

RECEPȚIONAT

Agencia Națională pentru

Cercetare și Dezvoltare

” ” 2024

AVIZAT

Secția AȘM

” ” 2024

RAPORT ȘTIINȚIFIC ANUAL 2024
privind implementarea proiectului din cadrul concursului
”Stimularea excelenței în cercetare”

Proiectul **Stresul oxidativ ca instrument biotehnologic pentru producerea**
antioxidantului natural - astaxantina

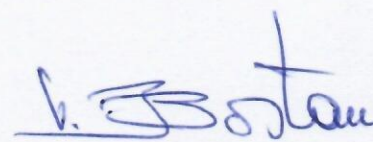
Cifra proiectului **24.80012.7007.08SE**

Prioritatea Strategică **III „Biotehnologii și Protecția Mediului”**

Rector U.T.M.

dr. hab. Viorel BOSTAN

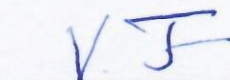
(numele, prenumele)


(semnătura)

Președintele
Consiliului științific UTM

dr. hab. Vasile TRONCIU

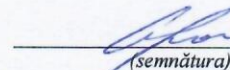
(numele, prenumele)

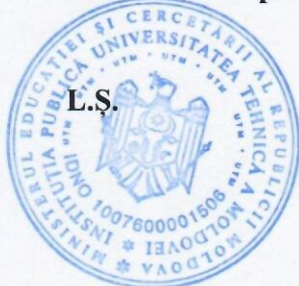

(semnătura)

Conducătorul proiectului

dr.hab. Liliana CEPOI

(numele, prenumele)


(semnătura)



Chișinău 2024

CUPRINS:

1	Scopul etapei 2024	3
2	Obiectivele etapei 2024	3
3	Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor etapei 2024	3
4	Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor etapei 2024	3
5	Rezultatele obținute	4
6	Diseminarea rezultatelor la foruri științifice	7
7	Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului 2024	7
8	Colaborare la nivel național în cadrul implementării proiectului 2024	8
9	Colaborare la nivel internațional în cadrul implementării proiectului 2024	
10	Dificultăți în realizarea proiectului: financiare, organizatorice, legate de resursele umane	8
11	Recomandări, propuneri	8
12	Lista lucrărilor științifice, științifico-metodice și didactice publicate în anul 2024 (Anexa 1)	9
13	Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect 2024 în limba română și în limba engleză (Anexa 2)	11
14	Executarea devizului de cheltuieli din contractul de finanțare pentru anul 2024 (Anexa 3)	13
15	Componenta echipei conform contractului de finanțare pentru anul 2024 (Anexa 4)	14

1. Scopul etapei 2024 conform proiectului depus la concurs (obligatoriu)

Stabilirea caracterului acțiunii nanoparticulelor de argint asupra culturii de *Haematococcus pluvialis* și acumulării de astaxantină în dependență de dimensiunea și concentrația nanoparticulelor.

2. Obiectivele etapei 2024 (obligatoriu)

1. Stabilirea răspunsului microalgei *Haematococcus pluvialis* la acțiunea nanoparticulelor de argint în dependență de dimensiunea și concentrația acestora;
2. Monitorizarea instalării stresului oxidativ în cultura microalgă în dependență de dimensiunea și concentrația acestora;

3. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor etapei 2024 (obligatoriu)

1. Identificarea reacțiilor de răspuns a microalgei *Haematococcus pluvialis* la acțiunea stresului oxidativ generat de prezența nanoparticulelor de argint în dependență de dimensiunea și concentrația acestora;
2. Elaborarea metodei de monitorizare a intensității stresului oxidativ aplicat în scop de creștere a cantității de astaxantină în biomasa de *Haematococcus pluvialis* și de apreciere a calității produsului ficologic

4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor etapei 2024 (obligatoriu)

1. Au fost identificate reacțiile de răspuns a microalgei *Haematococcus pluvialis* la acțiunea stresului oxidativ generat de prezența nanoparticulelor de argint în dependență de dimensiunea și concentrația acestora prin:
 - a. Identificarea parametrilor stresului oxidativ la *Haematococcus pluvialis*, utili pentru monitorizarea nivelului de stres (activitatea antioxidantă);
 - b. Montarea experiențelor pentru determinarea acțiunii nanoparticulelor de argint asupra parametrilor stresului oxidativ la *Haematococcus pluvialis*;
 - c. Realizarea testelor biochimice în vederea stabilirii efectelor nanoparticulelor de argint asupra parametrilor stresului oxidativ la *Haematococcus pluvialis*;
 - d. Selectarea variantelor optime de inducere a stresului oxidativ cu aplicarea nanoparticulelor de argint în scopul obținerii cantității maxime de astaxantină.
2. A fost elaborată metoda de monitorizare a intensității stresului oxidativ aplicat în scop de creștere a cantității de astaxantină în biomasa de *Haematococcus pluvialis* și de apreciere a calității produsului ficologic în baza analizei datelor obținute și a identificării parametrilor de control.

