

MICROBIOLOGIA ȘI BIOTEHNOLOGIA

PRODUCTIVITATEA CIANOBACTERIEI *SPIRULINA PLATENSIS* ȘI CAPACITATEA DE ACUMULARE A FIERULUI ȘI CROMULUI ÎN BIOMASĂ LA CULTIVARE ÎN PREZENȚA COMPUȘILOR COORDINATIVI AI Fe(III) ȘI Cr(III).

**Elenciuc Daniela, Zosim Liliana*, Bulimaga Valentina*, Chiriac Tatiana, Batâr
Ludmila, Prodius D.**, Turtă C.**, Rudic V.**

Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei

**Centru Științe ale vieții, Universitatea de Stat din Moldova*

***Institutul de Chimie al Academiei de Științe a Moldovei*

Introducere

Microalgele și cianobacteriile sunt cunoscute și utilizate pe larg pentru producerea substanțelor bioactive de interes medicinal și farmaceutic. Un rol deosebit în acest scop îi revine cianobacteriei *Spirulina platensis*. Printre produșii bioactivi extrași din biomasa ei se enumără astfel de compuși importanți, ca: aminoacizii și acizii organici, proteinele, ficobiliproteinele, vitaminele, polizaharidele, precum și unii compuși cu efect antioxidant [11, 18, 19, 30].

O direcție relativ nouă, deosebit de actuală în cercetările ficobiotehnologice este cea legată de evaluarea posibilității de obținere a biomasei de spirulină cu un conținut sporit de bioelemente pentru a fi utilizată în scopuri terapeutice [18]. Actualitatea acestor cercetări derivă din faptul că, în ultimele decenii se atestă o creștere continuă a imunodeficienței, bolilor oncologice, cardiovasculare, hepatice ș.a., cauzate de perturbări ale homeostaziei proceselor metabolice la nivel celular, inițiate de reactivitatea înaltă a radicalilor liberi. Importanța și specificitatea bioelementelor este determinată de

inclusiunea lor în hormoni și vitamine, iar în doze biotice ele sunt dotate cu acțiuni de catalizare a proceselor de oxidare [33].

În acest context un rol aparte îi revine fierului, caracterizat prin cea mai abundentă prezență în organisme, fiind unul din principalii biocationi implicați în procesele biochimice ce se derulează la toate nivelele de complexitate celulară. Fiind metabolizat în structura unor proteine cu rol catalitic și de transport, valoarea biologică a acestui element este strâns legată de participarea sa la reacțiile enzimatiche celulare și în metabolismul energetic, producerea serotoninei și dopaminei. O importanță semnificativă fierul o are pentru sistemul antioxidant și cel imun al organismului. Fierul este un element esențial necesar organismului pentru producerea celulelor roșii ale sângelui, formarea hemoglobinei și mioglobinei [2].

Deficiența nutrițională și utilizarea unor produse sărace în fier, vitamine și alte principii bioactive afectează grav sănătatea populației și în special a viitoarelor mame și a copiilor. Carența fierului în organismul uman are drept consecință anemia fieriprivă - una dintre cele mai stringente probleme nesoluționate la momentul actual, precum și apariția dereglărilor în răspunsul imun al organismului [3, 16].

Este cunoscut, că cel mai accesibil pentru organismul uman este fierul hemic, care se conține în ficat și alte produse din carne [33]. Însă pentru suplinirea deficitului de fier este necesară utilizarea lor în cantități sporite. În prezent în întreaga lume se efectuează cercetări legate de obținerea unor suplimente alimentare de origine vegetală ce conțin fier.

Datele din literatură evidențiază efectul toxic sporit al Cr(VI) asupra diverselor biocenozes [7, 15, 23], însă s-a constatat că acțiunea compușilor Cr(III) este mai puțin toxică [27]. În organismul uman cromul (III) participă la formarea factorului de toleranță a glucozei (GFT), sporind activitatea insulinei [24]. Din aceste considerente în prezent sunt efectuate cercetări în vederea utilizării Cr(III) la ameliorarea stării bolnavilor de diabet de tip II [1, 14, 28]. Cele mai recente investigații au demonstrat, că sărurile organice și anorganice ale crom (III) sintetizate pe cale chimică pot fi cancerigene [12], din care cauză sunt binevenite sursele alternative de crom de natură organică, obținute pe cale biologică.

