

**BIOMASA DE SPIRULINĂ ÎMBOGĂȚITĂ CU IOD –
SURSĂ ALTERNATIVĂ DE IOD**

*Valentina BULIMAGA, Liliana ZOSIM, Daniela CIUMAC,
Tatiana BEJAN, Tatiana CHIRIAC, Svetlana DJUR*

LICȘ „Fotomicrobiologie”

The productivity of cyanobacteria *Spirulina platensis* and iodine accumulation in biomass at its cultivation in the presence of KI with/without $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ have been determined. The supplementation in the first day is more favorable for obtaining of iodine enriched biomass. Iodine content is higher in biomass cultivated in the presence of ratio KI: $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ as $12 \cdot 10^{-3}$: $3 \cdot 10^{-3}$ (mMoli).

Introducere

Problema deficitului de iod este actuală pentru Republica Moldova, dat fiind conținutul scăzut de iod în sol și apă. Cu toate că se face profilaxia iodului prin utilizarea sării iodate, astfel de măsuri nu au dus la lichidarea completă a deficienței iodului, mai ales la copii și adolescenți. Deoarece în majoritatea cazurilor în alimentație se utilizează produse ce conțin iod sub formă de compuși anorganici (cum ar fi iodura de potasiu, iodatul de potasiu, soluția Lugol) sau sub formă de pastile (Iodinal), acestea pot manifesta o acțiune nefastă asupra tractului gastrointestinal, iar supradozarea lor duce la efecte adverse – hipertiroidism, cazuri de descreștere a funcției imune la persoanele cu tiroidă autoimună etc. [5,10,18]. Pe de altă parte, sărurile ce conțin iod anorganic sunt instabile la acțiunea factorilor de mediu: umezeală, lumină, temperatură. Durata păstrării este de 6 luni în cazul sării cu conținut de KI și de 9 luni pentru produsele ce conțin KIO_3 . Sub acțiunea unor reducători sau oxidanți ele se pot descompune cu eliminare de iod [6,8]. Pentru stabilizarea sării iodate în ea se adaugă compuși ai fierului, care pot influența proprietățile organoleptice ale produselor [9].

O altă formă de iod, mai puțin toxică pentru organism, este iodul organic. În Federația Rusă este produsă iodocazeina – un produs care se adaugă ca supliment la făină și în produse lactate [29]. Cu toate că posibilitatea de a utiliza acest produs este limitată, supradozarea iodocazeinei de utilizatori de asemenea poate genera hipertiroidismul. În natură iodul se găsește în cantități esențiale în alge și în alte produse de mare [2,11].

Circa 20% din tot iodul în organismul oamenilor și animalelor se află în glanda tiroidă. Iodul liber și iodatul este redus până la iodură pe pereții intestinali. În tiroidă iodul este oxidat și convertit în iod organic prin cuplarea cu aminoacidul L-tirozina și incorporare în hormoni ca tiroxina (T4) și triiodtironina (T3) [15]. Tiroida influențează multe funcții ale organismului: intensitatea metabolismului, dezvoltarea fizică și mintală, diferențierea și maturizarea celulelor țesuturilor, funcțiile mușchilor, ale sistemului cardiovascular, ale celui de reproducere și performanța de fertilitate, în același rând metabolismul unui șir de nutrienți [18]. Deficiența iodului duce la cretinism și gută [5,7,16]. Sunt cunoscute și alte microelemente, printre care seleniul și zincul, a căror carență cauzează stări iododeficitare [12,14].

Luând în calcul rezultatele cercetărilor care confirmă capacitatea înaltă a spirulinei de a acumula unele elemente, inclusiv zinc, fier și seleniu [12,25,28,30], precum și unele date ale cercetătorilor ruși și gruzini privind acumularea de către spirulină a iodului [21], prezintă interes cercetarea posibilității de a obține biomasă de spirulină cu un conținut înalt de iod și alte microelemente la cultivarea ei în prezența iodurii de potasiu în combinație cu alți compuși ai unor elemente ca cobaltul.

