

**MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII
UNIVERSITATEA DE STAT „DIMITRIE CANTEMIR”
ȘCOALA DOCTORALĂ ȘTIINȚE BIOLOGICE**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 507. 663.12/. 604.2: 620.3

BEȘLIU ALINA

**EFECTELE NANOPARTICULELOR OXIZILOR METALICI
ASUPRA LEVURILOR DIN GENUL *RHODOTORULA***

167.01 BIOTEHNOLOGIE, BIONANOTEHNOLOGIE

Rezumatul tezei de doctor în științe biologice

Teza a fost elaborată în laboratorul Biotehnologia levurilor al Institutului de Microbiologie și Biotehnologie

CHIȘINAU 2020

Teza a fost elaborată în Școala doctorală Științe biologice, Universitatea de Stat „Dimitrie Cantemir” și Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, membru al consorțiului academic
ȘDȘB

Conducător de doctorat:

USATÎI Agafia doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător.

Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

Duca Maria, doctor habilitat, profesor universitar, academician – președinte (USDC)

Cepoi Liliana, doctor, conferențiar cercetător – referent (ȘDȘB)

Sturza Rodica, doctor habilitat în tehnică, profesor universitar, UTM – referent

Chirsanova Aurica, doctor în biologie, conferențiar universitar, UTM - referent

Rudic Valeriu, doctor habilitat, profesor universitar, academician – membru

Susținerea va avea loc la _____, ora _____, în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctor, Sala polivalentă a Universității de Stat “Dimitrie Cantemir”, str. Hâncești 55/4, Chișinău.

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la Biblioteca Științifică Centrală „A. Lupan” a Academiei de Științe a Moldovei și pe pagina web a ANACEC (www.anacip.md).

Rezumatul a fost expediat la „_____” 2020

Conducător științific:

Usatîi Agafia,

doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător.

Autor:

Beșliu Alina

©Beșliu Alina, 2020

CUPRINS

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII	4
CUVINTELE CHEIE	6
METODOLOGIA CERCETĂRII	6
SINTEZA CAPITOLELOR	7
1 NANOPARTICULE OXIZILOR METALICI CARACTERIZARE ȘI APLICAȚII ÎN MICROBIOLOGIE (REVIUL LITERATURII)	7
2 MATERIALE SI METODE DE CERCETARE	7
3 EFECTELE NANOPARTICULELOR ZNO ASUPRA TULPINILOR DE LEVURI DIN GENUL <i>RHODOTORULA</i>	8
3.1. Validarea testelor microbiologice și biochimice pentru studii de evaluare a efectelor nanoparticulelor ZnO asupra levurilor	8
3.2. Viabilitatea, producția de biomasă și caracterele morfologice ale levurii <i>Rhodotorula gracilis</i> sub influența nanoparticulelor ZnO	8
3.3. Sinteza proteinelor la levurile <i>Rh. gracilis</i> sub influența nanoparticulelor ZnO	10
3.4. Sinteza carbohidraților la levurile <i>Rh. gracilis</i> sub influența nanoparticulelor ZnO	11
3.5. Sinteza carotenoizilor la levurile <i>Rh. gracilis</i> sub influența nanoparticulelor ZnO	11
3.6. Activitatea enzimelor antioxidante catalazei și superoxid dismutazei la <i>Rh. gracilis</i> sub influența nanoparticulelor ZnO	12
3.7. Procedeu de cultivare a levurilor <i>Rh. gracilis</i> cu utilizarea nanoparticulelor ZnO	13
4 EFECTELE NANOPARTICULELOR Fe ₃ O ₄ ASUPRA TULPINII <i>RH. GRACILIS</i> CNMN-Y-30	13
4.1. Viabilitatea, producția de biomasă celulară și caracterele morfologice a tulpinii <i>Rh. gracilis</i> CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe ₃ O ₄	13
4.2. Sinteza proteinelor la tulpina <i>Rh. gracilis</i> CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe ₃ O ₄	14
4.3. Sinteza carbohidraților la tulpina <i>Rh. gracilis</i> CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe ₃ O ₄	15
4.4. Sinteza carotenoizilor la tulpina <i>Rh. gracilis</i> CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe ₃ O ₄	15
4.5. Activitatea enzimelor antioxidante catalazei și superoxid dismutazei la tulpina <i>Rh. gracilis</i> CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe ₃ O ₄	16
4.6. Procedeu de evaluare a impactului nanoparticulelor Fe ₃ O ₄ cu utilizarea în calitate de model a levurii <i>Rh. gracilis</i>	17
5 REALIZAREA NANOCOMPOZITELOR CHITOSAN-ZINC ȘI CHITOSAN-FIER CU PERSPECTIVE BIOTEHNOLOGICE	17
5.1. Evaluarea acțiunii nanocompozitului chitosan-zinc asupra activității biosintetice <i>Rh. gracilis</i>	17
5.2. Evaluarea acțiunii nanocompozitului chitosan-fier asupra activității biosintetice <i>Rh. gracilis</i>	19
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI	19
BIBLIOGRAFIE	21
LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI	24
ADNOTARE	28

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Dezvoltarea științei și tehnologiilor în ultimul deceniu este caracterizată prin studii intensive privind proprietățile nanoparticulelor și elaborarea diferitor procedee de aplicare practică a acestora. Nanoparticule metalice sunt printre cele mai utilizate pe scară largă în diferite domenii [21, 25, 35]. O categorie importantă de nanoparticule sunt nanooxizii, printre care se numără ZnO și Fe₃O₄, care oferă posibilități atractive de implementare în biomedicină, alimentație, cosmetologie, farmaceutică, protecția mediului și biotehnologie [1, 9]. O soluție importantă pentru lărgirea spectrului de utilizare a nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄ prezintă acoperirea lor cu diferiți polimeri, inclusiv cu chitosan. Acestea contribuie la stabilizarea eficientă a nanoparticulelor oxizilor metalici, oferindu-le biocompatibilitate crescută, funcționalitate chimică, reducând toxicitatea și capacitatea lor oxidativă [19].

Citotoxicitatea nanoparticulelor, inclusiv ale oxizilor metalici și interacțiunea acestora cu sistemele biologice este încă neclară [20], de aceea există necesitatea stringentă de a înțelege influența și a evalua riscurile posibile, deci este necesar ca atât efectele benefice, cât și cele adverse ale acestor nanomateriale să fie evaluate utilizând diferite organisme [18]. Levurile pigmentate din genul *Rhodotorula* pot servi ca obiecte biotehnologice reprezentative și ca modele adecvate care oferă posibilități enorme în modelarea efectelor și stabilirea mecanismelor de acțiune a nanoparticulelor asupra proceselor vitale în celula eucariotă [11, 14]. În calitate de repere se propun diferiți indicatori microbiologici și biochimici. Problema de cercetare care rezultă din analiza situației în domeniu, constă în necesitatea de a elucida gradul de influență a nanoparticulelor oxizilor metalici asupra tulpinilor de levuri din genul *Rhodotorula* în vederea valorificării eficiente a potențialului biotehnologic al acestor nanomateriale.

Scopul lucrării constă în determinarea gradului de influență a nanoparticulelor oxizilor metalici ZnO și Fe₃O₄ asupra indicilor microbiologici și biochimici la levurile de interes biotehnologic din genul *Rhodotorula* și aprecierea perspectivelor de utilizare a lor în bionanotehnologii.

Obiectivele lucrării:

- Validarea testelor microbiologice și biochimice în contextul calificării și asigurării calității metodelor utilizate pentru evaluarea efectelor nanoparticulelor oxizilor metalici;
- Stabilirea particularităților acțiunii nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄ cu diferite dimensiuni asupra levurilor din genul *Rhodotorula*;
- Elaborarea procedeelelor de utilizare a nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄ în biotehnologia cultivării levurilor;

- Obținerea nanocompozitelor chitosan-zinc și chitosan-fier și aprecierea perspective utilizării lor în biotehnologia levurilor pigmentate.

Ipotezele cercetării:

1. Nanoparticulele ZnO pot fi utilizate în calitate de stimulatori ai biosintezei componentelor bioactive a levurilor pigmentate din genul *Rhodotorula*.
2. Levurile pigmentate din genul *Rhodotorula* pot servi ca organisme - model pentru testarea gradului de nocivitate a nanoparticulelor oxizilor metalici.

Noutatea și originalitatea științifică. În premieră au fost validate teste microbiologice și biochimice și identificate componentele celulare ale levurilor pigmentate din genul *Rhodotorula*, implicate în răspunsul la acțiunea nanoparticulelor; elucidat caracterul acțiunii nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄ asupra viabilității, producției de biomasă, caracterelor morfologice, conținutului de proteine, carbohidrați, carotenoide, enzimelor antioxidante la levurile din genul *Rhodotorula* în dependență de dimensiuni și concentrație. A fost demonstrat că nanoparticulele ZnO, utilizate în concentrații 1-20 mg/L, influențează pozitiv procesele de multiplicare și biosinteză a proteinelor, carbohidraților și pigmentilor carotenoidici. A fost demonstrat că nanoparticulele Fe₃O₄ induc la *Rhodotorula gracilis* modificări semnificative în sistemul de apărare antioxidant, care se manifestă prin scăderea conținutului de carotenoide și enzimei catalaza. În premieră este elucidat caracterul de acțiune a nanocompozitelor chitosan-zinc și chitosan-fier asupra levurilor din genul *Rhodotorula*. Au fost elaborate două procedee noi de sporire a cantității și calității proteinelor cu utilizarea nanoparticulelor ZnO și de evaluare a toxicității nanoparticulelor Fe₃O₄ cu utilizarea în calitate de model a levurii *Rhodotorula gracilis*. Originalitatea procedeelelor elaborate sunt confirmate de 2 brevete de invenție și o cerere de brevet de invenție.

Problema științifică importantă soluționată în lucrare. Au fost stabilite efectele nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄ asupra levurilor de interes biotehnologic din genul *Rhodotorula*, ceea ce a contribuit la elucidarea unor mecanisme de acțiune a nanoparticulelor, fapt ce a permis aprecierea perspectivelor de utilizare a lor în bionanotehnologii.

Semnificația teoretică. Sunt argumentate științific particularitățile de acțiune a nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄, în funcție de dimensiuni și concentrație, și a nanocompozitelor chitosan-zinc și chitosan-fier asupra indicilor microbiologici și biochimici la levurile din genul *Rhodotorula*, ceea ce a servit ca bază pentru elucidarea unor căi de acțiune și elaborarea procedeelelor de utilizare a nanomaterialelor menționate în biotehnologia cultivării levurilor.

Valoarea aplicativă. Au fost elaborate și propuse spre valorificare: un procedeu de sporire a conținutului de proteine la *Rhodotorula gracilis* cu utilizarea nanoparticulelor ZnO; un

procedeu nou de testare a gradului de nocivitate a nanoparticulelor Fe₃O₄ cu utilizarea în calitate de model a levurilor pigmentate din genul *Rhodotorula*; un procedeu nou de obținere a nanocompozitelor chitosan–zinc și chitosan-fier cu perspective biotehnologice.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele cercetării „Stabilirea efectului nanomaterialelor asupra dezvoltării și productivității levurilor” sunt aplicate în cadrul Institutului de Inginerie Electronică și Nanotehnologii “D. Ghițu” Act nr. 121 din 29.11.2018. De asemenea au fost elaborate recomandările de evaluare a impactului nanoparticulelor oxizilor de metale cu utilizarea levurilor. „Metoda spectrofotometrică validată de determinare a activității enzimei catalaza” este utilizată în lucrul practic în laboratorul Microbiologia solului, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie Act nr. 96 din 07.11.2019.

Publicații la tema tezei. Rezultatele cercetărilor la tema tezei de doctor au fost publicate în 46 de lucrări științifice: 15 articole în reviste recenzate (7 în reviste internaționale, 3 cotate ISI și SCOPUS; 8 în reviste naționale categoria B, 3 în monoautorat), 7 articole în culegeri (3 în monoautorat), 1 lucrare științifico-metodică, 14 teze la conferințe internaționale și naționale (3 în monoautorat), 2 brevete de invenție și 1 cerere de brevet de invenție, 7 materiale la saloane de invenții (5 medalii de aur, 1 medalie de bronz), 2 acte de implementare.