3. Rezultatele obținute (descriere narativă 3-5 pagini) (obligatoriu)

Microalga verde *Haematococcus pluvialis* (*H. pluvialis*) este unul dintre cei mai cunoscuți producători de astaxantină, un carotinoid cu proprietăți antioxidante superioare. Astaxantina a demonstrat efecte antiinflamatoare, antitumorale, antidiabetice și imunomodulatoare. Astaxantina este utilizată în industria farmaceutică, nutraceutică, cosmetică și alimentară. Tehnologiile aplicate microalgei *H. pluvialis* în scopul producerii de astaxantină, includ modelări ale condițiilor de cultivare cum ar fi pH-ul, temperatura și intensitatea iluminării, precum și modificarea componenței minerale a mediului de cultivare. Atât deficitul, cât și

excesul unor nutrienți poate influența semnificativ producerea biomasei și acumularea de astaxantină în celule. În același timp, cu toate că se știe, nanoparticulele pot fi aplicate pentru producerea de biomolecule de către diferite microorganisme, acestea încă nu sunt recunoscute în calitate de instrumente de dirijare a proceselor biotehnologice.

În cadrul proiectului, cercetările au fost efectuate cu utilizarea în calitate de obiect de studiu a tulpinii microalgei verzi *Haematococcus pluvialis* CNMN-AV-03 depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene, IMB al UTM. În experiențe, microalga a fost cultivată pe mediul mineral cu următoarea compoziție: NaNO_3 – 0,3 g/L; KH_2PO_4 – 0,02 g/L; K_2HPO_4 – 0,02 g/L; NaCl – 0,02 g/L; CaCl_2 – 0,05 g/L; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01 g/L; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,0001 g/L; $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,0015 g/L; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,00008 g/L; H_3BO_3 – 0,0003 g/L; $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,0003 g/L; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,0175 g/L; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,0002 g/L; EDTA – 0,0075 g/L, în vase Erlenmeyer de 100 mL, care conțineau 50 mL de cultură microalgală, la temperatura de 26°C, la iluminare constantă de 1500 lx cu agitare periodică pentru primele zece zile de cultivare. Inducerea astaxantinogenezei s-a efectuat prin iluminare cu intensitatea de 3000 lx timp de 72 ore. Nanoparticulele de argint (AgNPs) stabilizate cu citrat, cu dimensiunile de 10, 20, 40, 60, 80 și 100 nm (TEM) (SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Germania), au fost adăugate în concentrații stabilite în mediul mineral. Conținutul de biomasa colectată la finalul fazei de creștere de aplanospori roșii a fost determinat spectrofotometric, calculul cantitativ fiind realizat în baza curbei de calibrare cu utilizarea astaxantinei de puritate analitică. Conținutul de astaxantina a fost determinat în extractul etanolic din biomasa de aplanospori roșii. În scopul obținerii extractului, biomasa nativă de *H. pluvialis* a fost supusă hidrolizei acide cu HCl de 0.1N, la temperatura de 90°C timp de 10 min. Acidul rezidual a fost îndepărtat prin spălarea biomasei cu apă distilată. Pentru obținerea extractului la 10 mg biomasa aplanospori pretratați s-a adăugat 1 ml alcool etilic de 96%. Extracția astaxantinei a fost realizată în condiții de agitare continuă timp de 120 min. Calculul cantitativ a fost realizat în baza curbei de calibrare construită pentru astaxantina sintetică, după citirea absorbanței extractului la 478 nm. Conținutul de lipide în biomasă a fost determinat spectrofotometric. Pentru aceasta la cantitatea de 10 mg biomasa depigmentată cu alcool etilic se adaugă 1 ml amestec cloroform:etanol (2v:1v). Extracția lipidelor s-a realizat repetat la temperatura camerei timp de 120 min prima extracție și 60 min a doua extracție. Extractele au fost separate de biomasa și combinate. Cloroformul a fost eliminat prin evaporare. Extractul obținut a fost supus hidrolizei acide cu acid sulfuric concentrat la 90°C timp de 10 min. 0.1 ml hidrolizat a fost amestecat cu 3 ml reagent fosfo-vanilinic care reprezintă amestecul dintre 0,75 g de vanilină dizolvate în 125 mL de apă distilată și 500 ml acid fosforic concentrat. La expirarea perioadei de incubare de 10 min a fost înregistrată absorbanta la 530 nm. Calculul cantitativ a fost realizat în baza curbei de calibrare construită pentru acidul oleic.

