

# MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE

<https://doi.org/10.52388/1857-064X.2022.1.10>

## UNELE PARTICULARITĂȚI ALE RĂSPUNSULUI MICROALGEI *PORPHYRIDIVM CRUENTUM* LA ACȚIUNEA NANOPARTICULELOR DE ARGINT ȘI AUR STABILIZATE ÎN CITRAT

Rudi Ludmila, Cepoi Liliana, Chiriac Tatiana, Valuța Ana, Djur Svetlana, Miscu Vera, Zosim Liliana, Codreanu Liviu, Rudic Valeriu

*Institutul de Microbiologie și Biotehnologie*

### Rezumat

În articol sunt expuse rezultatele referitor la unele particularități ale răspunsului microalgei *Porphyridium cruentum* la acțiunea nanoparticulelor de argint și aur cu dimensiunile de 10 nm și 20 nm, stabilizate în citrat. A fost stabilit că nanoparticulele testate, suplimentate la mediul de cultivare a microalgei *P. cruentum* la începutul fazei de latență, nu modifică esențial productivitatea pe durata unui ciclu de cultivare. Efectul acestui tip de nanoparticule asupra sintezei clorofilei  $\alpha$  și  $\beta$  - carotenului pe durata unui ciclu de cultivare a porfiridiumului se manifestă în funcție de dimensiunile și concentrațiile aplicate.

*Cuvinte cheie:* nanoparticule de argint, nanoparticule de aur, citrat, *Porphyridium cruentum*, biomasă, clorofila  $\alpha$ ,  $\beta$ -caroten.

*Depus la redacție :* 03 mai 2022

-----  
*Adresa pentru corespondență.* Rudi Ludmila, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, str. Academiei, 1, MD-2028 Chișinău, R. Moldova, e-mail: [rudiludmila@gmail.com](mailto:rudiludmila@gmail.com)

### Introducere

Nanoparticulele diferitor metale sunt printre cele mai studiate și discutate obiecte ale ultimelor decenii. Datorită proprietăților lor chimice, fizice, optice și biologice, nanoparticulele metalice atribuie noi însușiri materialelor și proceselor și ocupă diverse arii de utilizare: de la produsele de consum zilnic, la părți componente ale tehnologiilor industriale [8, 12].

Din varietatea de nanoparticule metalice explorate în prezent, nanoparticulele de argint (AgNP) și de aur (AuNP) se remarcă printr-o funcționalitate multiplă și proprietăți unice. Efectele antibacteriene ale AgNP au determinat utilizarea lor în ambalajele pentru produsele alimentare și pansamente, în produsele cosmetice, ca agenți de curățare și aditivi alimentari, în diverse electronice și dispozitive medicale [4]. AuNP, la fel, sunt cunoscute pentru diverse aplicații medicale și activități biologice [5].

Dezvoltarea nanomaterialelor în diverse scopuri a condiționat utilizarea, în ultimii ani, a cianobacteriilor și microalgelor în calitate de matrice pentru biosinteza nanoparticulelor, cât și în calitate de modele pentru aprecierea toxicității lor [10, 20]. Pornind de la unele proprietăți biologice distincte ale nanoparticulelor, au fost inițiate cercetări pentru a stabili oportunitatea încadrării lor în calitate de stimulatori în tehnologiile de cultivare a cianobacteriilor și microalgelor [3, 8, 10, 12, 17, 23].

Cianobacteriile și microalgele prezintă interes și în calitate de agenți pentru biofuncționalizarea nanoparticulelor de sinteză inginerescă în scopul reducerii toxicității acestora pentru organismele vii. Spre exemplu, nanoparticulele de argint stabilizate în polietilen glicol biofuncționalizate cu ajutorul *Spirulina platensis* s-au dovedit a fi mai puțin toxice pentru șobolanii experimentali decât cele sintetice [16].

