în calitate de sursă de noi agenți imunomodulatori, hepatoprotectori, antitumorali. Sinteza literaturii prezentată în acest capitol oferă un suport teoretic important pentru cercetările reflectate în capitolele experimentale.

2. OBIECTUL DE STUDIU ȘI METODELE DE CERCETARE

2.1. Obiectul de studiu

În calitate de obiect de studiu a fost selectată tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 (spirulina) care este adaptată condițiilor tehnologice industriale de cultivare [3]. Tulpina este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene și în Colecția de cianobacterii și microalge a laboratorului Ficobiotehnologie, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie. Pentru cultivarea spirulinei s-a utilizat mediul nutritiv modificat Zarrouk (variante de compoziție).

2.2. Compuși ai seleniului și germaniului

În calitate de surse de seleniu au fost selectați unii compuși anorganici ai Se (IV): Na_2SeO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SeO}_3$, $\text{Fe}_2\text{Se}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ZnSeO_3 , GeSe_2 și CoSeO_3 . Compuși anorganici Na_2SeO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SeO}_3$ și $\text{Fe}_2\text{Se}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ au fost adăugați la mediul de cultivare în concentrațiile: 10, 20, 30, 40 și 50 mg/l. Pentru compușii ZnSeO_3 și GeSe_2 au fost selectate concentrațiile: 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg/l. CoSeO_3 a fost adăugat în patru concentrații: 5, 10, 15, 20 mg/l, concentrațiile lui de peste 20 mg/l, conform unui screening preliminar fiind letale pentru tulpina dată de spirulină. În calitate de surse de germaniu au fost utilizați compușii anorganici (GeO_2 și GeSe_2), precum și organici ai Ge (IV) ($(\text{Mes}_2\text{GeCl}_2 - (\text{FM-1}), \text{MesGe}(\text{OMe})_2 - (\text{FM-2}), \text{ArP} = \text{C}(\text{Cl})\text{Ge}(\text{F})(\text{Tip})\text{t-Bu} - (\text{FM-3}), \text{ArP} = \text{C}(\text{Te})\text{Ge}(\text{Tip})\text{t-Bu} - (\text{FM-8}), \text{ArP} = \text{C}(\text{SeSe})\text{Ge}(\text{Tip})\text{t-Bu} - (\text{FM-9}), \text{ArP} = \text{C}(\text{PhCH} = \text{CHCHO})\text{Ge}(\text{Tip})\text{t-Bu} - (\text{FM-10})$ și $\text{Mes}_2\text{Ge}(\text{F})\text{-PHMes} - (\text{FM-11}))$), sintetizați în laboratorul de Heterochimie Fundamentală și Aplicată a Universității P. Sabatier, Toulouse, Franța. Compușii organici ai germaniului conțin componentul organic fenil (Mes - 2, 4, 6 - trimetilfenil; Ar - 2, 4, 6 - tributilfenil; Tip - 2, 4, 6 - izopropilfenil), radical foarte activ. Compușii Ge (IV) au fost aplicați în concentrațiile: 10, 20 și 30 mg/l.

2.3. Metodele de cercetare

Au fost utilizate metode și tehnici uzuale adaptate pentru aplicare în investigațiile ficobiotehnologice, în special pentru biomasa de spirulină. Procedurile de determinare a conținutului de biomasă de spirulină, de determinare a cantității de seleniu și germaniu, de evaluare a unor compuși biologic activi în biomasă (proteine, ficobiliproteine, glucide și lipide) au inclus suplimentar tehnici și protocoale aferente care au permis aprecierea siguranței biomasei de spirulină (nivelul activității antioxidante (AA) și nivelul de acumulare a produselor degradării oxidative a lipidelor), obținută la cultivare în prezența compușilor seleniului și germaniului. Setul de formule de prelucrare statistică (Microsoft Excel 2010) a asigurat analiza veridicității rezultatelor obținute.

3. ELABORAREA BIOTEHNOLOGIEI DE OBȚINERE A PREPARATELOR CU CONȚINUT SPORIT DE SELENIU ÎN BAZA BIOMASEI DE SPIRULINĂ

3.1. Efectul unor compuși anorganici ai Se (IV) asupra producerii de biomasă, acumulării seleniului și compoziției biochimice a tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 (spirulina)

Compartimentul prezintă datele experimentale obținute la cultivarea tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 (spirulina) cu suplimentarea compușilor

anorganici ai Se (IV) utilizați în cercetare, iar în calitate de indicatori principali au fost monitorizați și analizați - cantitatea de biomasă și nivelul de acumulare a seleniului în aceasta. S-a stabilit, că compușii anorganici ai seleniului utilizați ca sursă de seleniu la cultivarea spirulinei se comportă diferit – efectul fiind sau stimulator; sau nu influențează creșterea spirulinei; sau este moderat toxic, ceea ce sugerează că seleniul este un element de necesitate vitală pentru această tulpină.

Cantitatea maximală de seleniu în biomasă circa 607 mg% s-a determinat la utilizarea selenitului de fier hexahidrat în concentrație de 50 mg/l și de circa 228 mg% la introducerea selenurii de germaniu în doza de 30 mg/l (Tabelul 3.1). Pentru ceilalți compuși studiați, acumularea seleniului, de asemenea, are loc, dar într-o măsură mai mică.

Tabelul 3.1. Conținutul de seleniu (mg%), determinat în biomasa de *A. platensis* CNMN-CB-11 la cultivare în prezența compușilor anorganici ai Se (IV)

Compusul	Concentrația compusului, mg/l					
	10	20	30	40	50	
	Conținutul de seleniu în biomasă, mg%					
Na_2SeO_3	14,93	18,74	22,13	23,77	24,16	
$(NH_4)_2SeO_3$	2,15	3,47	8,17	9,38	14,44	
$Fe_2Se_3O_9 \cdot 6H_2O$	118,2	206,2	279,9	443,7	606,9	
Compusul	Concentrația compusului, mg/l					
	5	10	15	20	25	30
	Conținutul de seleniu în biomasă, mg%					
$ZnSeO_3$	6,07	9,51	19,03	34,43	41,83	52,64
$CoSeO_3$	6,33	9,51	19,03	22,71	-	-
$GeSe_2$	20,36	33,4	63,26	100,63	141,3	228,27

Totodată, au fost cercetate și stabilite modificările în compoziția biochimică a biomasei de spirulină (proteine, ficobiliproteine, glucide și lipide), obținută la cultivare în prezența compușilor anorganici ai Se (IV), în funcție de natura și concentrația lor. Toți cei șase compuși ce conțin seleniu nu au afectat vădit negativ valoarea calitativă a biomasei de spirulină. Din contra, în anumite concentrații, aceștia au contribuit la stimularea sintezei a unuia sau a câtorva din principalii compuși biologic activi.

De asemenea, sunt expuse datele privind siguranța biomasei îmbogățite cu seleniu: nivelul de activitate antioxidantă și nivelul de acumulare a produselor de peroxidare a lipidelor. Activitatea antioxidantă (monitorizată în extractele hidrice) s-a modificat, fără a depinde de concentrația seleniului în mediul de cultivare și de conținutul său acumulat în biomasă. Datele testului cu acidul tiobarbituric au evidențiat lipsa creșterii nivelului dialdehidei malonice, chiar și în variantele acumulării în cantități mai mari a seleniului în biomasă (în cazul aplicării selenitului de fier hexahidrat și a selenurii de germaniu).

3.2. Procedee de obținere a biomasei de spirulină cu conținut sporit de seleniu bioorganic

În continuarea cercetării au fost montate experiențe în care tulpina de spirulină din acest studiu a fost cultivată în *condiții specifice* de acumulare a seleniului: *pe mediul nutritiv cu conținut redus de sulfați (1) și la un pH 8,0-8,5 (2). Suplimentarea în rate a compușilor selectați (3) și la diferite intervale de creștere a culturii (4)* au servit drept parametri cu care s-a manipulat în cadrul acestei serii experimentale, pentru a atinge *cote mai mari de acumulare a seleniului în biomasa de spirulină*. Rezultatele obținute sunt aduse în Tabelul 3.2. Se va menționa faptul, că în cazul acestor experiențe creșterea cantității de seleniu a fost monitorizată în raport cu nivelul de producere al biomasei, selectat în calitate de indicator de control al procesului.

Rezultatele experimentale obținute în cazul selenitului de fier hexahidrat, au scos în evidență, că suplimentarea compusului în rate: $\frac{1}{2}$ (în concentrație de 25 mg/l) în 1-a zi și $\frac{1}{2}$ (în concentrație de 25 mg/l) în a 3-a zi de cultivare a condus la concentrarea efectului exercitat de către acesta, atât asupra procesului de acumulare a seleniului, cât și asupra procesului de creștere al spirulinei, nivelul de producere al biomasei crescând chiar, cu circa 15% (în raport cu spirulina crescută în condiții standard). Conținutul seleniului în biomasa de spirulină cultivată în prezența $\text{Fe}_2\text{Se}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ administrat în condițiile date ale experienței a atins cota de 694,2 mg%.

Tabelul 3.2. Nivelul de biomasă produsă și cantitatea de seleniu acumulat în prezența selenitului de fier hexahidrat (50 mg/l) și selenurii de germaniu (30 mg/l) suplimentat în rate și la diferite perioade de cultivare a *A. platensis*

Perioada ciclului de cultivare la care a fost suplimentat compusul	Biomasa, %M	Conținutul de seleniu în biomasă, mg%
Selenitul de fier hexahidrat (50 mg/l)		
1-a zi de cultivare	113,92	606,9±7,49
3-a zi de cultivare	109,31	656,8±9,60
$\frac{1}{2}$ (1-a zi de cultivare) și $\frac{1}{2}$ (3-a zi de cultivare)	115,31	694,2±4,12
Selenura de germaniu (30 mg/l)		
1-a zi de cultivare	99,71	228,27±6,67
3-a zi de cultivare	94,60	378,50±2,70
$\frac{1}{2}$ (1-a zi de cultivare) și $\frac{1}{2}$ (3-a zi de cultivare)	99,99	243,77±6,33
Martor	100,00 (1,053±0,010 g/l)	0,161±0,05

În cazul selenurii, acumularea maximală a seleniului în biomasă de 378,50 mg% fără a modifica principal producerea de biomasă (în jurul a 94% în raport cu martorul), a fost atinsă la suplimentarea acestuia în concentrație de 30 mg/l la cultura de spirulină în a 3-a zi de cultivare.

S-a determinat repartizarea seleniului în fracțiile biologic active ale biomasei de spirulină. În acest scop, biomasa de spirulină obținută prin cultivare în prezența compușilor seleniului care au asigurat acumularea optimală a lui în condițiile specifice de proces, a fost supusă fracționării. Au fost obținute fracțiile - aminoacizi (Am.) liberi și oligopeptide, proteine, glucide și lipide. Rezultatele sunt redate de Figura 3.1.

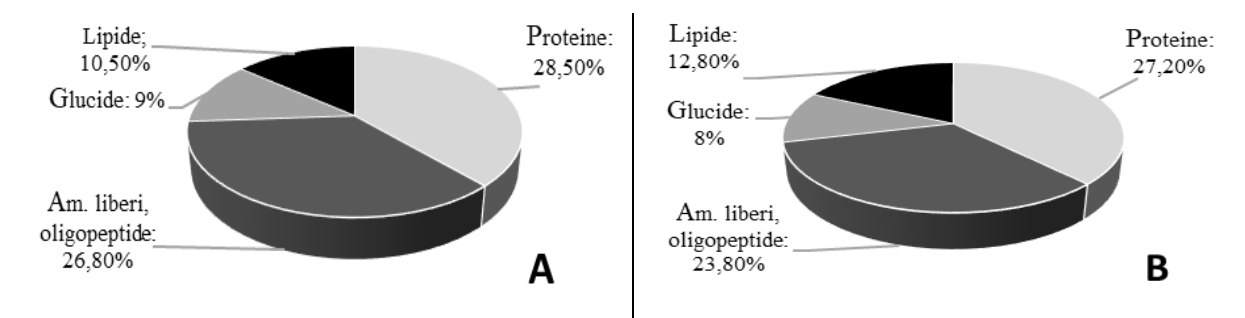


Fig. 3.1. Distribuția seleniului în diferite fracții biologic active ale biomasei de spirulină obținută (A) - în prezența $\text{Fe}_2\text{Se}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ și (B) - în prezența GeSe_2

Din conținutul total de seleniu acumulat în biomasa de spirulină crescută în prezența selenitului de fier hexahidrat, în fracțiile biologic active obținute au fost determinate 74,8%. În fracțiile biologic active din biomasa, obținută în prezența selenurii de germaniu, s-au determinat sumar 71,7% din conținutul total de seleniu.