În scopul stimulării producerii de astaxantină de către celulele de *H. pluvialis* CNMN-AV-03 a fost optimizată componența mediului nutritiv. Mediul elaborat se caracterizează printr-un conținut redus de fosfați (KH_2PO_4 – 0.02 g/L și K_3HPO_4 – 0.02 g/L), iar raportul P/N este de 0.164. În faza de aplanospori roșii, astaxantina constituie 3,0% din biomasa obținută, cu o producție totală de biomasă de 2,2-2,4 g/L și un ciclu de cultivare de 14 zile.

În condiții de deficit de nutrienți, celulele de *H. pluvialis* intră într-o stare de stres moderat, care declanșează mecanismele de protecție, inclusiv sinteza de carotenoizi pentru neutralizarea radicalilor liberi. În astfel de condiții, când cultura microalgă este supusă unui stres moderat, adăugarea unor compuși potențial toxici, cum ar fi nanoparticulele de argint (AgNPs), poate influența procesele vitale ale microalgei, inclusiv productivitatea de biomasă și astaxantină. În prezentul proiect a fost stabilit, că prezența nanoparticulelor de argint în mediul de cultivare al microalgei *H. pluvialis* a indus modificarea cantității de biomasă acumulată în faza aplanosporilor roșii.

Nanoparticulele de argint cu dimensiuni mai mari de 40 nm și mai mari au provocat o întârziere a evoluției ciclului vital al culturii de *H. pluvialis*, mediul mineral deficitar fiind un factor de amplificare a stresului oxidativ. Cultura de *H. pluvialis* a rămas la faza de aplanospori bruni. Conținutul carotenoizilor a rămas la nivelul similar inocului, ceea ce demonstrează incapacitatea celulelor de a face față stresului oxidativ. Inducerea astaxantinogenezei a fost puțin eficientă, conținutul de astaxantină a crescut cu cel mult 6-9% ($p < 0,05$) în raport cu martorul, ceea ce este tehnologic inefficient.

Adăugarea AgNPs cu dimensiunea de 10 nm la mediul mineral de cultivare al *H. pluvialis* în concentrațiile de 1,0, 5,0 și 10 mM a condus la creșteri ale cantității de biomasă cu 18,6% ($p < 0,01$), 19,8% ($p < 0,05$), și cu 14,9% ($p < 0,05$) în raport cu martorul. Concentrațiile mai mici, cuprinse între 0,01 și 0,5 mM, au determinat o creștere nesemnificativă a cantității de biomasă.

În cazul AgNPs de 20 nm, aplicate în aceleași concentrații, s-a observat o sporire a acumulării de biomasă între 17,7% și 29,8% ($p < 0,05$) comparativ cu controlul. Valorile mai ridicate ale conținutului de biomasă sunt asociate cu concentrații mai mari de nanoparticule. Astfel, aceste nanoparticule nu au prezentat efecte toxice asupra culturii de *H. pluvialis*, sugerând o bună toleranță a acestei microalge la acest tip de xenobiotic.

Sinteza și acumularea astaxantinei în biomasa microalgă a evoluat diferit față de cel de acumulare a biomasei. AgNPs de 10 nm, aplicate în concentrațiile cuprinse între 0,01 mM și 0,5 mM au dus la o creștere semnificativă a conținutului de astaxantină în biomasă. Concentrația de 0,01 mM AgNPs a determinat sporul conținutului de astaxantina cu 80% ($p < 0,01$), comparativ cu controlul. Concentrațiile de 0,1 și 0,5 mM au indus creșterea valorilor astaxantinei cu 65,9% ($p < 0,01$) și cu 50% ($p < 0,01$), respectiv. Pentru concentrațiile de 1,0-10 mM, s-a înregistrat o creștere a astaxantinei cu 37,8% ($p < 0,01$) -17% ($p < 0,01$), demonstrând astfel, că efectul stimulator depinde în mod direct de concentrația nanoparticulelor. Coeficientul Pearson $r = -0,9976$, calculat pentru relația dintre concentrațiile AgNPs 10 nm și conținutul de astaxantină prezintă o corelare negativă foarte puternică, cu toate că nivelul de astaxantină rămâne semnificativ mai mare față de martor. Astfel, în aceste condiții trendul negativ este atribuit mai degrabă amplitudinii efectului pozitiv, decât parametrului ca atare.

