UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE ȘTIINȚĂ ȘI TEHNOLOGIE ”POLITEHNICA”
ȘCOALA DOCTORALĂ DE INGINERIE CHIMICĂ ȘI BIOTEHNOLOGII
FACULTATEA DE INGINERIE CHIMICĂ ȘI BIOTEHNOLOGII

TEZĂ DE DOCTORAT

Obţinerea si caracterizarea unor produse noi obtinute din ciuperci medicinale sau din rezidii de tip hidrosoluri.

Profesor Coordonator:
Prof.Dr.Ing. Ioan Calinescu
Andrei

Drd.Ing.Biotehnolog:
Tomescu Justinian

Septembrie 2025

CUPRINS TEZA

CONTEXT ȘI STRUCTURĂ: MOTIVAREA CERCETĂRII ȘI ORGANIZAREA TEZEI ... 9
Partea I. Utilizarea ciupercilor medicinale în fitoterapie și industria suplimentelor alimentare ... 11
STUDIU DE LITERATURĂ ... 11
1.Tipuri de ciuperci medicinale ... 13
1.1*Pleurotus Ostreatus* ... 13
1.2 *Lentinula Edodes* ... 14
1.3 *Armillaria Mellea* ... 15
1.4. *Cordyceps militaris* ... 17
1.5 *Boletus edulis* ... 18
2. Compuși activi ai ciupercilor medicinale ... 19
2.1. Polizaharidele (β-glucanii) ... 19
2.2. Proteinele ... 22
2.3. Polifenoli ... 24
2.4. Lipide și acizi grași ... 26
3.Efecte benefice ale ciupercilor medicinale ... 29
3.1.Activitate antivirală ... 29
3.2.Activitate antitumorală ... 30
3.3.Activitatea antimicrobiană ... 33
4.Metode de extractie aplicate in obtinerea de preparate din ciuperci medicinale ... 34
5.Influența parametriilor de extracție ... 38
STUDIU EXPERIMENTAL 1 ... 41
1.Obiectivele lucrării ... 41
2.Materiale și metode utilizate ... 42
2.1.Ciuperci medicinale ... 42
2.2. Reactivi chimici ... 42
2.3. Metodologie utilizată pentru stabilirea gradului de macinare ... 42
2.4.Metodologie utilizată pentru stabilirea influenței parametrilor de extracție asupra raportului de α și β- glucani în extracte liofilizate de *Pleurotus Ostreatus* ... 43
2.5.Obținerea de extracte uscate din *P. Ostreatus* și *Lentinula Edodes* prin precipitare cu EtOH din extracte apoase obținute prin extracție asistată de ultrasunete ... 44
2.6. Metoda utilizată pentru determinare a conținutului total de proteine ... 44
2.7. Metodă utilizată pentru determinarea conținutului total de carbohidrați ... 45
2.8. Metodă utilizată pentru determinare a conținutului de lipide ... 48
2.9. Metodă de evaluare a activității antioxidante CUPRAC ... 48
2.10. Determinarea conținutului de α , β și glucani totali ... 49
2.11. Determinarea conținutului de esteri metilici ai acizilor grași prin GC-MS ... 50
2.12. Determinarea citotoxicitatii probelor de extracte ciuperci prin testare *in vitro* pe celule fibroblaste normale NCTC si epitelilate tumorale de colon de tip HT29 si CaCo2, utilizand metoda MTT la 24 si 48h ... 51
2.13. Determinarea activității inhibitoare și de inhibiție a formării de biofilm a ciupercilor medicinale și a unor extracte de ciuperci ... 53
2.13.1.Tulpini microbiene ... 53
2.13.2.Testarea calitativă a activității antimicrobiene ... 54

2.13.3.Testarea cantitativă a activității antimicrobiene – determinarea valorilor CMI (concentratie minima inhibitorie) 54
2.13.4.Testarea semicantitativă a capacității de inhibare a aderenței la substrat inert prin metoda colorării cu cristal violet 55
3.REZULTATE ȘI DISCUȚII 56
3.1. Studiu comparativ în ceea ce privește conținutul în carbohidrați totali, proteine, lipide și profil cromatografic al acizilor grași din cele două ciuperi sălbatice culese din flora spontană (*Pleurotus Ostreatus* și *Armillaria Mellea*) și a unei probe de *Pleurotus Ostreatus* din comerț obținut în cultură 56
3.2. Rezultate privind influenței parametrilor de extracție, în extracția clasică, precum solvent, timp, temperatură și dimensiunea particulelor asupra raportului de α-glucani și β-glucani din extracte liofilizate de *Pleurotus ostreatus* 60
3.2.1 Rezultate privind obținerea extractelor 60
3.2.2. Rezultate privind influența solventului 65
3.2.3. Rezultate privind influența temperaturii de extracție 66
3.2.4. Rezultate privind influența timpului de extracție 68
3.2.5. Influența dimensiunii particulelor 69
3.3 Studiu privind aplicați ale *Pleurotus ostreatus* și *Lentinula edodes* și a unor extracte din acestea 70
3.3.1. Rezultate privind obținerea preparatelor prin precipitare cu EtOH 71
3.3.2. Rezultate privind testarea in vitro a probelor de extracte de ciuperci pe celule fibroblaste normale NCTC si celule tumorale de colon de tipHT-29 si respectiv CaCo2, folosind metoda MTT 74
3.3.3. Rezultate privind capacitatea de inhibiție antimicrobiană și de inhibiție a formării de biofilm a ciupercilor medicinale și a unor extracte de ciuperci 78
3.3.4. Rezultate privind activitatea antioxidantă a preparatelor din ciuperci medicinale 85
4.CONCLUZII PARȚIALE 87
Partea II. Aplicații ale hidrosolurilor din plante medicinale 90
STUDIU DE LITERATURA 90
1. Compoziția hidrosolurilor 92
1.1. Conținutul de polifenoli și flavone al hidrosolurilor plantelor aromatice selectate: Salvie, Fenicul, Rozmarin și Lavandă 92
1.1.1. Conținutul de polifenoli și flavone al hidrosolului de Salvie 92
1.1.2.Conținutul de polifenoli și flavone al hidrosolului de fenicul 93
1.1.3. Conținutul de polifenoli și flavone al hidrosolului de lavandă 94
1.1.4. Conținutul de polifenoli și flavone al hidrosolului de rozmarin 94
1.2. Compuși volatili din hidrosolurile plantelor aromatice selectate: Salvie, Fenicul, Lavandă și Rozmarin 96
1.2.1. Compuși volatili din hidrosolul de Salvie 96
1.2.2. Compuși volatili din hidrosolul de fenicul 96
1.2.3. Compuși Volatili din hidrosolul de lavandă 97
1.2.4. Compuși Volatili din hidrosolul de rozmarin 98
2.Metode de obținere a hidrosolurilor (reziduu al extracției de uleiuri volatile) 99
2.1. Obținerea de uleiuri esențiale și hidrosoluri prin hidrodistilare 100
2.2 Obținerea de uleiuri esențiale și hidrosoluri prin antrenare cu vapori 101
2.3. Obținerea de uleiuri esențiale și hidrosoluri prin extracție asistată de microunde 103

B. STUDIU EXPERIMENTAL 2 105
1. Obiectivele cercetării 105
2. Materiale și metode 105
2.1. Material Vegetal 105
2.2 Reactivi chimici 106
2.3. Obținerea hidrosolurilor de salvie, rozmarin și lavandă 106
2.4. Obținerea hidrosolurilor de semințe de fenicul 106
2.5. Analiza compușilor volatili prin GC-MS a hidrosolurilor din Salvie, Lavandă și rozmarin 106
2.6. Analiza compușilor volatili prin GC-MS a hidrosolurilor din semințe de Fenicul 107
2.7. Analiza polifenolilor și flavonoidelor prin HPLC-DAD din hidrosoluri 107
2.8. Analiza conținutului total de polifenoli (TPC) din hidrosoluri 108
2.9. Analiza conținutului total de flavonoide (TFC) din hidrosoluri 108
2.10. Testarea capacității antioxidante prin metoda Trollox a hidrosolurilor 108
2.11. Testarea capacității antioxidante prin metoda CUPRAC a hidrosolurilor 109
2.12. Testarea capacității antioxidante prin inhibiție a radicalilor liberi DPPH 109
2.13. Testarea capacității antioxidante prin neutralizare a anionilor superoxide 110
2.14. Testarea capacității antioxidante prin metoda FRAP 110
2.15. Evaluare *in vitro* a hidrosolurilor de inhibiție a acetilcolinesterazei 110
2.16. Evaluarea activității antimicrobiene a hidrosolurilor din semințe de fenicul 111
2.17. Analiza statistică 111
3.Rezultate și discuții 112
3.1. Caracterizarea hidrosolurilor de Salvie, Lavandă și Rozmarin și evaluarea capacității acestora ca bio-pesticid 112
3.1.1. Rezultate privind randamentul de obținere al hidrosolurilor de Salvie, Lavandă și Rozmarin 112
3.1.2. Rezultate privind compoziția chimică a hidrosolurilor de Salvie, Lavandă și Rozmarin 112
3.1.3. Rezultate privind activitatea antioxidantă a hidrosolurilor de Salvie, Lavandă și Rozmarin 114
3.1.4. Rezultate privind capacitatea de inhibiție a acetilcolinesterazei a hidrosolurilor de Salvie, Lavandă și Rozmarin 115
3.1.5. Rezultate privind relația dintre compoziția chimică și activitatea biologică 116
3.1.6. Discuții privind compoziția hidrosolurilor de Salvie, Lavandă și Rozmarin în relație cu utilizarea acestora ca bio-pesticide 117
3.2. Caracterizarea hidrosolurilor din semințe de fenicul și evaluarea activității antimicrobiene al acestora 120
3.2.1. Rezultate privind randamentul de obținere al hidrosolurilor de fenicul prin hidrodistilare și distilare cu vapori 120
3.2.2. Rezultate privind compoziția chimică a hidrosolurilor de fenicul 121
3.2.3. Rezultate privind activitatea antimicrobiană a hidrosolurilor de fenicul 123
3.2.4. Discuții privind compoziția hidrosolurilor de fenicul obținute prin antrenare cu vapori și hidrodistilare și activitatea lor antimicrobiană 124
4.Concluzii parțiale privind aplicații ale hidrosolurilor din plante medicinale 125
CONCLUZII GENERALE 127
PERSPECTIVE 129
CONTRIBUTII ORIGINALE 131

