

UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI



Cu titlul de manuscris

C.Z.U.:664:579.6:[613.2:614.3](043)

COJOCARI DANIELA

**ACȚIUNEA MICROBIOSTATICĂ A UNOR EXTRACTE VEGETALE DE
COMPUȘI FENOLICI ASUPRA MICROORGANISMELOR
RESPONSABILE DE ALTERAREA ALIMENTELOR**

253.06 Tehnologii biologice și chimice în industria alimentară

Rezumatul tezei de doctor în științe inginerești

CHIȘINAU, 2024

Teza a fost elaborată în cadrul Facultății Tehnologia Alimentelor, Universitatea Tehnică a Moldovei; departamentului Medicină Preventivă, Disciplina de microbiologie și imunologie a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițeanu", Chișinău, Republica Moldova.

Conducător științific:

STURZA Rodica, doctor habilitat, m.c. AȘM, profesor universitar

Consultant științific:

RUDIC Valeriu, academician, doctor habilitat, profesor universitar

Comisia de îndrumare:

GHENDOV-MOȘANU Aliona, doctor habilitat, conferențiar universitar, UTM

MACARI Artur, doctor, conferențiar universitar, UTM

BALAN Greta, doctor habilitat, conferențiar universitar, USMF

Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

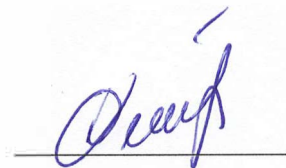
1. BALAN Valerian, președinte, doctor habilitat, profesor universitar, UTM
2. DRAGANCEA Veronica, secretar științific, doctor, conferențiar universitar, UTM
3. PINTEA Adela, membru, doctor habilitat, profesor universitar, USAMV Cluj Napoca
4. STURZA Rodica, membru, doctor habilitat, profesor universitar, m.c. AȘM, UTM
5. GHENDOV-MOȘANU Aliona, referent oficial, doctor habilitat, conferențiar universitar, UTM
6. CEPOI LILIANA, referent oficial, doctor habilitat, cercetător coordonator, UTM
7. BURDUNIUC Olga, referent oficial, doctor habilitat, conferențiar cercetător, ANSP

Susținerea va avea loc la 11.07.2024 , ora 10:00 în ședința Comisiei susținere publică a tezei de doctorat din cadrul Universității Tehnice a Moldovei, FTA, str. Studenților 9/9, blocul de studii nr. 5, aula 5-1, MD-2045, Chișinău, Republica Moldova.

Teza de doctorat și rezumatul pot fi consultate la biblioteca Universității Tehnice a Moldovei (www.utm.md) și pe pagina web a ANACEC (www.cnaa.md).

Rezumatul a fost expediat la 10.06.2024.

Secretar științific al Comisiei de doctorat,
DRAGANCEA Veronica, doctor, conferențiar universitar



Conducător științific,
STURZA Rodica, doctor habilitat, profesor universitar m.c. AȘM



