

CZU: 582.231 : 577.114

## SINTEZA ORIENTATĂ A POLIZAHARIDELOR ACIDE LA CIANOBACTERIA *SPIRULINA PLATENSIS CNM CB-02*

*Valentina BULIMAGA, Maria PISOVA, Liliana ZOSIM*

*Universitatea de Stat din Moldova*

Cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis CNM CB-02* în două etape cu adaos de NaCl (0,25 și 0,50 M) la a 2-a etapă de cultivare, fără a varia regimul de iluminare, sporește conținutul de polizaharide sulfatate în biomasa cu 29 și, respectiv, 31,3%, comparativ cu proba de referință (fără NaCl). În acest caz n-a fost observat un efect evident al acestei sări asupra conținutului total de polizaharide acide. Majorarea intensității de iluminare (până la 5500 lx) și suplimentarea cu NaCl (0,25 M) la a 2-a etapă de cultivare a asigurat un spor cu 23,45% al conținutului total de polizaharide acide, comparativ cu conținutul acestora în proba de referință (cultivată la 3500 lx). Adăugarea  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (1-4 mg/l) nu a exercitat un efect semnificativ asupra conținutului de polizaharide acide și sulfatate în biomasa de spirulină, însă a stimulat considerabil producerea de exopolizaharide acide (până la 238,3 g/kg) la 5500 lx.

**Cuvinte-cheie:** spirulină, cultivare în două etape, factori de stres, endo- și exopolizaharide acide.

### ACIDIC POLYSACCHARIDES DIRECTED SYNTHESIS AT CYANOBACTERIA *SPIRULINA PLATENSIS CNM CB-02*

Two-stage cultivation of cyanobacterium *Spirulina platensis CNM CB-02* with NaCl (0,25 and 0,50 M) supplementation on the second stage of cultivation, without varying of the lighting regime ensured an increasing of the content of sulfated polysaccharides in biomass by 29 and 31,3%, respectively, compared to the reference sample (without NaCl). It wasn't found an evident effect of NaCl on the total content of acidic polysaccharides in this case. Light intensity increasing (up to 5500 lx) with NaCl (0,25 M) supplementation ensured the increasing of the acidic polysaccharides content with 23,45%, compared to the reference sample (cultivated at 3500lx).  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (1-4 mg/l) hadn't a significant effect on the content of acidic and sulfated polysaccharides in spirulina biomass, but considerably stimulated acidic exopolysaccharides production (up to 238,3 g / kg) at 5500 lx.

**Keywords:** spirulina, two-stage cultivation, stress factors, acidic intracellular polysaccharides and exopolysaccharides.

### Introducere

Polizaharidele sunt prezente în toate organismele și prezintă o mare varietate a structurilor biochimice bazate pe combinațiile diferitelor monozaharide (hexoze și pentoze, inclusiv multe zaharuri complexe). Diverși substituenți, cum ar fi grupările acil, aminoacizii sau grupările sulfat, pot fi atașate la aceste structuri liniare sau ramificate. Polizaharidele și, în special, polizaharidele sulfatate sunt utilizate în diverse ramuri ale industriei pentru proprietățile lor reologice ca agenți de îngroșare și de gelifiere [1-3]. Acestea sunt utilizate și în medicină datorită diferitelor efecte biologice, cum ar fi: imunomodulatorii, antibacteriene, anticoagulante, antimutagenice, radioprotectoare, antioxidante, antiulcer, anticancerigene și antiinflamatorii [1, 3-5].

Încă în 1993 au fost efectuate cercetări în vederea stabilirii componenței biochimice a unui polizaharid exocelular solubil, secretat în calitate de metabolit primar de cianobacteria filamentoasă *Spirulina platensis*. S-a constatat că el era format din zece tipuri diferite de unități monomerice, inclusiv șase zaharuri neutre (xiloza, ramnoza, fucoza, galactoza, manoza și glucoza), două zaharuri neidentificate, doi acizi uronici, reprezentând 40%, precum și grupări de sulfat (5%) [6].