CUVINTE CHEIE: Nanoparticule ZnO, Fe₃O₄, *Rhodotorula gracilis*, viabilitate, caractere morfologice, carbohidrați, proteine, pigmenți carotenoizi, catalaza, superoxid dismutaza.

METODOLOGIA CERCETĂRILOR ȘTIINȚIFICE

Conform scopului și obiectivelor înaintate, pentru demonstrarea ipotezei de cercetare, au fost utilizate metode clasice și moderne, inclusiv: metode de validare a parametrilor microbiologici și biochimici pentru studii de nanotoxicologie; metode microbiologice clasice de cultivare a levurilor, evaluarea viabilității și caracterilor morfologice celulare și coloniale; metode biochimice de determinare a conținutului de proteine, pigmenți carotenoizi, carbohidrați, enzime antioxidante catalaza și superoxid dismutaza; - metoda sonochimică de preparare a nanocompozitelor chitosan-ZnO și chitosan-Fe₃O₄; metode matematice de planificare a experiențelor; metode de prelucrare statistică a rezultatelor.

SINTEZA CAPITOLELOR

1. NANOPARTICULELE OXIZILOR METALICI – CARACTERIZAREA ȘI APLICAȚII (REVIUL LITERATURII)

Capitolului include o analiza amplă a realizărilor științifice la tema de cercetare. Studiul bibliografic conține 361 de lucrări relevante din domeniul biotehnologiei, bionanotehnologiei, nanotehnologiei, microbiologiei, biomedicinii și alimentației din întreaga lume. Capitolul 1 este dedicat clasificării, caracterizării și proprietăților fizico-chimice ale nanoparticulelor oxizilor metalici, elucidării mecanismului celular al toxicității nanoparticulelor și evidențierea principalelor cauze ale acestui fenomen. Sunt analizate metodele de preparare și stabilizare a nanoparticulelor metalice precum co-precipitarea, microemulsierea, descompunerea termică a precursorilor, metoda hidrotermală, sonochimică, bioabsorbție, bioreducție și stabilizarea cu polimeri naturali. O atenție deosebită este orientată spre potențialul înalt de implementare a nanoparticulelor metalice în biomedicină, farmaceutică, alimentație, industrie, protecția mediului și biotehnologie [5]. În continuare, este expusă oportunitatea implicării levurilor din genul *Rhodotorula* în nanobiotehnologii și testarea nanotoxicității pentru diferite aplicații [14]. Capitolul se încheie cu expunerea problemei de cercetare și direcțiile de soluționare a acesteia, sunt formulate scopul, obiectivele și ipotezele cercetării.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Capitolul include descrierea materialelor și metodelor folosite la realizarea cercetărilor. În cadrul experiențelor a fost studiat efectul nanoparticulelor anorganice a oxizilor metalici: ZnO cu dimensiuni de <50 nm, <100 nm, Fe₃O₄ cu dimensiunile de 10 nm, 30 nm [27], <50-100 nm, nanocompozitele chitosan-zinc și chitosan-fier.

În calitate de obiecte de studiu au servit levurile pigmentate *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-03 producător de pigmenți carotenoizi și *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30, producător de proteine și pigmenți carotenoizi. Tulpinile sunt depozitate în colecția Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie.

Pentru realizarea cercetărilor au fost utilizate metode clasice și moderne de determinare a influenței nanoparticulelor asupra levurilor. Au fost utilizate metodele microbiologice de determinare a viabilității celulare prin cuantificarea numărului de colonii formate pe plăcile cu YPD agarizat. Au fost studiate modificările caracterelor morfologice celule și coloniale induse de nanoparticule testate. Pentru a identifica efectele nanoparticulelor oxizilor metalici au fost utilizate un șir de metode biochimice: de determinare a conținutului de proteine, carbohidrați,

pigmenți carotenoizi, activității enzimelor antioxidante catalaza și superoxid dismutaza. Pentru reducerea toxicității nanoparticulelor Fe₃O₄ și ZnO au fost elaborate și testate diferite procedee de acoperire a acestora cu chitosan.

Analiza statistică a rezultatelor a fost efectuată utilizând setul de programe MO Excel și Statistica 9.0. Rezultatele în lucrare sunt exprimate prin media a 3-4 repetări ± deviația standard și intervalului de încredere pentru o medie. Toate diferențele între variante au fost considerate semnificative statistic pentru $P \leq 0,05$.

3. EFECTELE NANOPARTICULELOR ZnO ASUPRA TULPINILOR DE LEVURI DIN GENUL *RHODOTORULA*

3.1. Validarea testelor microbiologice și biochimice

Pentru atingerea scopului și asigurarea calificării și calității metodelor utilizate în cercetare s-a efectuat validarea testelor microbiologice și biochimice. Rezultatele obținute au demonstrat că metodele testate de determinare a viabilității, conținutului de proteine și activității enzimei antioxidante catalaza în biomasa levurii *Rh. gracilis* CNMN-Y-03, cultivată în prezența NP ZnO (50 nm) în limitele concentrațiilor 0-20 mg/L, sunt specifice, precise, liniare, robuste și valide și pot fi utilizate pentru testarea influenței nanoparticulelor oxizilor metalici la levuri [23].

3.2. Viabilitatea, producția de biomasă și caracterele morfologice ale levurii *Rhodotorula gracilis* sub influența nanoparticulelor ZnO

Studiul efectelor nanoparticulelor ZnO în funcție de dimensiuni și concentrație a evidențiat modificări semnificative ale viabilității celulelor levurii *Rh. gracilis*. S-a observat o creștere a viabilității celulare după 24 ore de cultivare comparativ cu primele 6 ore pentru ambele tipuri de nanoparticule și tulpini cercetate la aplicarea concentrațiilor de 1-30 mg/L ZnO <50 nm (fig. 3.1).

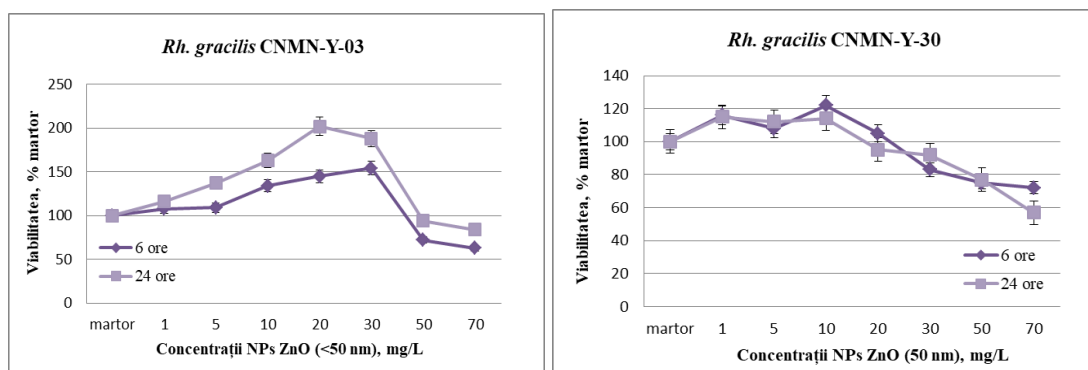


Fig.3.1. Viabilitatea *Rh. gracilis* la contact cu nanoparticulele ZnO <50 nm în funcție de concentrație și durata de contact

Analiza comparativă a acțiunii nanoparticulelor în concentrațiile de 50-70 mg/L, arată efecte citotoxice asupra tulpinilor studiate după 6 și 24 ore de contact. Viabilitatea celulelor scade cu peste 40%. Astfel, cuantificarea numărului de colonii formate pe plăcile cu mediu YPD agarizat a demonstrat că concentrația minimă inhibiție (IC50%) a nanoparticulelor ZnO cu dimensiuni de <50 nm constituie 70 mg/L în cazul ambelor tulpini [32].

Acțiunea NP ZnO cu dimensiuni <100 asupra levurilor *Rh. gracilis* s-a manifestat diferit. Viabilitatea *Rh. gracilis* CNMN-Y-03 după 6 și 24 ore de cultivare crește la aplicarea concentrațiilor de 1...30 mg/L cu 16-41%, față de proba martor [7]. În cazul tulpinii *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 după 6 și 24 ore de contact cu nanoparticule în concentrații de 20-30 mg/L viabilitatea scade cu până la 24-32% (fig. 3.2). S-a constatat că gradul de viabilitate la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 este asociat cu concentrațiile utilizate în experiențe.

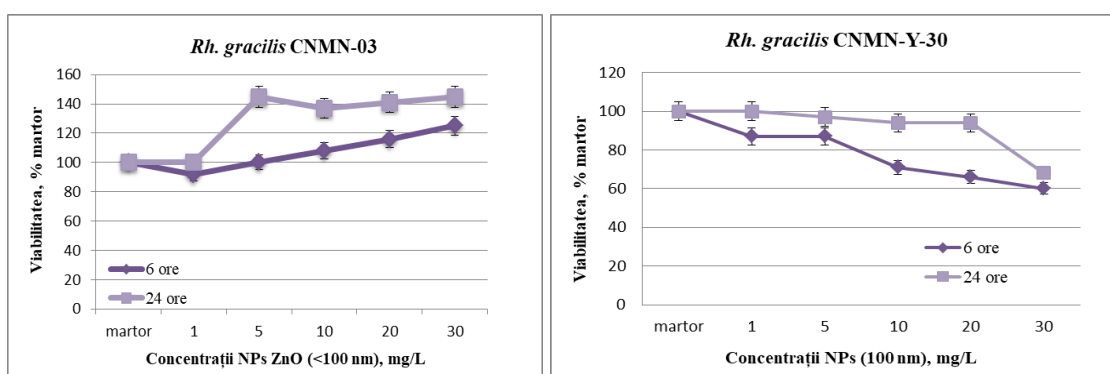


Fig.3.2. Viabilitatea *Rh. gracilis* la contact cu nanoparticulele ZnO <100 nm în funcție de concentrație și durata de contact

Nanoparticulele ZnO <50 nm în concentrațiile 1-70 mg/L și ZnO <100 nm în concentrații de 1-30 mg/L nu au indus modificări ale producției de biomasă la levurile pigmentate din genul *Rhodotorula* la cultivare timp de 120 ore [32].

S-a constatat, că în prezența nanoparticulelor de ZnO <50 nm are loc modificarea dimensiunilor celulelor la *Rh. gracilis*. Efectul este mai evident la contactul celulelor cu concentrația de 70 mg/L. O altă particularitate a acțiunii constă în formarea aglomerărilor celulare, în special la contactul cu concentrațiile de 20 și 70 mg/L (fig. 3.3) [15].

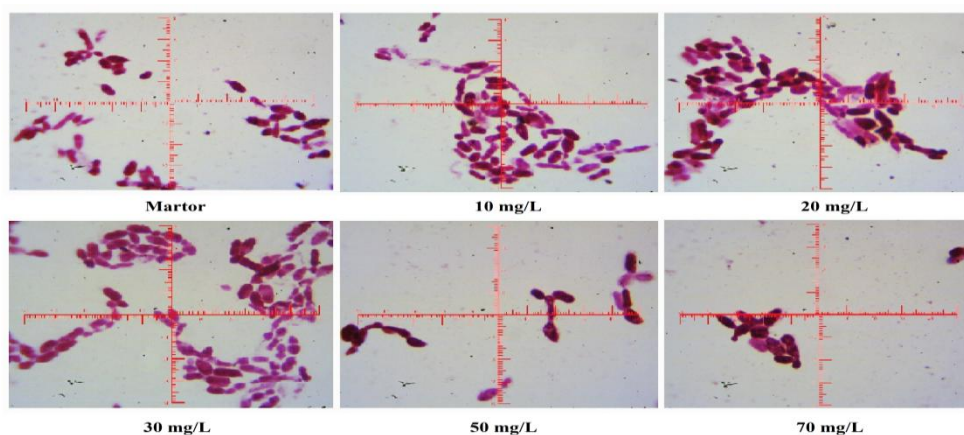


Fig. 3.3. Aspectul morfologic al celulelor *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 după 24 ore de contact cu nanoparticulele ZnO <50 nm, (ocular 15/100)

Coloniile la levurile pigmentate din genul *Rhodotorula*, cultivate pe mediu solid YPD timp de 120 ore în contact cu nanoparticule ZnO <50 nm, concentrații 30-70 mg/L se deosebesc de martor prin culoare, diametru și margine.