Toxicitatea nanoparticulelor are la bază inducerea unui deficit al sistemului fotosintetic microalgal, severitatea acestuia fiind dependentă de doza și dimensiunea nanoparticulelor [20, 22]. Au fost înregistrate efecte de stimulare a sintezei pigmentilor fotosintetici fără afectarea productivității culturii microalgale [8]. Răspunsul celular la prezența nanoparticulelor în mediul de cultivare depinde și de cultura microalgală. Microalga roșie *Porphyridium cruentum* face parte din potențialul ficobiotehnic de interes tehnologic industrial. *Porphyridium cruentum* este sursa și producător recunoscut al unor astfel de compuși biologic activi valoroși ca ficobiliproteinele, acizii grași polienici omega-3, polizaharidele sulfatate ș.a. Cu referire la interacțiunea porfiridiumului cu nanoparticulele, în studii realizate anterior s-a demonstrat, că această cultură microalgală poate servi drept matrice pentru biosinteza verde a nanoparticulelor de argint [1]. A fost stabilit efectul stimulator ale nanoparticulelor de selenid de cadmiu asupra procesului de producere a biomasei, prin implicarea, probabil, a unui sistem hibrid dintre aceste nanoparticule și pigmentul ficoeritrina, care captează eficient lumina [18]. De asemenea, s-a demonstrat lipsa toxicității nanoparticulelor de aur cu dimensiunea de 5 nm și 10 nm asupra porfiridiumului, confirmată prin păstrarea unui nivel adecvat al productivității și a cantității de proteine, sporirea sintezei de ficobiliproteine și polizaharide în biomasă [2, 17].

În acest studiu ne-am propus drept scop evidențierea unor particularități ale răspunsului microalgei *Porphyridium cruentum* la acțiunea nanoparticulelor de argint și de aur cu dimensiunile de 10 nm și 20 nm, stabilizate în citrat.

### Materiale și metode

Cercetările au fost efectuate pe tulpina *Porphyridium cruentum* CNMN-AR-01 (porfiridium), depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene (Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Chișinău, Republica Moldova). Porfiridiumul a fost cultivat pe mediul mineral Brody cu următoarea compoziție: macroelemente (în g/L): KCl - 16,04; NaCl-12,52; KNO<sub>3</sub> - 1,24; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 2,5; CaCl<sub>2</sub> - 0,118; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O - 0,5; KI - 0,05; KBr - 0,05; 1ml soluție de microelemente ce conține (mg/L (mediu): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>-2,86; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O - 1,81; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O - 0,08; MoO<sub>3</sub> - 0,015); FeEDTA - 0,5ml/L. Pe durata de cultivare experimentală au fost respectați parametrii specifici pentru cultura dată: cantitatea de cultură start – 0,55 - 0,6 g/L BAU; temperatura de cultivare - 25-28°C, pH-ul optim al mediului 6,8-7,2, iluminarea continuă de 50 - 57 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Cultivarea a fost efectuată în baloane Erlenmayer de 100 mL, cu volumul de lucru de 50 mL; Durata ciclului de cultivare 14 zile.

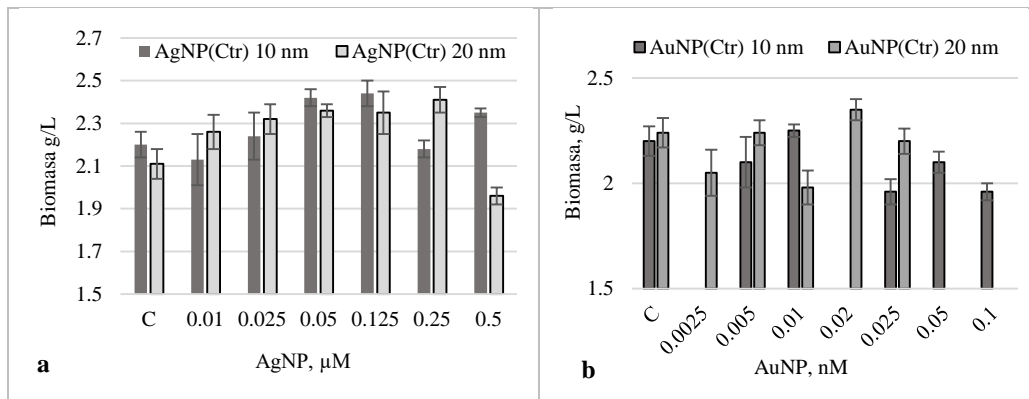
Au fost utilizate nanoparticulele de argint (AgNP) și de aur (AuNP) cu dimensiunea de 10 nm și 20 nm, stabilizate în citrat (Ctr) (Merck).