Dintre toate fracțiile biomasei obținute, proteinele au demonstrat cea mai înaltă capacitate de a lega seleniul - 28,5% din total în cazul selenitului de fier hexahidrat și 27,2% din total la aplicarea selenurii de germaniu. În fracția biologic activă care conține aminoacizi liberi și oligopeptide, de asemenea, distribuția seleniului a fost la o cotă înaltă - 26,8% din seleniul total în cazul selenitului de fier hexahidrat și respectiv 23,8% din seleniul total în cazul selenurii de germaniu. În fracția lipidelor s-au determinat 10,5% din seleniul total acumulat la aplicarea selenitului de fier hexahidrat și 12,8% din total în cazul selenurii de germaniu.

În fracția glucidelor au fost determinate 9,0% din seleniul total acumulat la aplicarea selenitului de fier hexahidrat și 8,0% - în cazul selenurii de germaniu. Astfel, cultivarea tulpinii *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 în condițiile stabilite asigură obținerea unei biomase cu conținut sporit al seleniului organic, care se conține la niveluri înalte de circa 59-64% din totalul acumulat în fracțiile biologic active ale acesteia.

În Figura 3.2 este redată schema de realizare a 2 procedee de obținere a biomasei cu un conținut sporit de seleniu în procesul de cultivare a tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11, care se realizează conform următoarei succesiuni de proceduri.

La prima etapă de realizare a procedeelor se prepară mediul nutritiv cu o cantitate redusă de sulfat. La etapa a doua, în volumul de mediu nutritiv preparat, se inoculează tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 (spirulina). Cultura de spirulină se transferă a câte 500 ml în retorte conice din sticlă cu volumul total de 1000 ml. Introducerea compușilor seleniului se efectuează conform procedeelor. Procesul de cultivare al spirulinei durează 144 ore și se realizează cu respectarea următorilor parametri: 1) în primele 48 ore - temperatura de 28 °C și pH-ul mediului 8,0 - 8,5 și 2) în următoarele 96 ore - temperatura de 30 °C și pH-ul 8,0-8,5; intensitatea iluminării până la 37-55 μM fotoni/ m^2/s . În scopul menținerii pH-ului la valoarea 8,0-8,5 cultura de spirulină pe durata cultivării se supune barbotării cu CO_2 .

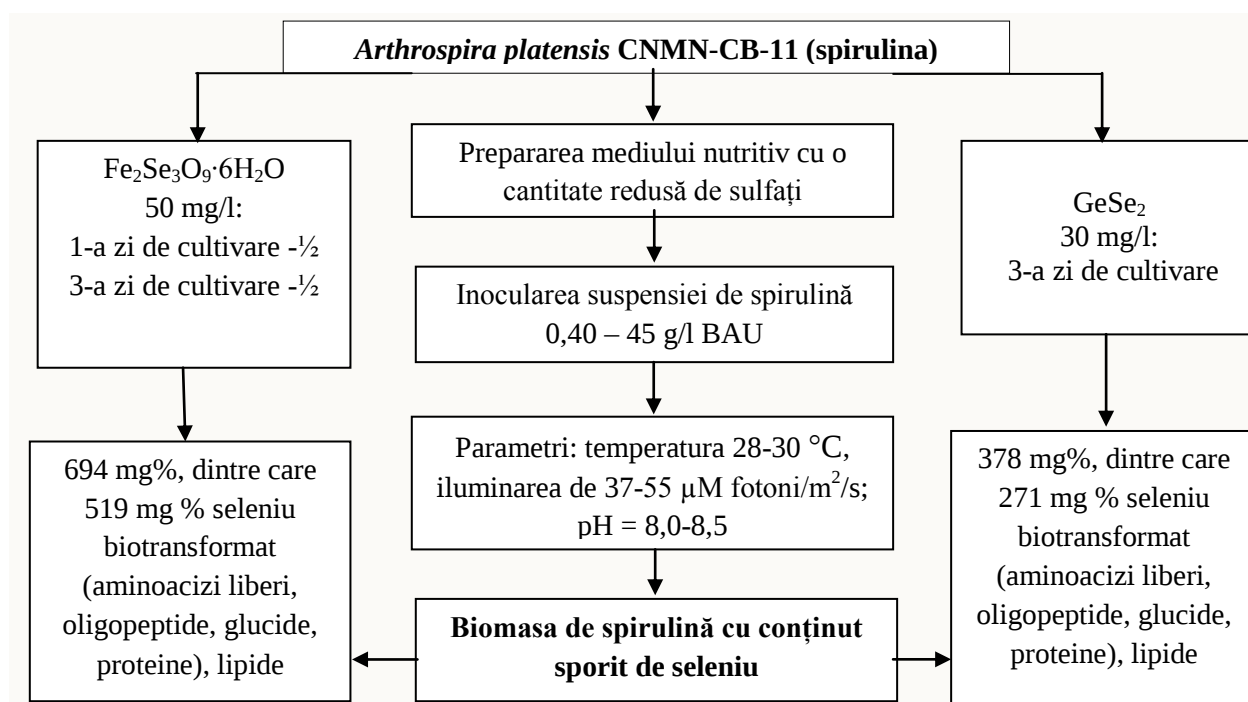


Fig. 3.2. Schema de obținere a biomasei de spirulină cu conținut sporit de seleniu [7]

La etapa finală (sfârșitul ciclului de cultivare), cultura de spirulină crescută în prezența compușilor seleniului în concentrațiile selectate se supune filtrării printr-un filtru din hârtie demineralizată și umectat în prealabil cu apă purificată. După, în vederea înlăturării surplusului de săruri de pe suprafața celulelor, biomasa se spală cu o soluție de acetat de amoniu de 1,5%, se supune uscării și se determină conținutul de seleniu.

3.3. Tehnologia integrată de obținere a preparatelor cu conținut sporit de seleniu în baza biomasei de spirulină

Utilizarea biomasei de spirulină în calitate de adaos alimentar este bine-cunoscută [19, 28]. Cantitatea de biomasă care de obicei se utilizează în calitate de supliment este relativ mică,

iar efectele manifestate ale acesteia sunt semnificative. Eficacitatea biologică înaltă a biomasei de spirulină este condiționată de prezența complexelor de substanțe esențiale și caracteristice culturii. Compușii sau fracțiunile complexe extrase din biomasa de spirulină, de asemenea, pot fi parte componentă ale diverselor preparate.

Pornind de la faptul, că selenitul de fier hexahidrat și selenura de germaniu sunt implicați în transformarea seleniului anorganic în organic, există oportunitatea obținerii în cadrul unui singur circuit tehnologic a unor produse selenorganice cu o funcționalitate și biodisponibilitate.

În primul rând, biomasa cu conținut sporit de seleniu, obținută conform celor două procedee de cultivare a spirulinei în prezența $\text{Fe}_2\text{Se}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ și GeSe_2 poate servi drept *supliment alimentar selenorganic* (Tabelul 3.3).

Tabelul 3.3. Compoziția biomasei de spirulină cu conținut sporit de seleniu

Componentele biomasei, care participă la biotransformarea seleniului (exceptând lipidele)	Biomasa cu conținut sporit de seleniu obținută prin:		Biomasa de spirulină (Martor)
	Procedeul I (selenit de fier hexahidrat 50 mg/l: ½ - 1-a zi de cultivare, ½ - a 3-a zi de cultivare)	Procedeul II selenura de germaniu 30 mg/l: a 3-a zi de cultivare)	
	„ <i>Spirulina selenorganică - 1</i> ”	„ <i>Spirulina selenorganică - 2</i> ”	
Aminoacizi liberi	3,70%	3,20%	2,0%
Oligopeptide	8,40%	7,80%	8,90%
Proteine	52,15%	50,20%	65,20%
C-Ficocianina	4,80%	3,98%	8,50%
Glucide	12,90%	11,45%	13,95%
Lipide	8,85%	6,50%	5,50%
Seleniu	0,69%	0,378%	0,00015%
AA, % inhibiție ABTS	82,0	72,0	62,0

Compoziția biomasei cu conținut sporit de seleniu acumulat nu prezintă abateri majore de la compoziția biomasei de spirulină, obținută în condiții fără adăugare de compuși ai seleniului. Același lucru se poate afirma și despre activitatea antioxidantă, determinată în extractele hidro-alcoolice de 50% obținute din această biomasă.

În baza biomasei de spirulină cu conținut sporit de seleniu au fost propuse 2 formule de compoziții ale unor produse ce pot fi utilizate în calitate de suplimente ce conțin seleniul ca parte componentă efectivă: „*Spirulina selenorganică-1*” și „*Spirulina selenorganică-2*”.

Din biomasa de spirulină cu conținut sporit de seleniu, prin procesarea acesteia au fost extrase succesiv și obținute extracte de compuși biologic activi ai spirulinei, care au asigurat un conținut maximal de seleniu biotransformat – aminoacizi liberi, oligopeptide, proteine.

În baza extractelor ce conțin aceste componente biologic active ale spirulinei au fost propuse 2 formule de compoziții de preparate ce conțin seleniu organic ca parte componentă efectivă: „*BioR-Selenium 1 și 2*” și „*Supliment Se-proteic 1 și 2*”. Prima formulă reprezintă un

complex biologic activ care conține atât aminoacizii în stare liberă și în componența oligopeptidelor. Cea de a doua compoziție reprezintă un extract proteic selenorganic.