Lista Figurilor 132
Lista tabelelor 134
DISEMINAREA REZULTATELOR 135
BIBLIOGRAFIE 138

CONTEXT ȘI STRUCTURĂ: MOTIVAREA CERCETĂRII ȘI ORGANIZAREA TEZEI

Această teză reprezintă rezultatul unei colaborări strânse și fructuoase între firma HOFIGAL Export-Import S.A. și Universitatea Politehnica București (UPB), ilustrând potențialul sinergic al parteneriatelor dintre mediul industrial și cel academic. Acest demers a fost posibil în special prin coordonarea eficientă a doctoranzilor angajați la HOFIGAL de către profesori și cercetători de renume din cadrul UPB, care au oferit expertiză științifică avansată și îndrumare metodologică esențială pentru dezvoltarea proiectului.

HOFIGAL Export-Import S.A. dispune de un departament de cercetare activ și dinamic, care a obținut rezultate valoroase prin implicarea în numeroase proiecte de cercetare aplicată, de tip PED (Proiecte Experimentale Demonstrative), PTE (Proiecte Tehnologice Experimentale) și EUREKA, realizate în parteneriat cu institute naționale de cercetare-dezvoltare (INCD-uri) și universități de prestigiu. Aceste inițiative au permis explorarea unor domenii inovatoare, contribuind la transferul de cunoștințe și tehnologii către industria farmaceutică și nutraceutică. Temele de cercetare abordate în cadrul acestor proiecte acoperă situații și necesități identificate ca fiind esențiale pentru dezvoltarea HOFIGAL, precum optimizarea proceselor de extracție a compușilor bioactivi din surse naturale, evaluarea activității biologice a extractelor vegetale și fungice, sau dezvoltarea de produse funcționale cu potențial terapeutic, asigurând astfel alinierea cercetării cu obiectivele strategice ale companiei.

Prin această colaborare, teza nu doar consolidează baza științifică a activităților de cercetare din HOFIGAL, ci și deschide perspective noi pentru aplicarea rezultatelor în producție, promovând inovația sustenabilă în domeniul sănătății și nutriției.

Această teză doctorală integrează două teme de cercetare distincte, fiecare motivată de obiective specifice și aliniate cu nevoile inovatoare ale industriei farmaceutice și nutraceutice, în contextul activităților de la HOFIGAL Export-Import S.A. Prima temă provine dintr-o ambiție personală profundă, axată pe studiul și valorificarea ciupercilor medicinale, cum ar fi *Pleurotus ostreatus* și *Lentinula edodes*, pentru dezvoltarea de suplimente alimentare. Această direcție a fost inspirată de absența unei game dedicate de produse pe bază de ciuperci medicinale în portofoliul HOFIGAL, oferind astfel oportunitatea de a explora potențialul lor bioactiv – inclusiv conținutul de glucani, activitatea antioxidantă, antiproliferativă și antimicrobiană – pentru a crea soluții inovatoare în domeniul sănătății preventive și terapeutice.

Cea de-a doua temă abordează valorificarea hidrosolurilor obținute ca subproduse în urma extracției uleiurilor volatile din plante medicinale, transformând aceste reziduuri într-o resursă valoroasă cu aplicații multiple. Prin evaluarea compoziției și proprietăților lor bioactive, cercetarea propune utilizări în agricultură (ca agenți naturali de protecție a plantelor), ecologie (pentru promovarea practicilor sustenabile și reducerea deșeurilor) și suplimente alimentare (ca ingrediente funcționale cu efecte antioxidante și imunomodulatoare). Ambele

teme subliniază angajamentul față de sustenabilitate și inovație, contribuind la extinderea expertizei HOFIGAL și la dezvoltarea de produse ecologice și eficiente.

STUDIU EXPERIMENTAL 1

1.Obiectivele lucrării

Prima temă tratată în cadrul tezei de doctorat a avut următoarele obiective:

- Caracterizarea din punct de vedere fizico-chimic a speciei *Pleurotus Ostreatus* atât dintr-o probă achiziționată din comerț în care acesta a fost obținut în cultură cât și intr-o probă culeasă din flora spontană a României și a unei probe de *Armillaria Mellea* culeasă din flora spontană, în vederea evaluării potențialului acestora pentru gastronomie și industria suplimentelor alimentare.
- Obținerea unui studiu comparativ în ceea ce privește conținutul în carbohidrați totali, proteine, lipide și profil cromatografic al acizilor grași din cele două ciuperi sălbatice culese din flora spontană (*Pleurotus Ostreatus* și *Armillaria Mellea*) și a unei probe de *Pleurotus Ostreatus* din comerț obținut în cultură.
- Studierea influenței parametrilor de extracție, în extracția clasică, precum solvent, timp, temperatură și dimensiunea particulelor asupra raportului de α-glucani și β-glucani din extracte liofilizate de *Pleurotus Ostreatus*.
- Studierea aplicațiilor în cancerul de colon a pulberilor de *Pleurotus Ostreatus* și *Lentinula Edodes* cât și a unor preparate din acestea obținute prin precipitare cu etanol a extractelor lichide obținute prin extracție asistată de ultrasunete prin testarea *in vitro* a proprietăților antiproliferative pe celule NCTC (linie celularară de fibroblaste normale), HT29 (linie celulară epitelială tumorală de colon) și CaCo2 (linie celulară epitelială tumorală de colon), a proprietăților de inhibiție antimicrobiană impotriva *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli, Klebsiella pneumonia, Salmonella typhi, Enterobacter cloacea, Citrobacter freundii, Candida albicans și Candida paraspilosis,* precum și testarea capacității antioxidante ale acestora prin metoda CUPRAC.

2.Materiale și metode utilizate

2.1.Ciuperci medicinale

Materia primă de *Pleurotus ostreatus* commercial (CPO) și *Lentinula edodes* au fost achiziționate de pe piața locală, *Armellaria mellea* sălbatică (WAM) a fost culeasă din regiunea de sud a României, în pădurea Comana, județul Giurgiu, în timp ce *Pleurotus ostreatus* sălbatic (WPO) a fost colectată din zona Bușteni, județul Prahova. În experimente a mai fost testat un Extract standardizat în 30% polizaharide de la HUNAN HUAKANG BIOTECH INC. (China). Ciupercile crude au fost uscate la 38°C, în uscătorul Biovita-DEH600D. Ulterior, materialul brut uscat a fost măcinat folosind o moară de laborator cu cuțite Retsch (model Grindomix GM 200).

2.4.Metodologie utilizată pentru stabilirea influenței parametrilor de extracție asupra raportului de α și β- glucani în extracte liofilizate de *Pleurotus Ostreatus*

Influența solventului - Pentru a studia, dacă solventul influențează cantitatea de β-glucani extrași din pulberea de *P. Ostreatus*, au fost comparate 4 variante de solvenți după cum urmează: 1) H_2O; 2) 25% EtOH în H_2O (v/v); 3) 50% EtOH în H_2O (v/v); 4) 75% EtOH în H_2O (v/v). Extractele au fost obținute conform aceluiași protocol. 3 g de pulbere uscată de *P. ostreatus* comercial a fost cântărit folosind o balanță analitică Partner AS 310 peste care au fost adăugați 90 mL de solvent. Amestecul a fost lăsat la macerat folosind un agitator magnetic. După o oră, probele au fost filtrate folosind sistemul PC600 de la Vacuubrand și hârtie de filtru calitativă MN 617 we de la MACHEREY-NAGEL. Supranatantul a fost congelat la -80°C într-un congelator de temperatură ultra-joasă ARCTIKO și apoi liofilizat în CoolSafe touch 100-9 de la Labogene.