Scopul lucrării este de a studia posibilitatea de obținere a biomasei de spirulină îmbogățite cu iod legat organic – sursă alternativă de iod.

Pentru realizarea scopului au fost trasate următoarele obiective:

- ✓ Studiul influenței iodurii de potasiu și a altor compuși asupra productivității spirulinei și a conținutului de iod în biomasă.
- ✓ Stabilirea parametrilor optimi de obținere a biomasei de spirulină îmbogățite cu iod.

Material și metode

Obiectul de studiu a fost tulpina cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-03(CYANOPHYTA), depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nonpatogene de pe lângă Institutul de Microbiologie și Biotehnologie [23].

Pentru cultivare s-a utilizat mediul nutritiv Zarrouk cu o compoziție echilibrată a macro- și micronutrienților necesari creșterii și dezvoltării spirulinei.

Cultivarea s-a efectuat în baloane Erlenmeyer a câte 250 ml cu 100 ml suspensie de spirulină, timp de 144 ore, respectându-se parametrii optimi ai cultivării pentru asigurarea biosintezei constituenților intracelulari ai spirulinei stabiliți în cercetările anterioare [24].

În calitate de reglatori ai creșterii și productivității, precum și ai activității biosintetice a *S. platensis* a fost utilizat compusul iodului KI, precum și KI în combinație cu $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ în diferite rapoarte moleculare, ultimul fiind folosit în calitate de agent de complexare a iodului.

Metode de investigare

Pentru realizarea obiectivelor propuse au fost utilizate următoarele metode de investigare.

Productivitatea spirulinei a fost determinată fotocolorimetric cu recalculul masei celulare la biomasa absolut uscată (BAU) conform metodei descrise în [24].

Analiza statistică și regresională a valorilor obținute în trei serii de determinări ale productivității și a conținutului principiilor bioactive în biomasă a fost realizată prin metodele propuse de Maximov [31].

Metoda de determinare a iodului

Cantitatea de iod a fost măsurată prin metoda voltamperometriei inverse. Am selectat metoda în urma efectuării mai multor încercări: metoda de mineralizare uscată, metoda de titrare a mineralizatului, dar am convenit de a folosi metoda sus-numită datorită unui grad de precizie mai înalt. Această metodă prevede mineralizarea bazică a unei cantități anumite de biomasă uscată cu soluție KOH 2% timp de 2 ore cu refrigerent ascendent. Neutralizarea soluției date a fost efectuată cu acid sulfuric până la un mediu acid (pH 2-4), volumul final a fost adus până la un volum cotelat (10-25 ml) cu apă distilată și centrifugat. Supernatantul a fost introdus în celula electrochimică, care conținea soluția de fon electrochimic. În rezultatul reacției electrochimice, ce are loc la electrozi, la agitare continuă, se înregistrează semnalul analitic sub formă de voltamperogramă. Conform parametrilor acesteia (suprafața sau înălțimea picului) se calculează conținutul de iod în proba de analizat folosind formula de calcul prevăzută de programul analizatorului voltamperometric.

Rezultate și discuții

După cum s-a menționat mai sus, iodul este foarte important, fiind unul dintre elementele esențiale necesare organismului uman și animal. Este cunoscută capacitatea înaltă de acumulare a iodului din soluții de către microorganismele marine [2]. În unul dintre primele studii privind conținutul iodului în plante, efectuate de Cameron în 1915 [6], se arată că conținutul de iod în alge se află în limitele de 0,001-0,7%. Dintre algele brune doar familia *Laminariaceae* (una sau două specii din familia *Fucaceae*) conțin cantități mai mari de 0,1% [3,26]. Dintre algele roșii doar *Rhodymeniaceae* și *Delesseriaceae* conțin cantități similare. Cât privește algele verzi, nici una nu conținea cantități apreciabile de iod. Cu referire la conținutul iodului în cianobacterii (inclusiv spirulină), unele rezultate au fost obținute doar în ultimii ani [12,21].