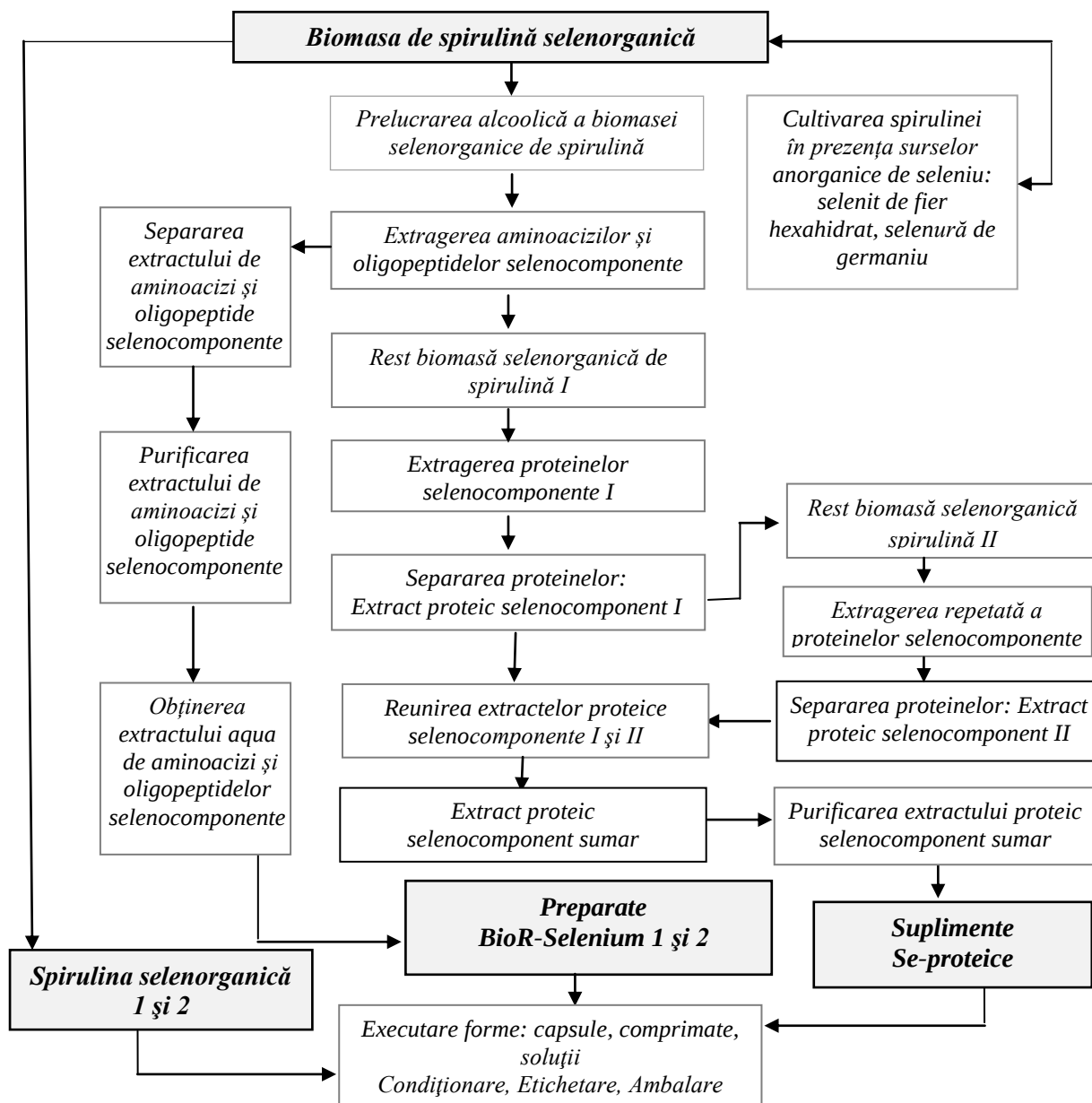


Fig. 3.3. Schema generalizată de obținere în cadrul unui circuit tehnologic a produselor (preparatelor și suplimentelor) ce conțin seleniul ca parte componentă efectivă

În baza rezultatelor obținute au fost dezvoltate două tehnologii de obținere a preparatelor cu conținut sporit de seleniu (Figura 3.3). Aceste tehnologii asigură obținerea în cadrul unui singur flux de fabricare, a 6 compoziții de produse seleniucomponente (*Spirulina selenorganică* - 1 și 2, *BioR+Selenium* - 1 și 2 și 2 suplimente *Se-proteice*).

Tehnologiile sunt reproductibile, valorifică materii prime și materiale non toxice prietenoase mediului și prezintă oportunități de producere în condiții controlate. Nivelul de

activitate antioxidantă al preparatelor fabricate a demonstrat inofensivitatea lor, ceea ce confirmă că compoziția lor nu se modifică peste limitele prescripției, iar fabricarea lor în serie este justificată din punct de vedere tehnologic, fizico-chimic și calitativ.

Tehnologia de producere elaborată pentru produsele: *Spirulina selenorganică-1*, *BioR-Selenium 1* și *Supliment Se-proteic 1* a fost testată în condiții de producere în serie la uzina „FICOTEHFARM” SRL, or. Chișinău, R. Moldova (Act de implementare 01-11/2017 din 30.11.2017).

3.4. Concluzii la capitolul 3

1. Compușii anorganici ai Se (IV) modifică nivelul de producere a biomasei de către tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 (spirulina) în dependență de concentrația lor aplicată la cultivare. Selenitul de sodiu, selenitul de amoniu, selenitul de fier hexahidrat și selenura de germaniu preponderent stimulează (cu mici excepții - nu influențează) creșterea cantității de biomasă, pe când selenitul de cobalt și selenitul de zinc sunt toxici sau moderat toxici pentru cultura de spirulină [4].
2. Acumularea seleniului în biomasa de *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 este un proces doză-dependent. Nivelurile de seleniu în biomasă cresc la cultivarea ei în prezența compușilor în ordinea: $(\text{NH}_4)_2\text{SeO}_3 < \text{Na}_2\text{SeO}_3 < \text{CoSeO}_3 < \text{ZnSeO}_3 < \text{GeSe}_2 < \text{Fe}_2\text{Se}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ [4, 7].
3. Compușii anorganici ai seleniului testați în concentrațiile selectate influențează asupra activității biosintetice a tulpinii *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 prin sporirea conținutului de substanțe biologice active importante în biomasă: proteinele, ficobiliproteinele (inclusiv ficocianina), hidrații de carbon, lipidele [2].
4. Compușii testați ai seleniului nu provoacă o creștere semnificativă a conținutului produselor degradării oxidative a lipidelor în biomasa tulpinii *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 (chiar și la un conținut înalt al seleniului acumulat în biomasă) iar după datele testului cu utilizarea radicalului ABTS^{++} , efectul compușilor poate fi caracterizat ca netoxic sau moderat toxic [1].
5. O acumulare mai eficientă a seleniului în biomasa de spirulină se realizează la suplimentarea selenitului de fier hexahidrat în rate: $\frac{1}{2}$ (25 mg/l) în 1-a zi și $\frac{1}{2}$ (25 mg/l) în a 3-a zi de cultivare, precum și la adăugarea selenurii de germaniu în concentrație de 30 mg/l în a 3-a zi de cultivare. Conținutul seleniului este de circa 370 mg% și de circa 690 mg% dintre care circa 71-75% sunt repartizate în fracțiile biologice active ale biomasei (aminoacizi liberi și oligopeptide, proteine, glucide, lipide).
6. Prin schemele tehnologice elaborate se propune obținerea a 6 variante de preparate în baza biomasei de spirulină cu conținut sporit de seleniu - materie primă eficientă, în cadrul unui singur flux tehnologic: „*Spirulina selenorganică 1 și 2*”, „*BioR-Selenium 1 și 2*” și

„Supliment Se-proteic 1 și 2”. Fabricarea preparatelor în serie este justificată din punct de vedere tehnologic, fizico-chimic și calitativ.

4. ELABORAREA BIOTEHNOLOGIEI DE OBTINERE A PREPARATELOR CU CONȚINUT SPORIT DE GERMANIU ÎN BAZA BIOMASEI DE SPIRULINĂ

4.1. Cantitatea de biomasă, nivelurile de acumulare a germaniului și compoziția biochimică a tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 (spirulina) la cultivare în prezența unor compuși anorganici și organici ai Ge (IV)

În acest subcapitol sunt expuse datele experimentale privind efectul compușilor anorganici și organici ai Ge (IV) asupra cantității de biomasă produsă și acumulării germaniului de către tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 (Tabelul 4.1).

Tabelul 4.1. Conținutul germaniului acumulat în biomasa de *A. platensis* CNMN-CB-11 obținută la cultivare în prezența compușilor anorganici și organici ai Ge (IV)

Compusul	GeO ₂	GeSe ₂	FM-1	FM-2	FM-3	FM-8	FM-9	FM-10	FM-11
Concentrația	Ge acumulat, mg% biomasă								
10 mg/l	14,89	26,27	17,79	13,57	7,49	4,77	9,16	8,57	13,07
20 mg/l	26,74	48,53	20,69	22,29	17,36	8,48	10,52	17,41	18,35
30 mg/l	31,21	75,73	25,33	8,64	17,04	23,85	12,80	15,84	29,07

S-a demonstrat, că majoritatea compușilor anorganici și cei organici ai germaniului duc la scăderea productivității spirulinei, cu excepția compușilor germaniului – FM-3, FM-11, GeSe₂.

S-a stabilit, că spirulina acumulează germaniul în biomasă la cultivarea ei în prezența tuturor compușilor germaniului. Nivelul de acumulare al acestui element este mai scăzut în cazul compușilor organici ai germaniului, comparativ cu cei anorganici. Conținutul maximal de germaniu de circa 31-75 mg% se acumulează la cultivarea în prezența GeO₂ și GeSe₂.

În cazul compoziției biochimice s-au evidențiat compușii cu efecte stimulative. Compușii evidențiați pot fi utilizați în sinteza orientată sporită a compușilor biologic activi la spirulină.

A fost analizat nivelul de siguranță al biomasei de spirulină pe fonul conținutului de germaniu acumulat. Activitatea antioxidantă a biomasei de spirulină s-a modificat și această modificare nu depinde de concentrația germaniului în biomasă. O stabilitate relativă a testelor antioxidante demonstrează lipsa unui răspuns violent la implicarea compușilor în activitatea biosintetică a culturii. În cazul compușilor organici ai germaniului a fost stabilită o creștere cu

peste 20% a activității antioxidante în cazul primilor 2 compuși și o scădere a valorilor ABTS pentru restul. Valorile testului ABTS nu depind de conținutul germaniului în biomasă.

Datele testului cu acidul tiobarbituric au evidențiat valori de 2-3 ori mai mari ale dialdehidei malonice în biomasa spirulinei la cultivare în prezența compușilor organici ai germaniului. Compușii anorganici nu au indus oxidarea ireversibilă a lipidelor.

Selenura de germaniu - GeSe_2 în concentrațiile de 10 și 20 mg/l a favorizat creșterea culturii, sporind producerea de biomasă cu circa 19-25% față de martor. Conținutul maximal al germaniului de 75,73 mg% a fost determinat la concentrația de 30 mg/l a compusului, concentrație care nu a influențat producerea de biomasă. Este de menționat faptul, că la această concentrație a GeSe_2 , în biomasa de spirulină se acumulează o cantitate semnificativă de seleniu - circa 228 mg%.

4.2. Procedeu de obținere a biomasei de spirulină cu conținut sporit de germaniu

Selenura de germaniu a fost apreciată ca compusul care a asigurat acumularea cea mai eficientă a germaniului în biomasa spirulinei. În biomasa de spirulină cultivată în prezența acestui compus în concentrație de 30 mg/l a fost determinat un conținut al germaniului acumulat de circa 75,7 mg%. Pe fonul acestei cantități acumulate de germaniu, nivelul de biomasă produs de către spirulina este în limitele caracteristice producerii în condiții standard.

Pentru o rată mai mare de acumulare a germaniului se asigură o alcalinitate de peste 9,5 a mediului. În aceste condiții, germaniul trece în forma de ioni HGeO_3^- , ușor absorbită de celulele vii [15]. La finalul ciclului de cultivare a spirulinei alcalinitatea mediului este de 10,5 unități de pH. Pentru a asigura condițiile de acumulare a germaniului spirulina a fost cultivată cu respectarea parametrilor indicați ai procesului, iar în cadrul acestuia *s-a manipulat cu intervalul de administrare a concentrației GeSe_2 care asigură acumularea cantității importante de germaniu.*

Compusul a fost administrat în concentrația de 30 mg/l în rate și la diferite intervale de creștere a culturii: concentrația de 15 mg/l a fost suplimentată în *prima zi de cultivare* și o altă concentrație de 15 mg/l a fost administrată la cultura de spirulină în creștere la *a treia zi de cultivare*. O altă variantă - 30 mg/l la *a treia zi de cultivare* (Tabelul 4.2).

Drept rezultat, suplimentarea selenurii de germaniu în rate și la diferite intervale de cultivare a spirulinei asigură obținerea unei biomase cu un conținut mai ridicat al germaniului, de 90,55 mg%, comparativ cu cantitatea lui de 80,6 mg%, care s-a obținut la administrarea compusului în a treia zi și de 75,73 mg% determinate în biomasa obținută la cultivarea spirulinei în prezența selenurii de germaniu adăugate în aceeași concentrație în prima zi de creștere a culturii.

