

RECEȚIONAT

Agenția Națională pentru Cercetare
și Dezvoltare _____

_____ 2026

AVIZAT

Secția AȘM _____

_____ 2026

RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL

privind implementarea proiectului din cadrul concursului

Stimularea excelenței în cercetare

Proiectul „Stresul oxidativ ca instrument în producerea antioxidantului de origine microalgală astaxantina”

Cifrul proiectului 24.80012.7007.08 SE.

Prioritatea strategică III. Biotehnologii și Protecția Mediului

Rectorul UTM

dr. hab., prof. Bostan Viorel



Președintele Consiliului științific UTM

dr. hab., prof. Tronciu Vasile

Conducătorul proiectului

dr. hab., conf. Cepoi Liliana

L.Ș.

Chișinău 2026

CUPRINS:

1	Scopul proiectului depus la concurs	3
2	Obiectivele	3
3	Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor	3
4	Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor	3
5	Rezultatele obținute	4
6	Diseminarea rezultatelor la foruri științifice	9
7	Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului	9
8	Colaborare la nivel național în cadrul implementării proiectului	10
9	Colaborare la nivel internațional în cadrul implementării proiectului	10
10	Dificultăți în realizarea proiectului: financiare, organizatorice, legate de resursele umane	10
11	Recomandări, propuneri	10
12	Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în limba română și în limba engleză (Anexa 1)	11
13	Lista lucrărilor publicate (Anexa 2)	13
14	Executarea devizului de cheltuieli din contractul de finanțare (Anexa 3)	15
15	Componența echipei conform contractului de finanțare (Anexa 4)	16

1. Scopul proiectului depus la concurs (obligatoriu)

Elaborarea modelului de inducere a acumulării de astaxantină în biomasa de *Haematococcus pluvialis* utilizând ca instrument biotehnologic stresul oxidativ generat de contactul cu nanoparticulele de argint.

2. Obiectivele proiectului (obligatoriu)

1. Stabilirea caracterului acțiunii nanoparticulelor de argint asupra culturii de *Haematococcus pluvialis* și acumulării de astaxantină în dependență de dimensiunea și concentrația nanoparticulelor;
2. Identificarea fazelor ciclului vital al *Haematococcus pluvialis* în care contactul cu nanoparticule asigură redirecționarea proceselor biosintetice spre producerea de astaxantină;
3. Elaborarea modelului de inducere a acumulării de astaxantină în biomasa de *Haematococcus pluvialis*

3. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor proiectului (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;
3. Stabilirea răspunsului microalgei *Haematococcus pluvialis* la acțiunea concentrațiilor selectate de nanoparticule de argint în dependență de fazele ciclului vital;
4. Monitorizarea instalării stresului oxidativ în cultura microalgală la cultivare în prezența concentrațiilor stabilite de AgNP în dependență de fazele ciclului vital;
5. Studiarea răspunsului microalgei *H. pluvialis* la remodelarea intensității stresului oxidativ indus de nanoparticulele de argint;
6. Elaborarea modelului de inducere a acumulării de astaxantină în biomasa de *Haematococcus pluvialis*.

4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor proiectului (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:
 - 1) Identificarea parametrilor stresului oxidativ la *Haematococcus pluvialis*, utili pentru monitorizarea nivelului de stres (activitatea antioxidantă);
 - 2) Montarea experiențelor pentru determinarea acțiunii nanoparticulelor de argint asupra parametrilor stresului oxidativ la *Haematococcus pluvialis*;

- 3) Realizarea testelor biochimice în vederea stabilirii efectelor nanoparticulelor de argint asupra parametrilor stresului oxidativ la *Haematococcus pluvialis*;
 - 4) 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. Au fost identificate particularitățile reacțiilor de răspuns a microalgei *Haematococcus pluvialis* la acțiunea concentrațiilor selectate de nanoparticule de argint în dependență de tipul de inoculum utilizat și de etapa ciclului vital al microalgei - la etapa de celule mobile verzi și la etapa de aplanospori roșii;
 4. A fost monitorizată intensitatea stresului oxidativ generat de nanoparticulele de argint în cultura de *Haematococcus pluvialis* în baza metodei elaborate;
 5. Au fost elaborate principiile de remodelare a stresului oxidativ generat de nanoparticulele de argint în cultura de *Haematococcus pluvialis* și studiat răspunsul culturii microalgale după introducerea măsurilor de remodelare;
 6. A fost formalizat în Regulament de producere modelul de inducere a acumulării astaxantinei în biomasa de *Haematococcus pluvialis*, care include inducerea stresului oxidativ de intensitate joasă, generat de nanoparticulele de argint.

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

Microalga verde *Haematococcus pluvialis* reprezintă în prezent cea mai importantă sursă naturală de astaxantină, carotenoid cu valoare ridicată în industriile farmaceutică, nutraceutică, cosmetică și alimentară, datorită proprietăților antioxidante, antiinflamatoare și citoprotectoare. În biotehnologia ficologică modernă, controlul procesului de inducere a sintezei de astaxantină constituie elementul critic de optimizare, întrucât această etapă determină în mod direct randamentul economic al culturilor.

