

Contribuții privind activitatea biologică a unor extracte naturale obținute din matrici vegetale lignocelulozice

Doctorand: Sanda-Liliana Coșarcă

Conducător: prof.univ.dr. Daniela-Lucia Muntean

Identificarea și exploatarea modalități sustenabile de obținere a unor produse biologice active din materii vegetale, în speță produse secundare-deșeuri, mai puțin cunoscute sau insuficient exploatare constituie un trend în cercetarea aplicativă din multe domenii de activitate, inclusiv medical.

Prima parte a tezei se constituie într-o redare comprehensivă a datelor din literatura de specialitate privind compușii polifenolici la modul general, respectiv ritidomul de fag și molid *Fagus sylvatica* (L) și *Picea abies* (L) Karst ca surse de polifenoli (colectat din Munții Gurghiu, regiunea Topliței, județul Harghita, fiind achiziționat sub formă de deșeu industrial de la societatea comercială Copet Dinex, Subcetate, Harghita, România, în perioada februarie 2017), metodele de extracție convenționale și neconvenționale pretabile extracției polifenolilor din materialul vegetal luat în lucru, modalitățile de determinare a conținutului total de polifenoli și taninuri din ritidomul de fag și molid *Fagus sylvatica* (L) și *Picea abies* (L), utilizările extractelor vegetale obținute din matrici lignocelulozice în baza proprietăților lor biologice demonstrate.

Contribuțiile personale aduse cercetării în domeniu constau în: **Obținerea și optimizarea extractelor din ritidomul de *Fagus sylvatica* (L.) și *Picea abies* (L.)**

- Colectarea, uscarea, mărunțirea produsului vegetal.
- Extracția clasică apoasă și cu solvenți organici (apă distilată, etanol, metanol)
- Extracția și optimizarea metodei de extracție cu ultrasunete și microunde cu diferiți solvenți (etanol, metanol).

Analiza statistică a răspunsurilor obținute, exprimate numeric s-a efectuat utilizând programul model experimental de tip D-optimal, Design of Experiments /DoE, versiunea 11.0, (Sartorius Stedim Dta Analytics AB, Umea, Suedia). Condițiile optime care au dus la cea mai ridicată valoare a conținutului polifenolic total (TPC) (76.57mg GAE/g) au fost cele în care s-a folosit ca putere a microundelor 300W, extracția a durat 4 minute, iar solventul de extracție a fost un amestec de etanol și apă distilată în raport 50:50 (v/v). În extracția asistată de ultrasunete condițiile optime, care au condus la obținerea celui mai ridicat conținut polifenolic total (TPC), au fost realizate prin utilizarea unui amestec de etanol și apă distilată în raport 70:30 ca solvent de extracție, la o temperatură de 60°C și un timp de extracție de 15 minute.

Caracterizarea extractelor optimizate sub aspectul conținutului total în polifenoli și taninuri, identificarea calitativă și cantitativă a unor polifenoli

CPT are cea mai mare valoare în ritidomul de *Picea abies* 171.21 mg acid galic/ g material vegetal, în extractul obținut prin UAE, folosind drept solvent un amestec hidroetanolic 70:30 v/v. O valoare apropiată (165,95) s-a obținut prin aceeași metodă utilizând însă ca și solvent apa distilată. Utilizarea MAE a condus la rezultate mai mari, indiferent de solventul utilizat, comparativ cu UAE. Dintre compușii fenolici analizați prin metoda LC-MS/MS, acidul p-

coumaric, acidul ferulic, quercetolul și izoquercetina au fost identificate în extractele testate, **acidul ferulic** fiind cel mai frecvent întâlnit compus fenolic.

Determinarea activității biologice a extractelor optimizate de fag și molid:

- Determinarea activității antioxidante *in vitro*, *in vivo*
- Testarea și evaluarea toxicității celulare
- Studiul activității microbiologice

Activitatea antioxidantă a extractelor din ritidom de fag obținute în prezența microundelor a fost evaluată prin teste DPPH, FRAP și TEAC. Cea mai puternică activitate antioxidantă a fost înregistrată pentru extractul cu cea mai mare cantitate de fenoli.

Extractul de molid prezintă similitudini cu efectul antioxidant al vitaminei E, poate avea un efect de tipul **vitaminei E** (chiar dacă nu la fel de intens) în menținerea concentrațiilor NO, deși mecanismul de acțiune poate fi diferit. Extractul de fag nu are un efect benefic ca antioxidant în cursul administrării Cr(VI).

Extractele din ritidom de fag și de molid au determinat o scădere a viabilității celulelor melanomului A375 iar efectul cel mai semnificativ a fost obținut la doza cea mai mare utilizată (2,5 mg /mL). La celulele carcinomului pulmonar A549, probele nu au prezentat efect citotoxic. Efectele obținute pe ambele linii de celule tumorale sunt dependente de doză.

Activitatea antibacteriană a extractelor din ritidom de *Fagus sylvatica* (BBE) a fost testată pe patru tipuri de bacterii. *Staphylococcus aureus* a fost tulpina cea mai sensibilă față de toate probele testate, cu valori similare ale MIC (concentrația minimă inhibitoare) (1,56 mg/mL) și MBC (3,12mg/mL).

În ceea ce privește activitatea antifungică a extractelor de fag obținute în prezența microundelor, dintre toate speciile de *Candida* testate cea mai mare sensibilitate a avut-o extractul apos din ritidom de fag (BBE) cu 25 mg/mL MIC și 50 mg/mL.

Aspectele originale ale acestei teze constau în:

- **optimizarea proceselor de extracție** a compușilor fenolici din ritidomul de *Fagus sylvatica* prin utilizarea tehnologiilor moderne, precum **extracția asistată de microunde (MAE)** și **extracția asistată de ultrasunete (UAE)**. această optimizare a fost realizată cu ajutorul unui plan experimental prin evaluarea și ajustarea precisă a parametrilor critici, cum ar fi puterea microundelor, temperatura, timpul de extracție și tipul de solvent utilizat, ceea ce a dus la obținerea unor randamente maxime de polifenoli, contribuind semnificativ la eficientizarea procesului extractiv.
- **studiul *in vivo*** al capacității antioxidante a extractelor, un domeniu puțin explorat pentru speciile studiate
- **testarea toxicității extractelor pe linii celulare de carcinom pulmonar (A549) și melanom uman (A375)**, aspecte care nu au fost abordate anterior în literatura de specialitate.