Tabelul 4.2. Nivelul de producere a biomasei (% Martor) și conținutul de germaniu acumulat (mg%) la cultivarea spirulinei în prezența selenurii de germaniu suplimentată în concentrație de 30 mg/l în diferite intervale ale procesului de cultivare

Perioada de suplimentare a compusului seleniului	Biomasa, %M	Cantitatea de germaniu în biomasă, mg%
15mg/l (1-a zi de cultivare) 15mg/l (3-a zi de cultivare)	99,99	90,55±2,14
3-a zi de cultivare	100,53	80,60±1,56
1-a zi de cultivare	100,95	75,73±1,97
Martor	100,00 (1,04±0,012 g/l)	0,11±0,02

Repartizarea germaniului în fracțiile de compuși biologic activi ai spirulinei cultivate în condițiile descrise de administrare a selenurii de germaniu este redată în Figura 4.1.

Din conținutul total al germaniului acumulat în biomasa de spirulină, 27,76% au fost determinate în fracția proteică, 24,12% - în fracția ce conține aminoacizi în stare liberă și în componența oligopeptidelor din spirulină, 9,21% - în fracția de glucide și 12,64% - în fracția lipidelor.

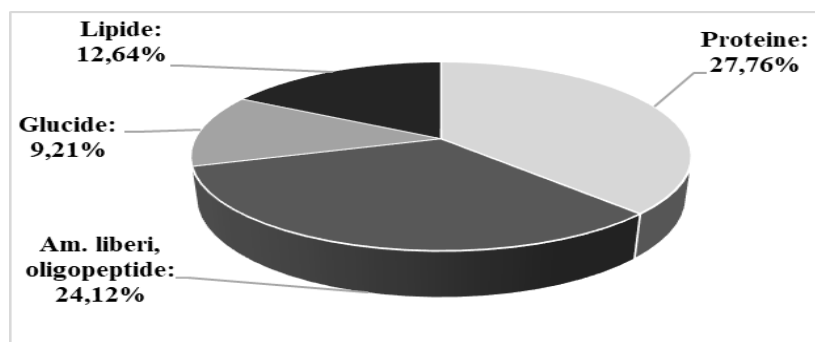


Fig.4.1. Repartizarea germaniului în diferite fracții biologic active ale biomasei de spirulină cu conținut sporit de germaniu

Așadar, suplimentarea selenurii de germaniu *în rate și la diferite perioade de creștere* ale culturii de spirulină, asigură obținerea unei biomase îmbogățite cu germaniu (circa 90 mg%), iar acesta este încorporat în cantități înalte de circa 66 mg% sau 73% din total în fracțiile ce conțin majoritar compușii săi biologic activi importanți. Procesul de obținere a biomasei ce conține germaniu biotransformat poate fi realizat după schema redată în Figura 4.2.

Circuitul tehnologic începe astfel, de la producerea materiei prime germaniuroorganice – biomasa de spirulină cu conținut sporit de germaniu care se obține conform procedurii elaborate, iar în cadrul acestui segment tehnologic se respectă toate elementele componente care asigură rezultatul final.

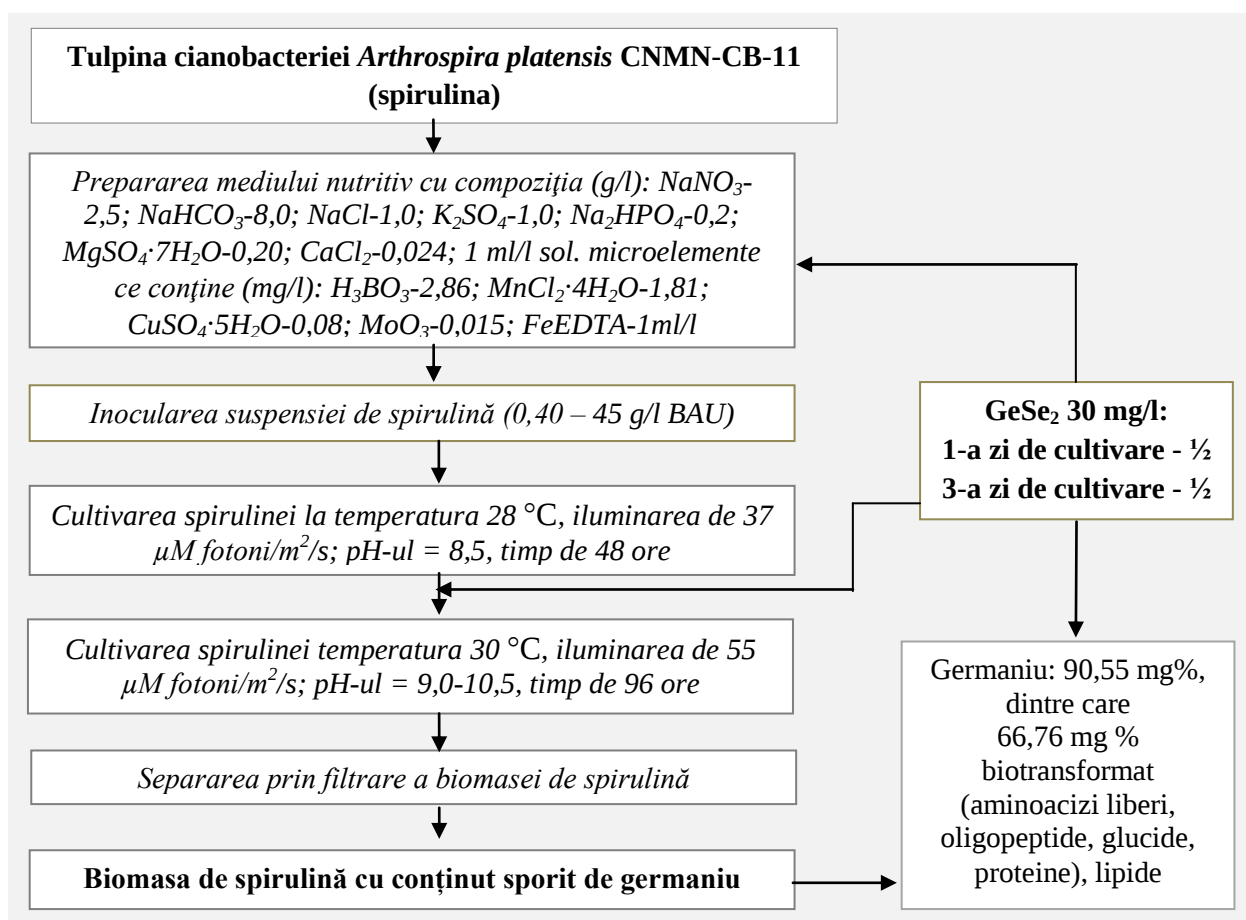


Fig. 4.2. Schema de obținere a biomasei de spirulină îmbogățite cu germaniu

Biomasa se standardizează la o anumită concentrație și se determină cantitatea de germaniu și principalii indicatori de calitate (compuși biologic activi, conținutul de DAM sau activitatea antioxidantă) în cazul când este procesată în continuare pentru obținerea unor preparate ce conțin germaniu biotransformat, sau biomasa se usucă și se utilizează ca produs germaniuorganic.

4.3. Tehnologia integrată de obținere în baza biomasei de spirulină a preparatelor cu conținut sporit de germaniu (sau germaniu și seleniu)

Biomasa de spirulină îmbogățită cu germaniu demonstrează o compoziție destul de echilibrată, în comparație cu cea obținută în condiții standard de cultivare. Astfel, biomasa germaniucomponentă conține 3,5% aminoacizi liberi (față de 3,0%), 6,8% oligopeptide (față de 8,0%), 60,5% proteine (față de 64,5%), 8,25% C-ficocianină (față de 9,15%), 15,75% glucide (față de 12,5%) și 8,0% lipide (față de 5,15%). Activitatea antioxidantă a fost determinată în extractele hidro-alcoolice de 50% obținute din această biomasă, de asemenea, prezintă un nivel acceptabil (Tabelul 4.3).

Tabelul 4.3. Conținutul unor compuși biologic activi în biomasa de spirulină îmbogățită cu germaniu

Compoziție	Spirulina germaniuorganică	Spirulina, martor
Aminoacizi liberi	3,50%	3,0%
Oligopeptide	6,80%	8,0%
Proteine	60,5%	64,5%
Ficobiliproteine	16,40%	18,0%
C-Ficocianina	8,25%	9,15%
Glucide	15,75%	12,5%
Lipide	8,0%	5,15%
Germaniu	0,090%	0,00011%
AA, % inhibiție ABTS	67,5%	65,2%

Ca și în cazul biomasei de spirulină îmbogățite cu seleniu, biomasa de spirulină cu conținut sporit de germaniu poate fi valorificată și procesată în cadrul unui singur flux tehnologic pentru obținerea produselor (preparatelor și suplimentelor) germaniucomponente, conform etapelor redată în Figura 4.3.

Rezultatul final al acestei secvențe tehnologice este biomasa de spirulină îmbogățită cu germaniu care ulterior poate fi valorificată pe *două căi*:

(1) Biomasa, pornind de la compoziție și germaniul biotransformat de către compuși săi biologic activi, conform unor proceduri specifice (uscare, pulberizare, condiționare, ambalare) se formulează ca adaos/supliment alimentar cu denumirea convențională „*Spirulina germaniuorganică*” **sau**

(2) Biomasa ce conține germaniu biotransformat (cu masa standardizată și indicii de calitate stabiliți) se transferă, în calitate de materie primă la următorul segment – fabricarea dintr-o singură biomasă prin extragere succesivă a preparatelor și suplimentelor proteice germaniucomponente. Acest segment tehnologic este unul foarte complex și conține două secvențe: obținerea extractului de aminoacizi liberi și oligopeptide la prima etapă și obținerea extractului proteic din restul de biomasă procesat la prima etapă, în cadrul celei de a doua etapă a fluxului tehnologic.

În rezultatul primei secvențe tehnologice se obține extractul de aminoacizi și oligopeptide germaniucomponente care, după aplicarea unor proceduri de purificare, standardizare, formulare, condiționare și ambalare este formula preparatului biologic activ ce conține germaniul ca parte componentă efectivă sub denumirea „*BioR-Germanium*”.

Biomasa, care a rezultat de la fabricarea preparatului „*BioR-Germanium*”, se utilizează pentru fabricarea extractului proteic germaniucomponent. Extractul proteic germaniucomponent care este *produsul final* al acestei secvențe, la fel, după aplicarea procedurilor specifice fiecărei

forme (pulbere încapsulată sau comprimate sau lichid) reprezintă formula pentru preparatul „Supliment Ge-proteic”.