În condiții de cultivare standard, microalga parcurge două faze metabolice majore: faza verde, orientată spre creșterea și multiplicarea celulelor mobile, și faza roșie, orientată spre acumularea de astaxantină și lipide în aplanospori. Inducerea fazei roșii este în mod natural asociată cu expunerea la factori de stres (ex. lipsa/insuficiența nutrienților, iluminare puternică, salinitate ridicată). În context biotehnologic, stresul oxidativ moderat reprezintă un instrument extrem de valoros deoarece poate fi utilizat pentru a stimula biosinteza carotenoidică fără a compromite stabilitatea culturii.

Nanoparticulele de argint (AgNP) sunt cunoscute pentru capacitatea lor de a genera stres oxidativ prin interacțiunea cu membranele, proteinele și acizii nucleici, cu efect direct asupra nivelului de specii reactive de oxigen. În doze mari, aceste nanoparticule pot deveni toxice; în doze mici și moderate, însă, pot funcționa ca stimuli de redirecționare metabolică. Această dualitate creează premisele utilizării lor ca instrument biotehnologic pentru inducerea astaxantinogenezei.

Pe baza acestor considerente, în cadrul prezentului proiect s-a urmărit elaborarea unui model operațional de inducere a sintezei de astaxantină utilizând stresul oxidativ moderat generat de nanoparticulele de argint. Spre deosebire de abordările clasice bazate pe nutrienți sau lumină,

utilizarea nanoparticulelor permite controlul mai precis al intensității și al momentului aplicării stresului, deschizând posibilitatea optimizării parametrilor de cultură în sisteme scalabile.

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 Neptogene, IMB al UTM. Recent, ca rezultat al reviziilor de sistematică și nomenclatură, bazate pe date de biologie moleculară, a fost adoptată denumirea nouă de specie – *Haematococcus lacustris*, ceea ce a determinat utilizarea ambelor denumiri în publicații, în dependență de cerințele editorului și a recenzenților. Cultivarea a fost efectuată în mediu mineral RD, varianta cu un conținut redus de fosfați și raport P/N de 0.164, în regim controlat de lumină continuă 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.

În calitate de factor de inducere a stresului oxidativ au fost utilizate nanoparticule de argint (AgNP) stabilizate cu citrat, cu dimensiunile de 10, 20, 40, 60, 80 și 100 nm (TEM) (SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Germania), care au fost adăugate în concentrații între 0.01 și 10 mgL⁻¹ în mediul mineral. Timpul de introducere a variat în dependență de tipul de experiment: ziua 1, la momentul inoculării; ziua 3 la perioada de tranziție de la aplanospori la forma mobilă verde; ziua 1 după introducerea inoculumului în experiențele de remodelare a nivelului de stres prin utilizarea diferitelor tipuri de inoculum. Acest design a permis separarea efectelor directe ale nanoparticulelor asupra creșterii de efectele metabolice asupra sintezei de astaxantină.

Au fost monitorizați următorii parametri biochimici și fiziologici: biomasa totală; conținutul de astaxantină; conținutul total de lipide; variația pigmentilor carotenoidici; indicatorii stresului oxidativ (nivelul de MDA în biomasă, activitatea antioxidantă). Acești parametri caracterizează principalele procese implicate în conversia stresului în metabolit-țintă și estimarea pragului de trecere de la stres moderat (favorabil biosintezei carotenoidice) la stres sever (inhibitor). Prin corelarea acestor indicatori cu evoluția astaxantinei a fost posibilă definirea unei „ferestre metabolice” utile pentru elaborarea modelului final.

Rezultatele experimentale sunt prezentate conform celor trei abordări succesive ale proiectului (inducerea stresului din prima zi; din a treia zi; și aplicarea diferitor tipuri de inoculum cu inducerea stresului din prima zi de cultivate), care au permis investigarea progresivă a mecanismului de inducere a sintezei de astaxantină în funcție de intensitatea și momentul stresului oxidativ, precum și de stadiul fiziologic al microalgei *Haematococcus pluvialis*.

S-a constatat că adăugarea nanoparticulelor de Ag în mediul de cultivare la momentul inoculării (prima zi) modifică cantitatea de biomasă acumulată la faza de aplanospori roșii. AgNP cu dimensiuni ≥ 40 nm au dus la modificarea ciclului vital prin întârzierea instalării fazei de ciști roșii. O parte din celulele din cultură au rămas la faza de aplanospori bruni, iar carotenoizii au fost la nivelul inoculumului în majoritatea variantelor experimentale, indicând asupra incapacității de a depăși stresul. În variantele cu concentrații minime de nanoparticule de aceste dimensiuni au fost înregistrate creșteri neînsemnate a cantității de astaxantină cu cel mult 9% ($p < 0,05$), ceea ce este insuficient din punct de vedere biotehologic.

AgNP de 10 nm aplicate la 1,0; 5,0 și 10,0 mgL⁻¹ au determinat creșteri ale biomasei cu 18,6% ($p < 0,01$), 19,8% ($p < 0,05$) și 14,9% ($p < 0,05$). Concentrațiile 0,01–0,5 mgL⁻¹ au indus creșteri nesemnificative. AgNP de 20 nm au determinat sporuri ale biomasei între 17,7% și 29,8% ($p < 0,05$),

cu valori mai ridicate la concentrații mai mari, fără efect toxic detectabil, sugerând toleranță bună a microalgei la acest xenobiotic.