Influența temperaturii - Temperatura a fost un alt parametru studiat în procesul de obținere a extractului cu conținut ridicat de β-glucani din *P. ostreatus*. Extracția a avut loc conform aceluiași protocol utilizat la metodologia utilizată pentru a studia influența solventului, la 25°C, 50°C și 70°C, folosind H_2O și o soluție de 75% EtOH în H_2O (v/v) ca solvenți de extracție. După filtrare, supranatantul a fost congelat la -80°C și liofilizat.

Timpul de extracție - Pentru a determina timpul optim de extracție, au fost obținute 4 extracte. Pentru prepararea lor, 3 g de pulbere de *P. ostreatus* (cântărită cu o balanță analitică) cu 90 mL de solvent (H_2O) au fost supuse agitării mecanice timp de 0,5 h, 1 h, 1,5 h și 2 h la o temperatură de 25°C. După extracție, probele au fost filtrate folosind sistemul PC600 de la Vacuubrand și hârtie de filtru calitativă MN 617 we de la MACHEREY-NAGEL. Supranatantul a fost apoi congelat la -80°C și liofilizat.

Dimensiunea particulelor - Pulberea uscată de *P. ostreatus* a fost separată folosind echipamentul de sitat analitic Retsch (model AS 200 Control) echipat cu o sită de 315 µm în două fracții. Folosind același protocol, 3 g din probă cu 90 mL de solvent (H_2O) și extracție cu agitare mecanică timp de 1 oră la 25°C, urmată de liofilizare, a fost studiată influența dimensiunii particulelor. Fracțiile mai mari de 315 µm și fracțiile mai mici de 315 µm au fost analizate pentru cantitatea de extract obținută și concentrațiile de β- și α-glucani din extracte.

2.5.Obținerea de extracte uscate din *P. Ostreatus* și *Lentinula Edodes* prin precipitare cu EtOH din extracte apoase obținute prin extracție asistată de ultrasunete

Pulberea de *Pleurotus ostreatus* și *Lentinula Edodes* a fost cantarită la balanţa analitică Partner AS 310, 50 g de pulberile au fost puse într-un balon de 2000 mL cu fund plat, peste care s-au adaugat 500 mL H_2O distilată. Balonul a fost plasat în baia de ultrasonare Elmasonic P180 şi amestecul a fost tratat timp de 30 min pe modul pulse, utilizându-se o frecvenţă de 80kHZ si putere de 100%, cu agitare periodica. În timpul extracţiei temperatura apei din baie a crescut de la 20°C până la 33°C. Dupa cele 30 de minute extractul apos a fost filtrat utilizându-se pompa vacuubrand PC600, iar peste extrasul apos s-au adaugat 1000 mL de EtOH. Amestecul a fost agitat timp de 10 minute, iar apoi a fost lasat la decantat într-o pâlnie de separare până la sedimentarea totală a particulelor din suspensie. Precipitatul a fost colectat selectiv şi centrifugat cu ajutorul centrifugii Ortoalesa la 9000 rpm 3 min. Sedimentul a fost separat şi uscat la 40 °C.

3.REZULTATE ȘI DISCUȚII

3.2.2. Rezultate privind influența solventului

În studiul prezent, am observat că solventul influențează semnificativ compoziția extractelor liofilizate obținute. Așa cum este demonstrat în Figurile 1.29 și 1.30., extractele apoase au prezentat concentrații notabil mai ridicate de alfa-glucani decât extractele etanolice, în timp ce nivelurile mai ridicate de beta-glucani au fost extrase în soluții etanolice. Acest fenomen poate fi atribuit naturii hidrofile a alfa-glucanilor, care îmbunătățește solubilitatea lor în solvenți apoși. Aceste constatări sunt de o importanță primordială pentru dezvoltarea metodelor de extracție selective, care vizează fie alfa-glucanii, fie beta-glucanii, având în vedere diferențele structurale semnificative și variația potențială a efectelor lor terapeutice în funcție de aplicația intenționată.

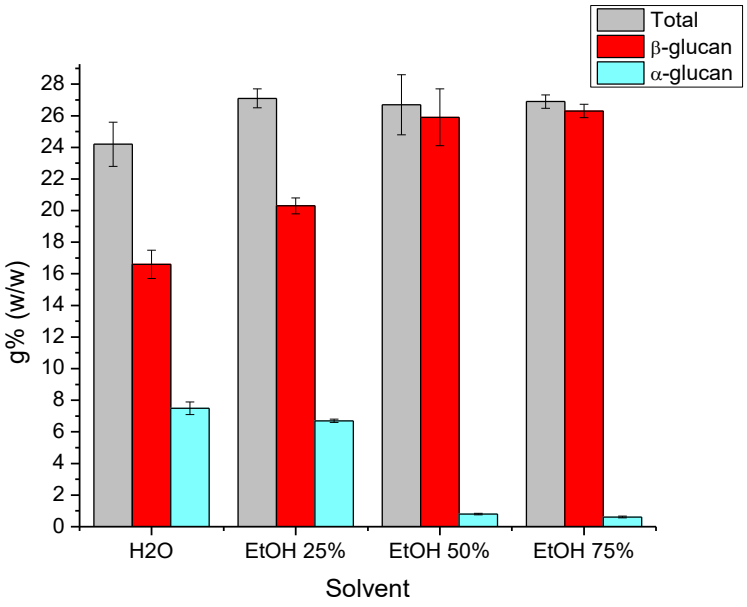


Figura 1. 1. Distribuția de α, β, și glucani totali în extractele liofilizate de Pleurotus ostreatus în extracte obținute în solvenți diferiți

Extracția dependentă de solvent a glucanilor observată în acest studiu coroborează descoperirile lui Pérez-Bassart et al. (2023)[1], care au utilizat un protocol de extracție secvențial (extracții apoase reci și fierbinți urmate de extracții alcaline) pe ciuperci precum *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes* și *Grifola frondosa*. Lucrarea lor a relevat că beta-glucanii solubili în apă au fost extrași predominant în fracțiile apoase, în special din *P. ostreatus*, în timp ce beta-glucanii recalcitranți din *G. frondosa* au rămas în reziduu. Similar, extractele apoase obținute în studiul prezentat în teză, au favorizat extracția alfa-glucanilor, sugerând că apa solubilizează eficient aceste polizaharide, posibil datorită legăturilor lor liniare α-1,4 sau α-1,3, care sunt mai puțin complexe structural decât legăturile ramificate β-1,3/1,6 ale beta-glucanilor [1]. Conținutul mai ridicat de beta-glucani în extractele etanolice din studiul nostru poate reflecta solubilitatea redusă a beta-glucanilor în etanol, permițând precipitarea sau retenția selectivă a acestor polizaharide, un fenomen observat și în etapele de purificare etanolică de către Shaheen et al. (2021)[2], unde precipitarea cu etanol a îmbogățit conținutul de beta-glucani după extracția alcalină.

3.2.4. Rezultate privind influența timpului de extracție

Schimbarea observată în raportul beta-glucan la alfa-glucan în timpul agitării magnetice prelungite la 25°C, urmată de liofilizare, așa cum este prezentat în Figura 1.31., sugerează că condițiile de procesare pot influența extracția. Rezultatele prezentate indică faptul că, în timp ce diferențele între extracțiile de 0,5 h și 1 h au fost relativ minore, a apărut o tendință liniară în alterarea compoziției glucanilor în extractele liofilizate, caracterizată printr-o creștere a conținutului de alfa-glucani relativ la conținutul de beta-glucani. Această tendință a devenit mult mai pronunțată în extractele obținute după 1,5 și 2 ore de extracție. Aceste constatări sugerează că durata extracției influențează semnificativ structura, solubilitatea sau detectabilitatea acestor polizaharide.