Conținutul de biomasă microalgală a fost determinat spectrofotometric în baza absorbției suspensiei colorate și stabile cu recalculul biomasei absolut uscate conform curbei de calibrare [20]. Pigmenții clorofila *a* și *β* -carotenul au fost cuantificați în biomasa de porfiridium prin determinarea valorilor maxime ale absorbției, specifice pentru extractul etanolic de pigmenți (clorofila *a* și *β* -carotenul) cu calculul cantitativ în baza formulei cu aplicarea coeficientului de extincție [14, 21].

### Rezultate și discuții

Nanoparticulele de argint stabilizate în citrat - AgNP(Ctr) de ambele dimensiuni testate au fost suplimentate la mediul de cultivare a microalgei *P. cruentum* în concentrații de la 0,01  $\mu\text{M}$  până la 0,5  $\mu\text{M}$ . Pentru nanoparticulele de Au au fost selectate concentrații diferite în dependență de dimensiunea lor care a determinat numărul lor în suspensiile utilizate. Astfel, nanoparticulele de aur stabilizate în citrat - AuNP(Ctr) cu dimensiunea de 10 nm au fost aplicate în concentrații de la 0,005 până la 0,1 nM, iar cele cu dimensiunea de 20 nm - în concentrații de la 0,0025 până la 0,025 nM. Ambele tipuri de nanoparticule au fost suplimentate la mediul nutritiv din prima zi de cultivare a microalgei. La finele ciclului de cultivare au fost stabilite și analizate modificările produse în conținutul de biomasă și a pigmentilor clorofila *a* și  $\beta$  - carotenul.

Productivitatea microalgei nu s-a modificat semnificativ la prezența în mediul de cultivare a AgNP(Ctr) și AuNP(Ctr), oscilând în limita proprietăților fiziologice ale tulpinii date de microalgă cu valori cuprinse între 1,9 și 2,6 g/L biomasă (fig. 1). Au fost determinate unele oscilări în acumularea de biomasă în probele experimentale față de probele control în dependență de concentrațiile nanoparticulelor utilizate.

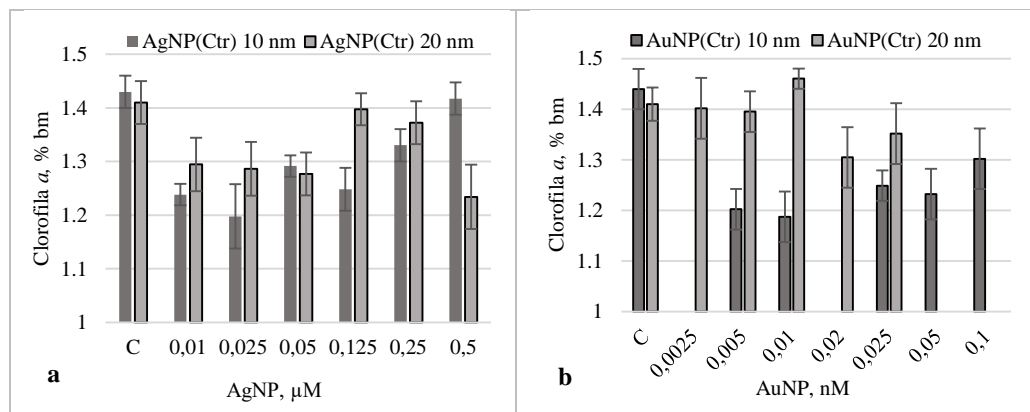


**Figura 1. Modificarea conținutului de biomasă, produsă de către microalga *P. cruentum* la acțiunea (a) AgNP(Ctr) și (b) AuNP(Ctr) cu dimensiunile de 10 nm și 20 nm în limita concentrațiilor aplicate, C - proba control**