Autor
COJOCARI Daniela



CUPRINS

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII	4
CONȚINUTUL TEZEI	6
1 Compuși biologici cu acțiune antimicrobiană – sursă promițătoare pentru diminuarea contaminării alimentelor și reducerea rezistenței microorganismelor la antibiotice	6
2 Materiale și metode de cercetare	7
3 Efectul antimicrobian al preparatelor de origine naturală	7
3.1 Determinarea activității antimicrobiene a pudrelor vegetale prin metoda godeurilor	8
3.1.1 <i>Efectul antimicrobian a diferitor soiuri de cătină, determinat prin metoda godeurilor</i>	9
3.1.2 <i>Rezistența activității antimicrobiene a pulberilor vegetale în timp</i>	10
3.1.3 <i>Activitatea antimicrobiană a pulberilor vegetale și extractelor de busuioc, cimbru și rozmarin asupra microorganismelor patogene</i>	11
3.1.4 <i>Activitatea antimicrobiană a pulberilor vegetale asupra L. monocytogenes ATCC 19118, L. monocytogenes EGDe (godeuri)</i>	11
3.2 Determinarea concentrațiilor minime inhibitoare a pulberilor vegetale	13
3.2.1 <i>Determinarea CMI și CMB ale pulberilor vegetale prin metoda diluțiilor succesive în medii lichide</i>	13
3.2.2 <i>Determinarea concentrațiilor minime inhibitorii ale pulberilor vegetale (în timp) prin metoda microdiluțiilor</i>	14
3.2.3 <i>Determinarea CMI și CMB a extractelor din busuioc, cimbru, rozmarin</i>	15
3.2.4 <i>Determinarea concentrațiilor minime de inhibiție a pulberilor vegetale asupra L. monocytogenes ATCC 19118</i>	15
3.2.5 <i>Determinarea concentrațiilor minime de inhibiție a pulberilor vegetale asupra L. monocytogenes EGDe</i>	16
3.3 Activitatea antimicrobiană și antioxidantă a extractelor – mecanisme de interacțiune	16
3.3.1 <i>Compoziția extractelor din tescovină de struguri și fructe de pădure</i>	17
3.3.2 <i>Compoziția și activitatea antioxidantă a extractelor de busuioc</i>	17
3.3.3 <i>Activitatea antioxidantă a extractelor de fructe de pădure și tescovină de struguri</i>	18
4 Analiza <i>in situ</i> a acțiunii microbiostatice și microbicide a unor extracte și pudre vegetale	19
4.1 Evaluarea <i>in situ</i> a acțiunii antimicrobiene a extractelor și pudrelor de fructe de pădure în produse din carne	19
4.2 Evaluarea <i>in situ</i> a acțiunii antimicrobiene a unor extracte și pudre vegetale în crema de brânză	21
4.3 Efectul extractului de busuioc microîncapsulat asupra calității și stabilității cremei de brânză	21
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI	23
RECOMANDĂRI PENTRU CERCETĂRI ULTERIOARE	25
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	26
LISTA PUBLICAȚIILOR AUTORULUI LA TEMA TEZEI	27
ADNOTARE	30

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța temei abordate. Bolile transmise prin alimente sunt maladii frecvente, costisitoare, uneori periculoase pentru viață - dar în mare parte prevenibile și constituie o problemă de sănătate publică (FDA, 2021). Cercetătorii au identificat peste 250 de boli transmise prin alimente. Cele mai multe dintre ele sunt infecții, cauzate de o varietate de bacterii, virusuri și paraziți. Centrul pentru Prevenirea și Controlul Bolilor (CDC) în anul 2021 estimează că în fiecare an 48 de milioane de oameni se îmbolnăvesc de o boală transmisă prin alimente, 128000 sunt spitalizați și 3000 mor (CDC, 2021; WHO, 2021).

Rezistența la antimicrobiene (RAM) s-a dezvoltat ca una dintre principalele amenințări urgente la adresa sănătății publice, cauzând probleme serioase pentru prevenirea și tratamentul cu succes a bolilor persistente. Utilizarea în agricultură a antibioticelor este un alt contributor proeminent la rezistența antimicrobiană la om (Mohr, 2016). Experții estimează că în absența unei soluții de tratare a infecțiilor rezistente la antimicrobiene, aproximativ 300 de milioane de oameni vor muri prematur în următorii 35 de ani, iar pierderile economice globale vor crește la 100 de trilioane de dolari (Porooshat, 2019).

Pe măsură ce ne confruntăm tot mai mult cu problema rezistența microorganismelor la antibiotice, devine evident că doar o abordare naturistă, care ar conduce la diminuarea consumului de aditivi sintetici ar putea ameliora situația. Utilizarea extractelor de plante pentru diminuarea riscurilor microbiologice asociate alimentelor ar fi o soluție promițătoare pentru sănătatea populației. Microorganismele patogene producătoare de toxine, care cauzează alterarea produselor se găsesc în mod natural în mediu și pot fi transferate în produsele alimentare. Conservanții chimici pentru alimente sunt utilizați pe scară largă de industria alimentară pentru a preveni sau a întârzia eficient deteriorarea alimentelor (Attarianshandiz, 2022). Mai multe studii indică, că polifenolii din plante pot fi utilizați ca agenți chimioterapeutici, agenți de conservare a alimentelor, coloranți și antioxidanți (Cetin-Karaca, 2011; Jouda, 2013; Attarianshandiz, 2022).