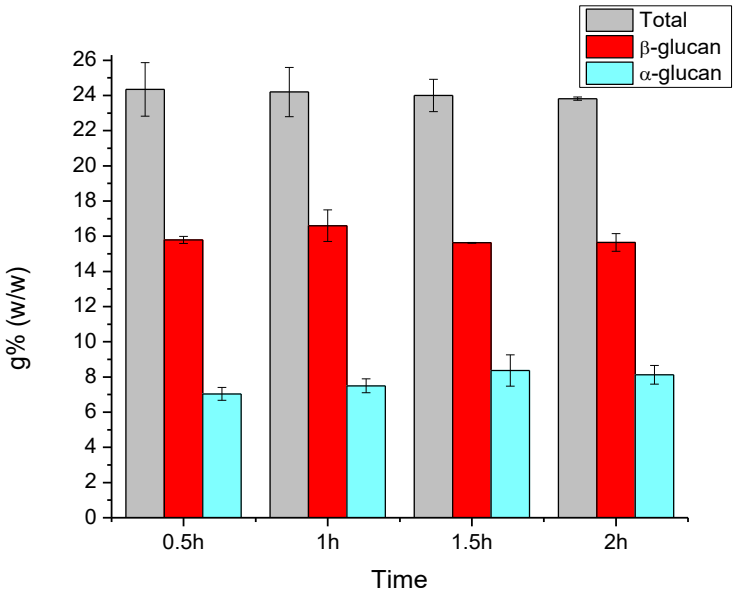


Figura 1. 2. Distribuția de α, β, și glucani totali în extractele liofilizate de Pleurotus ostreatus în extracte obținute folosinduse H_2O ca solvent și timpi de extracție diferiți

O explicație plauzibilă pentru scăderea observată a conținutului de beta-glucani este degradarea acestor polizaharide sub agitare mecanică prelungită. Beta-glucanii, caracterizați prin legături glicozidice β-1,3 și β-1,6, sunt susceptibili la scindarea lanțului atunci, când sunt supuși forțelor de forfecare în medii apoase. Un astfel de stres mecanic poate fragmenta beta-glucanii de greutate moleculară ridicată în oligozaharide mai mici sau unități de glucoză. Acest fenomen a fost documentat în beta-glucanii din cereale, unde Tosh et al. (2004) [3]au raportat

că procesarea mecanică a redus greutatea moleculară a β-1,3/1,4-glucanilor din ovăz, alterând proprietățile lor funcționale și detectabilitatea [3]. Deși beta-glucanii din ciuperci diferă în modelele de legături, structurile lor ramificate pot fi similar vulnerabile la forfecare, în special în timpul agitării extinse. Reducerea mică a conținutului de beta-glucani observată în studiul nostru susține această ipoteză, sugerând că agitarea prelungită compromite integritatea beta-glucanilor.

Creșterea conținutului de alfa-glucani poate reflecta o eficiență îmbunătățită a extracției în timp. Alfa-glucanii, adesea prezenți sub formă de polizaharide similare amidonului cu legături α-1,4 și α-1,6, sunt extrem de hidrofilici și se solubilizează ușor în sisteme apoase. Agitarea prelungită îmbunătățește probabil perturbarea matricei celulare fungice, facilitând eliberarea alfa-glucanilor care sunt strâns legați sau mai puțin accesibili în perioade de extracție mai scurte. Wood (2010) a notat că extracția apoasă a beta-glucanilor din cereale este dependentă de timp, cu procesarea extinsă îmbunătățind randamentul polizaharidelor solubile[4].

3.3.1. Rezultate privind obținerea preparatelor prin precipitare cu EtOH

Extractele au fost obținute prin ultrasonare la utilizându-se o frecvență de 80kHZ timp de jumatate de oră după care au fost filtrate. Extractul apos din *Pleurotus ostreatus* având o culoare galbenă în timp ce extractul din *Lentinula edodes* obținut avea o culoare brun roșcată, ambele extracte fiind foarte limpezi după filtrare. Imediat ce s-a adăugat EtOH au început să se formeze sub formă de flocoane cristaline un precipitat în amestec după cum se poate observa și în figurile 1.33 și 1.34.



Figura 1. 3. Precipitat în urma adăugării de EtOH în extractul lichid de Pleurotus ostreatus

După separarea sedimentului utilizând pâlnia de separare precipitatul a fost centrifugat și înlătuându-se supernatantul iar sedimentul a fost uscat la 40 °C.

Preparatele obținute au fost analizate pentru conținutul de glucani totali alfa glucani și beta glucani, alături de materiile prime și extractul standardizat în 30% polizaharide de proveniență comercială din China rezultatele fiind prezentate în tabelul 1.4.

Tabel 1. 1. Conținut de α, β și glucani totali în probele P1- Pleurotus ostreatus , P2 – Precipitat obținut din extract de Pleurotus ostreatus, P3 – Lentinula edodes, P4- Precipitat obținut din extract de Lentinula edodes, P5- Extract standardizat în 30% polizaharide din comerț

Probă testată	α-glucani g/100g	β-glucani	Total glucani
P1	4,28±0,12	36,1±0,57	40,3±0,69
P2	19,18±0,59	2,39±0,68	21,58±0,09
P3	2,87±0,70	34,88±2,67	37,75±3,37
P4	19,88±0,44	2,16±2,34	22,05±1,89
P5	49,97±0,35	1,68±0,56	51,65±0,21

3.3.2. Rezultate privind testarea in vitro a probelor de extracte de ciuperci pe celule fibroblaste normale NCTC si celule tumorale de colon de tipHT-29 si respectiv CaCo2, folosind metoda MTT

Rezultatele antiproliferative asupra celulelor HT29 corelate cu conținutul de glucani din probe dezvăluie o relație complexă între compoziția polizaharidică și activitatea biologică, subliniind rolul predominant al beta-glucanilor în efectele anticancer selective, dar și contribuția potențială a alfa-glucanilor în fracții purificate. Studiile arată că extractele apoase de polizaharide din *P. ostreatus* reduc viabilitatea HT29 prin stres oxidativ selectiv, chiar dacă alfa-glucanii domină, sugerând o sinergie cu alte componente.

Rezultatele mai moderate pentru pulberea de *Pleurotus ostreatus*, cu viabilitate HT29 de 74,82% la 1000 µg/mL după 48 de ore, pot fi atribuite compoziției mixte, unde beta-glucanii sunt prezenți, dar diluați de alte componente matriciale, ducând la o eficiență mai scăzută comparativ cu fracțiile purificate. Totuși, efectul antiproliferativ rămâne semnificativ, susținut de proprietățile antioxidante și antiinflamatoare ale ciupercilor, care inhibă creșterea tumorală fără a induce citotoxicitate generală.

Tabel 1. 2. Activitatea antiproliferativă a pulberii de P1-Pleurotus ostreatus, P2- precipitat obținut din extract de Pleurotus ostreatus, P3- Lentinula edodes, P4- precipitat obținut din extract de Lentinula edodes și a P5- extractului standardizat în 30 % polizaharide din comerț.

Nr proba	Concentrație testată	NCTC		HT29		CaCo2	
		24h	48h	24h	48h	24h	48h
1. Pulbere de *P. Ostreatus*	50µg/mL	98.55	101.14	100.76	90.59	97.60	92.70
	100µg/mL	99.73	101.81	103.67	95.66	101.48	96.86
	300µg/mL	107.63	101.99	101.84	101.24	100.55	99.18
	500µg/mL	111.35	103.91	99.77	89.63	97.41	89.49
	800µg/mL	102.36	102.95	99.16	87.10	97.04	83.41
	1000µg/mL	90.83	82.95	99.08	74.82	96.67	80.68
	1500µg/mL	62.76	30.48	94.18	69.80	95.84	78.09
	2000µg/mL	35.15	29.04	71.05	51.66	92.52	74.40
2. Precipitat cu EtOH din extract apos de *P. Ostreatus*	50µg/mL	106.81	100.90	112.63	121.01	99.26	95.56
	100µg/mL	107.72	103.85	120.52	126.14	104.06	101.64
	300µg/mL	108.45	107.65	128.33	120.84	113.94	104.78
	500µg/mL	101.36	116.75	119.83	117.01	113.57	107.64
	800µg/mL	100.82	101.32	118.99	116.84	119.85	98.43
	1000µg/mL	100.18	98.25	114.16	113.18	118.93	97.61
	1500µg/mL	96.55	96.14	111.79	97.01	101.85	95.49
	2000µg/mL	89.37	80.00	99.69	90.48	95.01	85.73
3. Pulbere de *Lentinula Edodes*	50µg/mL	98.44	87.56	100.08	107.61	95.40	90.15
	100µg/mL	95.50	83.67	105.10	108.72	95.91	93.57
	300µg/mL	87.23	80.62	105.18	107.27	116.46	90.77
	500µg/mL	50.36	39.12	104.63	102.81	112.70	86.25
	800µg/mL	49.84	28.56	103.92	85.71	108.18	63.82
	1000µg/mL	36.81	27.00	99.29	73.16	105.73	53.49
	1500µg/mL	29.42	26.17	76.77	50.29	90.08	37.89
	2000µg/mL	26.44	25.44	54.94	28.10	71.57	29.21
4. Precipitat cu EtOH din extract apos de *Lentinula Edodes*	50µg/mL	113.68	102.57	105.65	111.97	99.39	91.38
	100µg/mL	106.79	101.23	106.91	104.84	113.60	92.00
	300µg/mL	103.86	95.07	107.77	103.39	125.56	94.80
	500µg/mL	100.92	86.91	111.62	101.65	137.52	90.63
	800µg/mL	98.07	81.20	106.28	90.50	160.53	75.85
	1000µg/mL	90.54	80.30	101.88	86.77	153.78	74.69
	1500µg/mL	84.94	61.89	68.68	49.90	146.11	49.32
	2000µg/mL	31.77	30.14	38.54	28.78	117.38	45.55
5. Extract 30% Polizaharide din *P. Ostreatus*	50µg/mL	99.56	101.83	101.15	95.82	105.83	104.49
	100µg/mL	100.78	104.41	102.88	100.74	111.45	108.73
	300µg/mL	101.82	99.05	103.6	101.64	124.45	109.32
	500µg/mL	109.20	95.02	103.75	102.95	123.31	110.73
	800µg/mL	102.60	91.49	117.17	103.77	121.85	107.07
	1000µg/mL	100.26	85.62	110.37	104.09	112.90	101.00
	1500µg/mL	98.18	82.60	91.07	87.96	104.79	83.44
	2000µg/mL	94.62	80.40	65.99	55.69	85.44	65.56