Conținutul de biomasă microalgă a crescut, astfel, cu 10 - 11% peste limitele probei control în cazul aplicării AgNP(Ctr) de 10 nm în concentrațiile de 0,05 și de 0,125  $\mu\text{M}$  și a AuNP(Ctr) cu dimensiunea de 20 nm în concentrația de 0,25 nM. O reducere cu 11% a conținutului de biomasă de *P. cruentum*, s-a înregistrat în variantele experimentale cu utilizarea AgNP(Ctr) cu dimensiunea de 20 nm în concentrația de 0,5  $\mu\text{M}$ , AuNP (Ctr) cu dimensiunea de 10 nm în concentrațiile cuprinse între 0,025 și 0,1 nM și a celor cu dimensiunea de 20 nm, aplicate în concentrația de 0,01 nM. Un efect similar a fost stabilit pentru nanoparticulele de Ag stabilizate în polietilen glicol - AgNP(PEG). Concentrațiile de 0,01 - 0,25  $\mu\text{M}$  AgNP(PEG) cu dimensiunea de 12 nm au indus un spor cu 10 - 11% a cantității de biomasă de *P. cruentum*. Pentru concentrațiile de 0,5 - 1,0 a fost stabilită o tendință de reducere a conținutului de biomasă microalgă [3]. Un efect de neutralitate a nanoparticulelor de Ag față de producerea de biomasă a fost înregistrat la cultivarea microalgei *Chlamydomonas reinhardtii* în prezența concentrațiilor de la 10 la 300  $\mu\text{g/L}$ . Contactul culturii microalgale cu nanoparticulele a fost de scurtă durată, de 24 ore [20]. Pentru nanoparticulele de argint stabilizate în citrat,

a fost stabilit, că acestea în concentrația de 46  $\mu\text{M}$  provoacă inhibiția creșterii microalgei *Chlamydomonas reinhardtii* în lag faza. Nanoparticulele de aur stabilizate cu citrat au provocat reducerea cu circa 50% creșterea microalgelor *Chlorella autotrophyca*, *Nannochloris atomus* și *Phaeodactylum tricorutum* [10, 12]. Cercetările impactului nanoparticulelor asupra productivității microorganismelor acvatică au ca scop evidențierea efectului toxic, care în mare măsură, depinde de dimensiunea și concentrația lor. Concentrațiile de 10 - 300  $\mu\text{g/L}$  AgNP cu dimensiunile de 2 nm și 15 nm au redus drastic producerea de biomasă în culturile de microalge *Chlamydomonas reinhardtii* și *Phaeodactylum tricorutum*. În același timp, AgNP cu dimensiunile de 30 - 50 nm în concentrațiile de 10 - 150  $\mu\text{g/L}$  au accelerat creșterea microalgei *Phaeodactylum tricorutum* [20]. Nanoparticulele de argint cu dimensiunea de 12 nm, în înveliș din polietilen glicol în concentrațiile cuprinse între 0,025 și 0,5  $\mu\text{M}$  au favorizat creșterea biomasei de *Spirulina platensis* cu 24-36%. Un spor cu 29 - 36% al productivității cianobacteriei a fost stabilit pentru aceleași concentrații de AuNP(PEG) de 5 nm. [3]. AgNP(PEG) cu dimensiunea de 5 nm, suplimentate la mediul mineral în concentrațiile de 0,054 - 0,108  $\text{mg/L}$  au stimulat cu 12-33% acumularea de biomasă de *Dunaliella salina* AuNP(PEG) fiind inerte pentru productivitatea microalgei [8]. Pentru AgNP cu dimensiunea de 12,65 nm în aceleași concentrații a fost stabilit efectul de inhibiție a creșterii microalgei *D. salina* [6].

Figura 2 prezintă modificările instalate în cantitatea de clorofilă *a* în biomasa de *P. cruentum* pe durata cultivării lui în prezența AgNP și AuNP (în concentrațiile aplicate) stabilizate în citrat.



**Figura 2. Modificarea cantității de clorofilă *a* în biomasa de *P. cruentum* la acțiunea (a) AgNP și (b) AuNP cu dimensiunea de 10 nm și 20 nm stabilizate cu citrat în limita concentrațiilor aplicate, C - proba control**