Studii mai recente asupra polizaharidelor extracelulare (EPS) produse de cianobacteria *Arthrospira platensis* au fost efectuate de Trabelsi și al. [7]. Analiza elementară și reacția cu acidul bicinconinic (BCA) au scos în evidență că EPS reprezentau heteropolizaharide cu conținut de carbohidrați (55%) și proteine (13%). Analiza spectrului infraroșu și analiza chimică au relevat prezența grupării sulfat (0,5%). Cromatografia gazoasă a componentului glucidic din EPS a indicat prezența a șapte zaharuri neutre: galactoză (14,9%), xiloză (14,3%), glucoză (13,2%), fucoză (13,2%), ramnoză (3,7%), arabinoză (1%) și manoza (0,3%) și a doi acizi uronici: acidul galacturonic (13,5%) și acidul glucuronic (0,9%) [7].

Publicațiile din ultimii ani relatează unele tentative de inducere a sintezei exo- și endopolizaharidelor la *Spirulina sp.* Conform datelor din literatură, asupra sintezei exopolizaharidelor la alge și cianobacterii pot

influența unii factori de stress, precum și raportul C/N [2]. Pentru sporirea producerii de exopolizaharide la cianobacteria *Spirulina subsalsa* a fost utilizat stresul prin crearea deficienței de fosfat sau nitrat sau prin adaos de surplus de NaCl (0,9 M), precum și a nitratului (10 mM) la mediul de cultivare [8].

Studiul efectului concentrației de azot asupra conținutului de polizaharide sulfatate în biomasă a scos în evidență că la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* pe mediu cu conținut optim (412 ppm) și limitat de azot (45 ppm) în biomasă s-au acumulat, respectiv, 5,02 și 4,13% polizaharide sulfatate. În componența polizaharidelor sulfatate au fost identificate monozaharidele: acidul glucuronic și galactoză, acestea fiind preponderente, urmate de ramnoză, arabinoză, glucoză, riboză, precum și grupările sulfat [9].

În baza rezultatelor cercetărilor prezentate mai sus putem concluziona că studiile referitoare la sinteza dirijată a endo- și exopolizaharidelor la cianobacteria *Spirulina platensis* și alte specii de spirulină sunt într-un număr redus. În plus, n-au fost efectuate studii în ansamblu privind influența unor factori fizico-chimici stresanți asupra sintezei endo- și exopolizaharidelor acide, inclusiv asupra celor sulfatate.

În acest context, scopul prezentei lucrări constă în studierea influenței unor factori fizico-chimici asupra sintezei polizaharidelor acide și sulfatate la cianobacteria *Spirulina platensis*. Pentru realizarea acestui scop au fost trasate următoarele obiective:

- Cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* în două regimuri de iluminare cu suplimentarea în mediu la a 2-a etapă de cultivare a unor săruri ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  și NaCl), utilizate ca factori de stres.
- Extragerea endopolizaharidelor din biomasă și determinarea lor cantitativă.
- Recuperarea exopolizaharidelor (EPS) din lichidul cultural al spirulinei, extragerea EPS atașate pe suprafața celulelor și determinarea lor cantitativă.

### Material și metode

**Cultivarea spirulinei.** 150 ml suspensie de spirulină (0,4 mg/ml) a fost cultivată în mediul Zarrouk modificat [10] în decurs de 7 zile la iluminarea 3500 lx, iar la a 8-a zi au fost suplimentate 2-6 mg/l  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  și cultivarea a continuat încă 3 zile la 3500 lx sau 5500 lx. În a 11-a zi de cultivare spirulina a fost separată de lichidul cultural prin filtrare.

**Obținerea și determinarea exopolizaharidelor.** Suspensia de spirulină cultivată în decurs de 11 zile a fost filtrată pentru separarea biomasei de lichidul cultural. După recoltarea lichidului cultural (fracția 1 de exopolizaharide), biomasa a fost suspendată în 40 ml de apă distilată pentru extragerea exopolizaharidelor atașate pe suprafața peretelui celular și după agitare timp de 4-5 min. a fost filtrată cu pompa cu vid, iar biomasa a fost spălată încă cu 10 ml de apă bidistilată, extractele fiind reunite (fracția 2 de exopolizaharide). Frajeciile de exopolizaharide au fost concentrate de 10 ori la evaporator cu vacuum și supuse dializei. Din fracjeciile obținute au fost luate probe pentru determinarea concentrației polizaharidelor acide cu reagentul alcian Blue [11].