Pentru AgNPs cu dimensiunea de 20 nm, concentrația de 0,05 mM a dus la o creștere cu 26,8% ($p < 0,01$) a conținutului de astaxantină în biomasa microalgei. Concentrațiile de 0,1 și de 0,5 mM au determinat o creștere a conținutului pigmentului cu 45% ($p < 0,01$) și cu 62% ($p < 0,01$), respectiv, comparativ cu martorul. Prin urmare, creșterea concentrației de AgNPs în

mediul de cultivare a dus la o creștere proporțională a conținutului de astaxantină în biomasa microalgei, cu o corelație pozitivă și foarte puternică ($r = 0,9326$).

Concentrațiile de AgNPs de 20 nm, de 1,0 și 10 mM, considerate a fi mari, au indicat, de asemenea, o tendință de creștere a valorilor astaxantinei, însă efectul stimulator a fost unul moderat. Cantitățile de astaxantină obținute la concentrațiile de 1,0 și 5,0 mM au fost similare cu cele ale probei martor. Un spor cu 26.9% ($p < 0.01$) al astaxantinei a fost stabilit pentru concentrația de 10.0 mM AgNPs.

Astfel, *H. pluvialis* răspunde în două moduri distincte la prezența AgNPs în mediul de cultură, răspunsul fiind determinat de dimensiunea și concentrația nanoparticulelor. Concentrațiile mici ale ambelor tipuri de AgNPs (de 10 și 20 nm) stimulează sinteza astaxantinei: pentru AgNPs de 10 nm corelarea dintre concentrațiile nanoparticulelor și amplitudinea efectului stimulator este invers proporțională, iar pentru cele de 20 nm – direct proporțională.

În limita concentrațiilor studiate nu a fost stabilit efectul de inhibiție asupra sintezei astaxantinei, ceea ce presupune un potențial de adaptare a culturii la prezența AgNPs în mediul de creștere a microalgei. Ca dovada a acestei afirmații sunt rezultatele modificării cantității de lipide acumulate în biomasa *H. pluvialis*. Nanoparticulele de argint de 10 nm aplicate în concentrații mici au stimulat sinteza lipidelor, conținutul acestora în biomasa de aplanospori roșii crescând considerabil (concentrațiile 0.01 și 0.5 mM, au provocat o creștere a conținutului de lipide cu 53.6% ($p < 0.01$) și cu 24.7% ($p < 0.01$), respectiv). Concentrațiile nanoparticulelor de 1.0 și 5.0 mM au generat un răspuns neutru, iar în cazul concentrației de 10 mM a AgNPs s-a observat o reducere cu 17.3% ($p < 0.05$) a conținutului de lipide.

AgNPs cu dimensiunea de 20 nm, în concentrațiile 0.01 și 0.5 mM, au dus la o creștere a conținutului de lipide cu 19.6% ($p < 0.01$) și cu 46.9% ($p < 0.01$), respectiv. Concentrațiile nanoparticulelor de 5.0 și 10.0 mM au provocat o reducere cu 14.6% și 16.8% ($p < 0.05$) respectiv, a conținutului de lipide în biomasa microagala.

Corelarea efectului pozitiv asupra cantității de lipide și concentrația celor două tipuri de NPs în intervalul concentrațiilor de 0.01-0.50 mM urmează același pattern ca și în cazul astaxantinei. Astfel, în cazul AgNPs de 10 nm această corelare este negativă ($r = -0.9455$), iar în cazul AgNPs de 20 nm - pozitivă ($r = 0.9959$). Creșterea concentrației AgNPs duce la scăderea conținutului de lipide în biomasa. Corelarea dintre concentrațiile de 1-10 mM de AgNPs de ambele dimensiuni și valoarea lipidelor în biomasa aplanosporilor este puternică, negativă ($r = -0.7956$ în cazul AgNPs de 10 nm; $r = -0.7490$ în cazul AgNPs de 20 nm).

Putem afirma, că stimularea sintezei astaxantinei în celulele de hematococ, la concentrații între 0.01 și 0.5 mM nanoparticule de argint de 10 și 20 nm, este rezultatul efectului hormesis și este determinată de starea de stres oxidativ generat de prezența nanoparticulelor. Odată cu creșterea concentrației de nanoparticule în mediu, chiar dacă se observă o acumulare în limite normale ale biomasei și o cantitate înaltă de astaxantină, efectul stimulator general este anihilat, fiind observată reducerea conținutului de lipide în biomasă de aplanospori. Deoarece lipidele constituie matricea de înmagazinare a astaxantinei, reducerea cantității lor va afecta procesul tehnologic de obținere a produsului finit.