Cultivarea spirulinei în prezența unor compuși coordinați noi ai fierului și cromului va permite obținerea biomasei de spirulină îmbogățită cu fier și crom și va contribui la ameliorarea calității ei prin majorarea conținutului de principii bioactive. Având un conținut biochimic valoros, biomasa obținută ar putea fi utilizată nu numai în calitate de materie primă pentru obținerea unor produse nutriționale de fortificare a răspunsului imun, dar și a preparatelor medicamentoase (comprimate, soluții injectabile) pentru profilaxia și tratarea anemiei, diabetului zaharat și a unor maladii legate de imunodeficiența organismului uman ș.a.

Ascensiunea continuă a acestor afecțiuni metabolice, însoțită totodată de deprecierea nivelului statutului imunitar al organismului invocă soluționarea urgentă a aspectelor legate de elaborarea unor produse cu acțiune polivalentă și capacități terapeutice funcționale înalte. Poate fi considerată oportună explorarea bioaditivelor cu efect nutraceutic imunostimulent, antianemic și antidiabetic obținute în baza biomasei de spirulină cu conținut prognozat de principii bioactive, fier și crom – bioelemente cu implicare majoră în tratarea anemiei și diabetului.

Scopul cercetărilor a constituit studiul productivității cianobacteriei *Spirulina platensis* și a capacității de acumulare a fierului și cromului în biomasă la cultivarea ei în prezența compușilor coordinați ai Fe(III) și Cr(III).

Materiale și metode

Obiectul de studiu - tulpina cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-02 (CYANOPHYTA) depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a R. Moldova de pe lângă Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM. Pentru cultivarea spirulinei a fost utilizat mediul nutritiv mineral SP-1 cu o compoziție echilibrată a macro- și micronutrienților necesari creșterii și dezvoltării spirulinei [21]. Cultivarea s-a efectuat în baloane Erlenmeyer a câte 100 ml cu 50 ml suspensie de spirulină, timp de 144 ore, respectând parametrii optimi de cultivare pentru asigurarea biosintezei constituenților intracelulari ai spirulinei stabiliți în cercetările anterioare [18, 22]. În calitate de reglatori ai creșterii și productivității cianobacteriei *Spirulina platensis* au fost utilizați 6 compuși coordinați ai Fe(III): $[\text{Fe}_2\text{CaO}(\alpha\text{-fur})_6(\text{THF})_3]$, $[\text{Fe}_2\text{MgO}(\alpha\text{-fur})_6(\text{THF})_3]$, $[\text{Fe}_2\text{MnO}(\alpha\text{-fur})_6(\text{THF})_3]$, $[\text{Fe}_2\text{CoO}(\alpha\text{-fur})_6(\text{THF})_3]$, $[\text{Fe}_2\text{ZnO}(\alpha\text{-fur})_6(\text{THF})_3]$, $[\text{Fe}_2\text{NiO}(\alpha\text{-fur})_6(\text{THF})_3]$; și 4 compuși coordinați ai Cr(III): $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]\text{Cl}_3$, $\text{Ca}[\text{Cr}(\text{EDTA})_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}]$, $[\text{Cr}(\text{HSSA})_2]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{EDTA})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Productivitatea spirulinei a fost determinată conform metodei descrise în [20, 22].

Determinarea fierului în biomasă a fost efectuată prin metoda colorimetrică bazată pe reacția fierului (III) cu rodanura de potasiu, care în mediu acid formează un complex de culoare roșie [31].

Conținutul de crom a fost determinat prin metoda spectrofotometrică după colorarea specifică cu difenilcarbazonă [6].

Analiza statistică a valorilor obținute în trei serii de determinări ale productivității și conținutului de fier și crom a fost realizată prin metoda propusă de Maximov [32].