Modificarea conținutului de astaxantină s-a diferențiat de cea a biomasei. AgNPs de 10 nm au stimulat semnificativ sinteza pigmentului la concentrații mici. Concentrația $0,01 \text{ mgL}^{-1}$ a determinat o creștere de 80% ($p < 0,01$), concentrațiile $0,1$ și $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ au generat sporuri de 65,9% ($p < 0,01$) și 50% ($p < 0,01$). Pentru $1-10 \text{ mgL}^{-1}$ s-a înregistrat o stimulare între 37,8% ($p < 0,01$) și 17% ($p < 0,01$). Corelația între concentrație și amplitudinea răspunsului a fost negativă ($r = -0,9976$), reflectând diminuarea efectului stimulator la concentrații crescute, fără inversarea acestuia sub nivelul matorului.

Pentru AgNPs de 20 nm, concentrațiile $0,05$; $0,1$ și $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ au condus la creșteri ale astaxantinei de 26,8% ($p < 0,01$); 45% ($p < 0,01$) și 62% ($p < 0,01$), cu corelație pozitivă foarte puternică între concentrație și stimulare ($r = 0,9326$). Concentrațiile 1 și 5 mgL^{-1} au generat valori apropiate matorului. Astfel, *H. pluvialis* răspunde distinct în funcție de dimensiunea și concentrația nanoparticulelor. Concentrațiile mici ale ambelor tipuri (10 și 20 nm) stimulează sinteza astaxantinei, însă pentru 10 nm stimularea este invers proporțională cu concentrația, iar pentru 20 nm direct proporțională. În limita concentrațiilor studiate nu s-au observat efecte inhibitoare asupra sintezei astaxantinei, sugerând un potențial adaptativ al culturii la stresul indus de AgNP.

Rezultatele referitoare la conținutul lipidelor confirmă tendințele observate pentru astaxantină. AgNP de 10 nm la concentrațiile $0,01$ și $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ au determinat creșteri ale conținutului de lipide cu 53,6% ($p < 0,01$) și 24,7% ($p < 0,01$). Concentrațiile 1 și 5 mgL^{-1} nu au modificat semnificativ răspunsul, iar 10 mgL^{-1} a redus lipidele cu 17,3% ($p < 0,05$). AgNP de 20 nm la $0,01$ și $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ au generat creșteri de 19,6% ($p < 0,01$) și 46,9% ($p < 0,01$), iar 5 și 10 mgL^{-1} au redus lipidele cu 14,6% și 16,8% ($p < 0,05$). Corelațiile între concentrația de nanoparticule și amplituda efectului de stimulare în domeniul $0,01-0,5 \text{ mgL}^{-1}$ au fost negative pentru 10 nm ($r = -0,9455$) și pozitive pentru 20 nm ($r = 0,9959$). În domeniul $1-10 \text{ mgL}^{-1}$, corelațiile au fost negative pentru ambele tipuri ($r = -0,7956$ pentru 10 nm ; $r = -0,7490$ pentru 20 nm), indicând diminuarea rezervelor lipidice odată cu creșterea stresului oxidativ. Astfel, stimularea sintezei astaxantinei la concentrații mici ($0,01-0,5 \text{ mgL}^{-1}$) este explicată prin hormesis, fiind dependentă de intensitatea stresului oxidativ indus de AgNP. La concentrații mai mari, chiar dacă biomasa și astaxantina rămân în limite acceptabile, reducerea lipidelor anulează beneficiul tehnologic, lipidele reprezentând matricea de depozitare a carotenoidului.

Pe baza acestor rezultate a fost propusă o metodă de monitorizare a intensității stresului oxidativ prin utilizarea a trei parametri cantitativi: biomasa, astaxantina și lipidele la etapa de aplanospori, cu lipidele ca parametru limitativ. Limita acceptabilă a stresului este definită prin anularea efectului stimulator asupra lipidelor. În aceste condiții, nanoparticulele de argint de 10 și 20 nm pot fi utilizate ca stimulatori ai sintezei astaxantinei în *H. pluvialis*.

Astfel, rezultatele obținute la prima etapă de cercetare indică asupra faptului, că intensitatea stresului oxidativ provocat de nanoparticulele de argint în cultura de *Haematococcus pluvialis* trebuie ajustată nu doar prin concentrația și dimensiunea nanoparticulelor de argint, ci și prin sincronizare cu starea fiziologică a culturii.

Pornind de la rezultatele obținute la această etapă, s-a modificat momentul aplicării stresului oxidativ de la ziua 1 la ziua 3 a ciclului de cultură. Această etapă corespunde finalului fazei de

tranziție de la aplanospori la forma verde mobilă. În această abordare, monitorizarea parametrilor biochimici și productivi ai culturii au fost monitorizați atât la finalul fazei verzi mobile, cât și în faza de aplanospori roșii. După nivelul de biomasă, cultura de *Haematococcus pluvialis* a răspuns conform modelului hormetic pe durata fazei de celule verzi mobile, în cazul nanoparticulelor de argint cu dimensiunea de 10 și 20 nm.