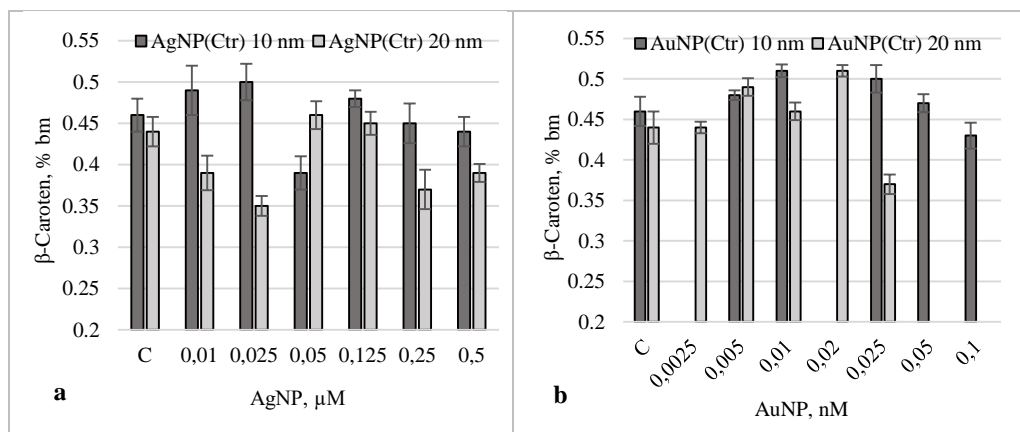
Concentrațiile mici de 0,01 - 0,125  $\mu\text{M}$  ale AgNP(10 nm) au indus scăderea cu 7 - 16% a cantității de clorofilă *a* în biomasa microalgei. Un tablou similar a fost stabilit și în cazul aplicării concentrațiilor de 0,01 - 0,05  $\mu\text{M}$  AgNP(20 nm). Scăderea conținutului de clorofilă *a* fiind cu 9% sub nivelul martorului nu este una semnificativă, dar a fost stabilită tendința de reducere a conținutului de pigment, ceea ce, posibil, este rezultatul unui proces de perturbare a activității fotosintetice a culturii. Pentru AuNP (10 nm) în concentrațiile aplicate au fost determinate reduceri cu 9 - 18% a cantității de clorofilă *a*. Scăderea acestui indice în biomasa algală a prezentat o dependență inversă față de concentrația de nanoparticule suplimentate la mediul de cultivare. AuNP (20 nm) cu

dimensiunea de 20 nm au influențat sinteza clorofilei *a* în concentrațiile de la 0,005 până la 0,025 nM.

Prin urmare, AgNP și AuNP stabilizate în citrat, își manifestă efectele asupra acumulării de clorofilă *a* în biomasa microalgei *P. cruentum* în funcție de dimensiunile și concentrațiile acestora. Un efect inhibitor a fost determinat pentru nanoparticulele de Au cu dimensiunea de 10 nm.

Impactul dimensiunii nanoparticulelor asupra cantității de clorofilă *a* a fost stabilit și în alte cercetări. Astfel, nanoparticulele de argint cu dimensiunile de 2 nm și 15 nm au redus cantitatea de clorofilă *a* în biomasa microalgelor *Chlamydomonas reinhardtii* și *Phaeodactylum tricornutum*. Nanoparticulele de argint cu dimensiunile 30 - 50 nm au stimulat sinteza clorofilei *a* în cultura de *Phaeodactylum tricornutum* și nu au modificat cantitatea pigmentului în biomasa *Chlamydomonas reinhardtii* [20]. O altă particularitate a răspunsului culturii microalgale prin dinamica clorofilei *a*, la acțiunea nanoparticulelor este concentrația utilizată a lor. Astfel, concentrațiile de 5 și 20 μg/L a nanoparticulelor de argint nu au modificat cantitatea de clorofilă *a* în biomasa *Scenedesmus sp.*, iar la concentrațiile de 100 și 200 μg/L cantitatea acestui pigment s-a redus cu peste 21%. În același timp, pentru concentrațiile de la 90 până la 1440 μg/L a nanoparticulelor de argint a fost stabilită o creștere cu 80% a cantității de clorofilă *a* în biomasa *Chlorella vulgaris* [22].

Prezintă interes pentru viabilitatea culturii *P. cruentum* dinamica pigmentului fotosintetic β - carotenul care are rolul de antioxidant cu efect accentuat reducător [11]. Modificarea cantității de β - caroten în biomasa de porfiridium s-a modificat similar cantității de clorofilă *a* în această biomasă (fig. 3).