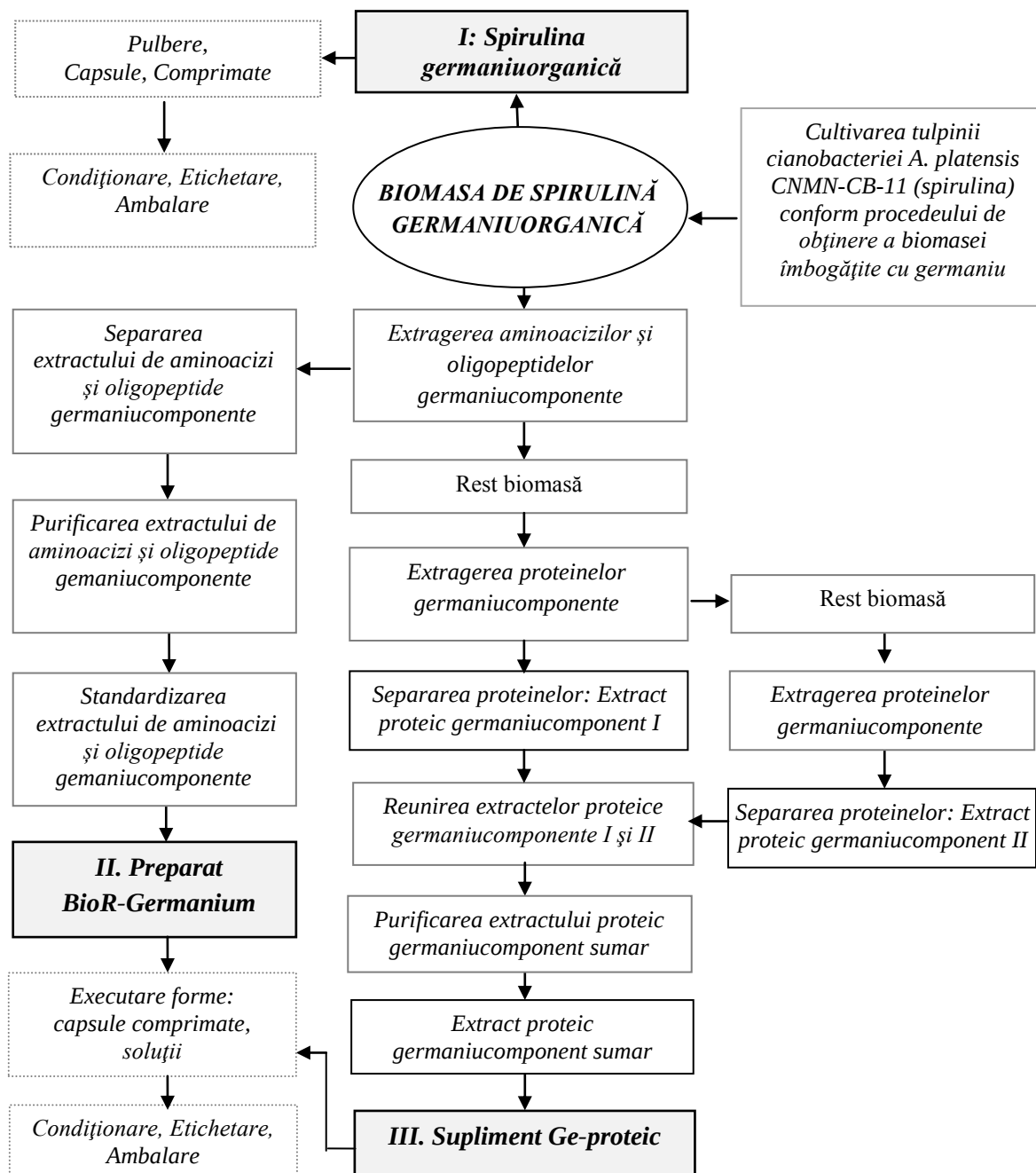


Fig. 4.3. Schema integrată de obținere în cadrul unui singur ciclu tehnologic a produselor (preparatelor și suplimentelor) germaniucomponente

Circuitul tehnologic de obținere în baza biomasei de spirulină a preparatelor cu conținut sporit de germaniu (ca și în cazul produselor seleniucomponente), a fost reprodus în condiții de fabricare în serie la întreprinderea „FICOTEHFARM” SRL (or. Chișinău, R. Moldova).

Conform datelor obținute, tehnologia elaborată poate fi introdusă în fabricarea în serie a produselor (preparatelor și suplimentelor germaniuorganice) în baza biomasei de spirulină. Toate

etapele – cheie ale procesului de fabricare în condiții de serie se încadrează în limitele de referință (tehnologia elaborată în condiții de cercetare în laborator). Toți parametrii de control interfazic și final de proces, precum și cei de calitate monitorizați în cadrul secvențelor tehnologice: *Fabricarea biomasei de spirulină cu conținut sporit de germaniu (Spirulina germaniorganica)*; *Producerea extractului de aminoacizi liberi și oligopeptide germaniocomponente (BioR-Germanium)*; *Producerea extractului proteic germaniocomponent (Supliment Ge-proteic)* s-au încadrat în limitele prescripției de referință și nu au deviat de la aceasta.

Fluxul tehnologic de obținere în baza biomasei de spirulină a produselor germaniorganice elaborat nu prezintă modificări majore ale elementelor și etapelor tehnologice cruciale, rezultatele se încadrează în limitele specifice, iar fabricarea lor în serie este justificată din punct de vedere tehnologic, fizico-chimic și calitativ.

Variante tehnologice de obținere a biomasei de spirulină, îmbogățite cu germaniu și seleniu (sau seleniu și germaniu) - materie primă biologic activă pentru fabricarea preparatelor policomponente ce conțin ambele microelemente

Rezultatele cercetărilor redată în această lucrare au scos în evidență compusul anorganic GeSe_2 . S-a demonstrat, că spirulina acumulează eficient atât seleniul (*cap.* 3), cât și germaniul (*cap.* 4) din acest compus. Condițiile și parametrii de proces care pot asigura acumularea maximală a fiecăruia din aceste oligoelemente în biomasa de spirulină sunt specifice și prezintă anumite deosebiri. Iată de ce partea tehnologică care implică utilizarea selenurii de germaniu în calitate de unul dintre factorii-cheie de proces a fost dezvoltată pe două căi aparte:

Prima cale urmată a fost cea pe durata căreia s-au respectat parametrii și *elaborate unele dintre condițiile* care asigură obținerea biomasei de spirulină cu un conținut sporit de seleniu: cantitatea redusă de bicarbonat și sulfat în mediul nutritiv, menținerea pH-ului la valoarea de 8,0 - 8,5, *suplimentarea compusului în concentrație de 30 mg/l la a treia zi de cultivare.*

Pe cea de a doua cale a fost dezvoltată tehnologia care asigură obținerea biomasei cu conținut sporit de germaniu: mediul nutritiv modificat Zarrouk, *suplimentarea GeSe_2 în concentrație de 15 mg/l în prima zi și cultivarea spirulinei la temperatura 28 °C, iluminarea de 37 μM fotoni/ m^2/s ; pH-ul = 8,5 timp de 48 ore, suplimentarea a încă 15 mg/l compus și continuarea cultivării spirulinei la temperatura 30 °C, iluminarea de 55 μM fotoni/ m^2/s ; pH-ul = 9,0-10,5.*

Chiar dacă tehnologiile au fost elaborate ținând cont de condițiile specifice de obținere a uneia sau a alteia biomase, nu poate fi neglijat faptul că în cazul biomasei cu conținut sporit de seleniu aceasta conține într-o cantitate mai mare și germaniul, iar în cazul biomasei cu conținut sporit de germaniu aceasta conține într-o cantitate apreciabilă și seleniul. Astfel, biomasa de spirulină cu conținut sporit de seleniu conține și circa 76 mg% germaniu, iar biomasa cu conținut

sporit de germaniu conține și circa 235 mg% seleniu, ceea ce permite ca de rând cu cele două tehnologii elaborate să fie propuse și variantele tehnologice de obținere a materiei prime și a preparatelor și suplimentelor ce conțin ambele oligoelemente (seleniul și germaniul) sau (germaniul și seleniul) cu etapele principale de producere în serie redată în Figura 4.4.

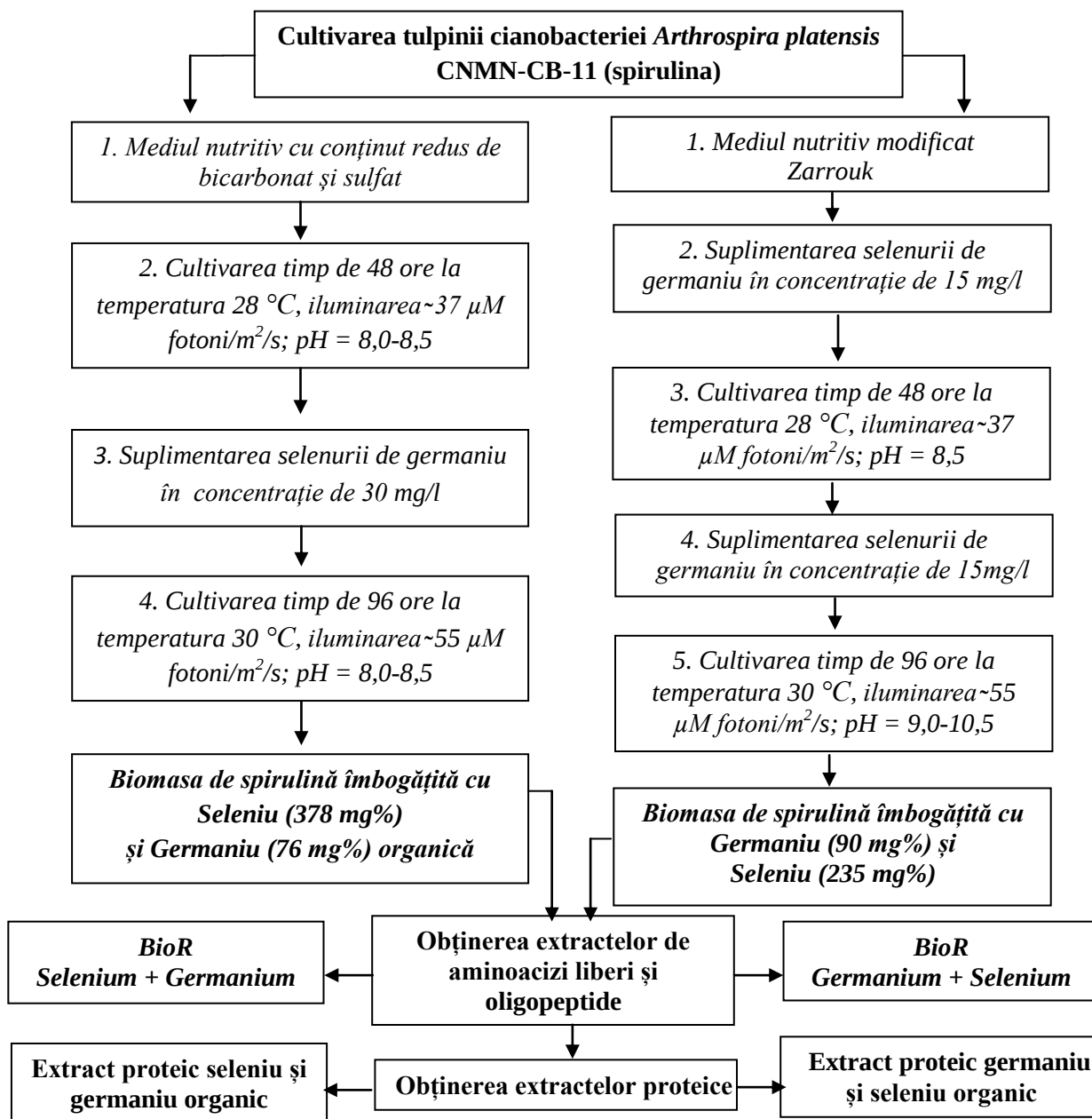


Fig. 4.4. Etapele tehnologice principale de obținere a biomasei de spirulină, îmbogățite cu germaniu și seleniu (sau seleniu și germaniu)

Prin urmare, aplicarea selenurii de germaniu la cultivarea spirulinei este foarte atractivă din punct de vedere tehnologic, oferind oportunitatea unor variante de obținere:

- (1) a biomasei și preparatelor ce conțin seleniu dar și germaniu;
- (2) a biomasei și preparatelor ce conțin germaniu dar și seleniu.

Biomasa de spirulină ce conține ambele microelemente poate fi utilizată pentru obținerea preparatelor policomponente cu proprietăți antioxidante, imunomodulatoare și anticancer.