Rezultate și discuții

O mare parte a cercetărilor efectuate în domeniul bioacumulării ionilor metalelor de către organismele vegetale au drept direcție principală evaluarea capacității detoxificării ecosistemelor naturale prin utilizarea eficientă a plantelor, ciupercilor, cianobacteriilor în calitate de biotransformatori ai metalelor. Biomasă (forma vie sau liofilizată) sau peretele celular al spirulinei, utilizate în calitate de obiect test, au demonstrat o eficacitate sporită de legare a metalelor [7, 10, 15, 19, 23, 25, 26].

În ce privește cultivarea spirulinei pe medii ce conțin ioni de Fe^{3+} sau Cr^{3+} în scopul obținerii biomasei îmbogățite cu fier sau crom, numărul cercetărilor este mai modest [19]. Convertirea fierului și cromului anorganic în formă organică și includerea lor în componenți intracelulari (proteine, lipide, glucide, etc.) prin intermediul sintezei dirijate la *Spirulina platensis* ar permite obținerea biomasei cu un conținut majorat de fier sau crom legat organic, care, ulterior ar putea servi în calitate de bioaditive alimentare antianemice, imunostimulente și antidiabetice. Având în vedere cele expuse, prezintă interes stabilirea parametrilor și a condițiilor de cultivare a spirulinei în vederea obținerii unei biomase cu un conținut sporit de fier și crom legat organic.

Adăugarea la mediul de cultivare al spirulinei a cantităților excesive de elemente chimice duce la dezechilibrul sistemului fotosintetic, diviziunii celulare, proceselor de

creștere și dezvoltare etc [13, 17, 25, 27, 29]. Pentru a nu perturba procesele vitale, la cultivarea spirulinei pot fi utilizați compuși coordinativi. Prima clasă de compuși coordinativi cercetați au fost compușii heterotrinucleari ai Fe(III) cu calciu, magneziu, zinc, cobalt, nichel și mangan. Rezultatele studierii influenței compușilor coordinativi ai Fe(III) asupra productivității spirulinei sunt redată în figura 1.

Rezultatele obținute permit a rezuma că, compușii coordinativi cercetați cu excepția $[\text{Fe}_2\text{NiO}]$, introduși în mediul de cultivare al spirulinei în concentrații de până la 50 mg/l, manifestă un efect pozitiv asupra creșterii și dezvoltării spirulinei.

La cultivarea spirulinei în prezența compușilor coordinativi de tipul $[\text{Fe}_2\text{MeO}]$, unde Me = (Co, Mn, Zn, Ca) în concentrațiile de până la 30 mg/l, productivitatea sporește cu circa 42%. Odată cu depășirea limitei de 30 mg/l a concentrației acestora, valorile productivității scad neesențial, atingând nivelul martorului sau depășindu-l nesemnificativ. Pentru compusul $[\text{Fe}_2\text{MgO}]$, productivitatea spirulinei s-a prezentat cu valori în limitele martorului.

Compusul coordinativ $[\text{Fe}_2\text{NiO}]$ s-a dovedit a fi toxic, deoarece la administrarea în concentrații mai mari de 20 mg/l el manifestă acțiune negativă asupra creșterii și dezvoltării spirulinei, cultura menținându-se viabilă doar primele trei zile de cultivare.

Valorile maxime ale productivității au fost înregistrate în cazul administrării a 30 mg/l de $[\text{Fe}_2\text{CoO}]$, de $[\text{Fe}_2\text{MnO}]$ și de $[\text{Fe}_2\text{ZnO}]$, depășind martorul cu 23-42%.