3.3. Sinteza proteinelor la levurile *Rh. gracilis* sub influența nanoparticulelor ZnO

Conținutul proteinelor în biomasa levurii *Rh. gracilis* CNMN-Y-03, sub influența concentrațiilor de la 5 la 30 mg/L de NP ZnO, este în creștere cu până la 57% [7]. În cazul tulpinii *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 NP ZnO (<50 nm) în concentrații de la 5 la 20 mg/L de asemenea crește conținutul de proteine cu până la 38% (fig. 3.4). În probele experimentale în care concentrațiile nanoparticulelor au constituit 50-70 mg/L, se observă o micșorare moderată a cantității de proteine la ambele tulpini.

La aplicarea nanoparticulelor ZnO cu dimensiuni <100 nm s-au înregistrat cantități sporite de proteine la ambele tulpini. Astfel, conținutul de proteine la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-03 în cazul concentrațiilor de 1,0-20,0 mg/L, a crescut cu până la 47%, iar la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 la concentrațiile de la 5 la 20 mg/L - cu până la 28% (fig. 3.4).

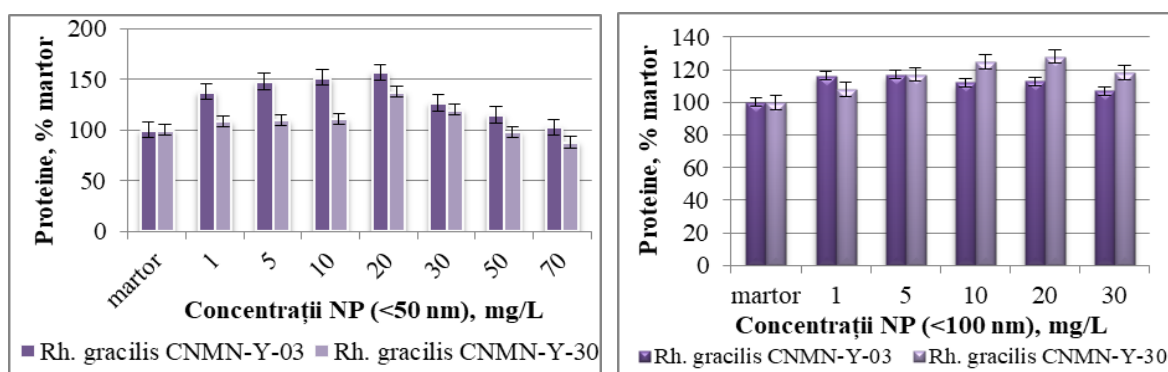


Fig. 3.4. Cantitatea de proteine în biomasa levurilor *Rh. gracilis* sub acțiunea nanoparticulelor ZnO în funcție de concentrație și dimensiune, comparativ cu martorul

Astfel, concentrațiile nanoparticulelor ZnO cu dimensiunile de <50 și <100 nm care stimulează procesului de biosinteză a proteinelor sunt cdele de 10-20 mg/L.

3.4. Sinteza carbohidraților la levurile *Rh. gracilis* sub influența nanoparticulelor ZnO

Nanoparticulele ZnO <50 nm în concentrații de 5-20 mg/L contribuie la sporirea cu până la 19% a cantității de carbohidrați la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-03 [7]. Efect semnificativ poate fi observat și la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30, la care cantitatea carbohidraților crește cu până la 32%, față de proba martor. La concentrațiile de 50-70 mg/L de NP ZnO, se observă o micșorare relativ moderată a cantității de carbohidrați. Efect pozitiv al NP a fost obținut și în cazul NP ZnO cu dimensiuni <100 nm în concentrațiile de la 1-10 mg/L. Cantitatea carbohidraților acumulați în biomasa ambilor tulpini crește cu până la 20-21 %, iar la concentrația de 30 mg/L, se observă o micșorare moderată a cantității de carbohidrați (fig. 3.5) [16]. Astfel, concentrația eficientă a nanoparticulelor ZnO (<50 nm) și ZnO (100 nm) pentru stimularea procesului de biosinteză a carbohidraților este de 5-20 mg/L.

3.5. Sinteza carotenoizilor la levurile *Rh. gracilis* sub influența nanoparticulelor ZnO

Conținutului de pigmenți carotenoidici în biomasa levurilor *Rh. gracilis* este dată în fig. 3.6. NP ZnO (<50 nm) aplicate în concentrațiile de 1...30 mg/L nu modifică esențial cantitatea carotenoizilor la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-03, iar la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30, la concentrațiile 5.0-10.0 mg/L, cantitatea de pigmenți în biomasa levuriană crește cu până la 29%. Creșterea concentrațiilor nanoparticulelor ZnO până la 30-70 mg/L, condiționează duce la scăderea cantității de carotenoizi cu până la 18%, față de martor.

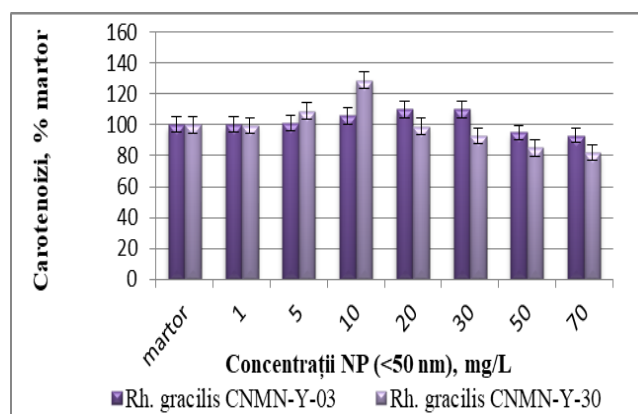


Fig. 3.6. Cantitatea de carotenoizi la *Rh. gracilis* sub acțiunea nanoparticulelor ZnO <50 nm comparativ cu martorul

Nanoparticulele ZnO cu dimensiuni <100 nm la concentrații de 5-20 mg/L nu modifică semnificativ cantitatea de carotenoizi, iar la concentrația de 30 mg/L aceasta scade cu până 36%. Astfel, dimensiunile mari și concentrațiile ridicate de 30 -70 mg/L ale nanoparticulelor examinate afectează cantitatea pigmentilor carotenoizi în biomasa levurilor *Rh. gracilis* [3, 13].

3.6. Activitatea enzimelor antioxidante catalaza și superoxid dismutaza la *Rh. gracilis* sub influența nanoparticulelor ZnO

Efectele nanoparticulelor ZnO <50 nm și <100 nm asupra activității enzimei antioxidante catalaza asupra levurilor din genul *Rhodotorula* sunt prezentate în fig. 3.7. NP ZnO <50 nm, în concentrațiile de 10...50 mg/L măresc activitatea catalazei la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-03 cu până la 50%, iar la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 - cu până la 36% [3].

NP ZnO <100 nm, în concentrații de 10...30 mg/L sporesc activitatea enzimei catalaza la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-03 cu 14-35% comparativ cu proba de control. Efect echivalent poate fi observat și la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 la aplicarea concentrațiilor de 10...20 mg/L, însă concentrația de 30 mg/L inițiază o scădere bruscă a activității enzimei cu 30%.

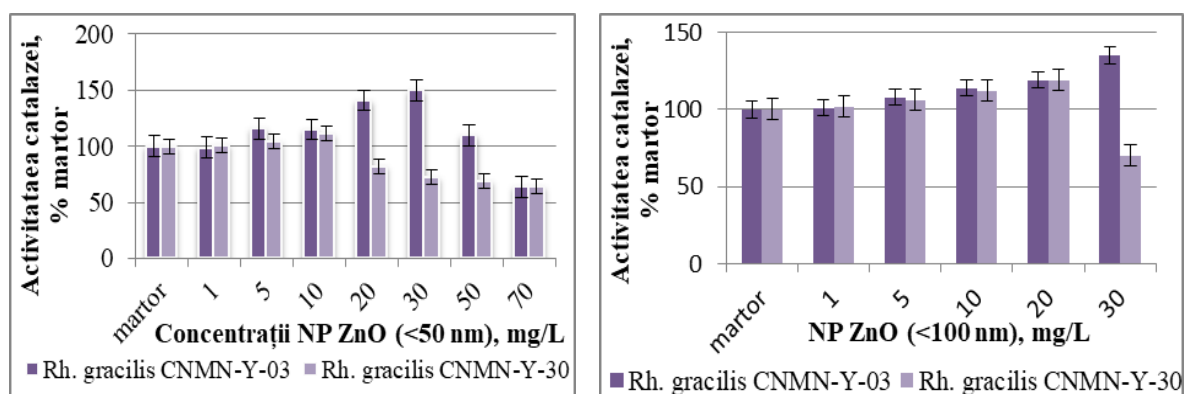


Fig. 3.7. Activitatea catalazei la *Rh. gracilis* în prezența NP ZnO

NP ZnO <50 nm în concentrații de la 5 mg/L la 70 mg/L sporesc activitatea SOD [3]. În cazul aplicării NP ZnO <100 nm activitatea enzimei SOD crește. Efect semnificativ a fost înregistrat pentru tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 - la concentrația de 20 mg/L de NP activitatea SOD crește cu 85%. La tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-03 la concentrațiile de 10-20 mg/L NP activitatea SOD crește cu 68% comparativ cu martorul [3, 11].

Astfel, se poate concluziona că mecanismul de răspuns adaptiv al levurilor depinde de dimensiunile și concentrația NP ZnO. Efecte vizibile manifestă nanoparticulele de dimensiuni mici aplicare în concentrații mari [3].

3.7. Procedeu de cultivare a levurilor *Rh. gracilis* cu utilizarea nanoparticulelor ZnO

Rezultatele experiențelor efectuate, în care s-a demonstrat că nanoparticulele ZnO joacă un rol important în procesul de sinteză a proteinelor, au permis de a propune un procedeu de sporire a conținutului de proteine la levurile *Rh. gracilis*. Procedeu propus asigură un nivel de proteine în biomasa de *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 de 57.89% (cu 23.1% mai mult ca în martor), iar în biomasa *Rh. gracilis* CNMN-Y-03 de 61.95% (cu 17%...32 %, mai mult ca în martor).

Proteinele levurii *Rh. gracilis* CNMN-Y-30, la cultivarea în prezența NP ZnO <50, au un conținut înalt de aminoacizi esențiali, imunoactivi și proteogeni, cantitatea cărora a crescut semnificativ - cu până la 236% față de martor.

Procedeu de cultivare a levurilor *Rh. gracilis* cu utilizarea nanoparticulelor ZnO este confirmat de un brevet de invenție [22] și o cerere de brevet de invenție (nr. 5823 din 2020.02.18).

4. EFECTELE NANOPARTICULELOR Fe₃O₄ ASUPRA TULPINII *RH. GRACILIS* CNMN-Y-30

4.1. Viabilitatea, producția de biomasă și caracterile morfologice ale tulpinii *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe₃O₄ de diferite dimensiuni

Viabilitatea culturii *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 sub acțiunea nanoparticulelor Fe₃O₄ în funcție de concentrații și dimensiuni sunt prezentate în figura 4.1.