3.3.3.2. Rezultate cantitative privind activitatea antimicrobiană

Rezultatele testelor cantitative au permis determinarea valorilor CMI (concetrație minime inhibitorii) și respectiv CMIA (concetrație minimă de inhibare a adrenței la substrat inert)

pentru fiecare probă testată, concentrațiile testate pornind de la 5 mg/ml. Valorile au fost incluse in tabelul 1.7.

Rezultatele cantitative ale testelor antimicrobiene, care au determinat valorile concentrației minime inhibitorii (CMI) și concentrației minime de inhibare a aderenței la substrat inert (CMIA), subliniază potențialul selectiv al precipitatului obținut prin extracție aposă asistată de ultrasunete și precipitare cu etanol din *Pleurotus ostreatus* (proba P2). Această probă a prezentat valori CMI și CMIA sub 5 mg/mL pentru toate tulpinile testate (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* 145 – tulpină clinică, *Salmonella typhi* ATCC 14028, *Enterobacter cloacae* 5479 – tulpină clinică, *Citrobacter freundii* 22 – tulpină clinică, *Candida albicans* ATCC 10231 și *Candida parapsilosis* ATCC 22019), confirmând observațiile calitative privind zonele de inhibiție clară. Această eficiență largă împotriva bacteriilor Gram-pozitive, Gram-negative și fungilor sugerează o acțiune multifactorială, probabil mediată de compuși bioactivi concentrați prin procesul de extracție, care disrup peretele celular microbian și inhibă formarea biofilmului [5].

Tabel 1. 3. Valorile CMI și CMIA (mg/ml) determinate pentru fiecare tulpină testată a , P1 – Pleurotus ostreatus, P2- precipitat obținut din extract de Pleurotus ostreatus, P3- Lentinula edodes, P4- precipitat obținut din extract de Lentinula edodes, P5- extract standardizat în 30% polizaharide din comerț.

Tulpini bacteriene	**Valoarile CMI și CMIA exprimate în mg/ml**									
	P1		**P2**		**P3**		**P4**		**P5**	
	CMI	**CMIA**	**CMI**	**CMIA**	**CMI**	**CMIA**	**CMI**	**CMIA**	**CMI**	**CMIA**
S. aureus ATCC 25923	>5	>5	2.5	2.5	>5	>5	>5	5	>5	5
E. coli ATCC 25922	>5	>5	1.25	0.625	>5	>5	5	5	>5	>5
K.pneumonia – tulpină clinică	5	5	0.625	0.3125	>5	>5	5	2,5	5	5
S. typhi ATCC 14028	>5	>5	1.25	1.25	>5	>5	5	5	>5	>5
E. cloacea 5479 – tulpină clinică	>5	>5	2.5	2.5	>5	>5	>5	5	5	5
C.freundii 22 – tulpină clinică	>5	>5	1.25	0.625	>5	>5	>5	>5	5	5
C.albicans ATCC 10231	5	5	1.25	0.625	>5	>5	5	5	>5	>5
C.parapsilosis ATCC 22019	5	5	1.25	0.625	>5	>5	5	5	>5	>5

Studii similare au raportat valori MIC scăzute (sub 5 mg/mL) pentru extracte din *P. ostreatus* împotriva *E. coli*, atribuite polizaharidelor și fenolilor care induc stres oxidativ și inhibă aderența [6].

Corelând cu compoziția glucanică, precipitatul P2 (21,58 g/100g glucani totali, cu 19,18 g/100g α-glucani și 2,39 g/100g β-glucani) beneficiază de fracționarea selectivă, unde α-glucanii îmbunătățesc solubilitatea și biodisponibilitatea, permițând β-glucanilor reziduali să interacționeze eficient cu membranele microbiene. β-glucanii din *P. ostreatus* sunt cunoscuți pentru proprietăți antifungice și antibacteriene, reducând aderența prin inhibiția enzimelor de sinteză a peretelui cellular[7].

B. STUDIU EXPERIMENTAL 2

1. Obiectivele cercetării

Cea de a doua tema tratată în cadrul tezei de doctor a avut următoarele obiective:

- Caracterizarea hidrosolurilor de Salvie (*S. officinalis*), Lavanda (*L. angustifolia)* și Rozmarin (*R. officinalis*) din punct de vedere al conținutului total de polifenoli, conținutului de flavone, un profil al acestora obținut prin HPLC-DAD, a compușilor volatili prin GC-MS și al capacității antioxidante ale acestora prin diferite metode spectofotometrice.
- Stabilirea capacitații de inhibare a Acetilcolinesterazei a hidrosolurilor de Salvie , Lavanda și Rozmarin, în vederea utilizării acestora ca pesticide în tehnologiile de agricultura ecologică
- Obținerea și caracterizarea hidrosolurilor din semințe de fenicul prin hidrodistilare și distilare cu vapori.
- Stabilirea activității antimicrobiene ale celor două hidrosolurilor de fenicul pe tulpinile de *S. aureus* (ATCC 25923) and *P. aeruginosa* (ATCC 9027)

2. Materiale și metode

2.1. Material Vegetal

Salvia (*S. officinalis*), rozmarinul (*R. officinalis*) și lavanda (*L. angustifolia*) au fost recoltate din culturi ecologice ale Hofigal Export-Import, iar părțile lor aeriene au fost uscate la aer la 25°C până la greutate constantă și apoi măcinate. Semințele de fenicul (*Foeniculum vulgare L.*) au fost recoltate din culturi ecologice ale HOFIGAL Export-Import S.A. România. Ele au fost uscate, măcinate și depozitate într-un loc răcoros și uscat, până la procesul de extracție.

3.Rezultate și discuții

3.1. Caracterizarea hidrosolurilor de Salvie, Lavandă și Rozmarin și evaluarea capacității acestora ca bio-pesticid

3.1.2. Rezultate privind compoziția chimică a hidrosolurilor de Salvie, Lavandă și Rozmarin

Rezultatele analizei GC-MS efectuate asupra hidrosolurilor și procentajul principalilor compuși volatili sunt detaliate în Tabelul 2.1. În cazul hidrosolului de salvie, camforul s-a dovedit a fi componenta dominantă, însă au fost identificat și tujona ș izotujona. Pentru hidrosolul de rozmarin, s-au identificat șase compuși volatili, dintre care camforul, verbenona și eucaliptolul (1,8-cineol) au predominat ca abundență. Hidrosolul de lavandă a evidențiat o gamă variată de compuși volatili, în special linalool și compușii săi derivați, cumarină, α-terpineol și oxid de cariofilenă. Aceste constatări sugerează că hidrosolurile obținute prin distilare cu vapori conțin monoterpene ciclice și derivații lor oxigenați, cunoscuți pentru o activitate biologică superioară comparativ cu monoterpenele aciclice [8]. Structura compușilor volatili din hidrosolurile examinate a fost comparabilă cu cea a uleiurilor esențiale aferente, deși nivelurile și distribuția acestor componenți au fost mai scăzute (date neincluse).

Compușii polifenolici identificați și măsurați prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC) pentru hidrosolurile de salvie, rozmarin și lavandă sunt consemnați în Tabelul 2.2. Acidul rosmarinic, specific familiei Lamiaceae, a fost prezent în toate hidrosolurile, cu o predominanță notabilă în cele de salvie și rozmarin. Acizii cafeic și ferulic s-au regăsit în toate probele, însă în concentrații superioare în hidrosolul de salvie. Dintre flavonoizi, quercetin, rutină, luteolină, precum și derivații glicozilați ai quercetinului (isoquercetin) și kaempferolului (astragalin) au fost detectați în proporții variate. Cinarozidul, un derivat glicozilat al luteolinei, a fost identificat exclusiv în hidrosolul de salvie.