**Obținerea și determinarea endopolizaharidelor.** 1 volum biomasă de spirulină rămasă după extragerea exopolizaharidelor a fost suspendat în 4 volume  $\text{H}_2\text{O}$  și a fost efectuată extracjecia endopolizaharidelor la fierbere pe baia de apă timp de 60 min. După centrifugare din restul solid a fost efectuată extracjecia repetată cu 2 volume de apă. Extractele reunite de endopolizaharide au fost tratate cu soluție de 20% acid tricloracetic (1:3 v/v) pentru înlăturarea proteinei. După filtrare precipitatul de proteină a fost înlăturat, iar soluția de polizaharide a fost dializată. Concentrația hidraților de carbon a fost determinată prin reacjecia cu antron [12], iar a polizaharidelor acide – cu reagentul alcian Blue [11].

### Rezultate și discuții

Rezultatele cercetărilor efectului suplimentării în a 8-a zi de cultivare a două săruri – NaCl și  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  în concentrații de 0,25 și 0,5 M și 1,2 și 4 mg/l, respectiv, precum și a intensității de iluminare (3500 și 5500 lx) asupra conținutului de endopolizaharide acide și sulfatate în biomasa de spirulină la cultivarea ei în două etape sunt prezentate în Tabelul 1. Analiza datelor din tabel a scos în evidență că la 3500 lx suplimentarea NaCl în concentrații de 0,25 și 0,50 M în a 8-a zi de cultivare nu influențează asupra conținutului total de endopolizaharide acide, însă sporește conținutul de endopolizaharide sulfatate cu 29 și 31,3%, respectiv, comparativ cu proba de referință. La cultivare în regim de iluminare mai intensă (5500 lx) se observă un spor al conținutului de endopolizaharide acide și sulfatate cu 12 și 13,9 % , respectiv, comparativ cu cel atestat în biomasa cultivată la 3500 lx (Tab.1).

Tabelul 1

Influența intensității de iluminare și suplimentării NaCl și  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  asupra conținutului de glucide și endopolizaharide acide și sulfatate în biomasă de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* în două etape

Sărurile suplimentate la a 2-a etapă de cultivare	Biomasa, mg/ml	Glucide după precipitare cu ATA		Endopolizaharide			
				acide		sulfatate	
		E620	%	$\Delta\text{E600}$	% din BAU	$\Delta\text{E600}$	% din BAU
<b>Iluminarea 3500 lx</b>							
Proba martor $\text{K}_1$	19,70	0,169	5,00	0,105	5,33	0,068	3,45
0,25M NaCl	15,98	0,175	4,58	0,086	5,38	0,071	4,44
0,50M NaCl	16,08	0,322	<b>8,37</b>	0,085	5,28	0,073	4,53
1mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	18,93	0,178	3,93	0,091	4,81	0,069	3,65
2mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	21,55	0,194	3,77	0,114	5,29	0,078	3,62
4mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	22,23	0,194	3,65	0,106	4,77	0,068	3,06
<b>Iluminarea 5500 lx</b>							
Proba martor $\text{K}_2$	23,4	0,399	7,13	0,142	6,06	0,111	4,70
0,25M NaCl	18,83	0,351	7,80	0,124	6,58	0,090	4,78
0,50M NaCl	17,58	0,583	<b>13,8</b>	0,108	6,14	0,073	4,15
1mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	17,00	0,258	6,35	0,102	6,00	0,077	4,53
2mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	20,18	0,269	5,58	0,116	5,75	0,089	4,41
4mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	20,73	0,318	6,42	0,126	6,08	0,095	4,58

$p \leq 0,05$

La iluminarea 3500 lx cu suplimentarea în a 8-a zi de cultivare a  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (1-2 mg/l) efectul asupra sintezei endopolizaharidelor acide este neesențial, iar la 5500 lx se observă valori ușor mai diminuate, comparativ cu proba de referință ( $\text{K}_2$ ). La suplimentarea în ziua a 8-a a NaCl în concentrație de 0,25 M cu majorarea concomitentă a intensității de iluminare până la 5500 lx s-a constatat un spor de cca 10% al conținutului de endopolizaharide acide, comparativ cu proba de referință ( $\text{K}_2$ ), iar conținutul de endopolizaharide sulfatate a fost în limitele probei de referință.