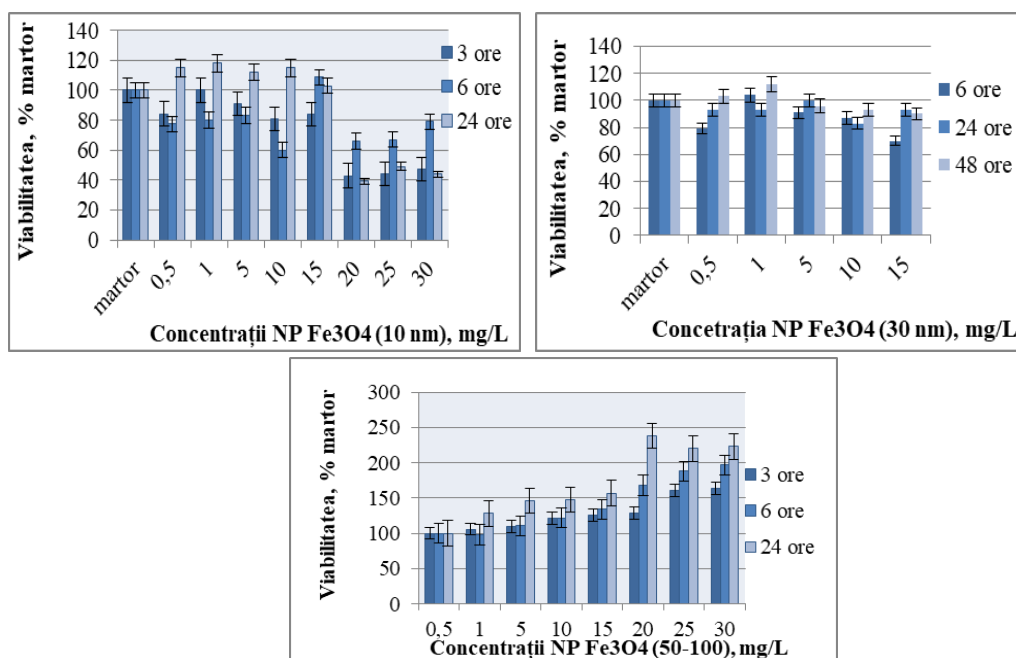
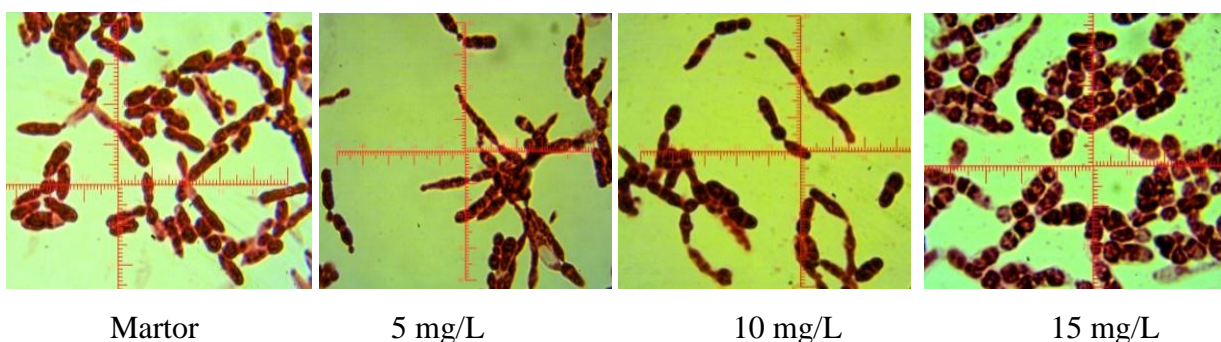


Fig. 4.1. Viabilitatea culturii *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 la cultivare în prezența nanoparticulelor Fe₃O₄ cu diferite dimensiuni

Viabilitatea celulelor levuriene este afectată de NP Fe₃O₄ cu dimensiunea de 10 nm și 30 nm, iar nanoparticulele cu dimensiuni de 50-100 nm inițiază o stimulare semnificativă a viabilității [10].

NP Fe₃O₄ de 10 și 30 nm nu au modificat semnificativ productivitatea levurilor, iar cele de 50-100 nm în concentrații de la 5 la 30 mg/L, induc o creștere cu până la 24%, față de martor.

Nanoparticulele Fe₃O₄ de 10 nm au produs o serie de modificări morfologice la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30, care se manifestă prin revărsarea parțială sau totală a conținutului celular ca urmare a deteriorării peretelui și membranei celulare. În imaginile din figura 4.2. se observă fragmente de celule lipsite total sau parțial de conținut, în cazul concentrațiilor de 10 și 15 mg/L. O altă particularitate a acțiunii nanoparticulelor Fe₃O₄ constă în formarea unor aglomerări de celule, în special la concentrațiile de 10 și 15 mg/L mediu de cultură. NP Fe₃O₄ cu dimensiunea de 30 nm și 50-100 nm, nu modifică morfologia celulelor [4, 12]. De asemenea NP Fe₃O₄ la concentrații ridicate induc modificări ale formei, culorii, mărimii și profilului coloniilor [12].



Martor

5 mg/L

10 mg/L

15 mg/L

Fig. 4.2. Caractere morfologice la *Rh. gracilis* CNMN-Y-30, sub acțiunea NP Fe₃O₄ (10 nm), durata de contact 120 ore, (ocular 15/100)

4.2. Sinteza proteinelor la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe₃O₄

În prezența NP Fe₃O₄ (10 nm) în concentrație de la 15 la 30 mg/L conținutul de proteine la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 s-a redus cu până la 22%. NP Fe₃O₄ de 30 nm au produs o creștere a cantității de proteine în toate variantele testate. În prezența nanoparticulelor Fe₃O₄ de 50-100 nm, în concentrațiile 0,5-30 mg/L, conținutul de proteine nu se modifică [9, 29, 30, 34].

Analiza raportului corelațional confirmă dependența valorilor conținutului de proteine de concentrațiile nanoparticulelor Fe₃O₄ (10 nm) și Fe₃O₄ (30 nm), coeficientul de determinare fiind 0,840 și 0,955 respectiv. O corelare medie între acești doi factori a fost observată în cazul Fe₃O₄ de 50-100 nm ($R^2 = 0,425$).

4.3. Sinteza carbohidraților la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe₃O₄

Nanoparticulele Fe₃O₄, cu dimensiunea de 30 nm și 50-100 nm în concentrații 0,5-15 mg/L duc la o sporire moderată a cantității de glucide, iar cele de 10 nm la aplicarea concentrațiilor 20-30 mg/L - la micșorarea cu până la 49% [6, 9, 30, 31].

Astfel, sinteza carbohidraților la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 în prezența nanoparticulelor Fe₃O₄ este influențată de dimensiunile și concentrațiile nanoparticulelor.

4.4. Sinteza carotenoizilor la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe₃O₄

În cazul aplicării la mediul de cultivare a nanoparticulelor Fe₃O₄ cu dimensiunea de 10 nm se observă o scădere cu 32-73% a conținutului de carotenoizi în biomasă (fig. 4.3). În cazul NP Fe₃O₄ de 30 nm, rezultatele indică o scădere direct proporțională (cu până la 82%) a cantității de carotenoizi odată cu creșterea concentrației de nanoparticule, iar a celor de 50-100 nm are loc o reducere a cantității de carotenoizi cu până la 79% [17, 30, 31, 34]. Între cantitatea de carotenoizi și concentrația nanoparticulelor se observă o corelare inversă strânsă, valoarea coeficientului de determinare fiind între 0,8555 și 0,9723 în dependență de dimensiunea NP.

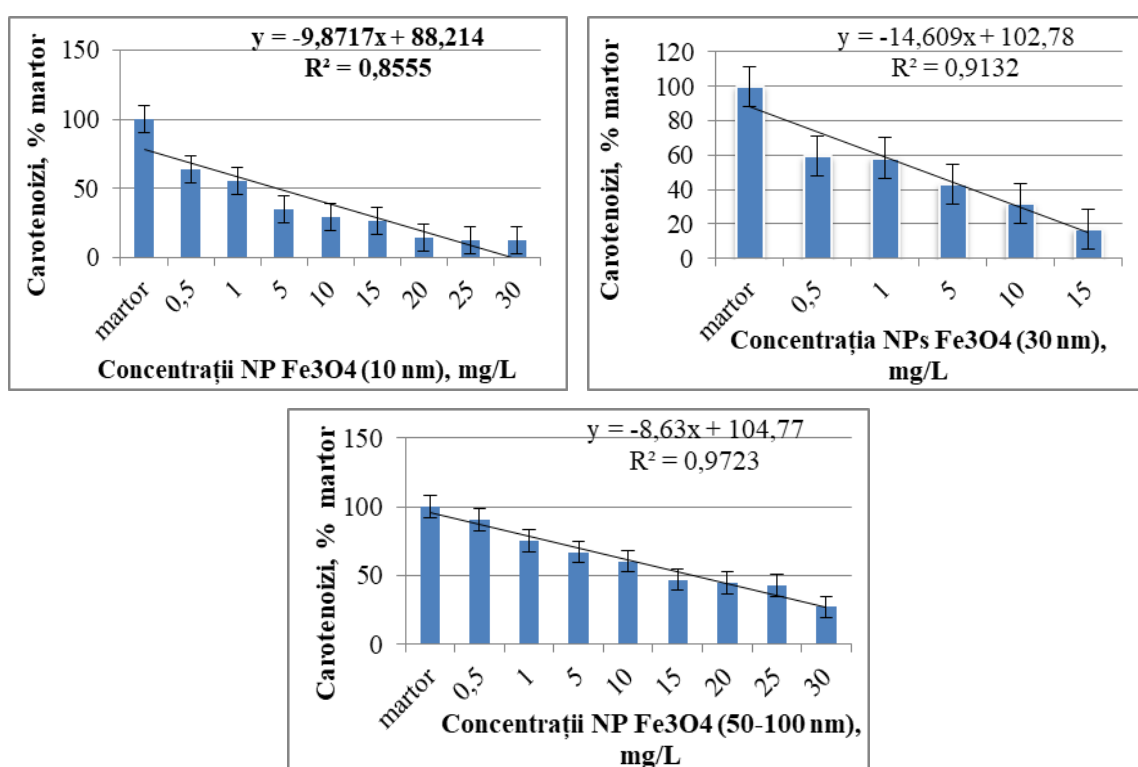


Fig. 4.3. Conținutul de carotenoizi în biomasă *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe₃O₄, cu diferite dimensiuni

Astfel, nanoparticulelor Fe_3O_4 influențiază negativ acumularea carotenoizilor în biomasa de *Rh. gracilis* CNMN-Y-30.

4.5. Activitatea enzimelor antioxidante catalaza și superoxid dismutaza la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe_3O_4

Impactul nanoparticulelor Fe_3O_4 asupra activității enzimei antioxidante catalaza, este prezentat în figura 4.4. Reacția de răspuns a tulpinii *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 la introducerea nanoparticulelor Fe_3O_4 cu dimensiuni de 10 nm în concentrații de la 1.0 la 30 mg/L se exprimă prin micșorarea semnificativă a activității catalazei, cu până la 64,4%. În cazul NP Fe_3O_4 de 30 nm activitatea catalazei scade la aplicarea concentrațiilor 0,5-15 mg/L cu până 77%, iar a NP Fe_3O_4 de 50-100 nm - cu 35-50% [8]. Analiza corelațională confirmă o dependență inversă puternică a activității catalazei de concentrațiile nanoparticulelor Fe_3O_4 , coeficienții de determinare fiind de 0,906 și 0,959 în cazul dimensiunilor de 10 și 30 nm respectiv.

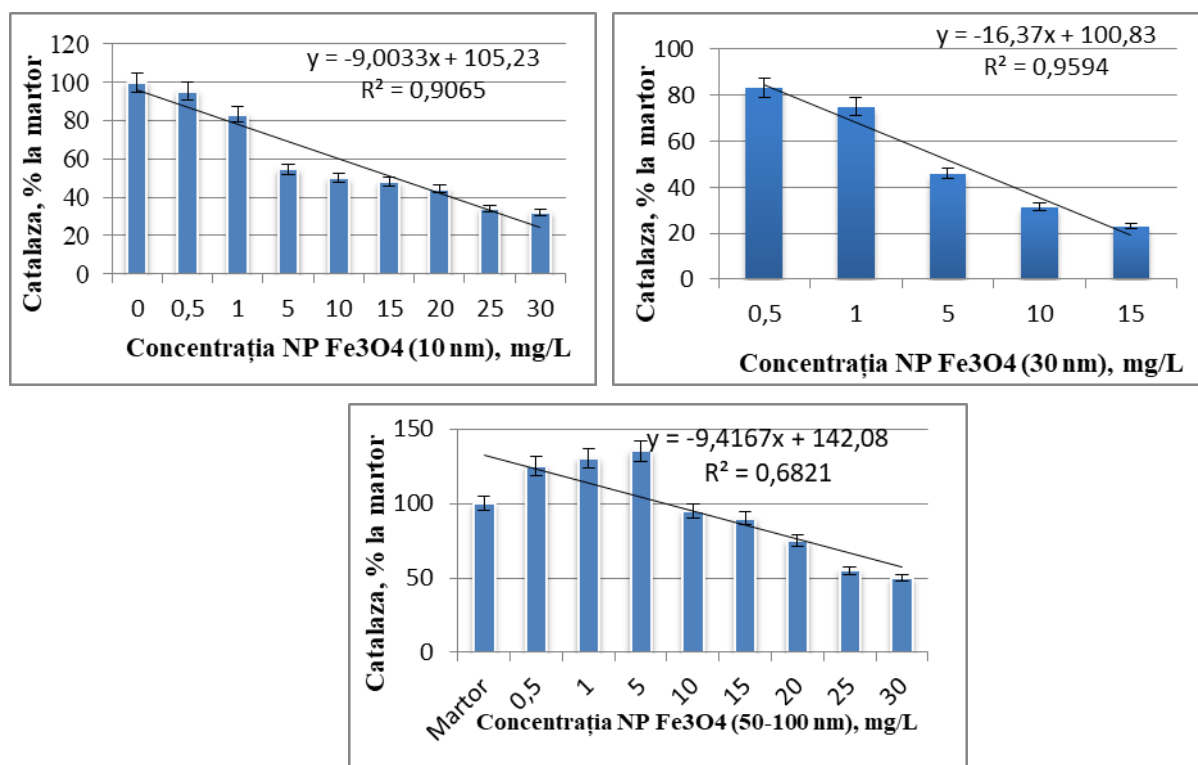


Fig. 4.4. Activitatea catalazei la tulpina de levuri *Rh. gracilis* CNMN-Y-30, la cultivare în prezența nanoparticulelor Fe_3O_4 cu diferite dimensiuni

Astfel, nanoparticulele Fe_3O_4 , modifică semnificativ activitatea enzimei antioxidante catalaza la tulpina *Rh. gracilis* CNMN-Y-30, ceea ce confirmă prezența potențialului toxic al nanoparticulelor.