Tabel 2. 1. Compoziția compușilor volatili determinați prin GC-MS din hidrosolurile de salvie, lavandă și rozmarin

Compus volatil	Arie %		
	Salvie	Lavandă	Rozmarin
Camfen	-	-	4,20
Eucaliptol (1,8-Cineol)	-	-	15,42
Tujonă	15,02	-	-
Izotujonă	3,41	-	-
Camfor	81,57	-	37,52
Oxid de linalool	-	6,85	-
Oxid de linalool- trans	-	5,97	-
Linalool	-	29,03	2,07
Acetat de linalil	-	6,47	-
Verbenonă	-	-	34,80
Borneol	-	-	6,01
4-Terpinen-ol	-	2,51	-
Cripton	-	4,22	-
α-terpineol	-	14,21	-
Geraniol	-	2,62	-
Oxid de cariofilenă	-	9,83	-
Cuminol	-	2,82	-
Cumarină	-	15,47	-

În cazul conținutului total de polifenoli (TPC) și flavonoizi (TFC) pentru hidrosolurile de salvie, rozmarin și lavandă, analizele au indicat că hidrosolul de salvie a prezentat cel mai ridicat nivel de polifenoli, urmat de cele de rozmarin și lavandă (Tabelul 2). O tendință similară s-a observat și pentru conținutul de flavonoizi, hidrosolul de salvie având o valoare TFC de aproximativ două ori mai mare decât cea a hidrosolurilor de rozmarin și lavandă.

Tabel 2. 2. Compuși de tipul acizilor polifenolici și flavonoidelor determinați prin metoda HPLC-DAD din hidrosoluri de salvie, lavandă și rozmarin

Compus	Concentrație µg/g d.w.		
	Salvie	Lavandă	Rozmarin
Acid galic	-	-	-
Acid chlorogenic	-	-	-
Acid cafeic	7,08±0,02	4,80±0,01	5,35±0,01
Acid ferulic	10,70±0,02	4,89±0,02	0,86±0,01
Acid rosmarinic	23,29±0,03	5,15±0,02	25,56±0,04
Rutin	5,66±0,01	-	8,32±0,02
Quercitin-3-glucozid	2,77±0,01	3,17±0,01	6,85±0,02

Luteolin -7-glucozid	2,95±0,01	-	-
Kaempferol-3-glucozid	8,63±0,02	11,16±0,02	6,52±0,02
Quercitin	16,05±0,03	-	16,33±0,03
Luteolin	-	7,40±0,02	7,60±0,02
Kaempferol	-	-	-
Rezultate privind CPT și CFT			
Conținut total polifenoli CPT (µg EAC/g d.w.)	325,49±17,05	216,36±13,84	267,11±19,70
Conținut total de flavone CFT (µg EAC/g d.w.)	59,32±0,64	26,55±0,24	29,28±1,93

3.1.3. Rezultate privind activitatea antioxidantă a hidrosolurilor de Salvie, Lavandă și Rozmarin

În cadrul acestei cercetări, proprietățile antioxidante ale hidrosolurilor au fost investigate prin patru metode rezultatele fiind detaliate Tabelul 2.3. În cadrul testelor TEAC și CUPRAC, hidrosolul de salvie a evidențiat cel mai ridicat nivel de activitate antioxidantă, urmat de cel de rozmarin, ambele fiind semnificativ ($p < 0,05$) superioare celui de lavandă. În testul DPPH, hidrosolurile de salvie și rozmarin au manifestat o capacitate antioxidantă comparabilă, superioară celei a hidrosolului de lavandă. În ceea ce privește testul de neutralizare a anionilor superoxid, hidrosolul de salvie a prezentat cea mai mare eficiență de inhibiție, în timp ce hidrosolurile de lavandă și rozmarin au avut performanțe similare, dar semnificativ ($p < 0,05$) mai reduse.

Tabel 2. 3. Rezultate ale activității antioxidante ale hidrosolurilor de salvie, lavandă și rozmarin prin 4 metode diferite

Activitate antioxidantă	**Hidrosol din Salvie**	**Hidrosol din Lavandă**	**Hidrosol din Rozmarin**
TEAC µM ET/g	2.09 ± 0.07	1.17 ± 0.03	1.84 ± 0.09
CUPRAC µM ET/g	4.33 ± 0.23	2.77 ± 0.23	3.73 ± 0.17
DDPH inhibitie µM ET/g	11.77 ± 0.63	9.67 ± 0.50	11.80 ± 0.59
Superoxid inhibitie µM ET/g	3.22 ± 0.15	2.57 ± 0.12	2.62 ± 0.03
FRAP µM ET/g	0.54 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.14 ± 0.01

În aceeași măsură, hidrosolul de salvie s-a dovedit a fi cel mai bun agent de legare a ionilor Fe^{2+}, fiind urmat de hidrosolurile de rozmarin și lavandă, care au înregistrat niveluri comparabile. Totuși, datele privind capacitatea de chelare a metalelor au sugerat o activitate antioxidantă mai redusă.

3.1.4. Rezultate privind capacitatea de inhibiție a acetilcolinesterazei a hidrosolurilor de Salvie, Lavandă și Rozmarin

Capacitatea de inhibiție in vitro a enzimei AChE în prezența hidrosolurilor studiate este ilustrată în Figura 2.4. Datele au indicat că toate hidrosolurile au blocat activitatea enzimatică într-o manieră proporțională cu concentrația testată. Hidrosolul de rozmarin a evidențiat o amplificare rapidă a inhibiției AChE, de la 10,65% la 2,5 mg/mL până la 42,48% la 5 mg/mL. În același domeniu de concentrații, hidrosolurile de salvie și lavandă au prezentat creșteri ale inhibiției AChE de 160% și, respectiv, 130%. La nivelul de 5 mg/mL, hidrosolul de rozmarin a avut o performanță semnificativ superioară ($p < 0,05$) în inhibarea AChE comparativ cu hidrosolurile de salvie și lavandă. Eficacitatea sa în blocarea AChE a fost comparabilă cu cea a quercetinului, folosit ca referință, indicând un posibil rol ca agent neurologic împotriva

dăunătorilor. Valorile IC_{50} au urmat aceeași tendință, cu rozmarinul dovedindu-se mai eficace (6,23 mg/mL), urmat de salvie (7,48 mg/mL) și lavandă (15,08 mg/mL).

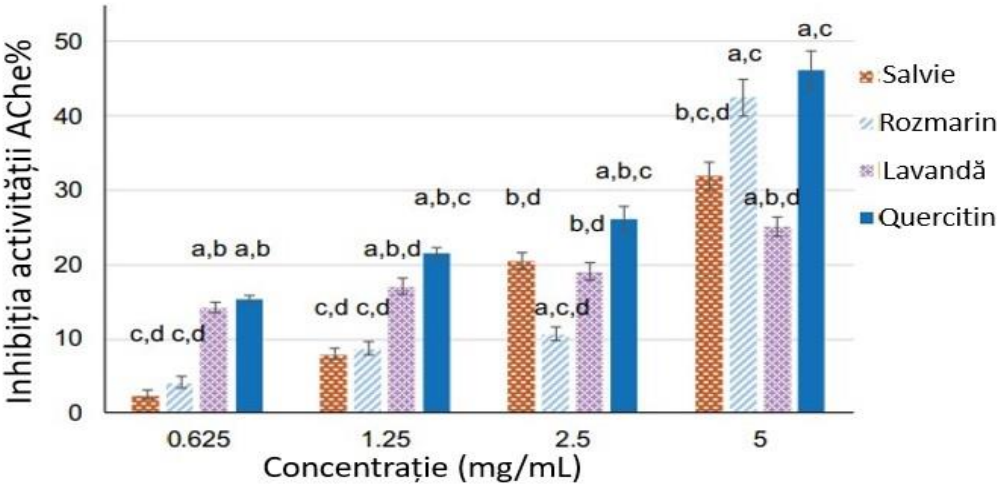


Figura 2. 1. Capacitatea in vitro de inhibiție a acetilcolinesterazei (AChE) a hidrosolurilor de salvie, rozmarin și lavandă. Valorile sunt exprimate ca medie ± deviația standard (SD) (n = 3).

CONCLUZII GENERALE

Scopul acestei teze este de a valorifica ciupercile medicinale și hidrosolurile din plante medicinale, utilizând reziduurile din extracția uleiurilor volatile, pentru dezvoltarea de suplimente alimentare și aplicații agricole, contribuind astfel la inovația sustenabilă și la promovarea bioeconomiei circulare prin reutilizarea resurselor.