Cercetările anterioare efectuate de alți autori au confirmat faptul că algele brune au un conținut foarte înalt de iod, constituind până la 0,7% din masa uscată. Doza zilnică de 1 g de astfel de produs corespunde cu 0,1-0,2 mg iod reținut de către un adult normal [18]. Studiile translocării iodului în *Laminaria* au arătat că distribuția lui este una unidirecțională și orientată spre regiunea meristematică, mecanismul însă nu este cunoscut [3]. În algele din Oceanul Pacific s-a stabilit un conținut de 5,5-37,4% iod organic din conținutul total de iod. Din iodul organic 50% este în formă de iodoaminoacizi [17]. În *Sargassum* și *Laminaria* au fost depistate tiroxina și triiodtironina, la fel mono- și diiodtirozina, dintre care monoiodtirozina atinge nivelul de 0,1% în *Sargassum* [4,22]. Astfel, aceste studii sugerează ideea că mecanismul de acumulare a iodului la diferite alge este diferit. Compușii proteici care leagă iodul au demonstrat un efect de diminuare a colesterolului în sânge la șobolani și cauzează reducerea greutateii la oameni, având efect antilipemic [4]. Conform altor cercetători, iodul în algele marine poate atinge 0,9% din masa uscată, pe când concentrația iodului în apa de mare este de doar $6 \cdot 10^{-8}$ g/l. Factorul de concentrare a iodului de către alge este de aproape 1 mln. ori, ceea ce este cu mult mai înalt în comparație cu glanda tiroidă [17]. Totuși, mecanismul prin care are loc acumularea iodului la alge nu este cunoscut.

Rezultatele studiului privind influența iodurii de potasiu, în absența și în prezența azotatului de cobalt, asupra productivității și conținutului de iod în biomasa de spirulină sunt prezentate în Tabelul 1. Se observă scăderea cantității de biomasă cu creșterea concentrației de KI, atingând 94% față de proba de referință la concentrația de 20 mg/l și un conținut maxim de iod – 1,73 mg/g, sau 0,173%. Diminuarea productivității spirulinei cu majorarea concentrației de iodură în mediu indică la faptul că în concentrații mai mari de 10 mg/l iodura începe a avea o acțiune toxică asupra creșterii și dezvoltării spirulinei. Pentru diminuarea acțiunii toxice a iodurii asupra algei a fost utilizat ionul de Co^{2+} care complexează cu iodura și diminuează acțiunea ei toxică.

La adăugarea suplimentară la mediul de cultivare a compusului $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ în combinație cu iodura de potasiu se observă că productivitatea atinge valori ce depășesc proba de referință cu 5-7% și care rămâne la un nivel înalt și în cazul concentrației de 15 mg/l KI.

Tabelul 1

Productivitatea și conținutul iodului în biomasa de spirulină cultivată în prezența lui KI în combinație cu $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ sau în absența lui

Compusul	Concentrația mg/l(mMol)	Productivitatea	Conținutul iodului în biomasă mg/100mg (%)
KI	1 ($6 \cdot 10^{-3}$)	1,45 ± 0,12	0,101325 ± 0,0024
	5 ($30 \cdot 10^{-3}$)	1,48 ± 0,03	0,106 ± 0,0012
	10 ($60 \cdot 10^{-3}$)	1,40 ± 0,56	0,12 ± 0,0015
	15 ($90 \cdot 10^{-3}$)	1,37 ± 0,32	0,1319 ± 0,003
	20 ($120 \cdot 10^{-3}$)	1,32 ± 0,26	0,17315 ± 0,0022
	mMol		
KI:Co(NO ₃) ₂	6·10-31: 3·10 ⁻³	1,47 ± 0,13	0,17185 ± 0,0029
	30·10-3: 3·10 ⁻³	1,50 ± 0,18	0,1939 ± 0,0084
	60·10-3: 3·10 ⁻³	1,48 ± 0,03	0,1260 ± 0,0042
	90·10-3: 3·10 ⁻³	1,47 ± 0,09	0,0530 ± 0,0013
KI:Co(NO ₃) ₂ (date Tanea)	12·10-3: 3·10 ⁻³	1,48 ± 0,3	0,2148 ± 0,0056
	18·10-3:3·10 ⁻³	1,38 ± 0,25	0,200 ± 0,0091
	24·10-3:6·10 ⁻³	1,22 ± 0,06	0,1867 ± 0,0043
	6·10-3:6·10 ⁻³	1,00 ± 0,12	0,1354 ± 0,0031
	6·10-3:9·10 ⁻³	0,8 ± 0,36	0,1132 ± 0,0028
Proba de referință		1,40 ± 0,09	