4.6. Procedeu de evaluare a impactului nanoparticulelor Fe₃O₄ cu utilizarea în calitate de model a levurii *Rhodotorula gracilis*

În conformitate cu rezultatele obținute, în care au fost experimentate diferite concentrații și dimensiuni ale nanoparticulelor Fe₃O₄ se propune un procedeu de evaluare a impactului cu utilizarea levurilor pigmentate din genul *Rhodotorula*. Nivelul de inhibare se stabilește reieșind din concentrațiile de nanoparticule care provoacă micșorarea veridică din punct de vedere statistic (IC50%) a conținutului de β-caroten în biomasă sau activității catalazei. Rezultatele expuse indică că indicele toxicității (IC 50%) nanoparticulelor Fe₃O₄ cu diferite dimensiuni variază de la 10 mg/L (Fe₃O₄ 10 nm și Fe₃O₄ 30 nm) la 20-30 mg/L (Fe₃O₄ 50-100 nm) [2, 33]. Procedeu de evaluare a toxicității nanoparticulelor Fe₃O₄ cu utilizarea levurii pigmentate *Rh. gracilis* este brevetat [28].

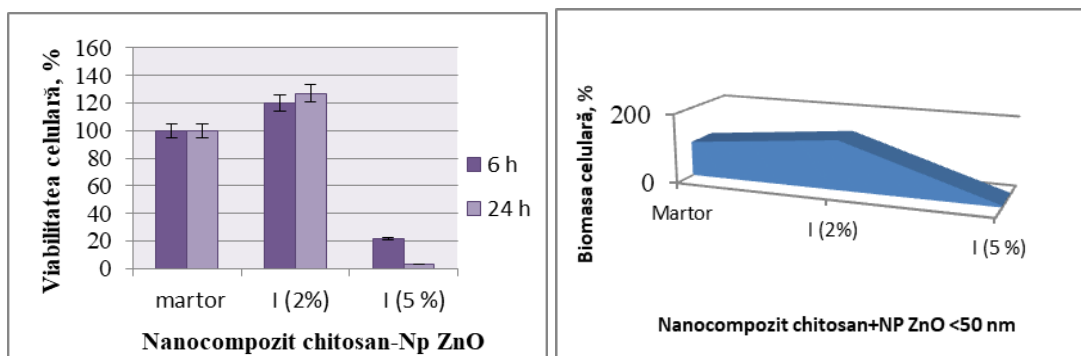
5. OBȚINEREA NANOCOMPOZITELOR CHITOSAN-ZINC ȘI CHITOSAN-FIER CU PERSPECTIVE BIOTEHNOLOGICE

5.1. Evaluarea acțiunii nanocompozitului chitosan-zinc asupra activității biosintetice *Rh. gracilis*

Rezultatele experiențelor efectuate, au demonstrat că nanoparticulele oxizilor metalici datorită toxicității înalte și stabilității scăzute prezintă impedimente pentru utilizare în domeniul biotehnologiei levurilor [2, 28]. Datorită dimensiunilor mici și raportul suprafață/volum mare nanoparticulele tind să formeze aglomerații, de asemenea au capacitatea de a se oxida ușor. Prin urmare, este necesară modificarea suprafeței acestora în scopul stabilizării și evitării proceselor de oxidare. În aceste scopuri pot fi utilizați diverși biopolimeri, în particular chitosanul.

În scopul obținerii nanocompozitelor chitosan-zinc și chitosan-fier a fost aplicate diferite cantități de chitosan și nanoparticulele. Au fost realizate 4 tipuri de nanocompozite noi. În calitate de procedee-martor de obținere a nanocompozitelor au servit procedeele elaborate de Sudheesh Kumar și echipa [24] și Mohammadi-Samani și echipa [26].

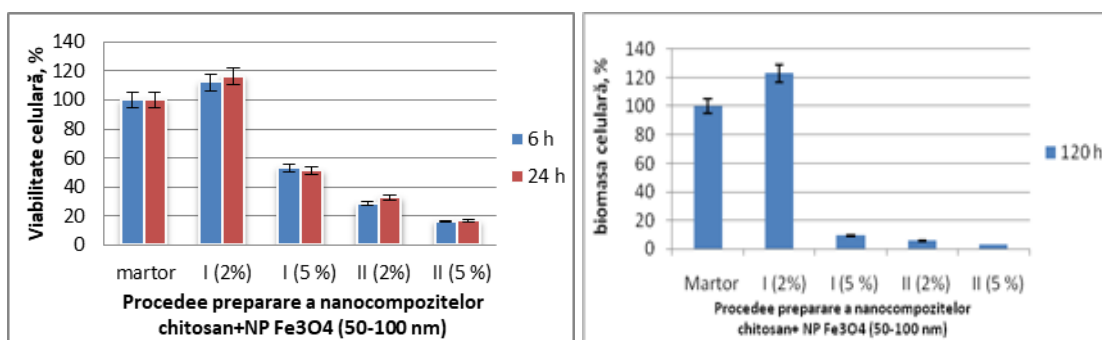
Ulterior a fost evaluată acțiunea nanocompozitelor chitosan-zinc și chitosan-fier, în cantitate de 2% și 5% din volumul mediului nutritiv, asupra viabilității celulare și producției de biomasă la tulpina de levuri *Rh. gracilis* CNMN-Y-30. Rezultatele cu referire la influența nanocompozitului chitosan-zinc asupra viabilității și biomasei sunt prezentate în figura 5.1. Valorile maxime au fost înregistrate în cazul aplicării nanocompozitului preparat conform procedurii experimentale I (25 mg chitosan+ 50 și 70 mg/L NP) aplicat în volum de 2%. Nanocompozitul aplicat în volum de 5% manifestă efect de inhibiție.



Legenda: Martor - procedeu [24]; I(2%)- procedeu I, nanocompozit aplicat în volum de 2%; I (5%)- procedeu I, nanocompozit aplicat în volum de 5%.

Fig. 5.1. Efectele nanocompozitului chitosan-zinc asupra viabilității și producerii de biomasă la tulpina de levuri *Rh. gracilis* CNMN-Y-30

Efectele nanocompozitului chitosan-fier asupra viabilității și biomasei la tulpina de levuri *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 pot fi urmărite în figura 5.2. Astfel, s-a constatat că în cazul aplicării nanocompozitului preparat conform procedeuului experimental I (25 mg chitosan+ 50 și 70 mg/L NP), introdus în mediul de cultură pentru levuri în volum de 2%, crește viabilitatea celulară cu până la 16,5% și inițiază sporirea cantității de biomasă. Efect toxic pronunțat asupra viabilității și producție de biomasă celulară, a arătat nanocompozitul preparat conform procedeuului experimental II (50 mg chitosan, 25 ml acid acetic 1% și 50-70 mg/L NP Fe₃O₄) utilizat în volum de 2% și 5%.



Legenda: Martor - procedeu [26]; I(2%)- procedeu I, nanocompozit în volum de 2%; I(5%)- procedeu I, nanocompozit în volum de 5%; II(2%)- procedeu II, nanocompozit în volum de 2%; II(5%)- procedeu I, nanocompozit în volum de 5%.

Fig. 5.2. Efectele nanocompozitului chitosan-fier asupra viabilității și producerii de biomasă la tulpina de levuri *Rh. gracilis* CNMN-Y-30

Așa dar, rezultatele testărilor au demonstrat că cel mai eficient nanocompozit este cel realizat conform procedeuului experimental I, care constă din următoarele etape: la 50 mg chitosan se adăugă 50 ml acid acetic 1% și se agită timp de 10 minute la 200 r.p.m. Ulterior, se

stabilește pH-ul neutru cu NaOH, se adaugă 1% de alcool etilic de 96%, se agită 10 minute la 200 r.p.m. În soluția de chitosan se adaugă nanoparticulele Fe₃O₄ (50-100 nm) în concentrație de 70 mg/L și se sonifică 10 minute. În timpul acestui proces moleculele de chitosan sunt adsorbite pe suprafața nanoparticulelor metalice.

5.2. Evaluarea acțiunii nanocompozitului chitosan-fier asupra activității biosintetice *Rhodotorula gracilis*

Nanocompozitul chitosan-fier, în care conținutul de nanoparticule Fe₃O₄ a constituit 30, 50 și 70 mg/L, preparat conform procedurii experimentale propuse, asigură creșterea conținutului de proteine în biomasa tulpinii de levuri *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 cu până la 33% comparativ cu martorul. Cantitatea maximă de proteine s-a observat la concentrația de 70 mg/L nanoparticule. Nanocompozitul chitosan-fier cu 30-70 mg/L NP a asigurat o creștere a conținutului de carbohidrați în biomasă cu până la 13% și a carotenoizilor – cu până la 11%.

Aplicarea nanocompozitului chitosan-fier cu conținutul de nanoparticule Fe₃O₄ (50-100 nm) în concentrație de 30 mg/L, a dus la o creștere semnificativă, cu 26%, a activității SOD. Pentru variantele de nanocompozit cu concentrațiile de nanoparticule 50 și 70 mg/L, activitatea SOD este în scădere comparativ cu martorul. În cazul determinării activității catalazei, au fost înregistrate valori cu până la 35% mai mari comparativ cu varianta martor.

CONCLUZII GENERALE

1. Efectele nanoparticulelor ZnO <50 nm și <100 nm, Fe₃O₄ 10 nm, 30 nm, și 100 nm, asupra levurilor pigmentate din genul *Rhodotorula*, se manifestă în funcție de dimensiunea și concentrația. Evidențierea acestor efecte contribuie la elucidarea căilor de acțiune și identificarea componentelor funcționale implicate în răspunsul la acțiunea nanoparticulelor [3, 4, 5, 6, 7, 11, 29, 30], [cap. 3, 4].
2. Testele microbiologice și biochimice, aplicate pentru stabilirea viabilității, conținutului de proteine și activitatea enzimei antioxidante catalaza sunt exacte, robuste și pot fi utilizate pentru determinarea gradului de influență a nanoparticulelor oxizilor metalici la levuri, fapt demonstrat în cadrul validării metodelor respective [23], [cap. 3].
3. Nanoparticulele ZnO cu dimensiuni de <50 nm și <100 nm, în concentrații 1-70 mg/L intensifică procesele de biosinteză a proteinelor, carbohidraților, carotenoizilor, măresc activitatea superoxid dismutazei și catalazei la *Rh. gracilis* CNMN-Y-03 și *Rh. gracilis* CNMN-Y-30, prezentând oportunitate de aplicare în calitate de stimulatori în biotehnologia levurilor [3, 7, 11, 13, 16], [cap. 3].