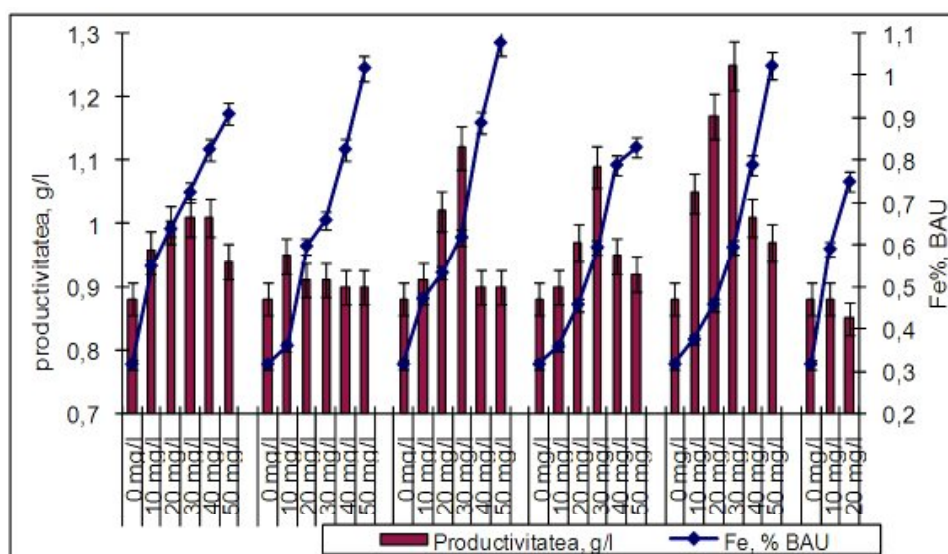


Figura 1. Productivitatea și conținutul de fier în biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-02 cultivată în prezența unor compuși coordinativi ai Fe(III).

Conținutul de fier acumulat în biomasa de spirulină obținută la cultivare în prezența compușilor heterotrinucleari ai Fe(III) crește odată cu majorarea concentrației, atingând nivelul maxim la administrarea compusului în concentrație de 50 mg/l. Un conținut de 0,75, 0,83 și 0,91% fier din BAU a fost determinat în biomasa cultivată în prezența compușilor heterotrinucleari ai Fe(III) ce conțin $[\text{Fe}_2\text{NiO}]$, $[\text{Fe}_2\text{CoO}]$ și $[\text{Fe}_2\text{CaO}]$, respectiv. Un conținut de 1,02% fier din BAU a fost atestat în biomasa cultivată în

prezența $[\text{Fe}_2\text{Mg}]$ și $[\text{Fe}_2\text{ZnO}]$. Un conținut de 1,08% fier a fost determinat în biomasa cultivată în prezența $[\text{Fe}_2\text{MnO}]$.

Rezultatele experiențelor cu aplicarea compușilor coordinativi ai Cr(III) în calitate de stimulatori ai productivității și conținutului de crom în biomasa de spirulină sunt prezentate în figura 2. La administrarea compușilor coordinativi ai Cr(III) în concentrație de 10-40 mg/l se observă o majorare a productivității față de proba de referință. Cel mai înalt nivel al productivității a fost stabilit la administrarea tuturor compușilor studiați în concentrație de 30 mg/l (sporul constituind 17,56 - 31,08% față de proba martor).

Începând cu concentrația de 40 mg/l productivitatea descrește nesemnificativ cu 1,36 - 6,76% sub nivelul martorului.

Utilizarea compușilor coordinativi ai Cr(III) la cultivarea spirulinei asigură o majorare a conținutului de crom acumulat în biomasă față de proba de referință, indiferent de concentrația și natura compusului (figura 2).