4.4. Concluzii la capitolul 4

1. Compușii ai Ge (IV), testați în concentrațiile de 10, 20 și 30 mg/l modifică mai pronunțat sau mai atenuat, în direcția scăderii, nivelurile de producere a biomasei de spirulină, cu excepția selenurii de germaniu care sporește aceste niveluri cu până la 25,36% [10, 26].
2. Compușii anorganici și organici ai Ge (IV), în concentrațiile aplicate favorizează acumularea germaniului în biomasa spirulinei. Selenura de germaniu în concentrația de 30 mg/l determină acumularea maximală a germaniului în biomasa de spirulină - 75,7 mg%. După efectul exercitat asupra nivelului de acumulare a germaniului (mg%) în biomasă, compușii organici pot fi clasati în șirul: FM-2 (8,65) < FM-9 (12,81) < FM-10 (15,84) < FM-3 (18,07) < FM-8 (23,85) < FM-1 (25,34) < FM-11 (29,07) [10, 26].
3. Compușii anorganici și organici ai Ge (IV) în anumite concentrații stimulează sinteza unor compuși biologic activi la cianobacteria *A. platensis*. Compusul $\text{Mes}_2\text{Ge}(\text{F})\text{-PHMes}$ (10 mg/l) a sporit sinteza proteinelor cu 20,7%; dioxidul de germaniu (30 mg/l) a stimulat cu 33% conținutul de ficobiliproteine, cu 35,9% conținutul de lipide și cu 84,3% conținutul de glucide. Selenura de germaniu (30 mg/l) a contribuit la sporirea cu 87% a conținutului de lipide și cu 50,3% a conținutului de glucide în biomasă [10, 27].
4. Procedul de cultivare a tulpinii cianobacteriei *A. platensis* CNMN-CB-11 în condițiile și la parametrii optimali de acumulare a germaniului: mediul modificat Zarrouk, iluminarea de 37~55 μM fotoni/ m^2/s ; pH-ul = 9,0-10,5, temperatura de 28-30 °C, iar sursa de germaniu (GeSe_2), adaugată în rate (în 1-a și în a 3-a zi de cultivare) asigură obținerea unei biomase cu un conținut sporit de germaniu - 90,5 mg% (dintre care 66 mg% reprezintă germaniul bioconvertit), seleniu (235 mg%) și alte substanțe bioactive.
5. A fost elaborată tehnologia care asigură obținerea biomasei de spirulină cu un conținut sporit de germaniu și în baza acesteia a produsului „*Spirulina germaniuorganică*”, a preparatului „*BioR-Germanium*” și a „*Suplimentului Ge-proteic*” în cadrul unui singur ciclu tehnologic.
6. Selenura de germaniu oferă oportunitatea executării unor variante tehnologice de obținere în cadrul unui singur flux tehnologic a unor preparate și suplimente ce conțin atât seleniu, cât și germaniu (sau atât germaniu, cât și seleniu), ca parte componentă efectivă.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

Rezultatele obținute în raport cu scopul și obiectivele formulate în cadrul tezei de doctorat „**Biotehnologii de obținere a preparatelor cu conținut sporit de seleniu și germaniu în baza biomasei de spirulină**”, au condus la formularea următoarelor concluzii generale:

1. Tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 acumulează în procesul de creștere seleniul și/sau germaniul din compușii chimici ai acestor oligoelemente, procesul fiind unul doză-dependent, iar eficiența maximală este atinsă în prezența surselor anorganice a acestor elemente: selenitul de fier hexahidrat (50 mg/l: seleniu) și selenura de germaniu (30 mg/l: germaniu și/sau seleniu) [4, 7, 26]. (cap. 3, cap. 4).
2. În dependență de compus și concentrație, procesul de acumulare a biomasei este influențat în trei maniere diferite: Na_2SeO_3 , $\text{Fe}_2\text{Se}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ și GeSe_2 stimulează producerea de biomasă de către spirulina. Compușii organici FM-3, FM-8, FM-9 și FM-11 produc efecte de scădere sau nu influențează acest proces, iar dioxidul de germaniu și compușii organici ai Ge (IV) FM-1, FM-2 și FM-10 sunt toxici pentru cultura de spirulină [4, 26]. (cap. 3, cap. 4).
3. Acumularea seleniului și/sau germaniului în biomasa de spirulină nu afectează calitatea (compoziția biochimică) și nivelul de siguranță al acesteia (conform datelor testului ABTS și DAM). Au fost evidențiate, de asemenea, efecte benefice a unor compuși anorganici ai Se (IV) și Ge (IV), și a unor compuși organici Ge (IV), care în anumite concentrații, au stimulat sinteza unor componente ale biomasei, și pot fi utilizați pentru obținerea unei biomase cu cantități maximal prognozate de substanțe biologice active la spirulina [1-2, 10, 27]. (cap. 3, cap. 4).
4. Procedeele elaborate cu utilizarea selenurii de germaniu în concentrație de 30 mg/l în a 3-a zi și a selenitului de fier hexahidrat în concentrație de 50 mg/l suplimentat în rate: $\frac{1}{2}$ în 1-a zi de cultivare și $\frac{1}{2}$ în a 3-a zi de cultivare a spirulinei, asigură obținerea unei biomase cu un conținut sporit de seleniu (378–690 mg%). Din conținutul total, 71,6-74,8% reprezintă seleniul încorporat de către bioliganzii intracelulari ai spirulinei: aminoacizii liberi și oligopeptidele (23,8-26,8%), proteinele (27,2-28,5%), lipidele (10,5-12,8%) și glucidele (8-9%) (cap. 3).
5. Procedul de cultivare a spirulinei în condițiile optimale și cu adăugarea selenurii de germaniu în concentrație de 15 mg/l în 1-a zi și de 15 mg/l în a 3-a zi de cultivare, asigură acumularea maximală a germaniului în biomasă (90,5 mg%). Germaniul biotransformat constituie circa 73,72% și este integrat în fracțiile aminoacizilor liberi și oligopeptidelor (24,1), proteinelor (27,8), lipidelor (12,6) și glucidelor (9,2%) (cap. 4).
6. Au fost elaborate tehnologiile care redau schemele de obținere în cadrul unui singur flux de fabricare, a 9 variante de noi preparate ce conțin ca parte componentă activă seleniul și/sau

germaniul biotransformate. Tehnologiile valorifică materii prime și materiale non toxice „prietenoase mediului” și prezintă oportunități de producere în condiții controlate (cap. 3, cap. 4).

7. Utilizarea selenurii de germaniu la cultivarea tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11, oferă oportunitatea producerii în serie a materiei prime biologice active ce conține în cantități importante ambele microelemente – sursă de preparate policomponente cu efecte sinergice antioxidante, imunomodulatoare, anticancer (cap. 4).

Recomandări practice:

1. Se recomandă utilizarea tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 în calitate de matrice pentru biotransformarea seleniului și/sau germaniului în condiții de fabricare în serie;
2. Se recomandă utilizarea biomasei selenorganice și/sau germaniuorganice obținute la cultivarea în condiții controlate a spirulinei pentru fabricarea materiilor prime biologice active destinate fabricării preparatelor policomponente ce conțin seleniu și/sau germaniu biotransformat.

Sugestie privind cercetări de perspectivă:

1. Cercetarea, dar și partea tehnologică în special, asupra selenurii de germaniu, compusul care a demonstrat o eficacitate și o perspectivă de aplicare a lui în calitate de sursă de germaniu și seleniu poate fi continuată cu detalizarea unor mecanisme a lui de acumulare și de biotransformare a acestor microelemente în celulele altor tulpini de microalge și cianobacterii de interes tehnologic.
2. Este oportună dezvoltarea în continuare a direcției de cercetare științifico-practică, destinate precăutării noilor tulpini de microorganisme cu capacitate de acumulare și biotransformare eficientă a microelementelor, în vederea diversificării spectrului de materii prime biologice active pentru fabricarea preparatelor policomponente naturale.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. DJUR, S. Modificarea activității antioxidante în procesul de acumulare a seleniului în biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei: Științele vieții*. 2018, nr. 1(334), p.150-156. ISSN 1857-064X.
2. DJUR, S. Modificarea compoziției biochimice a spirulinei ca răspuns la acumularea seleniului în biomasă. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei: Științele vieții*. 2019, nr. 3(339), p.116-124. ISSN 1857-064X.

3. RUDIC, Valeriu. Tulpină de algă *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl în calitate de sursă de substanțe biologice active. Brevet de invenție MD 4122 C1 2012.02.29. RUDIC Valeriu, MD. Nr. depozit: A2011 0016 Data depozit 2011.02.24. Publicat 2011.07.31. În: BOPI. 2011, nr. 7, p. 21.
4. RUDIC, V., DJUR, S., CEPOI, L., CHIRIAC, T., RUDI, L., ȘOVA, S. Cianobacteria *Spirulina platensis* – matrice pentru producerea compușilor organici selenocomponeți. În: *Academos*. 2014, nr. 1(32), p. 83-88. ISSN 1857-0461.
5. BODNAR, M. et al. The properties, functions, and use of selenium compounds in living organisms. In: *Journal of Environmental Science and Health*. 2012, vol. 30(3), pp. 225-252. ISSN (online) 2689-6591.
6. CEPOI, L., CHIRIAC T., RUDI, L., **DJUR, S.**, ZOSIM, L., BULIMAGA, V., BATIR, L., ELENCIUC, D., RUDIC, V. Spirulina as raw material for product containing trace elements. In: CHOJNACKA K.; SAIED A., eds. *Recent Advances in Trace Elements*. Oxford: John Wiley and Sons Ltd, 2018, First Edition, pp. 403-420. ISBN:9781119133780.
7. CEPOI, L., ZINICOVSCAIA, I., ZOSIM, L., CHIRIAC, T., RUDIC, V., RUDI, L., **DJUR, S.**, ELENCIUC, D., MISCU, V., BATÎR, L., GULEA, A., BULIMAGA, V. Metals removal by cyanobacteria and accumulation in biomass. In: ZINICOVSCAIA, I., CEPOI, L. eds. *Cyanobacteria for Bioremediation of Wastewaters*. Cham: Springer International Publishing, 2016. pp. 61-111. ISBN 978-3-319-26751-7.
8. DELRUE, F. et al. Optimization of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) Growth: From Laboratory Scale to Pilot Scale. In: *Fermentation* 2017, vol. 3(4), 59. ISSN 2311-5637.
9. DEMBITSKY, V., GLORIOZOVA, T., POROIKOV, V. Biological activities of organometalloid (As, At, B, Ge, Si, Se, Te) steroids. In: *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2017, vol. 7(11), pp. 184-202. ISSN (online) 2231-3354.
10. **DJUR, S.** Applications of inorganic germanium compounds for obtaining spirulina biomass enriched with germanium and bioactive compounds. În: *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2020, Tom. XXVII, Issue 2, pp. 195-201. ISSN (online) 1844-7589.
11. DUNTAS, L., BENVENGA, S. Selenium: An element for life. In: *Endocrine*. 2015, vol. 48(3), pp. 756-77. ISSN (online) 1559-0100.
12. ENCARNACÃO, T. et al. Cyanobacteria and microalgae: a renewable source of bioactive compounds and other chemicals. In: *Science Progress*. 2015, vol. 98(2), pp. 145-168. ISSN (online) 2047-7163.
13. FRONTASYEVA, M. et.al. Accumulation of trace elements by biological matrice of *Spirulina platensis*. In: *Ecological Chemistry and Engineering S*. 2009, vol. 16(3), pp. 277-285. ISSN (online) 2084-4549.
14. GAROUI, F. The essentiality of selenium for humans, animals, and plants, and the role of selenium in plant metabolism and physiology. In: *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2017, vol.10(1), pp. 75-90. ISSN (online) 066-7744.
15. GLOCKLING, F. *The chemistry of germanium*. Academic Press, London & New York, 1969, 234 p. ISBN: 0122864506.
16. KIELISZEK, M. Review Selenium–fascinating microelement, properties and sources in food. In: *Molecules*. 2019, vol. 24(7), 1298. ISSN 1420-3049.
17. KIELISZEK, M., BŁAZEJAK, S. Current knowledge on the importance of selenium in food for living organisms: A review. In: *Molecules*. 2016, vol. 21(5), 609. ISSN 1420-3049.