Biomasa finală nu a mai fost afectată semnificativ de nanoparticule, indiferent de dimensiune. Comparativ cu introducerea nanoparticulelor la prima zi, inhibiția generată de nanoparticulele mari a fost redusă sub pragul critic, iar nanoparticulele mici nu au mai generat stimularea producerii de biomasă la finalul ciclului vital. Acest rezultat sugerează că cultura de *Haematococcus pluvialis* de 72 ore se adaptează mai eficient acțiunii stresante a nanoparticulelor de argint, procesele de multiplicare fiind afectate într-o măsură redusă. Compararea rezultatelor obținute în cele două faze ale ciclului vital al microalgei evidențiază răspunsuri fiziologice distincte la expunerea la AgNP. În faza de celule verzi mobile, dozele mici de AgNP (în special 0,05 – 1,00 mg L⁻¹, în cazul nanoparticulelor de 10 nm) stimulează acumularea biomasei cu un conținut crescut de lipidele, fără creșteri semnificative ale nivelului dialdehidei malonice. Cultura acumulează masă și rezerve de carbon în condiții de stres încă gestionabil. În faza de aplanospori roșii, aceeași fereastră de concentrații pentru AgNPs de 10 nm nu mai susține biomasa (care scade ușor), efectul fiind redirecționat către creșterea astaxantinei și lipidelor de depozitare, cu stimulări de până la 30% pentru astaxantină și 96% pentru lipide.

Astfel, expunerea întârziată (la ziua 3) la niveluri moderate de AgNP generează un dublu efect: maximizarea creșterii în faza verde și maximizarea valorii metabolice a biomasei în faza roșie, în limita în care stresul oxidativ rămâne moderat. Depășirea acestei limite (concentrație ≥ 5 mg L⁻¹) duce la: inhibarea biomasei în ambele faze, creșterea MDA și diminuarea astaxantinei și lipidelor, mai ales pentru nanoparticulele cu dimensiunea de 20 nm, confirmând caracterul toxic al expunerii excesive.

Stresul oxidativ moderat, indus de AgNPs de 10 nm la concentrații joase (0,01 - 0,5 mg L⁻¹), stimulează metabolic cultura: în faza verde crește biomasa și lipidele, iar în faza roșie crește semnificativ astaxantina și lipidele de depozitare. Nivelul MDA delimitează fereastra optimă de lucru, separând domeniul hormetic (fără creșteri mari de MDA, cu biomasa și lipide crescute) de domeniul toxic (MDA înalt, biomasa și pigmenții reduși). Dimensiunea nanoparticulelor este un parametru critic: AgNPs de 10 nm sunt eficiente ca „instrument tehnologic” de stimulare, în timp ce AgNP de 20 nm se dovedesc în general inhibitoare, în special în faza roșie. Rezultatele arată că aplicarea controlată a AgNPs în ziua a 3-a permite modelarea traiectoriei culturii: se obține o creștere bună în faza verde și o biomasă finală ușor mai mică, dar mult mai bogată în astaxantină și lipide, ceea ce corespunde obiectivului proiectului de a spori valoarea funcțională a biomasei, nu doar cantitatea ei. Astfel, rezultatele din această a doua abordare (adăugarea AgNP în ziua a 3-a) confirmă explicit validitatea conceptului de utilizare a stresului oxidativ ca instrument pentru producerea antioxidantului microalgal astaxantină.

După identificarea efectelor induse de variabilele dimensiune - concentrație (Abordarea 1) și a ferestrei metabolice optime (Abordarea 2), s-a realizat Abordarea 3, în care s-a vizat remodelarea sistemului de cultivare prin utilizarea diferitelor tipuri de inoculum. Scopul a fost verificarea

ipotezei conform căreia intensitatea stresului oxidativ poate fi transformată din inhibitor în stimul inductiv prin modificarea stării inițiale a populației microalgale.

Experimentele au demonstrat că nanoparticulele mari aplicate în ziua 1 au generat stres sever, cultura neavând timp să se reconfigureze metabolic. La adăugarea lor la ziua a treia s-a observat existența unei ferestre metabolice de inducție. Pe această bază a fost formulată ipoteza conform căreia utilizarea aplanosporilor ca inoculum poate transforma un stres inhibant într-un stres stimulat. Inoculumul format din celule verzi mobile a prezentat sensibilitate crescută și a manifestat inhibiție pigmentară în prezența nanoparticulelor mari. În contrast, inoculumul aplanosporic a prezentat toleranță metabolică ridicată și a răspuns la nanoparticule prin creșterea semnificativă a sintezei de astaxantină. Remodelarea sistemului prin schimbarea inoculumului a permis transformarea stresului oxidativ intens dintr-un fenomen inhibant într-un instrument biotehnologic eficient. Acest rezultat este esențial deoarece demonstrează că inducția eficientă a carotenoizilor nu depinde doar de caracteristicile nanoparticulelor aplicate, ci și de starea fiziologică a culturii, sincronizarea temporală a intervenției biotehnologice cu fazele ciclului vital și adaptarea metabolică prealabilă a culturii.

Rezultatele obținute în cadrul proiectului au demonstrat în mod sistematic că sinteza de astaxantină în *Haematococcus pluvialis* poate fi indusă prin aplicarea stresului oxidativ controlat generat de nanoparticulele de argint, cu condiția calibrării a trei factori operaționali principali: *intensitatea, momentul aplicării și starea fiziologică a sistemului biologic*. Prin utilizarea celor trei abordări consecutive, proiectul a permis identificarea variabilelor critice de control, și definirea unei ferestre metabolice în care cultura poate converti stresul oxidativ în carotenoizi fără inhibiții majore asupra biomasei.