4. Procedeu elaborat de cultivare a levurilor *Rh. gracilis* cu aplicarea nanoparticulelor ZnO cu dimensiuni de <50 nm, în concentrație de 20 mg/l, permite majorarea conținutului de proteine în biomasa levuriană cu 23-34% și contribuie la ameliorarea conținutului aminoacizilor valoroși [22], [cap. 3].
5. Nanoparticulele Fe₃O₄ cu dimensiunile 10 nm, 30 nm, 50 -100 nm, în limitele de concentrații de la 0,5 la 30,5 mg/L, acționează la nivelul sistemelor biochimice de sinteză a componentelor celulare a levurii *Rh. gracilis* CNMN-Y-30, provocând micșorarea conținutului de proteine, carotenoizi, și a activității catalazei. Corelarea inversă negativă între parametrii biochimici și concentrația NP este demonstrată de valorile coeficienților de corelare: 0,840 (proteine), 0,849 (carotenoizi), 0,722 (catalaza) [4, 5, 6, 8, 10, 12, 17, 29, 30], [cap. 4].
6. Procedeu de evaluare a nivelului de siguranță a nanoparticulelor Fe₃O₄ cu utilizarea levurii pigmentate *Rhodotorula gracilis*, care prevede determinarea concentrațiilor ce provoacă diminuarea cu 50% a conținutului de β-caroten și a activității catalazei, permite stabilirea relațiilor doză-efect și furnizează informații necesare pentru caracterizarea toxicității nanoparticulelor. Concentrațiile de inhibiție IC50%, pentru NP Fe₃O₄ de 10 nm constituie 10 mg/l, iar pentru NP Fe₃O₄ de 50 - 100 nm - 25-30 mg/l [28], [cap. 4].
7. Nanocompozitele chitosan-zinc și chitosan-fier, obținute conform procedurii experimentale noi, reprezintă produse de perspectivă pentru bionanotehnologii, caracterizate prin capacitate sporită de a iniția biosinteza principiilor bioactive celulare la levurile din genurile *Rhodotorula*. Nanocompozitul chitosan-fier manifestă activitate biologică, exprimată prin sporirea la *Rh. gracilis* CNMN-Y-30 a conținutului de proteine cu 15-35%, carbohidrați cu 13%, pigmentii carotenoizi cu 9-11%, activității CAT cu până la 35, SOD - cu până la 26%, comparativ cu martorul [cap. 5].

Aportul personal: Materiale prezentate în brevetele de invenție MD 4522 „Procedeu de evaluare a toxicității nanoparticulelor oxizilor de metale cu utilizarea levurilor”, MD 4690 „Procedeu de cultivare a levurilor din genul *Rhodotorula*” și cerere de brevet de invenție (5823 din 2020.02.18) autoarei îi revine cotă parte conform listei autorilor. Rezultatele obținute în cadrul elaborării tezei de doctor, analiza, generalizările și concluziile aparțin autoarei.

Recomandări practice

1. Se recomandă aplicarea metodelor de determinare a viabilității celulelor, conținutului de proteine și activității enzimei antioxidante catalaza pentru determinarea gradului de influență a nanoparticulelor oxizilor metalici asupra microorganismelor.

2. Se recomandă procedeul de cultivare a levurilor *Rh. gracilis* cu aplicarea nanoparticulelor ZnO cu dimensiuni de <50 nm, pentru majorarea conținutului de proteine și ameliorarea de conținutului de aminoacizi valoroși în biomasa levuriană.
3. Se propune un procedeu de evaluare a siguranței nanoparticulelor oxizilor metalici cu utilizarea levurii pigmentate *Rh. gracilis*.
4. Se propun două procedee de obținere a nanocompozitelor chitosan-zinc și chitosan-fier pentru uilizare în bionanotehnologii.

BIBLIOGRAFIE (selectivă)

1. ANGHEL, L. Aspecte fizico-chimice ale procesului de sinteză microbiologică a nanoparticulelor de fier, teză de doctor în științe chimice. Chișinău, 2016, pp. 140.
2. BEȘLIU, A., USATII, A., CHISELIȚĂ, N., RUSU, E., GUȚUL, T. Assessment method of the effects of nano-oxides with use of yeasts. In: *Inventica*, 27 - 29 June, 2018, Iași, România, pp. 332.
3. BEȘLIU, A., USATÎI, A., EFREMOVA, N., CHISELIȚĂ, N. The effect of ZnO nanoparticles on the activity of antioxidant enzymes and carotenoid content at *Rhodospiridium toruloides* CNMN-Y-30 Yeast. In: *Experimental and Molecular Biology*. 2018, vol. 19, nr. 4, pp. 91 – 98.
4. BEȘLIU, A. Carotenoid biosynthesis potential and morphological characters of *Rhodotorula gracilis* yeast under the action of Fe₃O₄ nanoparticles. In: *Studia Universitatis Moldaviae, Series Real Sciences and Nature*. 2018, vol. 111, nr.1, pp. 66-70. ISSN 1814-3237.
5. BEȘLIU, A. Nanoparticule în baza metalelor: proprietăți, perspective și riscuri legate de utilizarea lor în diverse domenii. In: *Buletinul AȘM, Seria Științele vieții*. 2017, vol. 333, nr. 3, pp.150-156. ISSN 1857-064X.
6. BEȘLIU, A., CHIRIȚĂ, E., USATÎI, A. Influența nanoparticulelor TiO₂ și Fe₃O₄ asupra creșterii și compoziției biochimice la tulpina de levuri *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *Studia Universitatis Moldaviae*. 2016, vol. 91, nr.1, pp. 72-75. ISSN 1814-3237.
7. BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., USATÎI, A., BATÎR, L. Evaluarea impactului nanoparticulelor de oxid de zinc asupra tulpinii de levuri pigmentate *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-03. In: *Studia Universitatis. Seria Științe Reale și ale Naturii*. 2019, vol. 121, nr. 1, pp. 95-99. ISSN 1814-3237.
8. BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., USATII, A. Activitatea enzimelor antioxidante la levura pigmentată *Rhodospiridium toruloides* CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe₃O₄. In: *Conferința științifică cu participare internațională „Biodiversitatea în contextul schimbărilor climatice”*, ediția a II-a, 23 noiembrie, 2018, Chișinău, Republica Moldova, pp. 131-134. ISBN 978-9975-3178-9-4.
9. BEȘLIU, A., USATÎI, A., EFREMOVA, N. Efectul nanoparticulelor Fe₃O₄ asupra conținutului de proteine și carbohidrați la *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *Conferința științifică națională cu participare internațională Integrare prin cercetare și inovare*, 8-9 noiembrie 2018, Chișinău, Republica Moldova, pp 39-43. ISBN 978-9975-142-4 -6.

10. **BEȘLIU, A., USATÎI, A., EFREMOVA, N.** Elucidarea efectelor nanoparticulelor Fe₃O₄ asupra viabilității și productivității levurii *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30 în funcție de dimensiuni și concentrație. In: *Conferința științifică a doctoranzilor cu participare internațională, ediția VII-a Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători*. 15 iunie 2018, Chișinău, Republica Moldova, pp. 119-124. ISBN 978-9975-108-45-4.
11. **BEȘLIU, A., USATÎI, A., EFREMOVA, N.** Influența nanoparticulelor ZnO asupra activității enzimelor antioxidante catalaza și superoxid dismutaza la levurile *Rhodotorula gracilis*. In: *Conferința științifică cu participare internațională „Biodiversitatea în contextul schimbărilor climatice”, ediția a III-a, 22 noiembrie 2019, Chișinău, Republica Moldova*, pp. 232-237.
12. **BEȘLIU, A.** Evaluarea influenței nanoparticulelor oxidului de fier asupra caracterilor morfologice a tulpinii de levuri *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *Conferința științifică a doctoranzilor cu participare internațională, ediția VI-a Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători*. 15 iunie 2017, Chișinău, Republica Moldova, pp. 161-165.
13. **BEȘLIU, A., USATII, A., EFREMOVA, N.** Efectul nanoparticulelor ZnO asupra conținutului de pigmenți carotenoizi la tulpina de levuri *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *Simpozionului Științific Internațional “Biotehnologii avansate – realizări și perspective”, ediția a V-ea, 21-22 octombrie 2019, Chișinău, Republica Moldova*.
14. **BEȘLIU, A.** Implicarea levurilor din genul *Rhodotorula* în biotehnologii (Reviul literarurii). Conferința științifică a doctoranzilor In: *Conferința științifică a doctoranzilor cu participare internațională, ediția VI-a Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători*, 10 iunie 2019, Chișinău, Republica Moldova, pp. 50-53.
15. **BESHLIU, A., USATII, A., EFREMOVA, N., CHISELITSA, N.** The effect of metallic nanoparticles on morphological features of *Rhodotorula* and *Saccharomyces yeasts*. In: *International scientific conference for students and phd students youth and progress of biology dedicated to the 185th anniversary from the birthday of B. Dybowski*, 10-12 april, 2018, Lviv, Ukraine, pp. 207. ISBN 978-617-642-1.
16. **BESHLIU, A., USATII, A., EFREMOVA, N.** The effect of ZnO nanoparticle on carbohydrates content at yeast strain *Rhodospiridium toruloides* CNMN-Y-30. In: *XV International scientific conference for students and Phd students dedicated to the 135th anniversary of J. Parnas*, 9 april, 2019, Lviv, Ukraine, pp. 9-11. ISBN 978-617-10-0512-9.
17. **BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., USATII, A.** The effects of iron oxid nanoparticles on carotenoid pigments content of yeasts *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology 4th edition*, 11-12 october, 2018, Chisinau, Republic of Moldova, pp. 154. ISBN 978-9975-3178-8-7.
18. **BHUVANESHWARI, M., ISWARYA, V., ARCHANAA, S., MADHU, G.** Cytotoxicity of ZnO NPs towards fresh water algae *Scenedesmus obliquus* at low exposure concentrations in UV-C, visible and dark conditions. In: *Aquatic Toxicology*. 2015, nr. 162, pp. 29–38.
19. **CONG, W., XUDONG, G., ZHONGQIN, C., YUE, C., HAIXIA, C.** Preparation, Characterization and Application of Polysaccharide-Based Metallic Nanoparticles: A Review. In: *Polymers*. 2017, vol. 12, nr. 9, pp. 689. ISSN 2073-4360.

20. CHANG, Y.N., ZHANG, M., XIA, L., ZHANG, J., XING, G. The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. In: *Materials*. 2012, vol. 12, nr. 5, pp. 2850–2871.
21. CHENG, T., LIANG, Q., MANOOR, P., CHOON, N. Zinc oxide nanoparticles exhibit cytotoxicity and genotoxicity through oxidative stress responses in human lung fibroblasts and *Drosophila melanogaster*. In: *International Journal of Nanomedicine*. 2017, nr. 12, pp. 1621-1637.
22. EFREMOVA, N., **BEȘLIU, A.**, USATÎI, A. Procedeu ce cultivare a levurilor *Rhodotorula gracilis*. In: *Expoziția Internațională Specializată Infoinvent*, 20-23 noiembrie, 2019, Chișinău, Republica, pp. 216.
23. EFREMOVA, N., **BEȘLIU, A.**, BATÎR, L., BÎRSA, M. Validarea testelor microbiologice și biochimice pentru studii de nanotehnologie. In: *Expoziția Internațională Specializată Infoinvent*, 20-23 Noiembrie, 2019 p. 179-180.
24. KUMAR, S.P. T., VINOOTH-KUMAR, L., ANILKUMAR, T.V., RAMYA, C. Flexible and Microporous Chitosan Hydrogel/Nano ZnO Composite Bandages for Wound Dressing: In Vitro and In Vivo Evaluation. In: *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2012, vol. 5, nr. 4, 2618–2629. ISSN 1944-8244.
25. OSMOND, M., MCCALL, M. Zinc oxide nanoparticles in modern sunscreens: an analysis of potential exposure and hazard. In: *Nanotoxicology*. 2010, nr. 4, pp. 15-41. [citat 10.05.2019]. Disponibil: DOI 10.3109/17435390903502028.
26. MOHAMMADI-SAMAN, I.S., MIRI, R., SALMANPOUR, M., KHALIGHIAN, N., SOTOUDEH, S., ERFANI, N. Preparation and assessment of chitosan-coated superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles for controlled delivery of methotrexate. In: *Research in Pharmaceutical Sciences*. 2013, vol. 8, nr. 1, pp. 25-33. ISSN 17355362.
27. RUSU, E., URSAKI, V., GUTUL, T., VLAZAN, P., SIMINEL, A. Characterization of TiO₂ Nanoparticles and ZnO/TiO₂ Composite Obtained by Hydrothermal Method. In: *3rd International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering*. 2016, vol. 55, pp. 93-96. Online ISBN978-981-287-736-9.
28. USATÎI, A., **BEȘLIU, A.**, CHISELIȚĂ, N., RUSU, E., GUȚUL, T. Procedeu de evaluare a toxicității nanoparticulelor oxizilor de metale cu utilizarea levurilor. Institutul de Microbiologie și Biotehnologie. Data depozit 2016. 12. 22, Publicat 10.2017. In: BOPI. 2017, nr.2, pp.
29. USATÎI, A., **BEȘLIU, A.**, EFREMOVA, N. Effect of Fe₃O₄ and TiO₂ nanoparticles on catalase activity and β-carotene content at pigmented yeast strain *Rhodotorula gracilis*. In: *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology*. 2017, vol. 21, nr. 1, pp. 35-40. ISSN 2344-1496.
30. USATÎI, A., CHISELIȚĂ, N., BEJENARU, L., **BEȘLIU, A.**, EFREMOVA, N., TOFAN, E. The action of TiO₂, ZnO, Fe₃O₄ nanoparticles on *Saccharomyces* and
31. *Rhodotorula* yeast strains in function of the concentration and dimensions. In: *Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*. 2017. vol. 18, nr. 2, pp. 65- 71. ISSN 1224-5119.
32. USATÎI, A., **BEȘLIU, A.**, CHISELIȚĂ, N., EFREMOVA, N., BEJENARU, L., TOFAN, E., BORISOVA, T. Efectul nanooxizilor metalici asupra unor levuri de interes