Pentru a determina condițiile de acumulare maximă a iodului în biomasă, au fost efectuate cercetări asupra spirulinei adaptate la prezența iodurii. Astfel, biomasa cultivată prealabil în decurs de 7 zile în prezența iodurii de potasiu (10 mg/l) a fost filtrată și supusă din nou cultivării pe mediul standard în prezența KI, cu sau fără adaos de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$. Suplimentarea compușilor s-a efectuat în două variante: în prima zi de cultivare și pe rate (în prima și a treia zi de cultivare). Rezultatele investigațiilor privind valorile productivității măsurate în a 7-a zi de cultivare sunt prezentate în Tabelul 2.

Tabelul 2

Productivitatea spirulinei adaptate la cultivare în prezența KI în combinație cu $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ sau în absența lui în dependență de modul de suplimentare a compușilor

Compusul	Concentrația mg/l sau (mMol)	Ziua administrării			
		Prima zi		Prima + a 3-a zi	
		Productivitatea, g/l	% față de martor	Productivitatea, g/l	% față de martor
KI	1($6 \cdot 10^{-3}$)	1,25±0,08	125	1,17± 0,06	117
	10($60 \cdot 10^{-3}$)	1,45±0,12	145	1,4± 0,12	140
	15($90 \cdot 10^{-3}$)	1,4±0,16	140	1,25± 0,03	125
	17($102 \cdot 10^{-3}$)	1,2±0,03	120	1,05± 0,18	105
	20($120 \cdot 10^{-3}$)	1,05±0,01	105	1,00± 0,21	100
	25($150 \cdot 10^{-3}$)	1,0±0,13	100	0,95± 0,2	95
	mMol				
KI :Co(NO ₃) ₂	($6 \cdot 10^{-3}$): 3·10 ⁻³	0,97±0,09	97	1,15±0,01	115
	($60 \cdot 10^{-3}$): 3·10 ⁻³	1,00±0,07	100	1,25±0,09	125
	($90 \cdot 10^{-3}$): 3·10 ⁻³	1,20±0,1	120	1,20±0,03	120
	($102 \cdot 10^{-3}$): 3·10 ⁻³	1,00±0,07	100	1,10±0,25	110
	($120 \cdot 10^{-3}$): 3·10 ⁻³	0,9±0,25	90	1,00±0,07	100
	($150 \cdot 10^{-3}$): 3·10 ⁻³	0,82±0,1	82	0,94±0,03	94
Proba de referință		1,00±0,07	100	1,00±0,07	100

Analizând datele obținute, putem observa că în ambele variante are loc micșorarea productivității cu majorarea concentrației de iodură. Totuși, productivitatea are valori mai înalte în cazul administrării iodurii fără adaos de azotat de cobalt, atingând valori maxime (40-45% mai mult decât în proba de referință) la suplimentarea KI în concentrații de $60 \cdot 10^{-3}$ și $90 \cdot 10^{-3}$ mMoli în prima zi de cultivare și valori puțin mai scăzute în cazul administrării pe rate.

Valorile mai diminuate ale productivității în cazul suplimentării combinate a KI și $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ pot fi explicate prin acumularea unui conținut mai înalt de iod în biomasă. Astfel, conform datelor obținute de noi, conținutul iodului determinat în biomasa cultivată în prezența a $150 \cdot 10^{-3}$ mMoli de KI administrat în prima zi este de 0,137%, iar în cazul administrării aceleiași cantități pe rate – 0,146 % iod și la cultivarea combinată (KI: $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 = 150 \cdot 10^{-3} : 3 \cdot 10^{-3}$ mMol) – de 0,22 și 0,2%, respectiv.