Pe baza rezultatelor experimentale și a concluziilor extrase din cele trei abordări, modelul de inducere a acumulării de astaxantină poate fi formulat sub forma unui sistem operațional structurat în patru componente: *parametrii de control, modulatorii care determină conversia stresului, mecanismul procesului și ieșirile (output-ul procesului)*.

Modelul include următorii parametri de control ai procesului: *dimensiunea nanoparticulelor; concentrația nanoparticulelor; momentul aplicării nanoparticulelor; tipul inoculumului; starea fiziologică a culturii; durata expunerii la stres*. Aceste variabile pot fi ajustate independent sau în combinație, permițând reglarea intensității stresului oxidativ.

Sistemul biologic studiat dispune de doi modulatori esențiali: *capacitatea antioxidantă endogenă și starea metabolică asociată ciclului vital*. Acești modulatori determină dacă stresul oxidativ este perceput ca semnal inductiv sau ca factor inhibitor.

Mecanismul procesului poate fi exprimat simplificat astfel: stres oxidativ moderat induce activarea căilor de protecție antioxidantă, una dintre care constă în acumularea de astaxantină.

Indicatorii biotehnologici relevanți ai modelului sunt: *conținutul de astaxantină în biomasa finală; raportul astaxantină/biomasă; menținerea biomasei în limite acceptabile; profilul lipidic și antioxidant al biomasei finale*.

În termeni aplicativi, modelul rezultat poate fi exprimat astfel: inducția optimă a astaxantinei se obține atunci când: stresul oxidativ este moderat ca intensitate, sincronizat cu faza de tranziție de la aplanospori la celule mobile, iar sistemul este remodelat fiziologic prin utilizarea inoculumului aplanosporic.

Proiectul și-a atins scopul și obiectivele declarate și a condus la elaborarea unui model biotehologic funcțional pentru inducerea sintezei de astaxantină în *Haematococcus pluvialis* prin utilizarea stresului oxidativ generat de nanoparticule de argint. Noutatea principală a modelului constă în demonstrarea faptului că starea fiziologică și momentul aplicării stresului sunt variabile critice, iar remodelarea sistemului prin schimbarea tipului de inoculum permite utilizarea unor stimuli care altfel ar fi inhibitori.

Modelul rezultat poate fi integrat în procese de cultivare la scară pilot și oferă premise pentru dezvoltarea unor tehnologii de producere a astaxantinei cu randament înalt.

6. Diseminarea rezultatelor la foruri științifice (obligatoriu)

Cepoi, L., Rudi, L., Chiriac, T., Plingau, E., Djur, S., Valuta, A., Miscu, 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.

Cepoi, L., Rudi, L., Chiriac, T., Miscu, V., Plingau, E. Differential Response of *Haematococcus pluvialis* to Silver Nanoparticles: Role of Inoculum Type in Astaxanthin Accumulation (prezentare orală). In: 17th International Conference on Nanomaterials – Research and Application. Brno, Czech Republic. October, 15-17, 2025.

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

Impactul științific:

Rezultatele proiectului au contribuit în mod substanțial la dezvoltarea cunoștințelor în biotehologia fiziologică avansată, prin demonstrarea experimentală a faptului că stresul oxidativ moderat generat de nanoparticule poate fi utilizat ca instrument biotehologic pentru inducerea sintezei de astaxantină în *Haematococcus pluvialis*. Proiectul a elucidat trei variabile critice ale procesului (intensitatea stresului, momentul aplicării și starea fiziologică a sistemului biologic), permițând definirea unei „ferestre metabolice” reproductibile pentru conversia stresului în stimularea producerii de astaxantină. Introducerea conceptului de remodelare fiziologică a sistemului prin utilizarea inoculului aplanosporic reprezintă o contribuție originală, deoarece transformă un stres inițial inhibitor într-un stres stimulat. Modelul operațional elaborat poate fi preluat în cercetări avansate, inclusiv în studii de transcriptomică, metabolomică și optimizare a proceselor la scară pilot, contribuind la progresul domeniului în direcția culturilor microalgale controlate de tip „stress-driven metabolite induction”.

Impactul social:

Proiectul contribuie la consolidarea capacității de cercetare în Republica Moldova în domenii emergente precum biotehologia microalgelor, nanobiotehologia și procesele oxidative controlate, creând premise pentru formarea specialiștilor în nișe cu cerere internațională ridicată (nutraceutice, cosmetice funcționale, biotehologii industriale). Rezultatele au potențial de transfer în activitatea instituțiilor de învățământ superior și în programe de formare avansată (master, doctorat), iar infrastructura științifică și know-how-ul generate consolidează competitivitatea instituțională în

consorții internaționale și apeluri competitive. Astaxantina este recunoscută pentru beneficii antioxidante, antiinflamatoare și citoprotectoare, iar dezvoltarea tehnologiilor fiabile de producere a acestui compus contribuie la extinderea accesului consumatorilor la produse naturale cu valoare adăugată ridicată.

Impactul economic:

Modelul biotehnologic obținut în cadrul proiectului permite optimizarea sintezei de astaxantină prin controlul parametrilor de stres și furnizează premise pentru reducerea costurilor de producție prin maximizarea valorii metabolice a biomasei, nu doar a randamentului total. Integrarea acestui model în sisteme de cultivare la scară pilot poate contribui la dezvoltarea unei linii de producție regionale pentru biomasa microalgă cu conținut ridicat de astaxantină, pigment utilizat extensiv în industriile farmaceutică, nutraceutică, cosmetică și alimentară, ale cărui prețuri pe piață depășesc valorile relative ale carotenoizilor clasici. Rezultatele proiectului creează premise pentru apariția unui viitor lanț biotehnologic local (cultivare – procesare - produse), cu potențial de substituie a importurilor și de participare în piețele cu valoare adăugată ridicată. În același timp, orientarea către procese bazate pe microorganisme fotosintetice contribuie la sustenabilitatea economică și ecologică.