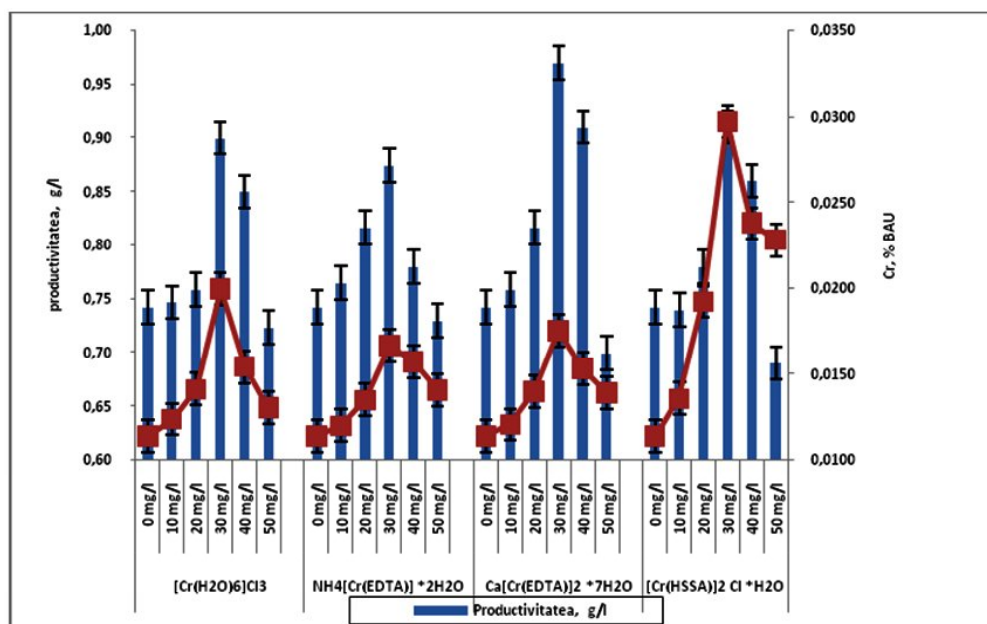


Figura 2. Productivitatea și conținutul de crom în biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-02 cultivată în prezența unor compuși coordinativi ai Cr (III)

Majorarea conținutului de crom acumulat în biomasă (de 1,5 - 2,6 ori) are loc în limitele concentrațiilor de 20-30 mg/l, după care scade, dar depășește valoarea probei de referință. Acumularea maximă a cromului în biomasă are loc la concentrația de 30 mg/l pentru toți compușii testați. Astfel, pentru compușii $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]\text{Cl}_3$, $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{EDTA})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ și $\text{Ca}[\text{Cr}(\text{EDTA})]_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ conținutul cromului crește cu 46,49 - 74,56% față de martor. De asemenea, administrarea compușilor coordinativi ai Cr(III) în concentrație de 30 mg/l a permis și majorarea ratei productivității de 1,13 - 1,17 ori față de proba de referință. Astfel, este vădită rentabilitatea respectării condițiilor de cultivare a spirulinei și adăugării suplimentare la mediul de cultivare standard a 30 mg/l a compușilor coordinativi ai Cr(III) testați. Astfel, putem presupune că

rata sporită de acumulare a cromului în biomasa de spirulină cultivată în prezența $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{EDTA})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ și $\text{Ca}[\text{Cr}(\text{EDTA})]_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ se datorează ligandului din sfera internă a acestor compuși, cu care este complexat Cr(III), ceea ce facilitează transportul și stocarea lui intracelulară.

Acumularea maximă a cromului (29,68% BAU) a fost atestată în cazul administrării a 30 mg/l de $[\text{Cr}(\text{HSSA})]_2\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ la mediul standard de cultivare a spirulinei. Acest compus în concentrație de 30 mg/l a contribuit și la sporirea productivității (cu 10% față de proba de referință). Din toți compușii testați compusul $[\text{Cr}(\text{HSSA})]_2\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ în concentrație de 30 mg/l poate fi recomandat în calitate de reglator de creștere a biomasei de spirulină și acumulare a cromului în biomasă. A fost observat, că la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* în prezența $[\text{Cr}(\text{HSSA})]_2\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ conținutul de peptide crește cu circa 20% față de proba de referință [8]. Conținutul înalt de crom în biomasa de spirulină cultivată în prezența $[\text{Cr}(\text{HSSA})]_2\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ poate fi explicată prin implicarea restului acidului salicilic în procesul de sinteză a sideroforilor – peptide responsabile de transportul intracelular al metalelor trivalente [4, 26]. Rezultatele cercetărilor anterioare au demonstrat că utilizarea acidului salicilic la cultivarea algei verzi *Chlorella vulgaris* a dus la majorarea conținutului de proteină cu 60% față de proba martor [9].

Așadar în urma cercetărilor efectuate s-a stabilit, că compușii coordinați ai Fe(III) utilizați (cu excepția $[\text{Fe}_2\text{NiO}]$) la cultivarea spirulinei în concentrații de până la 50 mg/l posedă efecte reglatoare asupra productivității ei și de inducere a acumulării fierului în biomasă. Conținutul de fier în biomasă crește în șirul: $[\text{Fe}_2\text{NiO}]$ (0,75% BAU) < $[\text{Fe}_2\text{CoO}]$ (0,83% BAU) < $[\text{Fe}_2\text{CaO}]$ (0,91% BAU) < $[\text{Fe}_2\text{MgO}]$ (1,02% BAU) < $[\text{Fe}_2\text{ZnO}]$ (1,03% BAU) < $[\text{Fe}_2\text{MnO}]$ (1,08% BAU).