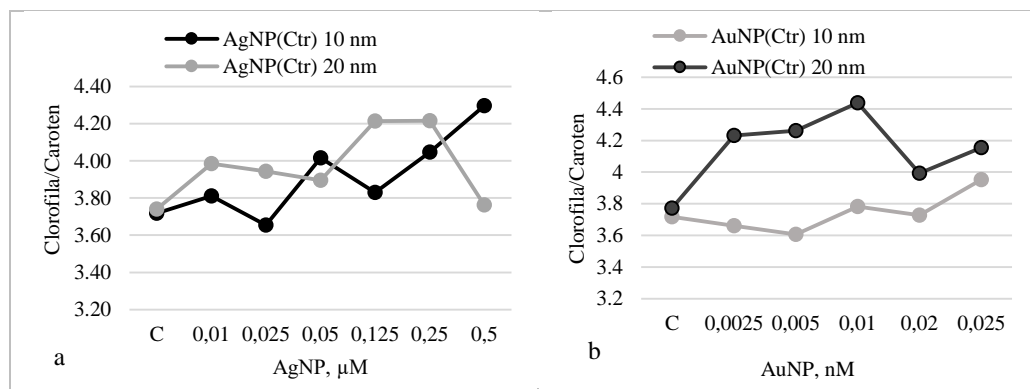
**Figura 3. Modificarea cantității de β - caroten în biomasa de *P. cruentum* la acțiunea (a) AgNP (Ctr) și (b) AuNP (Ctr) cu dimensiunile de 10 nm și 20 nm în limita concentrațiilor aplicate, C - proba control**

Concentrația de 0,05 μM a AgNP (Ctr) cu dimensiunea de 10 nm, care a determinat o reținere a sintezei clorofilei *a*, a redus cu 15 % cantitatea de β - caroten în biomasa de porfiridium. Cantitatea de β - caroten s-a micșorat cu 20 % în varianta experimentală cu aplicarea concentrației de 0,25 μM a AgNP (Ctr) cu dimensiunea de 20 nm, concentrație la care s-a redus cu 20% în biomasa microalgă și cantitatea de clorofilă *a*. În seria experimentală cu aplicarea AuNP (Ctr) cu dimensiunea de 20 nm a fost identificată concentrația de 0,025 nM, la care cantitatea β - carotenului s-a micșorat cu 16% sub nivelul valorii probei control.

Astfel, ca și în cazul clorofilei *a*, răspunsul microalgei *P. cruentum* prin sinteza și respectiv, cantitatea de  $\beta$  - caroten acumulată la acțiunea AgNP și AuNP stabilizate în citrat, se manifestă în funcție de dimensiunile și concentrațiile aplicate. Această dependență a cantității de  $\beta$  - caroten sintetizate de dimensiunile și concentrația nanoparticulelor a fost stabilită și pentru alte culturi algale. Spre exemplu, în prezența AuNP cu dimensiunea de 5 nm, cantitatea  $\beta$  - carotenului în biomasa *Chlorella zofingiensis* a crescut cu 30%, pe când în prezența acestor nanoparticule cu dimensiunile de 15 nm și 30 nm, cantitatea de pigment nu s-a modificat [7]. Atât AgNP, cât și AuNP cu dimensiunea de 5 nm stabilizate în polietilen glicol, aplicate în concentrațiile de la 0,05 până la 0,5 mg/L la cultivarea microalgei *Dunaliella salina*, au determinat creșterea cu 20 - 36% a cantității de  $\beta$  - caroten [8].

Așadar, pentru nanoparticulele de argint și aur stabilizate în citrat, cu dimensiunile și în concentrațiile aplicate nu este caracteristic un efect toxic vizibil asupra funcționării sistemului fotosintetic al *P. cruentum*. În acest caz, se poate presupune, despre funcționalizarea spontană a nanoparticulelor de argint și de aur prin fixarea lor în componentele structurale și funcționale ale culturii microalgale. Un rezultat similar a fost obținut în cazul cultivării *A. platensis* (spirulina) în prezența nanoparticulelor de argint și de aur stabilizate în polietilen glicol. Efectul toxic al nanoparticulelor a fost evitat prin modificarea vârstei culturii și reducerea timpului de contact a culturii cu nanoparticulele aplicate [15]. Biofuncționalizarea spontană presupune activarea unor sisteme celulare de protecție antioxidantă. În acest studiu, au fost stabilite unele concentrații ale nanoparticulelor aplicate care au fost aparent toxice pentru cultura de *P. cruentum*. Efectul negativ al acestor concentrații a fost exprimat prin reducerea conținutului de biomasă microalgală sau a cantității de pigmenți fotosintetici și poate constitui rezultatul unei supracompensări care este depășită la dozele mai mari de nanoparticule.