Astfel, putem concluziona că cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* în două etape cu adaos de NaCl (0,25 și 0,50 M) în a 8-a zi de cultivare, fără a varia regimul de iluminare, a sporit conținutul polizaharidelor sulfatate în biomasă cu 29 și 31,3%, respectiv, comparativ cu proba de referință (fără NaCl), manifestând însă un efect nesemnificativ asupra conținutului total de polizaharide acide intracelulare. Majorarea intensității de iluminare (5500 lx) cu suplimentarea NaCl (0,25 M) la a 2-a etapă de cultivare asigură un spor al conținutului total de endopolizaharide acide cu 23,45% față de conținutul acestora în proba de referință ( $\text{K}_1$ ).  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  manifestă un efect nesemnificativ asupra acumulării endopolizaharidelor acide și sulfatate în biomasă de spirulină.

Conținutul de polizaharide sulfatate în biomasă de *Spirulina platensis*, înregistrat în rezultatul cercetărilor noastre, atestă valori apropiate cu cele obținute de Abd EL BAKY și col. la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* pe mediu cu nivel optim (412 ppm) și limitat (45 ppm) de azot la o iluminare continuă cu lămpi fluorescente [9]. Conținutul de polizaharide sulfatate determinat de cercetători în biomasă de spirulină a constituit 5,02% și 4,13% la cultivare pe mediu cu 412 ppm (nivel optim) și 45 ppm (nivel limitat) de azot.

A prezentat interes și studiul factorilor fizico-chimici utilizați mai sus și asupra producerii de exopolizaharide acide la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* în două etape. Analizând datele referitoare la cantitatea de biomasă obținută în a 11-a zi de cultivare (Tab.2) se observă diminuarea valorilor productivității spirulinei cu creșterea concentrației de NaCl la ambele regimuri de iluminare, iar concentrația de 0,75 M s-a dovedit a fi toxică pentru creșterea și dezvoltarea culturii de spirulină. În toate cazurile studiate (cu excepția probelor cultivate în prezența a 0,5 M NaCl) conținutul de exopolizaharide în lichidul cultural avea valori mai înalte, comparativ cu cele recuperate la extragerea cu  $\text{H}_2\text{O}$ , urmată de filtrarea în vacuum.

Rezultatele obținute (Tab.2) au scos în evidență că la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* în două etape cu suplimentarea  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (1, 2 și 4 mg/l) la ambele intensități de iluminare are loc sporirea producției de exopolizaharide acide și sulfatate. Totuși, se observă că utilizarea în a 8-a zi de cultivare a doi factori de stress: suplimentarea  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (2 mg/l) și majorarea intensității de iluminare (5500 lx) induc o sporire de 2-4 ori a producerii de exopolizaharide acide (inclusiv de polizaharide sulfatate), față de proba de referință, și obținerea unei cantități maxime de exopolizaharide acide – de 238,3 g/kg.

În cercetările efectuate anterior autorii francezi n-au depistat prezența exopolizaharidelor în lichidul cultural la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* timp de 15 și 30 de zile. Pentru extragerea exopolizaharidelor atașate de peretele extern al celulelor, biomasa rezultată după separare de lichidul cultural a fost resuspendată într-o soluție tampon 0,05 M TAPS, pH 8,15, ce conținea 0,025M EDTA, la 20°C. Suspensia rezultată a fost încălzită la 100°C timp de 20 min, iar supernatantul de exopolizaharide a fost separat de restul de biomasă prin centrifugare [6]. Totuși, extragerea cu tampon și tratarea termică la 100°C timp de 20 min cauzează distrugerea pereților celulari ai spirulinei; ca urmare, în extract nimeresc și componenți intracelulari (de exemplu, endopolizaharidele). Astfel, pentru păstrarea celulelor intacte și recuperarea exopolizaharidelor atașate de pereții celulari ai spirulinei este mai avantajoasă extracția cu  $\text{H}_2\text{O}$  și filtrarea în vacuum, aplicată în prezenta lucrare.