Conținutul de crom acumulat în biomasă este esențial mai scăzut, comparativ cu cel al fierului și crește în șirul: $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{EDTA})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (16,66 mg%) < $\text{Ca}[\text{Cr}(\text{EDTA})]_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (17,54 mg%) < $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]_2\text{Cl}_3$ (19,93 mg%) < $[\text{Cr}(\text{HSSA})]_2\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (29,68 mg%).

În calitate de reglatori ai creșterii spirulinei și pentru obținerea biomasei cu un conținut sporit de fier și crom pot fi utilizați compușii $[\text{Fe}_2\text{ZnO}]$, $[\text{Fe}_2\text{MnO}]$ și $[\text{Cr}(\text{HSSA})]_2\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Bibliografia

1. Anderson, R., Roussel, A., Zouari, N., Matheau, J., Kerkeni, A. Potential antioxidant effect of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes. // J. of American college of Nutrition, 2001, vol. 20, no. 3, p. 212-218;
2. Andrews, N. Disorders of iron metabolism. // New England Journal of Medicine. 1999, v. 341, no. 26, p. 1986-1995;
3. Beard, J. Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal function. // J. Nutr., 2001, no. 131, p. 568-579;
4. Beiderbeck H., Taraz K., Budzikiewicz H. Anachelin, the siderophore of the cyanobacterium *Anabaena cylindrica* CCAP 1403/2A. // Z Naturforsch [C], no. 55, p. 681-687;
5. Bucheli-Witschel M., Egli T. Environmental fate and microbial degradation of aminopolycarboxylic acids. // FEMS Microb. Rev., 2001, vol. 25, p. 69-106 ;
6. Bulimaga, V., Chiriac, T., Rudic, V., Cordeleanu, C. Metodă de determinare a conținutului de crom în biomasa cianobacteriilor și algelor. // Brevet MD Nr.2368, 2004;
7. Chen, H., Pan, G., Yan, H., Qin, Y. Toxic effects of hexavalent chromium on the growth of blue-green microalgae. // Huan Jing Ke Xue, 2003, vol. 24, no. 2, p. 13-18;
8. Ciurac D., Zosim L., Chiriac T., Prodius D., Olan O., Popa V., Sadovnic D., Iațco

I., Cordeleanu C., Doni V. Studiul acțiunii compușilor coordinativi noi ai Fe(III) și ai Cr(III) asupra procesului de acumulare a unor principii bioactive în biomasa de spirulină. //Studia Universitatis, Seria „Științe ale naturii”, Chișinău, 2009, în tipar;

9. Czerpak R, Bajguz A., Gromek M., Kozłowska G., Nowak I. Activity of salicylic acid on the growth and biochemism of *Chlorella vulgaris* beijerinck. //Acta physiologiae plantarum, 2002, vol. 24, n. 1, p. 45-52;

10. Hamdy, A. Biosorption of heavy metals by marine algae. //Curr. Microbiol., 2000, vol. 41, no. 4, p. 232-238

11. Hayashi, K., Hayashi, T., Kojima, I. A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *Spirulina platensis*: *in vitro* and *in vivo* evaluation of anti-herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus activities. AIDS Res. Hum Retroviruses, 1996, no. 12, p. 1463-1471;

12. Hepburn, D., Xiao, J., Bindom, S., Vincent, J., O'Donnell, J. Nutritional supplement chromium picolinat causes sterility in *Drosophila melanogaster*. //Proc. Natl. Acad. Sci., 2003, vol. 100, p. 3766-3771;

13. Knauert S., Knauer K. The role of reactive oxygen species in copper toxicity to two freshwater green algae. //Journal of Phycology, 2008. vol.44, no. 2, pag.311-319;

14. Levina, A., Lay, P. Mechanistic studies of relevance to the biological activities of chromium. //Coordination Chemistry Reviews, 2005, vol. 249, p. 281-298

15. Losi, M., Amrhein, C., Frankenberg, W. Environmental biochemistry of chromium. Rev. //Environ. Contam. Toxicol., 1994, vol. 136, p. 91-121;