Unul dintre indicatorii care permit aprecierea funcționalității activității fotosintetice la culturile algale este raportul clorofilă / caroten. Valoarea acestui raport diferă de la o specie la alta și depinde de starea fiziologică a celulelor fotosintetice. Valoarea scăzută a raportului dintre cantitatea de clorofilă și cantitatea de caroten în biomasa microalgală este considerată un indicator al stresului instalat. Modificarea acestui raport, calculat pentru cultura de *P. cruentum*, crescută în prezența AgNP (Ctr) și AuNP (Ctr) de 10 nm și 20 nm este redată în figura 4.



**Figura 4. Modificarea raportului clorofilă / caroten, determinat în biomasa de *P. cruentum* la acțiunea (a) AgNP (Ctr) și (b) AuNP (Ctr) cu dimensiunile de 10 nm și 20 nm**

În cazul AgNP (Ctr) cu dimensiunea de 10 nm, raportul clorofilă / caroten prezintă pentru majoritatea concentrațiilor, valori mai mari comparativ cu martorul, datorită cantităților crescute de clorofilă în biomasa microalgă. Pe durata ciclului de cultivare a porfiridiumului, aceste nanoparticule, ca rezultat a integrării lor în componentele funcționale celulare, au sporit conținutul de clorofilă în biomasă. Pentru AgNP (Ctr) cu dimensiunea de 20 nm, raportul clorofilă / caroten, determinat pentru concentrația de 0,5  $\mu\text{M}$  este orientat spre reducere, ca dovadă a afectării sistemului fotosintetic sub acțiunea concentrațiilor mai mari de nanoparticule. Valoarea raportului clorofilă / caroten în cazul aplicării AuNP (Ctr) de 20 nm indică asupra unui efect de stimulare asupra sintezei și respectiv, a cantității de clorofilă acumulate în biomasă, cu conturarea acestui efect pentru concentrațiile mai mari a acestui tip de nanoparticule. AuNP (Ctr) cu dimensiunea de 10 nm și-au manifestat efectul stimulator în cazul concentrațiilor mari din șirul dozelor aplicate. Valorile crescute ale raportului clorofilă / caroten au fost stabilite pentru cultura *S. platensis* cultivată în prezența nanoparticulelor de Ag și de Au stabilizate cu polietilen glicol și care corelează cu valorile crescute ale conținutului de biomasă [3].

### Concluzii

AgNP și AuNP cu dimensiunile de 10 nm și 20 nm, stabilizate în citrat, suplimentate la mediul de cultivare a microalgei *P. cruentum* la începutul fazei de latență, nu modifică substanțial productivitatea pe durata unui ciclu de cultivare. Cantitatea de biomasă produsă cuprinde valori în limitele fiziologice ale culturii microalgale.

Pentru nanoparticulele de argint și de aur cu dimensiunile de 10 nm și 20 nm, stabilizate în citrat, nu este caracteristic un efect toxic vizibil asupra funcționării sistemului fotosintetic al *P. cruentum*. Efectul acestui tip de nanoparticule asupra producerii de clorofilă  $\alpha$  și  $\beta$  - caroten pe durata cultivării porfiridiumului este orientat spre menținerea funcționalității sistemului fotosintetic, oscilațiile cantitative manifestându-se în funcție de dimensiunile și concentrațiile aplicate.

*Rezultatele expuse în această lucrare sunt parte a proiectului de cercetare 20.80009.5007.05 „Nanoparticule metalice biofuncționalizate – obținerea cu ajutorul cianobacteriilor și microalgelor” din cadrul Programului de Stat (2020-2023), Prioritatea Strategică Materiale, tehnologii și produse inovative.*

### Bibliografie:

1. Cepoi L., Rudi L., Zinicovscaia I. et al. Biochemical changes in microalga *Porphyridium cruentum* associated with silver nanoparticles biosynthesis. Archives of Microbiology. 2021, vol. 203, p. 1547–1554.
2. Cepoi L., Zinicovscaia I., Rudi L. et al. Effects of PEG-coated silver and gold nanoparticles on spirulina platensis biomass during its growth in a closed system. Coatings. 2020, vol.8(10), p. 1-14.
3. Cepoi L.; Rudi L.; Chiriac T. et al. Silver nanoparticles as stimulators in biotechnology of *Porphyridium cruentum*. IFMBE Proceedings. Ediția a 5-a, 3-5 noiembrie 2021, Chișinău. Berlin, Germania: Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 2021, p. 530-536.
4. Duran N., Marcato P. D. Nanobiotechnology perspectives: role of nanotechnology in the food industry: a review. Int J Food Sci Technol. 2013, vol. 48, p. 1127–1134. <https://doi.org/10.3390/nano11112992>