Comparând datele privind conținutul iodului în tulpina neadaptată la prezența iodului cu cele obținute în cazul tulpinii de spirulină, cultivate prealabil pe mediu cu adaos de iod, putem afirma că pentru acumularea iodului în biomasă nu este nevoie de efectuarea unei cultivări repetate în prezența iodurii.

În ce privește modul de administrare a compușilor, reiese că suplimentarea poate fi efectuată în prima zi de cultivare. În cercetările anterioare, pentru obținerea biomasei îmbogățite cu iod, Frontaseeva și al. au utilizat mediul de cultivare cu adaos de KI în concentrații de 10-8 – 10-4g/l la cultivarea spirulinei într-un cultivator de 20 l [12]. Mediul a fost preparat pe apă distilată. A fost determinat nivelul de iod în biomasa crescută în condiții standard, care s-a dovedit a fi de 0,15-0,47mcg/g. Conținutul iodului în biomasa obținută la cultivarea spirulinei în prezența KI, determinat de acești autori, a fost de 0,02-0,05% iod. Acest conținut este cu mult mai mic decât în alte alge marine și este de 4-10 ori mai mic decât denotă datele obținute în cercetările noastre. Acest fapt poate fi explicat prin utilizarea unor concentrații mai joase de iodură (0,1mg KI /l) la cultivarea spirulinei.

Studiile din ultimele decenii au scos în evidență rolul antitumorogenic al algelor [20]. De asemenea, a fost demonstrată eficacitatea izotopului radioactiv ^{131}I ca agent terapeutic utilizat la tratarea hipertiroidismului și cancerului tiroidei [13,19], însă eficiența în tratarea cancerului depinde de abilitatea țesutului de a reține iodul [27]. Cu cât mai îndelungată este reținerea iodului în tumoarea tiroidei cu atât mai mare este acțiunea lui.

Din cele expuse devine evident faptul că pentru lichidarea deficienței de iod și tratarea bolilor legate de deficiența iodului este necesară elaborarea unor noi produse ce conțin iod legat organic. Cultivarea spirulinei pe un mediu nutritiv cu adaos de iod și alte microelemente permite obținerea unei biomase ce va reprezenta un complex indispensabil în macro- și microelemente (K, Ca, Cl, Mg, S, P, J, Fe, Ba, etc.) sub formă de compuși organici ușor asimilabili de către organism. O largă gamă de vitamine (A, B1, B2, B3, B6, B12 etc.), pe care le conține spirulina, va contribui la reglarea metabolismului glucidic, lipidic și la sporirea imunității. Însă, cel mai important este că biomasa de spirulină conține iod, componentul esențial al hormonului glandei tiroide – tiroxina. Anume tiroxina este cea care menține reacțiile protectoare ale organismului, accelerează formarea de noi celule, influențează favorabil asupra dezvoltării fătului la femeile gravide, accelerează creșterea copiilor, activează unele enzime, contribuie la o asimilare mai bună a fosforului, calciului și fierului [1]. Rămâne pe viitor de cercetat localizarea și distribuirea iodului în componența biomasei de spirulină.

Concluzii

Cultivarea spirulinei în prezența iodurii de potasiu (până la 20 mg/l) asigură obținerea biomasei de spirulină îmbogățite cu iod până la 0,173%.

Utilizarea combinată a KI și $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ca adaos la mediul de cultivare asigură includerea mai eficientă a iodului în biomasă (până la 0,21%) și nu afectează productivitatea spirulinei în proporții KI: $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ de până la 30:1, iar la majorarea concentrației $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ față de KI productivitatea scade, ceea ce este legat de acțiunea toxică a ionilor de cobalt asupra creșterii spirulinei.