Utilizarea stresului prin administrarea NaCl și iluminarea cu lămpi fluorescente la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* a fost utilizată și de alți autori, urmărindu-se majorarea producerii de biomasă și acumularea exopolizaharidelor. Procedul de cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis* utilizat de ei includea două etape: prima de acumulare a biomasei la  $96 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  sau 7104 lx și la temperatura de 28°C, după care (a doua etapă) intensitatea luminii era majorată până la  $192 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  sau 14208 lx și la temperatura de 38°C sau ca factor stresant a fost utilizat NaCl (0,75M) și cultivarea continuă încă 2-3 zile în condiții de stres [13]. Totuși, cultivarea spirulinei efectuată la intensități de lumină cu valori foarte înalte (7104 și 14208 lx) contribuie la diminuarea productivității cianobacteriei *Spirulina platensis*, precum și a conținutului de exopolizaharide acide la cultivare în prezența unor concentrații înalte de NaCl.

Tabelul 2

**Influența intensității de iluminare și suplimentării NaCl și  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  asupra conținutului de exopolizaharide acide și sulfatate produse de cianobacteria *Spirulina platensis* la cultivare în două etape**

Nr. d/o	Sărurile suplimentate la a 2-a etapă de cultivare	Productivitatea la a 11-a zi, g/l	Biomasa totală, mg	Frația 1 de exopolizaharide (Lichid cultural după concentrare, 96,15 ml)		Frația 2 de exopolizaharide (Extract de exopolizaharide, 50 ml)		Exopolizaharide acide totale, mg/g sau g/kg
				$\Delta\text{E600}$	mg/g biomasă	$\Delta\text{E600}$	mg/g biomasă	
<b>Iluminarea 3500 lx</b>								
1	K <sub>1</sub>	1,03±0,02	309,60	0,059	45,98	0,031	12,62	58,60
2	0,25M/l NaCl	0,96±0,06	286,50	0,032	26,95	0,039	17,20	44,15
3	0,5M/l NaCl	0,78±0,05	260,40	0,013	12,05	0,031	15,00	27,05
4	1mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,02±0,07	309,00	0,148	115,57	0,044	18,30	133,87
5	2mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,01±0,08	302,70	0,167	133,13	0,054	22,50	155,63
6	4mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,03±0,08	303,00	0,171	136,18	0,045	18,40	154,58
<b>Iluminarea 5500 lx</b>								
1	K <sub>2</sub>	1,15±0,08	345,30	0,144	100,63	0,066	24,10	124,73
2	0,25M/l NaCl	1,07±0,06	321,00	0,080	57,9	0,103	40,40	98,30
3	0,5M/l NaCl	0,99±0,03	297,90	0,033	26,73	0,098	41,50	68,23
4	1mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,11±0,04	330,90	0,128	93,34	0,097	36,90	130,24
5	2mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,27±0,05	382,20	0,331	208,98	0,089	29,30	238,30
6	4mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,12±0,06	334,50	0,245	176,74	0,064	24,10	200,84

$p \leq 0,05$

La cianobacteria *Spirulina subsalsa* pentru sporirea producerii de exopolizaharide a fost utilizat stresul prin crearea deficienței de fosfat sau nitrat sau prin adaos de un surplus de NaCl (0,9 M), precum și a nitratului (10 mM) la mediul de cultivare [8]. Cu toate că a fost stabilit efectul pozitiv al factorilor menționați asupra acumulării exopolizaharidelor la cianobacteria *Spirulina subsalsa*, se observă diminuarea productivității și a



conținutului de proteină în biomasă, cantitatea de exopolizaharide fiind influențată de durata cultivării, care în prezența excesului de 0,9 M NaCl atinge valoarea maximă în a 28-a zi de cultivare, ceea ce nu este rentabil din punct de vedere economic.

Analizând rezultatele cercetărilor efectuate în prezenta lucrare, putem concludiona că cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* în două etape cu adaos de NaCl (0,25 și 0,50 M) în a 8-a zi de cultivare, fără a varia regimul de iluminare, a asigurat un spor al conținutului de polizaharide sulfatate în biomasă cu 29 și 31,3%, respectiv, comparativ cu proba de referință (fără NaCl), manifestând totodată un efect nesemnificativ asupra conținutului total de endopolizaharide acide. Majorarea intensității de iluminare (5500 lx) cu suplimentarea NaCl (0,25 M) la a 2-a etapă de cultivare a asigurat un spor al conținutului total de polizaharide acide cu 23,45% față de conținutul acestora în proba de referință (la 3500lx).  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  nu a manifestat un efect semnificativ asupra acumulării polizaharidelor acide și sulfatate în biomasa de spirulină, însă a stimulat considerabil producerea de exopolizaharide acide (până la 238,3 g/kg) la utilizarea acestuia concomitent cu un regim de iluminare intensă (5500 lx), în calitate de factori stresanți la a 2-a etapă de cultivare.