5. Hu X., Zhang Y., Ding T. et al. Multifunctional gold nanoparticles: A novel nanomaterial for various medical applications and biological activities. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2020, vol. 8, p. 990.
6. Johari S. A., Sarkheil M., Tayemeh M. B., Shakila V. Influence of salinity on the toxicity of silver nanoparticles (AgNPs) and silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>) in halophilic microalgae, *Dunaliella salina*. *Chemosphere.* 2018, vol. 209, p. 156-162.
7. Li X., Sun H., Mao X., Lao Y., Chen F. Enhanced photosynthesis of carotenoids in microalgae driven by light - harvesting gold nanoparticles. *ACS Sustainable Chem Eng.* 2020, vol. 8, 7600-7608.
8. Maței E., Rudic V. Utilizarea nanoparticulelor de aur și argint în cultivarea microalgei *Dunaliella salina*. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții.* 2018, vol. 3(336), p. 159-165.
9. Montes M. O., Hanna S. K., Lenihan H. S., Keller A. A. Uptake, accumulation, and biotransformation of metal oxide nanoparticles by a marine suspension feeder. *J. Hazard Mater.* 2012, p. 225-226. 139e145
10. Moreno-Garrido I., Péré S., Blasco J. Toxicity of silver and gold nanoparticles on marine microalgae. *Mar. Environ. Res.* 2015, vol.111, p. 60–73.
11. Novoveská L., Ross M. E., Stanley M. S. et al. Microalgal carotenoids: A Review of production, current markets, Regulations, and Future Direction. *Mar Drugs.* 2019, vol.17(11), p. 640.
12. Perreault F., Bogdan N., Morin M., Claverie J., Popovic R. Interaction of gold nanoglycodendrimers with algal cells (*Chlamydomonas reinhardtii*) and their effect on physiological processes. *Nanotoxicology.* 2013, vol.6(2), p. 109–120.
13. Rana S., Kalaichelvan P. T. Ecotoxicity of nanoparticles. *ISRN Toxicol.* 2013.
14. Rodriguez-Amaya D. Guide to carotenoid analysis in foods. Washington: International Life Sciences Institute, 2001. 65 p.
15. Rudi L., Cepoi L., Chiriac T. ș. a. Unele aspecte ale aplicării nanoparticulelor de aur în biotehnologia microalgei *Porphyridium cruentum*. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții.* 2021, vol. 2(344), p.126-132.
16. Rudi L., Chiriac T., Cepoi L. et al. Biomass production and pigment content in *Arthrospira platensis* by adding AuNP(PEG) and AgNP(PEG) at different growth phases of cultivation cycle. *Analele Universității din Oradea. Fascicula Biologia,* 2021, Tom. XXVIII, Issue:2, p. 143-151.
17. Rudi L., Zinicovscaia I., Cepoi L. et al. Accumulation and effect of silver nanoparticles functionalized with *Spirulina platensis* on Rats. *Nanomaterials.* 2021, vol. 1.
18. Rudic V., Cepoi L., Gutsul T. et al. *Porrphyridium cruentum* Growth stimulated by CdSe quantum dots covered with thioglycerol. *Journal of Nanoelectronics and Optoelectronics.* 2012, vol.7(7), p. 681-687.
19. Santos-Ballardo D. et al. A simple spectrophotometric method for biomass measurement of important microalgae species in aquaculture. *Aquaculture.* 2015, vol. 448, p. 87-92.
20. Sendra M., Yeste M. P., Gatica J.M. et al. Direct and indirect effects of silver nanoparticles on freshwater and marine microalgae (*Chlamydomonas reinhardtii* and *Phaeodactylum tricorutum*). *Chemosphere.* 2017, vol.179, p. 279-289.
21. Sukenik A., Carmeli Y., Berner T. Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the Eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. *Journal of Phycology.* 1989, vol. 25(4), p. 686-692.
22. Thanh - Luu Pham Effect of silver nanoparticles on tropical freshwater and marine microalgae. *Hindawi Journal of Chemistry.* 2019.
23. Vargas-Estrada L., Torres-Arellano S., Longoria A., et al. Role of nanoparticles on microalgal cultivation: A review. *Fuel.* 2020, vol. 280. doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118598.