18. MENCHIKOV, L., IGNATENKO, M. Biological activity of organogermanium compounds (A Review). In: *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2013, vol. 46(11), pp. 635-638. ISSN (online) 1573-9031.
19. NUHU, A. Review Article *Spirulina (Arthrospira)*: An important source of nutritional and medicinal compounds. In: *Journal of Marine Biology*. 2013, vol. 1, pp.1-8. ISSN 1687-9481.
20. PYNE, P.K., BHATTACHARJEE, P., SRIVASTAV, P.P. Microalgae (*Spirulina platensis*) and its bioactive molecules: Review. In: *Indian Journal of Nutrition*. 2017, vol. 4(2), 160. ISSN: 2395-2326.
21. SELLAPPA, S., JEYARAMAN, V. Antibacterial properties of organic germanium against some human pathogens. In: *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2011, vol. 2(1), pp. 854-859. ISSN 0975-6299.
22. TAKEDA, T. et al. Organogermanium suppresses cell death due to oxidative stress in normal human dermal fibroblasts. In: *Scientific Reports*. 2019, vol. 9, 13637. ISSN (online) 2045-2322.
23. ZELINSKY, N. Biological activity of organogermanium compounds. (A Review). In: *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2013, vol. 46(11), pp. 635-638. ISSN 0091-150X.
24. ZHANG, J. et al. Selenium and selenoproteins in viral infection with potential relevance to COVID-19. In: *Redox biology*. 2020, vol. 37, 101715. ISSN 2213-2317.
25. ZHENG, H. Physiological function of organic germanium and its application in food. In: *Studies of Trace Elements and Health*. 2011, vol. 28, pp. 65-67. ISSN, 1005-5320.
26. ДЖУР, С., БУЛЬМАГА, В., ЗОСИМ, Л., РУДЬ, Л., КИРИЯК, Т., ЧЕПОЙ, Л., ГУЛЯ, А., РУДИК, В. Продуктивность и аккумуляция германия (IV) цианобактерией *Spirulina platensis* при выращивании на среде с добавлением германий - содержащих соединений. В: *Известия Академии Наук Молдовы. Науки о жизни*. 2020, № 1(340), с. 134-142. ISSN 1857-064X.
27. ДЖУР, С., БУЛЬМАГА, В., ЗОСИМ, Л., РУДЬ, Л., ЧЕПОЙ, Л., КИРИЯК, Т., ГУЛЯ, А., РУДИК, В. Изменение содержания белка и фикобилипротеинов в условиях накопления германия (IV) в биомассе цианобактерии *Spirulina platensis* при выращивании на среде с германий - содержащими соединениями. В: *Известия Академии Наук Молдовы. Науки о жизни*. 2020, № 1(340), с. 142-151. ISSN 1857-064X.
28. МАЗО, В.К., ГМОШИНСКИЙ, И.В., ШИРИНА, Л.И. *Новые пищевые источники эссенциальных элементов-антиоксидантов*. Москва: Миклош, 2009. 208 с. ISBN: 978-5-900518-96-1.
29. ТАМБИЕВ, А. Х. Изучение возможностей обогащения биомассы цианобактерий *Spirulina platensis* и *Spirulina maxima*, являющихся объектами фотобиотехнологии, отдельными эссенциальными микроэлементами (обзор) В: *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2012, № 2, с. 48-55. ISSN (online) 2587-7313.

LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI

Monografii

- **monografii colective (cu specificarea contribuției personale)**

1. CEPOI, L., CHIRIAC, T., RUDI, L., **DJUR, S.**, ZOSIM, L., BULIMAGA, V., BATIR, L., ELENCIUC, D., RUDIC, V. Spirulina as raw material for product containing trace elements. In: CHOJNACKA K., SAIED A., eds. *Recent Advances in Trace Elements*, First Edition. Oxford: John Wiley and Sons Ltd, 2018, pp. 403-420. ISBN 9781119133780.
2. CEPOI, L., ZINICOVSCAIA, I., ZOSIM, L., CHIRIAC, T., RUDIC, V., RUDI, L., **DJUR, S.**, ELENCIUC, D., MISCU, V., BATÎR, L., GULEA, A., BULIMAGA, V. Metals removal by cyanobacteria and accumulation in biomass. In: ZINICOVSCAIA, I., CEPOI, L. eds. *Cyanobacteria for Bioremediation of Wastewaters*. Cham: Springer International Publishing, 2016. pp. 61-111. ISBN 978-3-319-26751-7.

Articole în reviste științifice

- **în reviste din străinătate recunoscute**

3. **DJUR, S.** Applications of inorganic germanium compounds for obtaining spirulina biomass enriched with germanium and bioactive compounds. In: *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2020, Tom. XXVII, Issue 2, pp. 195-201. ISSN (online) 1844-7589.
4. **DJUR, S.** Influence of $\text{Fe}_2\text{Se}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ on some biologically active substances in *Spirulina platensis* biomass upon its cultivation. In: *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2019, Tom XXVI, Issue 1, pp. 51-56. ISSN (online) 1844-7589.

- **în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei categoria B**

5. **ДЖУР, С.**, БУЛЬМАГА, В., ЗОСИМ, Л., РУДЬ, Л., КИРИЯК, Т., ЧЕПОЙ, Л., ГУЛЯ, А., РУДИК, В. Продуктивность и аккумуляция германия (IV) цианобактерией *Spirulina platensis* при выращивании на среде с добавлением германий - содержащих соединений. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei: Științele vieții*. 2020, nr. 1(340), pp. 134-142. ISSN 1857-064X.
6. **ДЖУР, С.**, БУЛЬМАГА, В., ЗОСИМ, Л., РУДЬ, Л., ЧЕПОЙ, Л., КИРИЯК, Т., ГУЛЯ, А., РУДИК, В. Изменение содержания белка и фикобилипротеинов в условиях накопления германия (IV) в биомассе цианобактерии *Spirulina platensis* при выращивании на среде с германий - содержащими соединениями. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei: Științele vieții*. 2020, nr. 1(340), pp. 142-151. ISSN 1857-064X.
7. **DJUR, S.** Modificarea compoziției biochimice a spirulinei ca răspuns la acumularea seleniului în biomasă. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei: Științele vieții*. 2019, nr. 3(339), p.116-124. ISSN 1857-064X.
8. **DJUR, S.** Modificarea activității antioxidante în procesul de acumulare a seleniului în biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei: Științele vieții*. 2018, nr. 1(334), p.150-156. ISSN 1857-064X.
9. RUDIC, V., **DJUR, S.**, CEPOI, L., CHIRIAC, T., RUDI, L., ȘOVA, S. Cianobacteria *Spirulina platensis* – matrice pentru producerea compușilor organici selenocomponenți. În: *Academos* 2014, nr. 1(32), p. 83-88. ISSN 1857-0461.
10. BULIMAGA, V., **DJUR, S.**, RUDIC, V. Elaborarea tehnologiei de obținere a preparatelor cu conținut de germaniu în baza biomasei spirulină. În: *Revista de proprietate intelectuală „Intellectus”*. 2012, nr. 2, p. 98-101. ISSN 1810-7079.

categoria C

11. BULIMAGA, V., **DJUR, S.**, PISOV, M., RUDIC, V., RUDI, L. Capacitatea antioxidantă a preparatelor de ficocianină obținute în baza biomasei de spirulină îmbogățite cu germaniu. În: *Studia Universitatis USM: Științe ale naturii*. 2012, nr. 1 (51), p. 9-13. ISSN 1814-3237

Articole în culegeri științifice

- **în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)**
- 12. RUDIC, V., **DJUR, S.**, CEPOI, L., CHIRIAC, T., RUDI, L., CODREANU, S., GHELBET, V. Noi premixuri furajere în baza biomasei de spirulină cu selen. In: *V International Conference „Actual Problems in Modern Phycology”*, November 3-5, 2014, Chișinău, Republica Moldova, pp. 82-88. ISBN 978-9975-71-577-5.
- **în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională (Republica Moldova)**
- 13. **DJUR, S.**, BULIMAGA, V., ZOSIM, L., TASCA, I., DUMBRĂVEANU, V. Procedeu de obținere a biomasei cianobacteriei *Spirulina platensis* cu conținut sporit de germaniu și seleniu. În: *Conferința științifică națională cu participare internațională „Integrare prin cercetare și inovare”*. Rezumatele comunicărilor, USM, 10-11 noiembrie, 2020, Chișinău, Republica Moldova, pp. 94-97. ISBN 978-9975-152-48-8.

Teze în culegeri științifice

- **în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)**
- 14. **ДЖУР, С.В.**, КИРИЯК, Т.В., ЧЕПОЙ, Л.Е., РУДЬ, Л.Б., КОДРЯНУ, С.Н., ЛОСЕВА, Л.П., РУДИК, В.Ф. Получение биомассы цианобактерии *Spirulina platensis*, обогащенной германием. В: *IX Международная научная конференция посвященная 50-летию создания Института Микробиологии НАН Беларуси*. 7-11 сентября, 2015, Минск, с.150. ISBN 978-985-08-1902-4.
- 15. **ДЖУР, С. В.**, РУДИК, В. Ф. Получение новых иммуномодуляторных и противоопухолевых препаратов и нутрацевтиков на основе биомассы спироулины. В: *Тезисы Международной научно практической конференции молодых ученых „PONTUS EUXINUS”, по проблемам водных экосистем, посвященной 50 летию образования Института биологии южных морей Национальной академии наук Украины*. 1–4 октября, 2013, Севастополь, с. 46-47. ISBN 978-966-02-6962-0.
- **în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)**
- 16. **ДЖУР, С.**, БУЛЬМАГА, В., КИРИЯК, Т., РУДИК, В. Полипептидный спектр суммарного белка спироулины культивируемой в присутствии соединений GeO_2 и GeSe_2 . In: *The Xth International Congress of Geneticists and Breeders*. 28 June - 1 July, 2015, Chisinau, Republic of Moldova, p. 185. ISBN 978-9975-933-56-8.
- 17. CEPOI, L., CHIRIAC, T., **DJUR S.**, LOSEVA L., CUCER A., RUDIC V. New feed additives with organic selenium. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (2nd edition)*, October 9-10, 2014, Chișinău, Republica Moldova, p. 111. ISBN 978-9975-4432-8-9.
- 18. **DJUR, S.**, CHIRIAC, T., RUDI, L.; RUDIC, V. Organic germanium compounds on the basis of *Spirulina platensis*. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (2nd edition)*, October 9-10, 2014, Chișinău, Republica Moldova, p. 123. ISBN 978-9975-4432-8-9.

- **în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională**

19. RUDIC, V., CHIRIAC, T., RUDI, L., CEPOI, L., ROTARI, I., **DJUR (MAXACOVA), S.** *Spirulina (Arthrospira) platensis* – sursă de nutraceutice. În: *Al V-lea Simpozionul științific național cu participare internațională „Biotehnologii avansate-realizări și perspective”*, 21-22 octombrie, 2019, Chișinău, Republica Moldova, Teze/com. șt., p. 57. ISBN 978-9975-56-695-7.
20. LOSEVA, L., ANUFRIC, S., CHIRIAC, T., CEPOI, L., **DJUR, S.**, GHELBET, V., RUDIC, V. Efectul biologic al selenitului de sodiu asupra creșterii *Spirulina platensis* și dinamica acumulării seleniului în biomasă. În: *Al III-lea Simpozion național cu participare internațională „Biotehnologii avansate – realizări și perspective”*, 24-25 octombrie, 2013, Chișinău, Republica Moldova, Teze/com. șt., p. 51. ISBN 978-9975-56-111-2.