Concluziile ce pot fi formulate pe baza experimentărilor și rezultatelor obținute sunt:

- Speciile de ciuperci studiate din flora spontană din Romania dar și cultivate în regim industrial (*Pleurotus ostreatus* și *Armillaria mellea*) conțin proteine, carbohidrați, lipide și acizi grași esențiali, valorile obținute fiind in concordanță cu literatura de specialitate și evidențiază potențialul lor pentru industria suplimentelor alimentare.
- Există diferențe de compoziție între *Pleurotus ostreatus* din flora spontană și cel cultivat industrial în ceea ce privește conținutul de proteină și carbohidrați, specia cultivată în regim industrial fiind mai bogată în carbohidrați iar cea sălbatică mai bogată în proteine. Astfel de rezultate indică necesitatea standardizării materiei prime pentru valorificare în industria suplimentelor alimentare.
- Extracția glucanilor din *Pleurotus ostreatus*, poate fi influențată de parametrii de extracție studiați, respectiv solvent/timp/temperatură/dimensiunea particulelor.
- Pentru extracția β- glucanilor s-a observant că este recomandată folosirea unui solvent cu concentrație mare de EtOH pentru eficientizarea extracției, în timp ce folosirea apei ca solvent duce la obținerea unor precipitate cu conținut dominat de α-glucani. Temperatura ridicată facilitează extracția β-glucanilor în extractele liofilizate din *Pleurotus ostreatus.* Timpul îndelungat de extracție în cazule extracție în H_2O la 25°C duce la obținerea unor cantități mai mari de extract liofilizat dar nu modifică semnificativ raportul

de α și β glucani din extractele liofilizate. Utilizarea unei fracții mai mici de 300µm duce la obținerea unor cantități semnificativ mai mari de extract liofilizat dar nu influentează raportul de α și β glucani.

- Precipitarea cu EtOH a unor extracte apoase de *Pleurotus ostreatus* și *Lentinula edodes,* obținute de extracții asistate de ultrasunete duc la obținerea unor preparate bogate în α-glucani ce conțin doar resturi de β-glucani.
- Pulberea de *Pleurotus ostreatus* cât și extractul standardizat în 30% polizaharide din *Pleurotus ostreatus* din comerț au manifestat activitate antiproliferativă pe lina celulară HT-29 păstrând un caracter necitotoxic pentru celulele normale NCTC.
- Precipitatul obținut din extract apos de *Lentinula edodes* și extractul standardizat în 30% polizaharide de *Pleurotus ostreatus* din comerț au manifestat un efect antiproliferativ pe linia celulară CaCo2, păstrând un caracter necitotoxic pentru celulele normale NCTC.
- Precipitatul obținut din extract apos de *Pleurotus ostreatus* a manifestat un efect inhibitor *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Eschericia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumonia* 145– tulpină clinică, *Salmonella typhi* ATCC 14028, *Enterobacter cloacea* 5479 – tulpină clinică, *Citrobacter freundii* 22 – tulpină clinică, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida paraspilosis* ATCC 22019, pentru care s-au stabilit valori mai mici de 5 mg/mL ale CMI și CMIA.

- Toate probele testate, pulberi de *Pleurotus ostreatus* și *Lentinula edodes* și precipitatele obținute din extract lichid ale acestora au activitate antioxidantă, dar valori mai mici decât extractul standardizat în 30% din comerț.

- Hidrosolurile de Lavandă, Rozmarin și Salvie au capacitate de a inhiba acetilcolinesteraza.

- Hidrosolurile de fenicul prezintă activitate antimicrobiană.

PERSPECTIVE

Rezultatele obținute în cadrul acestei teze, axate pe extracția și evaluarea bioactivității polizaharidelor din ciuperci medicinale, deschid perspective promițătoare pentru dezvoltarea de produse inovatoare în domeniul sănătății, nutriției și industria cosmetică.

Limitările actuale, precum extracția selectivă care reduce beta-glucanii în precipitate, sugerează direcții viitoare: optimizarea UAE cu temperaturi ridicate sau solvenți alcalini pentru randamente mai bune, obținerea unor fracții purificate de α-glucani și β -glucani completate studii *in vitro*, pentru a identifica exact care dintre componente sunt răspunzătoare pentru aceste efecte și studierea mecanismelor de inhibiție.

Din perspectivă terapeutică, efectele antiproliferative selective asupra liniilor celulare de cancer colorectal (HT29 și CaCo2) sugerează aplicații în oncologie adjuvantă. Aceste

rezultate, corelate cu activitatea antioxidantă ridicată, indică un rol în reducerea stresului oxidativ și inflamației asociate CRC, unde beta-glucanii modulează răspunsul imun, iar alfa-glucanii îmbunătățesc absorbția. Perspectivele includ formularea de suplimente alimentare țintite pentru prevenirea CRC, potențial integrate în diete funcționale, cu studii clinice viitoare pentru validarea eficacității *in vivo*. Activitatea antimicrobiană, limitată la precipitatul de *P. ostreatus* pe tulpini precum *E. coli, K. pneumoniae*, *C. albicans*, subliniază potențialul ca alternativă naturală la antibiotice, mai ales împotriva microorganismelor asociate disbiozei intestinale în CRC. Aceasta ar putea fi exploatată în produse probiotice sau antimicrobiene, promovând sănătatea intestinală și reducând rezistența antimicrobiană. În contextul bioeconomiei circulare, valorificarea ciupercilor medicinale – adesea subutilizate în agricultură – permite reutilizarea biomasei reziduale, minimizând deșeurile și generând produse cu valoare adăugată, aliniindu-se cu obiectivele UE privind sustenabilitatea.

Rezultatele privind hidrosolurile, deschid noi perspective în agricultura ecologică. Următorul pas presupune testarea în teren a hidrosolurilor ca tratamente și propunerea lor pentru utilizare la scară industrială. Mai departe și aceste rezultate pot fi valorificate într-un produs comercializat cu scopul de a reduce pierderile din agricultura ecologică cauzate de dăunători.

Integrarea unor produse obținute în urma acestor rezultate ar putea extinde portofoliul companiei, oferind soluții ecologice pentru sănătate preventivă. În ansamblu, aceste rezultate poziționează ciupercile medicinale și hidrosolurile ca resurse cheie în bioeconomie, cu potențial economic și societal semnificativ, deschizând calea spre inovații multidisciplinare.

CONTRIBUTII ORIGINALE

Elementele de originalitate identificate în urma acestei cercetări sunt:

- Efectuarea unui studiu comparativ privind compoziția speciei *Pleurotus ostreatus* din comerț cu compoziția unui specimen de *Pleurotus ostreatus* cules din flora spontană a României.
- Realizarea unui studiu privind influența parametrilor de extacție, în extracte liofilizate din *Pleurotus ostreatus,* asupra raportului de α și β glucani.
- Stabilirea unor protocoale de obținerea a unor preparate pe bază de ciuperci medicinale cu efect antiproliferativ și antimicrobian cu aplicații în terapia CRC.
- Testarea unor preparate din ciuperci medicinale cu conținut mare de α-glucani și resturi de β-glucani.
- Realizarea unui studiu privind aplicații ale hidrosolurilor din plante mediciane în agricultură ecologică și industria suplimentelor alimentare.