Analiza comparativă privind conținutul iodului în tulpina neadaptată la prezența iodului cu cele obținute în cazul tulpinii de spirulină adaptate la prezența lui ne-au permis să concluzionăm că pentru acumularea iodului în biomasă nu este nevoie de efectuarea unei cultivări repetate în prezența iodurii de potasiu. În ambele variante – suplimentarea în prima zi de cultivare și pe rate – cu majorarea concentrației de iodură are loc micșorarea productivității. Valorile mai înalte ale productivității (cu 40-45% mai mult decât în proba de referință) în cazul administrării în prima zi de cultivare și pe rate a iodurii în concentrații de $60 \cdot 10^{-3}$ și $90 \cdot 10^{-3}$ mMol fără adaos de azotat de cobalt poate fi legată de acumularea în proporții mai joase a iodului.

Referințe:

1. Abraham G.E., Flechas J.D., Hakala J.C., Optimum Levels of Iodine for Greatest Mental and Physical Health // The Original Internist. - 2002. - Vol.9. - P.5-20.
2. Amachi Seigo, Yukako Mishima, Hirofumi Shinoyama, Yasuyuki Muramatsu, and Takaaki Fujii. Active transport and accumulation of iodide by newly isolated marine bacteria // Applied and Environmental Microbiology. - 2005. - Vol.71. - No2. - P.741-745.
3. Amat M.A., Srivastava L.M., Translocation of iodine in *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) // Phycology. - 1985. - No21. - P.330-333.
4. Arasaki S. & Arasaki T. Vegetables from the sea. - Tokyo: Japan Publ. Inc, 1983.
5. Basil S. Hetzel, published a book entitled. The Story of iodine deficiency An International Challenge in Nutrition. - Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press, 1989.
6. Cameron A.T. Contributions to the biochemistry of iodine. II. The distribution of iodine in plant and animal tissues, 1915, p.1-39.
7. DeLange F.M. Iodine deficiency. In: Braverman L, Utiger R.D., eds. Werner and Ingbar's, The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text. 8th ed. - Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p.295-316.
8. Diosady L.L., Alberti J.O., Vankatesh Mannar M.G., and Stone T.G. Stability of iodine in iodized salt used for correction of iodine-deficiency disorders // Food and Nutrition Bulletin. - 1997. - No18. - P.388-396.
9. Diosady L.L., Alberti J.O., Ramcharan K., Mannar M.G. Iodine stability in salt double-fortified with iron and iodine // Food Nutr Bull. - 2002. - No23(2). - P.196-207.
10. Dunn J.T. International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders. - IDD Newsletter, 2001.
11. Feiters M.C., Kupper F.C., Kroneck P.M., Klauke W.M. Investigation of iodine compounds involved in iodine uptake, iodine accumulation and iodovolatilization in brown algae // Plant Physiol. - 2001. - No125. - P.278-291.
12. Frontasyeva M.V., Mosulishvili M.V., Belokobilsky A.I., Kirkesali E.I., Pavlov S.S.. Experimental grounds for developing selenium and iodine containing pharmaceuticals based on blue green algae *Spirulina platensis*, Proceedings of the International Conference on Nuclear Analytical Methods in the Life Science „NAMLS-7, Antalya , Turkey, 16-21 june, 2002.
13. Funahashi H et al. 1999 Wakame Seaweed Suppresses the Proliferation of 7,12-Dimethylbenz(a)-anthracene-induced Mammary Tumours in Rats // Jpn. J. Cancer Res. - 1999. - No90. - P.992-997.
14. Gupta R.P., Verma P.C., Garg S.S. Effect of experimental zinc deficiency on thyroid gland in guinea-pigs // Ann Nutr Metab. - 1997. - No41(6). - P.376-381.
15. Hertz B.S., DeLange F. Iodine deficiency. In: Thyroid Disease Manager. Worcester, Mass: Endocrine Education; 2001.