- biotehologic. In: *Buletinul AȘM, Seria Științele vieții*. 2017, vol. 333, nr 3, pp. 144-150. ISSN 1857-064X.
33. USATÎI, A., BEȘLIU, A., EFREMOVA, N. Rolul nanoparticulelor ZnO (<50 nm) în procesul de cultivare a levurii *Rhodospodium toruloides* CNMN-Y-30. In: *Buletinul AȘM, Seria Științele vieții*. 2018, vol. 335, nr. 2, pp.121-126. ISSN 1857-064X.
 34. USATÎI, A., BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., CHISELIȚĂ, N. Recomandări de evaluare a nanoparticulelor oxizilor de metale cu utilizarea levurilor. Chișinău: 2017, 18 p.
 35. USATÎI, A., CHISELIȚA, N., BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., BEJENARU, L., BATÎR, L., DADU, C., TANASE, A. Perspectiva biotehologică privind aplicarea nano-oxizilor metalici la cultivarea levurilor de interes biotehologic, In: *Studia Universitatis Moldaviae*. 2019, vol. 121, nr. 1, pp.103-111.
 36. WAHAB, R., KHAN, F., AL-KHEDHAIRY, L., AL-KHEDHAIRY, A. Photocatalytic activity and statistical determination of ball-shaped zinc oxide NPs with methylene blue dye. In: *Inorg. Nano-Met. In: Chemistry*. 2017, nr.47, pp. 536-542.

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI

Articole în reviste internaționale cotate ISI și SCOPUS

1. EFREMOVA, N., BEȘLIU, A., USATÎI, A. The impact of zinc oxide nanoparticles on protein content and activity of some antioxidant enzymes at pigmented yeasts. In: *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2019, vol. 26, nr. 1, pp. 34-37. ISSN 1224-5119.
2. USATII, A., KIRITSA, E., BESHLIU, A. The effect of Fe₃O₄ nanoparticles on bioproduction parameters of *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30 yeast strain with high biotechnological potential. In: *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2016, nr. 2, pp. 67-71. ISSN 1224-5119.
3. USATÎI, A., BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., CHISELIȚĂ, N. The process of assessment of the toxicity of metals oxides nanoparticles with the use of the yeast *Rhodospodium toruloides*. In: *Scientific Study & Research - Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*. 2020, vol. 21, nr. 1 , pp.17-26 ISSN 1582-540X.
- 4.

Articole în reviste internaționale

5. BEȘLIU, A., USATÎI, A., EFREMOVA, N., CHISELIȚĂ, N. The effect of ZnO nanoparticles on the activity of antioxidant enzymes and carotenoid content at *Rhodospodium toruloides* CNMN-Y-30 Yeast. In: *Experimental and Molecular Biology*. 2018, vol. 19, nr. 4, pp. 91 – 98.
6. BEȘLIU, A. Estimation of the effects of chitosan-iron nanocomposites developed by different processes on *R. gracilis* CNMN-Y-30 yeast. In: *Experimental and Molecular Biology*. 2020, vol. , nr., pp..
7. USATÎI, A., BEȘLIU, A. EFREMOVA, N. Effect of Fe₃O₄ and TiO₂ nanoparticles on catalase activity and β-carotene content at pigmented yeast strain *Rhodotorula gracilis*. In: *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology*. 2017, vol. 21, nr. 1, pp. 35-40. ISSN 2344-1496.

8. USATÎI, A., CHISELIȚA, N., BEJENARU, L., BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., TOFAN, E. The action of TiO_2 , ZnO , Fe_3O_4 nanoparticles on *Saccharomyces* and *Rhodotorula* yeast strains in function of the concentration and dimensions. In: *Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*. 2017. vol. 18, nr. 2, pp. 65- 71. ISSN 1224-5119.

Articole în reviste naționale recenzate Categoria B

9. BEȘLIU, A. Carotenoid biosynthesis potential and morphological characters of *Rhodotorula gracilis* yeast under the action of Fe_3O_4 nanoparticles. In: *Studia Universitatis Moldaviae, Series Real Sciences and Nature*. 2018, vol. 111, nr.1, pp. 66-70. ISSN 1814-3237.
10. BEȘLIU, A. Nanoparticule în baza metalelor: proprietăți, perspective și riscuri legate de utilizarea lor în diverse domenii. In: *Buletinul AȘM, Seria Științele vieții*. 2017, vol. 333, nr. 3, pp.150-156. ISSN 1857-064X.
11. BEȘLIU, A., CHIRIȚĂ, E., USATÎI, A. Influența nanoparticulelor TiO_2 și Fe_3O_4 asupra creșterii și compoziției biochimice la tulpina de levuri *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *Studia Universitatis Moldaviae*. 2016, vol. 91, nr.1, pp. 72-75. ISSN 1814-3237.
12. BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., USATÎI, A., BATÎR, L. Evaluarea impactului nanoparticulelor de oxid de zinc asupra tulpinii de levuri pigmentate *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-03. In: *Studia Universitatis. Seria Științe Reale și ale Naturii*. 2019, vol. 121, nr. 1, pp. 95-99. ISSN 1814-3237.
13. USATÎI, A., BEȘLIU, A., CHISELIȚĂ, N., EFREMOVA, N., BEJENARU, L., TOFAN, E., BORISOVA, T. Efectul nanooxidilor metalici asupra unor levuri de interes biotehnologic. In: *Buletinul AȘM, Seria Științele vieții*. 2017, vol. 333, nr 3, pp. 144-150. ISSN 1857-064X.
14. USATÎI, A., BEȘLIU, A., EFREMOVA, N. Rolul nanoparticulelor ZnO (<50 nm) în procesul de cultivare a levurii *Rhodospodium toruloides* CNMN-Y-30. In: *Buletinul AȘM, Seria Științele vieții*. 2018, vol. 335, nr. 2, pp.121-126. ISSN 1857-064X.
15. USATÎI, A., BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., CHISELIȚĂ, N. Recomandări de evaluare a nanoparticulelor oxidilor de metale cu utilizarea levurilor. Chișinău: 2017, 18 p.
16. USATÎI, A., CHISELIȚA, N., BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., BEJENARU, L., BATÎR, L., DADU, C., TANASE, A. Perspectiva biotehnologică privind aplicarea nano-oxidilor metalici la cultivarea levurilor de interes biotehnologic, In: *Studia Universitatis Moldaviae*. 2019, vol. 121, nr. 1, pp.103-111.

Teze ale comunicărilor la congrese, conferințe, în culegeri (naționale/internaționale)

17. BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., USATII, A. Activitatea enzimelor antioxidante la levura pigmentată *Rhodospodium toruloides* CNMN-Y-30 sub influența nanoparticulelor Fe_3O_4 . In: *Conferința științifică cu participare internațională „Biodiversitatea în contextul schimbărilor climatice”, ediția a II-a, 23 noiembrie, 2018, Chișinău, Republica Moldova*, pp. 131-134. ISBN 978-9975-3178-9-4.
18. BEȘLIU, A., USATÎI, A., EFREMOVA, N. Efectul nanoparticulelor Fe_3O_4 asupra conținutului de proteine și carbohidrați la *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *Conferința*

- științifică națională cu participare internațională Integrare prin cercetare și inovare*, 8-9 noiembrie 2018, Chișinău, Republica Moldova, pp 39-43. ISBN 978-9975-142-4 -6.
19. **BEȘLIU, A., USATÎI, A., EFREMOVA, N.** Elucidarea efectelor nanoparticulelor Fe₃O₄ asupra viabilității și productivității levurii *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30 în funcție de dimensiuni și concentrație. In: *Conferința științifică a doctoranzilor cu participare internațională, ediția VII-a Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători*. 15 iunie 2018, Chișinău, Republica Moldova, pp. 119-124. ISBN 978-9975-108-45-4.
 20. **BEȘLIU, A., USATÎI, EFREMOVA, N.** Influența nanoparticulelor ZnO asupra activității enzimelor antioxidante catalaza și superoxid dismutaza la levurile *Rhodotorula gracilis*. In: *Conferința științifică cu participare internațională „Biodiversitatea în contextul schimbărilor climatice”, ediția a III-a, 22 noiembrie 2019, Chișinău, Republica Moldova*, pp. 232-237.
 21. **BEȘLIU, A.** Evaluarea influenței nanoparticulelor oxidului de fier asupra caracterilor morfologice a tulpinii de levuri *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *Conferința științifică a doctoranzilor cu participare internațională, ediția VI-a Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători*. 15 iunie 2017, Chișinău, Republica Moldova, pp. 161-165.
 22. **BEȘLIU, A., USATII, A., EFREMOVA, N.** Efectul nanoparticulelor ZnO asupra conținutului de pigmenți carotenoizi la tulpina de levuri *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *Simpozionului Științific Internațional “Biotehnologii avansate – realizări și perspective”, ediția a V-ea, 21-22 octombrie 2019, Chișinău, Republica Moldova*.
 23. **BEȘLIU, A.** Implicarea levurilor din genul *Rhodotorula* în biotehnologii (Reviul literarurii). Conferința științifică a doctoranzilor In: *Conferința științifică a doctoranzilor cu participare internațională, ediția VI-a Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători*, 10 iunie 2019, Chișinău, Republica Moldova, pp. 50-53.
 24. **BESHLIU, A., USATII, A., EFREMOVA, N., CHISELITSA, N.** The effect of metallic nanoparticles on morphological features of *Rhodotorula* and *Saccharomyces yeasts*. In: *International scientific conference for students and phd students youth and progress of biology dedicated to the 185th anniversary from the birthday of B. Dybowski*, 10-12 april, 2018, Lviv, Ukraine, pp. 207. ISBN 978-617-642-1.
 25. **BESHLIU, A., USATII, A., EFREMOVA, N.** The effect of ZnO nanoparticle on carbohydrates content at yeast strain *Rhodospodium toruloides* CNMN-Y-30. In: *XV International scientific conference for students and Phd students dedicated to the 135th anniversary of J. Parnas*, 9 april, 2019, Lviv, Ukraine, pp. 9-11. ISBN 978-617-10-0512-9.
 26. **BEȘLIU, A., EFREMOVA, N., USATII, A.** The effects of iron oxid nanoparticles on carotenoid pigments content of yeasts *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology 4th edition*, 11-12 october, 2018, Chisinau, Republic of Moldova, pp. 154. ISBN 978-9975-3178-8-7.
 27. **USATÎI, A., BEȘLIU, A., CHIRIȚA, E., GUȚU, T.** Impact of TiO₂ and Fe₃O₄ nanoparticles on the protein contents in the yeasts *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. In: *Symposium Nano-2016 Ethical, Ecological and Social Problems of Nanoscience and Nanotechnologies*, 11-14 mai, 2016, Chisinau, Republic of Moldova, pp. 57-58.

