

**Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect în anul 2024**

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

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

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

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

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

Conducătorul de proiect Cepoi Liliana

Data: 03.12.24

LȘ



## Summary of Activities and Results Achieved in the Project in 2024

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

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

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

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

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

Project manager Cepoi Liliana

Date: 03.12.24

LS