Reieșind din rezultatele obținute, în calitate de metodă de monitorizare a intensității stresului oxidativ care constă în aplicarea a 3 parametri cantitativi – cantitatea de biomasă, conținutul

de astaxantină și conținutul de lipide în biomasă la etapa de aplanospori. În calitate de parametru limitativ se aplică conținutul de lipide, iar limita intensității acceptabile a stresului oxidativ este determinată de punctul de egalare cu zero a efectului stimulator asupra acestui parametru. În condițiile menționate, nanoparticulele de argint cu dimensiunea de 10 și 20 nm pot fi utilizate în calitate de stimulatori ai sintezei astaxantinei în celulele microalgei *haematococcus pluvialis*

4. Diseminarea rezultatelor la foruri științifice (obligatoriu)

Cepoi, L., Rudi, L., Chiriac, T., Plingau, E., Djur, S., Valuta, A., Mescu, V. *The effects of Silver nanoparticles on the Microalgae Haematococcus Pluvialis* (poster). În: 16th International Conference on Nanomaterials – Research & Application, Brno, Czech Republic, 16–18 October 2024.

Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului

Impactul științific:

Studiul aduce contribuții valoroase la înțelegerea modului în care nanoparticulele de argint (AgNPs) influențează procesele metabolice din *Haematococcus pluvialis*, în special biosinteza astaxantinei, un carotenoid cu proprietăți antioxidante remarcabile.

Demonstrarea efectelor dimensiunii și concentrației nanoparticulelor asupra sintezei astaxantinei și acumulării lipidelor oferă noi perspective pentru utilizarea controlată a nanoparticulelor în biotehnologiile microalgelor.

Rezultatele furnizează date pentru studii viitoare, inclusiv optimizarea condițiilor de cultivare în scopuri comerciale și explorarea mecanismelor de stres oxidativ indus de AgNPs. Monitorizarea intensității stresului oxidativ provocat de nanoparticulele de argint prin metoda elaborată permite implementarea unui control adecvat al calității în producere.

Impactul social:

Astaxantina, având proprietăți antioxidante, antiinflamatoare, antitumorale și imunomodulatoare, are aplicații extinse în domeniul farmaceutic, nutraceutic, cosmetic și alimentar. Rezultatele cercetării susțin producția durabilă a acestui compus valoros.

Utilizarea nanoparticulelor de argint în condiții controlate demonstrează potențialul acestora în biotehnologie fără efecte toxice semnificative, reducând riscurile pentru sănătate și mediu.

Impactul economic:

Realizările pot fi integrate în tehnologii industriale pentru producerea eficientă de astaxantină, contribuind la reducerea costurilor de producție prin utilizarea unor medii de cultură optimizate și a unor concentrații precise de AgNPs.

Promovarea microalgei *Haematococcus pluvialis* ca o sursă eficientă de carotenoizi, susținută de utilizarea nanoparticulelor, poate duce la dezvoltarea unor piețe inovatoare în industriile bioeconomice.

Implementarea acestor rezultate în producția industrială poate genera locuri de muncă și susține economia circulară, în special în sectoarele biotehnologice și chimice.

5. **Colaborare la nivel național** în cadrul implementării proiectului (opțional)

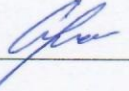
6. **Colaborare la nivel internațional** în cadrul implementării proiectului (opțional)

Am colaborat cu Institutul National De Cercetare-Dezvoltare pentru Fizica Laserilor, Plasmei și Radiației (INFLPR) (Măgurele, Romania), iar ca rezultat a fost depus un proiect la concursul de proiecte bilaterale MD-RO "Low-cost implantable/prosthetic elements coated with marine-based resources and components"

7. **Dificultățile în realizarea proiectului:** financiare, organizatorice, legate de resursele umane etc. (opțional)

Nu au fost

8. **Recomandări, propuneri** (opțional).

Conducătorul de proiect  / Cepoi Liliana

Data: 03.12.24

L.Ș.



**Lista lucrărilor științifice, științifico-metodice și didactice
publicate în anul 2024 în cadrul proiectului**

”Stresul oxidativ ca instrument în producerea antioxidantului de origine microalgă astaxantina”

1. Monografii (recomandate spre editare de consiliul științific/senatul organizației din domeniile cercetării și inovării)

1.1. monografii internaționale

1.2. monografii naționale

2. Capitle în monografii naționale/internaționale

3. Editor culegere de articole, materiale ale conferințelor naționale/internaționale

4. Articole în reviste științifice

4.1. în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS (cu indicarea factorului de impact IF)

4.2. în alte reviste din străinătate recunoscute

4.3. în reviste din Registrul National al revistelor de profil, cu indicarea categoriei