Brevete de invenții și alte obiecte de proprietate intelectuală, materiale la saloanele de invenții

- **Brevete de invenții**

21. ȘOVA, Sergiu, RUDIC, Valeriu, BULIMAGA, Valentina, **DJUR, Svetlana.** *Procedeu de obținere a selenitului de fier $Fe_2Se_3O_9 \cdot 6H_2O$ și procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* cu utilizarea acestuia.* Brevet de invenție MD 4123, C12N 1/12, C12N 1/38, C12R 1/89, C01B 19/00, C01G 49/00. ȘOVA Sergiu, MD; RUDIC Valeriu, MD. Nr. depozit a 2011 0028. Data depozit 24.03.2011. Publicat 31.07.2011. În: BOPI. 2011, nr. 7, pp. 21-23.
22. GULEA, Aurelian, ESCUDIE, Jean, BULIMAGA, Valentina, RUDIC, Valeriu, MD; - ZOSIM, Liliana, **DJUR, Svetlana.** *Procedeu de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis*.* Brevet de invenție MD 228, C12N 1/12, C12N 1/38, C12Q 1/02, C01G 17/04, C07F 7/30. Universitatea de Stat din Moldova. Nr. depozit s 2010 0021. Data depozit 28.01.2010. Publicat 30.06.2010. În: BOPI. 2010, nr. 6, p. 39.

ADNOTARE

Djur Svetlana: „Biotehnologii de obținere a preparatelor cu conținut sporit de seleniu și germaniu în baza biomasei de spirulină”, teză de doctor în științe biologice, Chișinău, 2021.

Structura tezei: introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie din 332 titluri, 3 anexe, 122 pagini text de bază, 24 de figuri, 20 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 22 de lucrări științifice.

Cuvinte - cheie: *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11, spirulina, biomasă, preparate, suplimente, seleniu organic, germaniu organic.

Scopul lucrării: elaborarea biotehnologiilor de obținere a preparatelor cu conținut sporit de seleniu și/sau germaniu în baza biomasei tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11.

Obiectivele cercetării: Stabilirea efectului unor compuși anorganici ai Se (IV), anorganici și organici ai Ge (IV) asupra capacității de producere a biomasei și de acumulare a seleniului și germaniului de către tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11; Evaluarea modificărilor produse în conținutul unor componente biologice active majore (proteinele, ficobiliproteinele, glucidele, lipidele) din biomasă pe fondul seleniului și germaniului acumulat de către spirulina; Elaborarea procedeeleor de cultivare a spirulinei în condițiile care asigură obținerea unei biomase cu conținut sporit de seleniu și germaniu biotransformate; Elaborarea schemelor tehnologice de obținere în cadrul unui singur flux a produselor (preparatelor și suplimentelor) ce conțin seleniul și/sau germaniul ca parte componentă efectivă.

Noutatea și originalitatea științifică: Au fost selectați compușii Se (IV) și Ge (IV), și stabilite limitele de concentrații și parametrii optimați care asigură nivelul maximal de acumulare a seleniului și respectiv, a germaniului de către tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11, și care nu afectează producerea de biomasă, compoziția biochimică și nivelul de siguranță (confirmat prin testul DAM) al acestei biomase. S-a demonstrat natura bioorganică a seleniului și germaniului acumulat în biomasa de spirulină prin nivelul înalt de repartizare a acestor elemente în fracțiile biologice active (aminoacizi, oligopeptide, proteine, lipide și glucide).

Rezultatul obținut care contribuie la soluționarea unei probleme științifice importante constă în fundamentarea științifică a capacității tulpinii cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 de a acumula și biotransforma seleniul și germaniul din compuși chimici, ceea ce a condus la elaborarea unor procedee noi de obținere a biomasei de spirulină îmbogățite cu seleniu și/sau germaniu, fapt ce a permis obținerea din această biomasă, în cadrul unui singur flux tehnologic, a preparatelor noi cu conținut sporit al acestor elemente de importanță biologică.

Semnificația teoretică: Au fost acumulate date noi despre caracterul acțiunii unor compuși chimici ai Se (IV) și Ge (IV) asupra capacității de producere a biomasei de către tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11, precum și despre nivelul și condițiile de acumulare a seleniului și germaniului de către această tulpină. Au fost elucidate modificările în compoziția biochimică, conținutul produselor degradării oxidative a lipidelor și în nivelul activității antioxidante pe parcursul procesului de acumulare a seleniului și germaniului de către spirulina.

Valoarea aplicativă: Au fost elaborate 3 procedee de obținere a biomasei de spirulină îmbogățită cu seleniu și/sau germaniu; Au fost elaborate schemele tehnologice de obținere în cadrul unui singur flux de fabricare a 9 variante de preparate noi cu conținut sporit de seleniu și/sau germaniu. Selenura de germaniu oferă oportunitatea obținerii în baza biomasei de spirulină a materiilor prime biologice active ce conțin în cantități sporite ambele microelemente.

Implementarea rezultatelor științifice: rezultatele au fost implementate la uzina FICOTEHFARM SRL, or. Chișinău, R. Moldova (Acte de implementare Nr. 01-11/2017 și Nr. 02-11/2017 din 30.11.2017).

АННОТАЦИЯ

Джур Светлана: “Биотехнологии получения препаратов с повышенным содержанием селена и германия на основе биомассы спироулины”. Диссертация кандидата биологических наук, Кишинев, 2021.

Структура диссертации: введение, четыре главы, выводы и рекомендации, список литературы из 332 источников, 3 приложения, 122 страницы основного текста, 24 рисунка, 20 таблиц. Полученные результаты опубликованы в 22 научных работах.

Ключевые слова: *Arthrospira platensis* (спироулина), биомасса, препараты, биодобавки, органический селен, органический германий.

Цель работы: разработка биотехнологий получения препаратов с повышенным содержанием селена и/или германия на основе биомассы цианобактерии *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11.

Задачи исследований: Изучение влияния некоторых неорганических соединений Se (IV), неорганических и органических соединений Ge (IV) на накопление биомассы, селена и германия штаммом цианобактерии *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11; Оценка изменения содержания основных биологически активных веществ (белков, фикобилипротеидов, углеводов, липидов) в составе биомассы на фоне накопления селена и германия; Разработка способов культивирования спироулины в условиях, обеспечивающих получение биомассы с высоким содержанием селена и германия; Разработка технологических схем получения в едином цикле производства препаратов и биодобавок, содержащих селен и/или германий в качестве их составляющей.

Научная новизна и оригинальность: Были выбраны соединения Se (IV) и Ge (IV) и установлены оптимальные пределы концентраций и параметров, обеспечивающих максимальный уровень накопления селена и германия цианобактерией *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11, которые не влияют отрицательно на продуктивность, биохимический состав и уровень безопасности биомассы (подтверждено тестом MDA). Биоорганическая природа селена и германия, аккумулятированных в биомассе спироулины, продемонстрирована высоким уровнем распределения этих элементов в биологически активных фракциях (аминокислоты, олигопептиды, белки, липиды и углеводы).

Результат, который способствует решению научной проблемы в диссертации состоит в научном обосновании способности цианобактерии *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 накапливать и биотрансформировать селен и германий из химических соединений, что способствовало разработке новых способов получения биомассы, обогащенной селеном и/или германием, что позволило получить из этой биомассы в едином технологическом цикле новые препараты с высоким содержанием этих важных элементов.

Теоретическая значимость: Были получены новые данные о характере действия некоторых химических соединений Se (IV) и Ge (IV) на продуктивность цианобактерии *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11, а также об уровне и условиях накопления этим штаммом селена и германия. Выявлены изменения биохимического состава, содержания продуктов окислительной деградации липидов и уровня антиоксидантной активности в процессе накопления в биомассе спироулины селена и германия.

Практическая ценность: разработаны 3 способа получения биомассы спироулины, обогащенной селеном и/или германием; Были разработаны схемы получения в едином технологическом цикле 9 вариантов новых препаратов с повышенным содержанием селена и/или германия. Селенид германия является перспективным для получения на основе биомассы спироулины биологически активного сырья, содержащего в больших количествах оба микроэлемента.

Внедрение научных результатов: полученные результаты были внедрены на фармацевтической фабрике FICOTENFARM SRL, г. Кишинев, Республика Молдова (Акты внедрения № 01-11/2017 и 02-11/2017 от 30.11.2017).

ANNOTATION

Djur Svetlana: „Biotechnologies for obtaining spirulina-based preparations with high selenium and germanium content”. PhD thesis in biological sciences, Chisinau, 2021.

The thesis consists of an introduction, four chapters, conclusions and recommendations, bibliography list with 332 references. It comprises 122 pages of the main text, 24 figures, 20 tables and 3 annexes. The results were published in 22 scientific papers.

Keywords: *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11, spirulina, biomass, preparations and supplements, organic selenium, organic germanium.

Aim: Development of biotechnologies for obtaining preparations with a high content of selenium and/or germanium based on biomass of cyanobacterial strain *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11.

Objectives: To establish the effect of some inorganic compounds of Se (IV), inorganic and organic compounds of Ge (IV) on biomass production and accumulation of selenium and germanium by cyanobacterial strain *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11; to assess the changes in the content of major biologically active components (proteins, phycobiliproteins, carbohydrates, lipids) in the composition of biomass on background of selenium and germanium accumulated by spirulina; to elaborate proceedings for spirulina cultivation under conditions that ensure the production of biomass with high content of biotransformed selenium and germanium; to develop technological schemes for one-stage production of preparations and supplements containing selenium and/or germanium as an effective component.

Scientific novelty: The compounds Se (IV) and Ge (IV) have been selected, and their concentration limits and optimal parameters ensuring the maximum level of selenium and germanium accumulation by cyanobacterial strain *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11, which do not affect productivity, biochemical composition and safety aspects (confirmed by the MDA test) of biomass production. The bioorganic nature of selenium and germanium accumulated in spirulina biomass was demonstrated by the high level of distribution of these elements in biologically active fractions (amino acids, oligopeptides, proteins, lipids and carbohydrates).

Solved scientific problem: *scientific foundation* of the capacity of cyanobacterium *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 strain to accumulate and biotransform selenium and germanium from chemical compounds *that led to* the elaboration of new *proceedings* for obtaining spirulina biomass enriched with selenium and/or germanium, *which allowed* one-stage production of new preparations with a high content of these biologically important elements.

Theoretical significance: New data have been accumulated about the action of chemical compounds Se (IV) and Ge (IV) on the productivity of cyanobacterium *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11, as well as the level and conditions of selenium and germanium accumulation by this strain. Changes in biochemical composition, content of lipid oxidation products, and antioxidant activity of biomass in the process of selenium and germanium accumulation by spirulina were revealed.

Applicative value: There have been developed 3 new *proceedings* to obtain selenium and/or germanium enriched spirulina biomass. The technological schemes with a single manufacturing cycle for 9 new preparation variants with high selenium and/or germanium content were elaborated. Germanium selenide offers the opportunity to obtain biologically active raw materials containing increased quantities of both trace elements based on spirulina biomass.

Implementation of scientific results: the results were implemented at FICOTEHFARM SRL, Chisinau, Republic of Moldova (Implementation Acts No. 01-11/2017 and No. 02-11/2017 of 30.11.2017).

DJUR SVETLANA

**BIOTEHNOLOGII DE OBȚINERE A PREPARATELOR CU CONȚINUT
SPORIT DE SELENIU ȘI GERMANIU ÎN BAZA BIOMASEI DE
SPIRULINĂ**

167.01. BIOTEHNOLOGIE, BIONANOTEHNOLOGIE

Rezumatul tezei de doctor în științe biologice

Aprobat spre tipar: 16.06.2021	Formatul hârtiei 60×84 1/16
Hârtie offset. Tipar offset.	Tirajul 50 ex.
Coli de tipar: 2,0	Comanda nr. 127/21

**Tipografia „SOFART-STUDIO” str. Calea Ieșilor 10, Chișinău, MD-2069,
Republica Moldova**