8. Colaborare la nivel național în cadrul implementării proiectului (obligatoriu)

- Am colaborat cu laboratorul de Hidrobiologie al Institutului de Zoologie al Universității de Stat din Moldova, grupul de algologie în vederea implementării noii nomenclaturi pentru algele verzi.

9. Colaborare la nivel internațional în cadrul implementării proiectului (obligatoriu)

- Am colaborat cu Institutul National De Cercetare-Dezvoltare pentru Fizica Laserilor, Plasmei și Radiației (INFLPR) (Măgurele, Romania), iar ca rezultat a fost depus la concurs și câștigat un proiect la concursul de proiecte bilaterale MD-RO “Low-cost implantable/prosthetic elements coated with marine-based resources and components”.
- Am colaborat cu Kobenhavns Universitet din Danemarca, ca rezultat am format un consorțiu internațional și am depus proiectul BioRoots - Cultivating Health & Nature, Proposal ID: 101291650; Acronym: BioRoots; Topic: HORIZON-CL6-2025-01-BIODIV-10.

10. Dificultățile în realizarea proiectului: financiare, organizatorice, legate de resursele umane etc. (obligatoriu)

Nu au fost

11. Recomandări, propuneri (opțional)

- Se recomandă validarea modelului biotehnologic elaborat în sisteme de cultivare semicontrolate;
- Se recomandă implementarea monitorizării conjugate a biomasei, astaxantinei și lipidelor ca set minimal de parametri pentru controlul intensității stresului oxidativ și identificarea limitei dintre domeniul hormetic și domeniul toxic în tehnologiile de cultivare a *H. pluvialis*.
- Se recomandă investigarea mecanismelor de răspuns oxidativ prin analize biochimice și „omics”

Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect

Cifrul Proiectului 24.80012.7007.08 SE.

Denumirea proiectului „Stresul oxidativ ca instrument în producerea antioxidantului de origine microalgă astaxantina”.

Microalga verde *Haematococcus pluvialis* reprezintă cea mai importantă sursă naturală de astaxantină, carotenoid cu valoare ridicată datorită proprietăților antioxidante, antiinflamatoare și citoprotectoare. În biotehnologia microalgelor, controlul procesului de inducere a biosintezei de astaxantină constituie etapa critică a optimizării tehnologice. Inducerea fazei roșii la *H. pluvialis* este asociată cu expunerea la factori de stres, în special stresul oxidativ moderat. Pe baza premiselor biologice existente, proiectul a vizat elaborarea unui model biotehnologic de inducere a sintezei de astaxantină prin utilizarea stresului oxidativ controlat generat de nanoparticulele de argint (AgNPs). Cercetările au fost efectuate cu tulpina *H. pluvialis* CNMN-AV-03, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene (IMB/UTM), care corespunde taxonomic speciei *Haematococcus lacustris* conform reviziei nomenclaturale recente. Au fost utilizate nanoparticule de argint stabilizate cu citrat, cu dimensiuni între 10–100 nm și concentrații între 0,01–10 mg·L⁻¹. Aplicarea lor a fost sincronizată cu diferite etape ale ciclului vital, permițând separarea efectelor asupra multiplicării celulare de cele asupra biosintezei de carotenoizi.

Proiectul a fost structurat în trei abordări succesive. În prima abordare (aplicarea nanoparticulelor în ziua 1), s-a demonstrat caracterul dual al stresului indus: nanoparticulele mari au inhibat instalarea fazei de aplanospori roșii, în timp ce AgNPs de 10 și 20 nm au stimulat sinteza de astaxantină la concentrații mici, conform unui model hormetic. În a doua abordare (aplicarea nanoparticulelor în ziua 3), cultura a demonstrat toleranță crescută la stres, cu stimularea biomasei în faza verde și a astaxantinei și lipidelor în faza roșie, delimitând o „fereastră metabolică” în care stresul oxidativ moderat maximizează valoarea metabolică a biomasei. În a treia abordare, schimbarea inoculumului către forma aplanosporică a permis transformarea unui stres inițial inhibitor într-un stres stimulat, demonstrând importanța remodelării fiziologice a sistemului înainte de inducție.

Analiza integrată a rezultatelor a condus la elaborarea unui model operațional de inducere a biosintezei de astaxantină, structurat pe patru componente: (1) parametrii de control (dimensiunea nanoparticulelor, concentrația, momentul aplicării, tipul inoculumului, starea fiziologică, durata expunerii), (2) modulatorii procesului (capacitatea antioxidantă endogenă și ciclul vital), (3) mecanismul bioprocesual (convertirea stresului oxidativ moderat în semnal biosintetic) și (4) indicatorii biotehnologici de output (conținut de astaxantină, raport astaxantină/biomasă, profil lipidic și antioxidant).