4.4. în alte reviste naționale

5. Articole în culegeri științifice naționale/internaționale

5.1. culegeri de lucrări științifice editate peste hotare

5.2 culegeri de lucrări științifice editate în Republica Moldova

6. Articole în materiale ale conferințelor științifice

6.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

Cepoi, L., Rudi, L., Chiriac, T., et al. *The effects of Silver nanoparticles on the Microalgae Haematococcus Pluvialis*. În: 16th International Conference on Nanomaterials – Research & Application, Brno, Czech Republic, 16–18 October 2024. Nanocon 2024 (în tipar)

6.2. în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

6.3. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

6.4. în lucrările conferințelor științifice naționale

7. Teze ale conferințelor științifice

7.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

- **Cepoi, L., Rudi, L., Chiriac, T., et al. *The effects of Silver nanoparticles on the Microalgae Haematococcus Pluvialis*. În: 16th International Conference on Nanomaterials – Research & Application, Brno, Czech Republic, 16–18 October 2024. Nanocon 2024, Abstracts, p. 91. <https://nanocon2024.tanger.cz/en/abstracts/>**

7.2. în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

7.3. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

7.4. în lucrările conferințelor științifice naționale

Notă: vor fi considerate teze și nu articole materialele care au un volum de până la 0,25 c.a.

8. Alte lucrări științifice (recomandate spre editare de o instituție acreditată în domeniu)

8.1. cărți (cu caracter informativ)

8.2. enciclopedii, dicționare

8.3. atlase, hărți, albume, cataloage, tabele etc. (ca produse ale cercetării științifice)

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

10. Lucrări științifico-metodice și didactice

10.1. manuale pentru învățământul preuniversitar (aprobate de ministerul de resort)

10.2. manuale pentru învățământul universitar (aprobate de consiliul științific /senatul instituției)

10.3. alte lucrări științifico-metodice și didactice

Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect în anul 2024

Proiectul are ca scop stabilirea caracterului acțiunii nanoparticulelor de argint (AgNPs) asupra culturii microalgei *Haematococcus pluvialis*, cu accent pe acumularea de astaxantină, în funcție de dimensiunea și concentrația nanoparticulelor. Studiul urmărește atât răspunsul biologic al microalgei la stresul oxidativ indus, cât și identificarea parametrilor relevanți pentru monitorizarea și optimizarea acestuia. Microalga *Haematococcus pluvialis* este un cunoscut producător de astaxantină, carotinoid cu proprietăți antioxidante, antiinflamatoare, antitumorale și imunomodulatoare, utilizat în diverse industrii. Studiile s-au concentrat pe tulpina CNMN-AV-03, cultivată în mediu mineral optimizat cu pH controlat, temperatură de 26°C, iluminare de 1500 lx și stimulare la 3000 lx pentru inducerea astaxantinogenezei.

Nanoparticulele de argint (AgNPs) stabilizate cu citrat (10-100 nm) au fost aplicate pentru optimizarea sintezei de astaxantină și biomasa algală. AgNPs de 10 nm au stimulat biomasa cu până la 19,8%, iar cele de 20 nm au crescut biomasa cu până la 29,8%. Efectele variate au fost influențate de concentrația nanoparticulelor: concentrații mici (0,01-0,5 mM) au crescut semnificativ sinteza astaxantinei, în timp ce cele mari (1-10 mM) au avut un efect moderat sau neutru. Concentrația de 0,01 mM AgNPs de 10 nm a condus la o creștere cu 80% a conținutului de astaxantină, iar concentrațiile similare de 20 nm au determinat creșteri de până la 62%. Corelările între concentrația nanoparticulelor și efectele lor au fost puternic negative pentru AgNPs de 10 nm ($r = -0,9976$) și pozitive pentru cele de 20 nm ($r = 0,9326$).

Nanoparticulele au influențat și conținutul lipidic din biomasa algală. AgNPs de 10 nm au crescut lipidele cu 53,6% la concentrații mici, dar concentrațiile mai mari au redus lipidele cu până la 17,3%. Pentru AgNPs de 20 nm, creșteri lipidice similare au fost observate la 0,01-0,5 mM, dar concentrațiile mari au cauzat reduceri lipidice de până la 16,8%. Acest lucru indică o relație invers proporțională între concentrațiile mari de nanoparticule și acumularea lipidelor, ceea ce poate afecta tehnologic stocarea astaxantinei, matrice dependentă de lipide.

Efectele observate au fost atribuite stresului oxidativ moderat, generat de nanoparticule. Acesta a stimulat sinteza astaxantinei la concentrații mici (efect de tip hormesis), dar la concentrații mari a fost contrabalansat de reducerea lipidelor. Ca metodă de monitorizare a stresului oxidativ, au fost evaluați trei parametri: biomasa, conținutul de astaxantină și lipide. Parametrul limitativ a fost identificat drept conținutul lipidic, iar limita stresului acceptabil a fost punctul unde efectul stimulator devine nul.