28. USATII, A., **BESLIU, A.**, EFREMOVA, N., CHISELITA, N., BATAR, L., DADU, C., TANASE, A. Biosynthesis of polysaccharides in *Rhodospiridium toruloides*, cultivated in the presence of Fe₃O₄ (50–100 nm) nanoparticles. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology 4th edition*, Chişinău, 11-12 october, 2018, p 155.
29. USATII, A., EFREMOVA, N., CHISELITA, N., **BESLIU, A.**, BATAR, L., DADU, C., TANASE, A. Estimation of cell viability at the contact of yeasts with ZnO and Fe₃O₄ nanoparticles. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology 4th edition*, Chişinău, 11-12 october, 2018, p 156.
30. EFREMOVA, N., **BEŞLIU, A.**, USATII, A. Effects of iron oxide nanoparticles on antioxidant enzymes activities of pigmented yeasts. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology 4th edition*, 11-12 october, 2018, Chisinau, Republic of Moldova, pp 153. ISBN 978-9975-3178-8-7.
31. **БЕШЛИУ, А.** Влияние наночастиц оксида цинка на содержание каротиноидных пигментов дрожжей *Rhodotorula gracilis*. *Всероссийская конференция с международным участием Микробиология: вопросы экологии, физиологии, биотехнологии*, 23-24 декабря 2019, Москва, Россия, 17 с.
32. **БЕШЛИУ, А.** Влияние наночастиц Fe₃O₄ на рост дрожжей *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30 и содержание полисахаридов. *Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных Ломоносов*, 9- 13 апреля 2018, Москва, Россия. ISBN 978-5-317-05800-5.

Brevete de invenții, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții

33. **BESHLIU, A.**, USATII, A., CHISELIȚĂ, N., RUSU, E., GUȚUL, T. Assessment method of the effects of nano-oxides with use of yeasts. In: *Inventica*, 27 - 29 June, 2018, Iași, România, pp. 332.
34. **BESHLIU, A.**, USATII, A., CHISELIȚĂ, N., RUSU, E., GUȚUL, T. Procedeu de evaluare a toxicității nanoparticulelor oxizilor de metale cu utilizarea levurilor. In: *Expoziția Internațională Specializată Infoinvent*, 15-18 Noiembrie, 2017, Chişinău, Republica, pp. 200.
35. **BEŞLIU, A.**, USATÎI, A., CHISĂLIȚĂ, N., RUSU, E., GUȚUL, T. Assessment method of the effects of nano- oxides with use of yeasts. In: *Euroinvent*, Iași , România, 25 may, 2017, pp. 193.
36. EFREMOVA, N., **BEŞLIU, A.**, BATÎR, L., BÎRSA, M. Validarea testelor microbiologice și biochimice pentru studii de nanotehnologie. In: *Expoziția Internațională Specializată Infoinvent*, 20-23 Noiembrie, 2019 p. 179-180.
37. EFREMOVA, N., **BEŞLIU, A.**, USATÎI, A. Procedeu ce cultivare a levurilor *Rhodotorula gracilis*. In: *Expoziția Internațională Specializată Infoinvent*, 20-23 noiembrie, 2019, Chişinău, Republica, pp. 216.
38. USATÎI, A., **BEŞLIU, A.**, CHISELIȚĂ, N., RUSU, E., GUȚUL, T. Procedeu de evaluare a toxicității nanoparticulelor oxizilor de metale cu utilizarea levurilor. Institutul de Microbiologie și Biotehnologie. Data depozit 2016. 12. 22, Publicat 10.2017. In: BOPI. 2017, nr.2, pp.

ADNOTARE

Beșliu Alina „Efectele nanoparticulelor oxizilor metalici asupra levurilor din genul *Rhodotorula*”. Teză de doctor în științe biologice, Chișinău, 2020.

Teza conține introducere, cinci capitole, concluzii și recomandări, bibliografie cu 361 titluri, 12 anexe, volumul capitolelor 129 pagini, 55 figuri, 19 tabele. Rezultatele obținute sunt reflectate în 46 lucrări științifice publicate la tema tezei.

Domeniul de studiu: Științe ale naturii.

Cuvintele cheie: nanoparticule ZnO, Fe₃O₄, *Rhodotorula gracilis*, viabilitate, caractere morfologice, carbohidrați, proteine, pigmenți carotenoizi, catalaza, superoxid dismutaza.

Scopul lucrării constă în stabilirea gradului de influență a nanoparticulelor oxizilor de metale ZnO și Fe₃O₄ asupra indicilor microbiologici și biochimici la levurile de interes biotehnologic din genul *Rhodotorula* și aprecierea perspectivelor de utilizare în bionanotehnologii.

Obiectivele lucrării: Validarea testelor microbiologice și biochimice în contextul asigurării calificării și calității metodelor utilizate pentru evaluarea efectelor nanoparticulelor oxizilor metalici; Stabilirea particularităților acțiunii nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄ cu diferite dimensiuni asupra levurilor din genul *Rhodotorula*; Elaborarea procedeeleor de utilizare a nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄ în biotehnologia cultivării levurilor; Obținerea nanocompozitelor chitosan–zinc și chitosan-fier și aprecierea perspective utilizării lor în biotehnologia levurilor pigmentate.

Noutatea și originalitatea științifică. În premieră au fost validate teste microbiologice și biochimice și identificate componentele celulare ale levurilor pigmentate din genul *Rhodotorula*, implicate în răspunsul la acțiunea nanoparticulelor; elucidat caracterul acțiunii nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄ asupra viabilității, producției de biomasă, caracterelor morfologice, conținutului de proteine, carbohidrați, carotenoide, enzimelor antioxidante la levurile din genul *Rhodotorula* în dependență de dimensiuni și concentrație. S-a demonstrat că nanoparticulele ZnO, utilizate în concentrații 1-20 mg/L, influențează pozitiv procesele de multiplicare și biosinteză a proteinelor, carbohidraților și pigmenților carotenoidici. S-a demonstrat că nanoparticulele Fe₃O₄ induc la *Rh. gracilis* modificări semnificative în sistemul de apărare antioxidant, care se manifestă prin scăderea conținutului de carotenoide și enzimei catalaza. În premieră este elucidat caracterul de acțiune a nanocompozitelor chitosan–zinc și chitosan-fier asupra levurilor din genul *Rhodotorula*. Au fost elaborate două procedee noi de sporire a cantității și calității proteinelor cu utilizarea nanoparticulelor ZnO și de evaluare a toxicității nanoparticulelor Fe₃O₄ cu utilizarea în calitate de model a levurii *Rh. gracilis*. Originalitatea procedeeleor elaborate sunt confirmate de 2 brevete de invenție și o cerere de brevet de invenție.

Problema științifică importantă soluționată în lucrare. Au fost stabilite efectele nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄ asupra levurilor de interes biotehnologic din genul *Rhodotorula*, ceea ce a contribuit la elucidarea unor mecanisme de acțiune a nanoparticulelor, fapt ce a permis aprecierea perspectivelor de utilizare a lor în bionanotehnologii.

Semnificația teoretică. Sunt argumentate științific particularitățile de acțiune a nanoparticulelor ZnO și Fe₃O₄, în funcție de dimensiuni și concentrație, și a nanocompozitelor chitosan–zinc și chitosan-fier asupra indicilor microbiologici și biochimici la levurile din genul *Rhodotorula*, ceea ce a servit ca bază pentru elucidarea unor căi de acțiune și elaborarea procedeeleor de utilizare în biotehnologia cultivării levurilor.

Valoarea aplicativă. Se propun spre valorificare: un procedeu de sporire a conținutului de proteine la *Rh. gracilis* cu utilizarea nanoparticulelor ZnO; un procedeu nou de testare a gradului de nocivitate a nanoparticulelor Fe₃O₄ cu utilizarea în calitate de model a levurilor pigmentate din genul *Rhodotorula*; un procedeu nou de realizare a nanocompozitelor chitosan–zinc și chitosan-fier cu perspective biotehnologice.

Implementarea rezultatelor. Rezultatele cercetării sunt aplicate în cadrul Institutului de Inginerie Electronică și Nanotehnologii “D. Ghițu”, și în laboratorul Microbiologia solului, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie.

ANNOTATION

Beşliu Alina „The effects of metal oxide nanoparticles on yeasts of the genus *Rhodotorula*”, PhD thesis in biological sciences, Chisinau, 2020.

The thesis consists of an introduction, five chapters, general conclusions and recommendations, 361 of bibliographic sources, 12 appendices, main text 129 pages, 55 figures, 19 tables. The results were published in 46 scientific papers.

Field of study: Natural sciences.

Keywords: ZnO, Fe₃O₄ nanoparticles, *Rhodotorula gracilis*, viability, morphological characters, carbohydrates, proteins, carotenoid pigments, catalase, superoxide dismutase.

Objectives of the paper: Validation of microbiological and biochemical tests in the context of ensuring the qualification and quality of the methods used to evaluate the effects of nanoparticles of metal oxides; Establishing the particularities of the action of ZnO and Fe₃O₄ nanoparticles with different dimensions on yeasts of the genus *Rhodotorula*; Elaboration of the procedures for the use of ZnO and Fe₃O₄ nanoparticles in the biotechnology of yeast cultivation; Obtaining the chitosan-zinc and chitosan-iron nanocomposites and appreciating the perspectives of their use in the biotechnology of pigmented yeasts.

Scientific novelty and originality. For the first time, microbiological and biochemical tests are validated and the cellular functional groups of pigmented yeasts of the genus *Rhodotorula* have been identified, involved in the response to the action of the nanoparticles. For the first time is elucidated the action character of ZnO and Fe₃O₄ nanoparticles on viability, biomass production, cellular and colonial morphological characteristics, protein content, carbohydrates, carotenoids, antioxidant enzymes in yeasts of the *Rhodotorula* genus depending on size and concentration. It has been shown that ZnO nanoparticles, used in concentrations 1-20 mg/L in *Rh. gracilis* cultivation, positively influence the processes of protein multiplication and biosynthesis, carbohydrates and carotenoid pigments. It has been shown that Fe₃O₄ nanoparticles induce in *Rh.gracilis* significant changes in biosynthetic processes and antioxidant defense system, which is manifested by decreased carotenoid content and catalase enzyme. For the first time, the character of action of chitosan-zinc and chitosan-iron nanocomposites on yeasts of the genus *Rhodotorula* is elucidated. Two new procedures have been developed to increase the quantity and quality of proteins with the use of ZnO nanoparticles and to evaluate the toxicity of Fe₃O₄ nanoparticles with the use of *Rh. gracilis* as a model. The processes are confirmed by 2 patents and patent application.

The important scientific problem solved in the paper. The effects of nanoparticles of ZnO and Fe₃O₄ metal oxides on yeasts of biotechnological interest in the genus *Rhodotorula* have been established, which has contributed to the elucidation of some mechanisms of action, which has allowed to appreciate the prospects for use in bionanotechnologies.

Theoretical significance. The particularities of action of the ZnO and Fe₃O₄ nanoparticles, based on their size and concentration, and of the chitosan-zinc and chitosan-iron nanocomposites on the microbiological and biochemical indices in yeasts of the genus *Rhodotorula*, have been argued, which served as a basis for the elucidation of some of action and elaboration of the procedures for use in the biotechnology of yeast cultivation.

The applicative value. It is proposed for recovery: a process for increasing the protein content of *Rh. gracilis* strains with the use of ZnO nanoparticles; a new process for testing the harmfulness of Fe₃O₄ nanoparticles with the use as a model of pigmented yeasts of the genus *Rhodotorula*; a new process for making chitosan-zinc and chitosan-iron nanocomposites with biotechnological perspectives.

Implementation of results. The results of the research are applied within the Institute of Electronic Engineering and Nanotechnologies “D. Ghițu”, and the practical work in the soil microbiology laboratory, the Institute of Microbiology and Biotechnology.

BEȘLIU ALINA

**EFECTELE NANOPARTICULELOR OXIZILOR METALICI ASUPRA LEVURILOR
DIN GENUL *RHODOTORULA***

167.01 BIOTEHNOLOGIE, BIONANOTEHNOLOGIE

Rezumatul tezei de doctor în științe biologice

Aprobat spre tipar:	Formatul hârtiei 60x84 1/16
Hârtie ofset. Tipar ofset. 2,0	Tirajul 50 ex.
Coli de tipar: 1,0	Comanda nr.1-08/20

Tipografia „Tipocart Print s.r.l., MD 2012, Chișinău, str. Strada Pușkin 22