Proiectul și-a atins obiectivele declarate, demonstrând fezabilitatea utilizării stresului oxidativ controlat pentru inducerea sintezei de astaxantină și identificând parametrii critici pentru scalarea procesului. Noutatea științifică principală constă în demonstrarea rolului determinant al stării fiziologice a sistemului și a sincronizării temporale a stresului, ceea ce permite conversia unui factor potențial toxic într-un instrument biotehnologic reproductibil. Rezultatele proiectului oferă premise pentru validarea la scară pilot și integrarea în lanțuri biotehnologice destinate producției de biomasă microalgă cu valoare economică ridicată.

Conducătorul de proiect _____ / Cepoi Liliana

Data: 27.01.2026

LȘ



Summary of Activities and Results Achieved in the Project

Project number 24.80012.7007.08 SE.

Project title „Oxidative stress as a tool in the production of the microalgal antioxidant astaxanthin”.

The green microalga *Haematococcus pluvialis* represents the most important natural source of astaxanthin, a high-value carotenoid due to its antioxidant, anti-inflammatory and cytoprotective properties. In microalgal biotechnology, controlling the induction of astaxanthin biosynthesis is the critical stage of technological optimization. The induction of the red phase in *H. pluvialis* is associated with exposure to stress factors, in particular moderate oxidative stress. Based on these biological premises, the project aimed to develop a biotechnological model for inducing astaxanthin synthesis by using controlled oxidative stress generated by silver nanoparticles (AgNPs).

The research was performed with the *H. pluvialis* strain CNMN-AV-03, deposited in the National Collection of Non-Pathogenic Microorganisms (IMB/UTM), which corresponds taxonomically to *Haematococcus lacustris* according to recent nomenclatural revisions. Citrate-stabilized silver nanoparticles of 10–100 nm in size and 0.01–10 mg·L⁻¹ in concentration were used. Their application was synchronized with different stages of the life cycle, allowing separation of the effects on cell multiplication from those on carotenoid biosynthesis.

The project was structured into three successive approaches. In the first approach (application of nanoparticles on day 1), the dual character of the induced stress was demonstrated: larger nanoparticles inhibited the establishment of the red aplanospore phase, whereas 10 and 20 nm AgNPs stimulated astaxanthin synthesis at low concentrations, following a hormetic model. In the second approach (application on day 3), the culture exhibited increased stress tolerance, with stimulation of biomass accumulation in the green phase and stimulation of astaxanthin and lipid synthesis in the red phase, delineating a “metabolic window” in which moderate oxidative stress maximizes the metabolic value of the biomass. In the third approach, switching the inoculum to the aplanospore form enabled the transformation of an initially inhibitory stress into a stimulatory one, demonstrating the importance of physiological remodeling prior to induction.

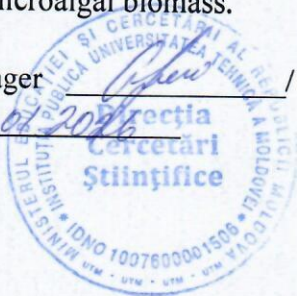
Integrated analysis of the results led to the development of an operational model for inducing astaxanthin biosynthesis, structured into four components: (1) control parameters (nanoparticle size, concentration, timing of application, inoculum type, physiological state, exposure duration), (2) process modulators (endogenous antioxidant capacity and life-cycle stage), (3) bioprocess mechanism (conversion of moderate oxidative stress into a biosynthetic signal), and (4) biotechnological output indicators (astaxanthin content, astaxanthin/biomass ratio, lipid and antioxidant profile).

The project achieved its declared objectives, demonstrating the feasibility of using controlled oxidative stress to induce astaxanthin synthesis and identifying the critical parameters required for process scaling. The main scientific novelty lies in demonstrating the decisive role of the physiological state of the system and the temporal synchronization of stress, which allows the conversion of a potentially toxic factor into a reproducible biotechnological tool. The results provide a basis for pilot-scale validation and integration into biotechnological chains for the production of high-value microalgal biomass.

Project manager Cepoi Liliana / Cepoi Liliana

Date: 28.07.2016

LȘ



**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. **Capitole 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)
 1. **CEPOI, L., RUDI, L., CHIRIAC, T., MISCU, V., PLINGAU, E.** Astaxanthin and cellular metabolites production in *Haematococcus lacustris* exposed to silver nanoparticles. *One Health & Risk Management*. 2026, vol. 7, nr. 1. eISSN 2587-3466, ISSN 2587-3458. <https://doi.org/10.38045/ohrm.2026.1.06>
 2. **CEPOI L., RUDI L., CHIRIAC T, MISCU V. and PLINGAU E.** Stage-Specific Modulation of Biomass, Pigments, and Metabolites in *Haematococcus lacustris* Exposed to Silver Nanoparticles. *Nanomaterials* (in proces de recenzare, a doua etapă).
 - 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)
 1. **CEPOI, L., RUDI, L., CHIRIAC, T., PLINGAU, E., VALUTA, A., MISCU, V.** The effect of silver nanoparticles on the microalgae *Haematococcus pluvialis*. In: *Conference proceedings NANOCON 24*. 16th International Conference on Nanomaterials - Research & Application, Brno, Czech Republic, October 16-19, 2024, pp. 220-226. ISBN 978-80-88365-24-2, ISSN 2694-930X, <https://doi.org/10.37904/nanocon.2024.5021>
 2. **CEPOI, L., RUDI, L., CHIRIAC, T., MISCU, V., PLINGAU, E.** Differential Response of *Haematococcus pluvialis* to Silver Nanoparticles: Role of Inoculum Type in Astaxanthin Accumulation. In: *Conference proceedings NANOCON 24*. 16th International Conference on Nanomaterials - Research & Application, Brno, Czech Republic. Brno, Czech Republic.