Rezultatele obținute au evidențiat că AgNPs de 10 și 20 nm, în concentrații mici, pot fi utilizate eficient ca stimulatori ai sintezei de astaxantină în *H. pluvialis*, fără a afecta negativ biomasa sau tehnologia de producție. Metoda elaborată pentru monitorizarea stresului oxidativ reprezintă un instrument valoros în optimizarea producției de astaxantină, asigurând atât cantitatea maximă de pigment acumulat, cât și calitatea superioară a biomasei microalgale. Rezultatele sugerează.

Conducătorul de proiect Cepoi Liliana

Data: 03.12.24

LȘ

Summary of Activities and Results Achieved in the Project in 2024

The project aims to establish the effects of silver nanoparticles (AgNPs) on the *Haematococcus pluvialis* microalgae culture, focusing on astaxanthin accumulation depending on nanoparticle size and concentration. The study investigates both the biological response of the microalgae to induced oxidative stress and the identification of relevant parameters for monitoring and optimizing this process. *Haematococcus pluvialis* is a well-known producer of astaxanthin, a carotenoid with antioxidant, anti-inflammatory, antitumor, and immunomodulatory properties, widely used across various industries. The research focused on the CNMN-AV-03 strain, cultivated in optimized mineral media with controlled pH, a temperature of 26°C, illumination at 1500 lx, and stimulation at 3000 lx to induce astaxanthinogenesis.

Silver nanoparticles (AgNPs) stabilized with citrate (10–100 nm) were applied to optimize astaxanthin synthesis and algal biomass. AgNPs of 10 nm increased biomass by up to 19.8%, while 20 nm AgNPs resulted in a 29.8% increase. The effects varied depending on nanoparticle concentration: low concentrations (0.01–0.5 mM) significantly boosted astaxanthin synthesis, while higher concentrations (1–10 mM) had moderate or neutral effects. A concentration of 0.01 mM of 10 nm AgNPs led to an 80% increase in astaxanthin content, while similar concentrations of 20 nm AgNPs achieved increases of up to 62%. Correlations between nanoparticle concentration and their effects were strongly negative for 10 nm AgNPs ($r = -0.9976$) and positive for 20 nm AgNPs ($r = 0.9326$).

Nanoparticles also influenced the lipid content of the algal biomass. AgNPs of 10 nm increased lipid content by 53.6% at low concentrations, but higher concentrations reduced lipids by up to 17.3%. For 20 nm AgNPs, similar lipid increases were observed at 0.01–0.5 mM, while higher concentrations caused lipid reductions of up to 16.8%. This indicates an inverse relationship between high nanoparticle concentrations and lipid accumulation, which could technologically impact the storage of astaxanthin, a lipid-dependent matrix.

The observed effects were attributed to moderate oxidative stress induced by nanoparticles. This stress stimulated astaxanthin synthesis at low concentrations (hormesis effect), but at higher concentrations, it was counteracted by reduced lipid levels. Three parameters were evaluated to monitor oxidative stress: biomass, astaxanthin content, and lipids. The limiting factor was identified as lipid content, and the threshold of acceptable stress was defined as the point where the stimulatory effect became null.

The results revealed that 10 and 20 nm AgNPs, at low concentrations, can be effectively used as stimulators of astaxanthin synthesis in *H. pluvialis* without negatively impacting biomass or production technology. The method developed for monitoring oxidative stress serves as a valuable tool for optimizing astaxanthin production, ensuring maximum pigment yield and superior quality of microalgal biomass. The findings highlight the potential of controlled AgNP applications for enhancing industrial production processes.

Project manager Cepoi Liliana

Date: 03.12.24

LS

Anexa 3 (obligatoriu)

Executarea devizului de cheltuieli,

conform anexei nr. 2.3 din contractul de finanțare pentru anul 2024

Cifrul proiectului 24.80012.7007.08SE

Cheltuieli, mii lei				
Denumirea	Cod		Anul de gestiune 2024	
	Eco (k6)	Aprobat	Modificat +/-	Precizat
Deplasări de serviciu în interiorul țării	222710			
Deplasări de serviciu peste hotare	222720			
Servicii editoriale	222910			
Servicii de cercetări științifice contractate	222930	56,5		56,5
Servicii poștale	222980			
Servicii neatribuite altor aliniate (<i>Salarizare cumul extern</i>)	222999			
Servicii neatribuite altor aliniate	222999			
Alte cheltuieli în bază de contracte cu persoane fizice	281600			
Cheltuieli curente neatribuite la alte categorii	281900	11,3		11,3
Procurarea mașinilor și utilajelor	314110			
Procurarea activelor nemateriale	317110			
Procurarea combustibilului, carburanților și lubrifiantilor	331110			
Procurarea produselor alimentare	333110			
Procurarea materialelor pentru scopuri didactice, științifice și alte scopuri	335110	32,2		32,2
Procurarea materiale de uz gospodăresc și rechizite de birou	336110			
TOTAL		100,0		100,0

Notă: În tabel se prezintă doar categoriile de cheltuieli din contract ce sunt în execuție și modificările aprobate (după caz)

Rector U.T.M.