### Concluzii

- Suplimentarea NaCl (0,25M) la a 2-a etapă de cultivare fără a varia regimul de iluminare induce sinteza polizaharidelor sulfatate în biomasă, iar conținutul endopolizaharidelor acide totale este influențat atât de administrarea NaCl, cât și de majorarea intensității de iluminare.
- A fost stabilit efectul stimulator al  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (1-4mg/l) asupra sintezei exopolizaharidelor acide la cianobacteria *Spirulina platensis*. Producerea de exopolizaharide acide a atins valori maxime (până la 238,3 g/kg) la utilizarea în calitate de factori stresanți a 2mg/l  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , concomitent cu un regim de iluminare intensă (5500 lx), la a 2-a etapă de cultivare a spirulinei.

### Referințe:

1. DELATTRE, C., FENORADOSOA, A., MICHAUD, P. Galactans: an overview of their most important sourcing and applications as natural polysaccharides. In: *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 2011, vol.54, no.6, p.1075-1092.
2. DELATTRE C., PIERRE G., LAROCHE C., MICHAUD P. Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides. In: *Biotechnol. Adv.* 2016, p.1-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.08.001>
3. KRAAN, S. Algal polysaccharides, novel applications and outlook. In: Chang, C.-F. (Ed.). *Carbohydrates – Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology*.
4. UGHY, B., NAGY, C.I., KÓS, P.B. Biomedical potential of cyanobacteria and algae. In: *Acta Biologica Szegediensis*. 2015, vol. 59, suppl.2, p.203-224.
5. De JESUS RAPOSO, M.F., DE MORAIS A.M.B., De MORAIS, R.M.S. Marine Polysaccharides from Algae with Potential Biomedical Applications. In: *Mar. Drugs.*, 2015, vol.13, no.5, p.2967-3028.
6. FILALI MOUHIM, R., CORNET, J.F., FONTAINE, T. et al. Production, isolation and preliminary characterization of the exopolysaccharide of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. In: *Biotechnol. Lett.*, 1993, vol.15, no.6, p.567-572.
7. TRABELSI, L., M'SAKNI, N.H., OUADA, H.B., BACHA, H., ROUDESLE, S. Partial characterization of extra-cellular polysaccharides produced by cyanobacterium *Arthrospira platensis*. In: *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2009, vol.14, no.1, p.27-31.
8. CHAKRABORTY, T., SEN, A.K. and PAL, R. Stress induced extra cellular polysaccharide of *Spirulina subsalsa* and its chemical characterization. In: *J. Algal. Biomass. Utiln.*, 2015, vol.6, no.3, p.24-38.
9. EL-BAKY, H.H., ELBAZ, F.K. and EL-LATIFE, S.A. Induction of Sulfated Polysaccharides in *Spirulina platensis* as Response to Nitrogen Concentration and its Biological Evaluation. In: *J. Aquac. Res. Development*, 2013, vol.5, no.1, p.1-8. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.1000206>
10. RUDIC, V. *Aspecte noi ale biotehnologiei moderne*. Chișinău: Știința, 1993. 140 p.
11. PASSOW, U., ALLDREDGE, A.L., A dye binding assay for the spectrophotometric measurement of transparent exopolymer particles (TEP). In: *Limnol. Ocean*, 1995, vol.40, p.1326-1335.
12. ФИЛИППОВИЧ, Ю., ЕГОРОВА, Т., СЕВАСТЬЯНОВА, Г. *Практикум по общей биохимии*. Москва: Просвещение, 1982, с.284-286.
13. LEE, M.-C., CHEN, Y.-C., PENG, T.-C.. Two-stage culture method for optimized polysaccharide production in *Spirulina platensis*. In: *J. Science of Food and Agriculture*. 2012, vol.92, no.7, p.1562-1569.

**Notă:** Lucrarea a fost efectuată în cadrul Proiectului Instituțional cu cifra 15.817.05.02F.

Prezentat la 04.04.2017