October, 15-17, 2025. p.XX-XX. (aprobat spre publicare, in 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)

1. **CEPOI, L., RUDI, L., CHIRIAC, T., PLINGAU, E., VALUTA, A., MISCU, V.** The Effect of silver nanoparticles on the microalgae *Haematococcus pluvialis*. In: *NANOCON 2024 ABSTRACTS 16th International Conference on Nanomaterials - Research and Application*, 1st Edition, 16-18 october, 2024, Brno, Czech Republic. TANGER Ltd., Ostrava, p. 91. ISBN 978-80-88365-20-4. <https://www.nanocon.eu/en/abstracts/>

2. **CEPOI, L., RUDI, L., CHIRIAC, T., MISCU, V., PLINGAU, E.** Differential Response of *Haematococcus pluvialis* to Silver Nanoparticles: Role of Inoculum Type in Astaxanthin Accumulation. In: *NANOCON 2025 ABSTRACTS 17th International Conference on Nanomaterials – Research and Application*, 15-17 October, 2025, – Abstracts. Brno, Czech Republic. TANGER Ltd., Ostrava, p. 53. ISBN 978-80-88365-28-0. <https://www.nanocon.eu/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

**Executarea devizului de cheltuieli,
conform anexei nr. 2.3 din contractul de finanțare pentru anul 2025**

Cifrul proiectului 24.80012.7007.08SE

Cheltuieli, lei				
Denumirea	Cod		Anul de gestiune	
	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	136800,0	+21,6	136821,6
Servicii poștale	222980			
Servicii neatribuite altor aliniate (Salarizare cumul extern)	222999			
Servicii neatribuite altor aliniate	222999	53900,0	-126,28	53773,72
Alte cheltuieli în bază de contracte cu persoane fizice	281600			
Cheltuieli curente neatribuite la alte categorii	281900	9300,0	+48,81	9348,81
Procurarea mașinilor și utilajelor	314110			
Procurarea activelor nemateriale	317110			
Procurarea combustibilului, carburanților și lubrifianților	331110			
Procurarea produselor alimentare	333110			
Procurarea materialelor pentru scopuri didactice, științifice și alte scopuri	335110			
Procurarea materiale de uz gospodăresc și rechizite de birou	336110		+55,87	55,87
TOTAL		200000,0		200000,0

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. Liliana CEPOI

(numele, prenumele)

Data:

LȘ

Componența echipei conform contractului de finanțare 2025

Cifrul proiectului 24.80012.7007.08SE

Echipa proiectului conform contractului de finanțare (la semnarea contractului) pentru 2025						
Nr	Nume, prenume (conform contractului de finanțare)	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă sau nr. de ore conform contractului	Data angajării	Data eliberării
1.	Cepoi Liliana	1967	dr.	0,25	02.01.2025	31.12.2025
2.	Rudi Ludmila	1964	dr.	0,25	02.01.2025	31.12.2025
3.	Chiriac Tatiana	1970	dr.	0,25	02.01.2025	31.12.2025

Modificări în componența echipei pe parcursul anului 2025					
Nr	Nume, prenume	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă sau nr. de ore conform contractului	Data angajării
1.					

Rector U.T.M.


(semnătura)

dr. hab. Viorel BOSTAN

(numele, prenumele)

Contabil (economist)


(semnătura)

Victoria IOVU

(numele, prenumele)

Conducătorul de proiect


(semnătura)

Dr. Liliana CEPOI

(numele, prenumele)

Data: 28.01.2025

LȘ



EXTRAS
din Procesul Verbal
al ședinței Consiliului Științific UTM
din 28 ianuarie 2026

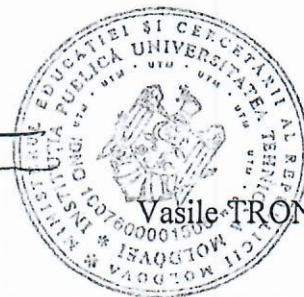
Prezenți: 12 membri ai Consiliului științific al UTM – Vasile Tronciu, *Prorector pentru cercetare, prof. univ., dr. hab.*; Bostan Ion, *Academician AȘM, prof. univ., dr. hab.*; Bostan Viorel, *Rector UTM, prof. univ., dr. hab.*; Siminiuc Rodica, *Directoare a ȘD UTM, conf. univ, dr.*; Sturza Rodica, *Membbru cor. AȘM, prof. univ., dr. hab.*; Ghendov-Moșanu Aliona, *conf. univ., dr. hab.*; Caisîn Larisa, *prof. univ., dr. hab.*; Cepoi Liliana, *Director, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al UTM, conf.univ., dr.*; Gheorghită Maria, *prof. univ., dr.*; Monaico Eduard; *dr., conf. cercet.*; Tîrșu Mihai; *Director Institutul de Energetică UTM, conf. univ., dr.*; Muntean Viorel, *Doctorand UTM*

S-A DISCUTAT: audierea rezultatelor științifice finale obținute în perioada 2024-2025 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 finale obținute în perioada 2024-2025 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.*



V. J.



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