16. Pollitt, E. Iron Deficiency and Cognitive Function. //Annual Review of Nutrition, 1993, no.13, p.521-537;

17. Ratkevicius N., Correa J., Moenne A. Copper accumulation, synthesis of ascorbate and activation of ascorbate peroxidase in *Enteromorpha compressa* from heavy metal-enriched environments in northern Chile. //Limnol. Oceanogr., 2003, vol. 48, no.1, pag. 179–188;

18. Rudic V. Aspecte noi ale biotehnologiei moderne. Chișinău, 1993, p. 140;

19. Rudic V., Cojocari A., Cepoi L., Chiriac T., Rudi L. ș.a.. Ficobiotehnologia – cercetări fundamentale și realizări practice. //Chișinău, 2007 (Tipogr. „Elena V. I.” SRL).-365p.

20. Rudic V., Gudumac V., Gulea A. Metoda de determinare a biomasei absolut uscate de spirulină. //Brevet de invenție, nr. 1078/92.08.788(RO). Publ. în Bul. de Inv. și Mărci. nr.6.1997;

21. Rudic, V., Dencicov, L. Optimizarea mediului nutritiv pentru cultivarea spirulinei. // Anale științifice ale Universității „Al.I. Cuza”, din Iași, Seria Biologie, 1991, v. 37, p. 91-94;

22. Rudic, V., Gudumac, V., Bulimaga, V., Dencicov, D., Ghelbet, V., Chiriac, T. Metode de investigații în ficobiotehnologie. //Chișinău, 2002, 61 p.;

23. Shanker, A., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., Avudainayagam S. Chromium toxicity in plants. //Environ. Int., 2005, vol. 31, no. 5, p. 739-753;

24. Sharafetinov, K., Mrshcheriakova, V., Plotnikova, O., Mazo, V., Gmshinskii, I., Necheava, S. Effect of food diet supplements with chromium in clinical and metabolic parameters in type 2 of diabetic patients. //Vopr. Pitan., 2004, vol.73, no. 5, p. 17-20;

25. Slowik J., Pawlaczyk-Szpilowa M. Interaction between *Scenedesmus obliquus* and the heavy metals copper and lead. //Acta hydrochimica et hydrobiologica, vol. 17, no 5, pag. 503–509;

26. Stintzi A., Barnes C., Xu J., Raymond K. Microbial iron transport via a siderophore shuttle: a membrane ion transport paradigm. //PNAS 2000, vol. 97, no. 20, pag. 10691–10696;

27. Thompson, S., Manning, F., Mc-Coll, S. Comparisation of the toxicity of chromium III and chromium VI to cyanobacteria. //Bull. Environ. Contam. Toxicol., 2002, vol. 69, p. 286-293

28. Vincent, J. The biochemistry of chromium. //J. Nutr., 2000, vol. 130, p. 715-718;

29. Wu J., Hsieh M., Kow L. Role of proline accumulation in response to toxic copper in *Chlorella* sp. (Chlorophyceae) cells. // Journal of Phycology. 1998. vol. 34, pag. 113-117;

30. Алешко-Ожевский, Ю., Зилова, И., Мазо, В. и др. *Spirulina platensis* – перспективный пищевой источник эссенциальных микроэлементов. // Вестн. новых мед. технологий. 2002. Т. 9. № 1. с. 3–10;

31. Ермаков, А., Арасимович, В., Ярош, Н., Перуанский, Г., Луковникова, Г., Иконникова, М. Методы биохимического исследования растений. // Агропромиздат, 1987, 430 с;

32. Максимов, В. Многофакторный эксперимент в биологии. // Москва, МГУ, 1980, 280 с.

33. Мецлер, А. Биохимия. Химические реакции в живой клетке. // Т.1,2, Москва; Изд. «Мир», 1980, 606 с.

Mulțumiri. Aducem sincere mulțumiri d-lui academician Turtă Constantin și d-lui membru corespondent, profesor universitar Gulea Aurelian pentru asigurarea cu compuși coordinați. Cercetările au fost efectuate în cadrul proiectului 08.819.0803F finanțat de către Consiliul Suprem Pentru Știință și Dezvoltare Tehnologică al AȘM.