DISEMINAREA REZULTATELOR

Articole publicate - ISI

1. A. Gaspar-Pintiliescu, E. Mihai, T. Ciucan, A. F. Popescu, C. Luntraru, **J. Tomescu**, O. Craciunescu , *Antioxidant and acetylcholinesterase inhibition capacity of hyrosols from lamiaceae plants for biopesticide use: role of phenolics*, INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD PROPERTIES, *25*(1), 981–993. **2022**, (**IF – 1.8, Q2**) – ISSN: 1094-2912, WOS: 000796075500001
2. A. Gaspar-Pintiliescu, A.-M. Perlipceanu, E. Mihai, T. Coican, R. E. Anton, A. F. Popescu, **J. A. Tomescu,** O. Craciunescu, , *Free radicals scavenging, acetylhydrolase inhibition and antimicrobial activity of aromatic plant hydrolate mixtures*, Journal of Food Measurement and Characterization, 16, 3589–3596. **2022** (**IF – 3.95, Q2**) – ISSN: 1934-7081, WOS: 000795297800001
3. D. Gheorghita, A. Robu, A. Antoniac, I. Antoniac , L. M. Ditu , A.-D. Raiciu**, J. Tomescu,** E. Grosu and A. Saceleanu , *In Vitro Antibacterial Activity of Some Plant Essential Oils against Four Different Microbial Strains*, Applied Sciences.; 22(10):434. **2022**, (**IF – 2.8, Q2**) – ISSN: 2076-3417, WOS: 000862108400001
4. C.M. Luntraru, L. Apostol, O.B. Oprea, M. Neagu, A.F. Popescu, **J.A. Tomescu**, M. Multescu, I.E. Susman, L. Gaceu, *Reclaim and Valorization of Sea Buckthorn (Hippophae rhamnoides) By-Product: Antioxidant Activity and Chemical Characterizati*, FOODS, 11(3), 462. **2022**, (**IF – 5.5, Q1**) – ISSN: 2304-8158, WOS: 000756896300001
5. G. Petrisor, L. Motelica, R. D. Trusca, A.-L. Mîrt, G. Vasilievici, **J.-A. Tomescu**, C. Manea, A. S. Dumbrava, V. M. Corbu, I. Gheorghe-Barbu , D. Ficai, O.-C. Oprea, B.-S.Vasile, A. Ficai and A. D. Raiciu, 2024, *The Antimicrobial Potency of Mesoporous Silica Nanoparticles Loaded with Melissa officinalis Extract,* Pharmaceutics, **2024**, 16, 525. (**IF – 4.9, Q1**) – ISSN: 1999-4923, WOS: 001201159100001
6. V. Staicu, J. A. Tomescu, I. Calinescu, 2021, *Bioavailability of ursolic/oleanolic acid, with therapeutic potential in chronic diseases and cancer*, Adv Clin Exp Med. **2024** Nov;33(11):1173-1178, (**IF – 2,1, Q2**) – ISSN: 1899-5276, WOS: 001073854600001
7. M. Neagu, C. Luntraru, A, Bîra, **Tomescu J**., N. Ionescu, Stan R., 2021, *Bioactive phenolic compounds from white willow (salix alba) bark, leaves and branches*, University Politehnica of Bucharest Scientific Bulletin Series B-Chemistry and Materials Science , 83(3), 41-50, (**IF –, Q4**) – ISSN: 1454-2331, WOS: 000692192600004
8. B. Dangnon, D. Dah-Nouvlessounon, S. M. Ismaël Hoteyi, H. Sina, **J. A. Tomescu**, K. J.-M. Akpo, M. M. Sangare-Oumar, A. Adjanohoun, O. O. Babalola, E.Vamanu , "*Gastroprotective, Antioxidant, Anti-Inflammatory, And Toxicological Evaluation Of Stem Bark Extracts Of Vitellaria paradoxa And Parkia biglobosa*, Pharmaceuticals, **2025,** 18, 1184. https://doi.org/10.3390/ph18081184

9. **J. A. Tomescu**, V. Staicu, C. Luntraru, I. Calinescu*, "Comparative nutritional and fatty acid profiling of commercially cultivated and wild-harvested pleurotus ostreatus and armillaria mellea mushrooms", acceptat la publicare, U.P.B. Sci. Bull., Series B, **2025**

Articole BDI

1. E. Mihai, A. Gaspar-Pintiliescu, T. Ciucan, A.-M. Prelipcean, J. Tomescu, M. Neagu, O. Craciunescu, 2023, *Comparative study on the composition, antioxidant and antimicrobial activity of fennel hydrolates*, Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies, Vol. XXVII, No. 1, (**IF –, Q**) – ISSN: 2285-1364

2. V. Staicu, C. G. Chisega Negrila, J. A. Tomescu, M. Neagu, I. Calinescu, **2023**, *Separation and Purification of Plant Extracts by Removal of Chlorophyll, Xanthophylls and Pigments using Mineral Adsorbents in Liquid Chromatography (CLS)*, Current Trends in Engineering Science (CTES), 3(6),– ISSN: 2833-356X

3. V. Staicu, J. A. Tomescu, I. Calinescu, **2023**, *Environmental Protection and Superior Recovery of Vegetal Waste and Biomass, Major objectives in the Applied Research Activity*, Journal of biomedical research & environmental sciences,– ISSN: 2766-2276,

4. M. Andrei, A. Stefaniu, N. Ene, L. Pintilie, N. Radu, **A. J. Tomescu**, A. D. Raiciu, **2024**, *Multiple natural approaches of Salix alba*, Archives of Microbiology & Immunology, (8), 410-427

Participări Conferinţe

1. Conferință **NUTRICON**, Ohrid, Macedonia de Nord - Mihaela Neagu, Cristina-Mihaela Luntraru, Adriana Florina Popescu, **Justinian-Andrei Tomescu**, Livia Apostol, *Evaluation of the antioxidant capacity of sea-buckthorn (hippophae rhamnoides) berries by-product extracts for further valorization*.

2. Conferință **SICHEM 2022**, București, România - **Justinian-Andrei Tomescu**, Livia Apostol, Theodor Trausan-Matu, Georgeta-Alexandru, Alexandru Suciu, Simona Craparescu, Mihaela Neagu, *Characterization of Valuable Nutraceutical Compounds from Sea Buckthorn and Blueberry Waste Extracts Destined for Functional Supplements Enrichment*

3. Conferință **SICHEM 2022**, București, România - Vasile Staicu, **Tomescu Justinian-Andrei**, Theodor Trausan, and Calinescu Ioan, *Extraction, separation and dosage of ursolic acid*
from Rosmarinus officinalis using ultrasound.

4. Conferință **SICHEM 2022**, București, România - **Justinian-Andrei Tomescu**, Vasile Staicu, Theodor Trausan-Matu[1], Ioan Calinescu, and Christina-Marie Zalaru, *Time, temperature and solvent influence on polysaccharides content of p. Ostreatus extracts*

5. Conferință **RICCCE 22**, București, România - Anca Daniela Raiciu**, Andrei Justinian Tomescu,** Cristina Manea, *Comparative Study on the Physico-chemical Characterization and Medical Properties of Volatile Oils of Cinnamon Bark & Cinnamon Leaf*

6. Conferință **ULTRASONICS 2023**, Lisabona, Portugalia - **Justinian-Andrei Tomescu ,** Vasile Staicu, Simona Spînu, Alina Ortan, Daniela Ionescu, Theodor Trausan-Matu, Ioan Calinescu, 2023, *Practical applications and guidelines in the process of obtaining extracts rich in ursolic and oleanolic acid from Rosmarinus officinalis and Rosmarinus officinalis residue after the extraction of volatile oils using ultrasound and microwave assisted extractions*

7. Conferință **XI INTERNATIONAL SIMPOSIUM FOOD TECHNOLOGY 2023**, Murcia, Spania - Livia Apostol, Mihaela Neagu, Cristina Manea, **Justinian Andrei Tomescu**, Mihai Bogdan Nicolcioiu, Nastasia Belc, *Recovering nutritional value from berries by-products*

Cereri Brevet depuse

1. CBI: a/2022/00228 - Suplimente alimentare recomandate pentru atenuarea simptomelor neplăcute ale menopauzei, procedeu de obținere si procedeu de stabilire a biosiguranței si eficacității biologice, Mihaela NEAGU, Cristina – Mihaela LUNTRARU, Alexandru SUCIU, **Justinian – Andrei TOMESCU**, Sevinci POP, Emilia MANOLE, Lucian ALBULESCU, Cristina TĂNASE , publicat BOPI 11/2023

2. CBI: A/00762/2023 ; 138836 A2-Produs de tip supliment alimentar pe baza de componente naturale ecologice si procedeu de obținere, Ionescu Daniela, Fierascu Radu Claudiu, Alina-Ruxandra-Eugenia Ortan, Buhaev Stefan, Fierascu Irina, Marcu-Spinu Simona, **Tomescu Justinian-Andrei**, Baroi Anda-Maria, Babeanu Narcisa, Trausan-Matu Theodor, Brazdis (Matei) Roxana Ioana, Fistos Toma; publicat BOPI nr. 05/2025

Bibliografie

1. Perez-Bassart, Z., et al., *Compositional differences of beta-glucan-rich extracts from three relevant mushrooms obtained through a sequential extraction protocol.* Food Chem, 2023. **402**: p. 134207.
2. Shaheen, T.I., et al., *Facile extraction of nanosized β-glucans from edible mushrooms and their antitumor activities.* Journal of Food Composition and Analysis, 2022. **111**.
3. Tosh, S., *Evaluation of structure in the formation of gels by structurally diverse (1?3)(1?4)-?--glucans from four cereal and one lichen species.* Carbohydrate Polymers, 2004. **57**(3): p. 249-259.
4. Wood, P.J., *REVIEW: Oat and Rye β-Glucan: Properties and Function.* Cereal Chemistry, 2010. **87**(4): p. 315-330.

5. Ianni, F., et al., *Extraction optimization by experimental design of bioactives from Pleurotus ostreatus and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities.* Processes, 2021. **9**(5): p. 743.
6. Vamanu, E., *In vitro antimicrobial and antioxidant activities of ethanolic extract of lyophilized mycelium of Pleurotus ostreatus PQMZ91109.* Molecules, 2012. **17**(4): p. 3653-3671.
7. Cardoso, R.V., et al., *Antioxidant and antimicrobial influence on oyster mushrooms (Pleurotus ostreatus) from substrate supplementation of calcium silicate.* Sustainability, 2021. **13**(9): p. 5019.
8. Santos, J.S., V.R. Alvarenga Brizola, and D. Granato, *High-throughput assay comparison and standardization for metal chelating capacity screening: A proposal and application.* Food Chem, 2017. **214**: p. 515-522.