16. Hetzel B.S. and Clugston G.A. Iodine. In: Modern Nutrition in Health and Disease, 9th edition. Shils ME, et al, editors. Lippincott Williams & Wilkins, 1999, p.253-264.
17. Hou X.L.; Dahlgard H.; Rietz B.; Jacobsen U.; Nielsen S.P.; Aarkrog A. Determination of chemical species of iodine in seawater by radiochemical neutron activation analysis combined with ion-exchange pre-separation. 1999 // Anal. Chem. - 1999. - No71(149). - P.2745-2750.
18. Indergaard M. & Minsaas J. Animal and human nutrition. In: Seaweed Resources in Europe (M.D. Guiry & G. Blunden, eds.), Wiley, Chichester, 1991, p.21-64.
19. Mandel S.J., Mandel L. Persistent sialadenitis after radioactive iodine therapy: report of two cases // J. Oral Maxillofac Surg. - 1999. - No57(6). - P.738-41.
20. Nianjun Xu, Xiao Fan, Xiaojun Yan, Tseng C. K, Screening marine algae from China for their antitumor activities // J.Appl. Phycol. - 2004. - Vol.16, No6 (25 ref.). - P.451-456.
21. Mosulishvili M., Kirkesali Y., Belokobilsky A., Khizanishvili A., Frontasyeva M., Pavlov S., Gundorina S. Nuclear analytical technique used to study the possibility of production of iodine-containing pharmaceuticals based on blue-green algae *Spirulina platensis* matrix for treatment and prophylactics // Particles and Nuclei, Letters. - 2001. - No4 [107]. - P.110-117.
22. Nisizawa K. Pharmaceutical studies on marine algae in Japan.. Marine algae in pharmaceutical science. - New York: De Gruyter, 1979, p.243-310.
23. Rudic V, Șalari V., Obuh P. Tulpina *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. Calu-835 - producător de biomasă. Brevet de invenție nr.169(MD) // BOPI. - 1995. - Nr.3.
24. Rudic V. Aspecte noi ale biotehnologiei. - Chișinău, 1993. - 140 p.
25. Rudic V., Chiriac T., Bulimaga V., Zosim L., Gulea A. Poirier D., Ciapurina L., Ciurac D., Toderaș I. Procedeu de obținere a biomasei de *Spirulina platensis*, Hotărâre de acordare a BI Nr4864 din 11.08.2006.
26. Sviderskii V.L., Khovanskikh A.E., Rozengart E.V., Moralev S.N., Yagodina O.V., Gorelkin V.S., Leont'ev V.G., Teivonen L.V., Basova I.N., Kormilitsin B.N., Nekrasova V.B., Nikitina T.V., and Kurygina V.T. Study of molecular-biochemical mechanism of action of iodine-containing extract from laminaria (*Laminaria saccharina*) // Doklady Biochemistry and Biophysics. - 2004. - Vol.396. - No1-6. - P.193-196.

27. Welch P.L., Mankoff D.A. Taking up iodide in breast tissue // Nature. - 2000. - №8. - Vol.406(6797). - P.688-689.
28. Zosim L. Studiul productivității și a procesului de acumulare a fierului în biomasă la cultivarea cianobacteriei *Spirulina paltensis* în prezența unor compuși coordinați ai Fe (III) // Analele Științifice ale USM. Seria „Științe chimico-biologice”. - Chișinău: CEP USM, 2005, p.278-281.
29. Велданова М.В. Медико-экологическое обоснование и алгоритм проведения диагностики и профилактики микроэлементов в йододефицитных биогеохимических провинциях // Медицинский научный и учебно-методический журнал. - 2002. - №8. - С.71-79.
30. Максакова С.В., Бульмага В.П., Санду М.А. Перспективы использования соединений селена для получения биомассы *Spirulina platensis*, обогащенной селеном и со сбалансированным биохимическим составом // Analele Științifice ale USM. Seria „Științe chimico-biologice”. Ediție jubiliară. - Chișinău: CEP USM, 2006, p.163-167.
31. Максимов В.Н. Многофакторный эксперимент в биологии. - Москва: Изд-во МГУ, 1980. - 280 с.

Prezentat la 18.01.2007