(semnătura)

dr. hab. Viorel BOSTAN

(numele, prenumele)

Contabil (economist)


(semnătura)

Victoria IOVU

(numele, prenumele)

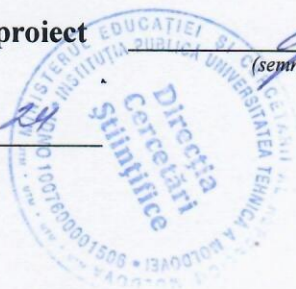
Conducătorul de proiect


(semnătura)

dr.hab. Liliana CEPOI

(numele, prenumele)

Data: 03.12.24
LȘ



Anexa 4 (obligatoriu)

Componenta echipei conform contractului de finanțare 2024

Cifrul proiectului 24.80012.7007.08SE

Echipa proiectului conform contractului de finanțare (la semnarea contractului) pentru 2024						
Nr	Nume, prenume (conform contractului de finanțare)	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării	Data eliberării
1.	Cepoi Liliana	1967	dr.	0,25	15.07.2024	31.12.2024
2.	Rudi Ludmila	1964	dr.	0,25	15.07.2024	31.12.2024
3.	Chiriac Tatiana	1970	dr.	0,25	15.07.2024	31.12.2024

Modificări în componența echipei pe parcursul anului 2024					
Nr	Nume, prenume	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării
1.					

Rector U.T.M.

V. J.

(semnătura)

dr. hab. Viorel BOSTAN

(numele, prenumele)

Contabil (economist)

V. Iovu

(semnătura)

Victoria IOVU

(numele, prenumele)

Conducătorul de proiect

L. Cepoi

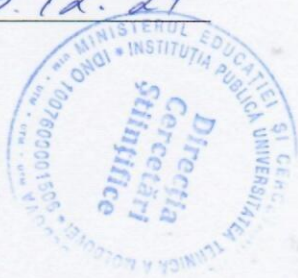
(semnătura)

dr.hab. Liliana CEPOI

(numele, prenumele)

Data: 03.12.24

LȘ





**EXTRAS din Procesul Verbal
al ședinței Consiliului Științific UTM
din 06 decembrie 2024**

Prezenți: 14 membri ai Consiliului științific al UTM – Vasile Tronciu, *Prorector pentru cercetare, prof. univ., dr. hab.*; Bostan Ion, *Academician AȘM, prof. univ., dr. hab.*; Bostan Viorel, *Rector UTM, prof. univ., dr. hab.*; Siminiuc Rodica, *Directoare a ȘD UTM, conf. univ, dr.*; Sturza Rodica, *Membru cor. AȘM, prof. univ., dr. hab.*; Ghendov-Moșanu Aliona, *conf. univ., dr. hab.*; Țurcanu Dinu, *dr., conf. univ.*; Cepoi Liliana, *Director, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al UTM, conf.univ., dr.*; Gheorghiță Maria, *prof. univ., dr.*; Monaico Eduard; *dr., conf. cercet.*; Țîrșu Mihai; *Director Institutul de Energetică UTM, conf. univ., dr.*; Popovici Mihail, *conf. univ., dr.*; Caisîn Larisa, *prof. univ., dr. hab.*; Muntean Viorel, *Doctorand UTM*

S-A DISCUTAT: audierea rezultatelor științifice obținute pe parcursul anului 2024 al proiectului din cadrul Concursului „Stimularea excelenței în cercetare”: 24.80012.7007.08SE „*Stresul oxidativ ca instrument biotehnologic pentru producerea antioxidantului natural - astaxantina*”, Conducător de proiect: *dr. hab. Liliana CEPOI*.

S-A DECIS: aprobarea rezultatelor științifice obținute pe parcursul anului 2024 al proiectului din cadrul Concursului „Stimularea excelenței în cercetare”: 24.80012.7007.08SE „*Stresul oxidativ ca instrument biotehnologic pentru producerea antioxidantului natural - astaxantina*”, Conducător de proiect: *dr. hab. Liliana CEPOI*.



Președinte al CȘ UTM,
Vasile TRONCIU, dr. hab., prof. univ.

Secretar al CȘ UTM,
Rodica SIMINIUC, dr., conf. univ.