Motivația alegerii subiectului. Produsele alimentare sunt obținute astăzi cu ajutorul celor mai noi procedee. Supraproducția și oferta foarte variată îi obligă pe producători să facă tot ceea ce este posibil pentru ca alimentul lor să aibă succes. Astfel, produsele sunt conservate pe perioade lungi, se introduc coloranți mai atractivi, vitamine produse pe cale artificială etc. Disponibilitatea antibioticelor pentru tratarea bolilor infecțioase a îmbunătățit semnificativ sănătatea și speranța de viață a oamenilor, precum și sănătatea și bunăstarea animalelor. Utilizarea antibioticelor a generat microorganisme rezistente la antimicrobiene. Alimentele pot acționa ca un vector pentru transferul bacteriilor rezistente la antimicrobiene și al genelor de rezistență la antimicrobiene la oameni. Tot mai frecvent se caută alternative de substituție a conservanților sintetici. Astfel, direcția cercetătorilor privind elaborarea produselor alimentare cu componente bioactive și ingrediente funcționale naturale este actuală. Rezistența antimicrobiană este o problemă la nivel mondial atât pentru sănătatea umană, cât și pentru cea animală.

Ipoteza științifică: pudrele și extractele vegetale manifestă efectele antimicrobiene și antioxidante, ceea ce ar putea permite utilizarea lor în calitate de conservanți alimentari. Pentru confirmarea acestei ipoteze a fost necesar de a testa efectul antibacterian al fracțiilor vegetale atât în rezultatul contactului direct cu microorganismele patogene, cât și evaluarea efectului fracțiilor vegetale incorporate în produse alimentare, prin contaminarea intenționată a acestora cu patogeni capabili de a coloniza accidental aceste categorii de produse și elucidarea efectului microbiostatic al acestor fracții vegetale.

Scopul cercetării constă în evaluarea acțiunii microbiostatice a pulberilor și extractelor vegetale din fructe de pădure și condimente asupra microorganismelor responsabile de alterarea alimentelor *in vitro* și *in situ*, pe diferite categorii de alimente procesate.

Pentru realizarea scopului propus au fost stabilite următoarele **obiective ale cercetării**:

1. Determinarea *in vitro* a efectului microbiostatic și microbicid la contactul direct a unor fracții vegetale bogate în compuși fenolici asupra microorganismelor ce cauzează alterarea produselor alimentare.
2. Stabilirea *in situ* a efectului microbiostatic a unor fracții vegetale bogate în compuși fenolici pe matrici de produse din carne.
3. Stabilirea *in situ* a efectului microbiostatic a unor fracții vegetale bogate în compuși fenolici pe diferite matrici de produse lactate.
4. Caracterizarea compoziției compușilor bioactivi și a proprietăților lor antioxidante.
5. Analiza proprietăților fizico-chimice, senzoriale și morfologice ale cremei de brânză cu extract încapsulat de busuioc.

Sinteza metodologiei de cercetare științifică și justificarea metodelor de cercetare aplicate. Studiul a fost realizat în cadrul Departamentului Medicină Preventivă, Disciplina de microbiologie și imunologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”; a Departamentelor Tehnologia Produselor Alimentare și Oenologie și Chimie, Facultatea Tehnologia Alimentelor, Universitatea Tehnică a Moldovei. O parte din cercetări au fost efectuate și în instituții internaționale: Universitatea Dunărea de jos, Galați, România; Institutul de Plante și Științe a Mediului Nitra, Institutul de Horticultură; Centrul de Cercetare AgoBioTech, Nitra, Slovacia. Drept suport metodologic al tezei au servit cercetările realizate în cadrul proiectelor științifice: 16.80013.5107.22/Ro - *Substituirea aditivilor alimentari sintetici cu componenți bioactivi extrași din resurse naturale regenerabile*, Proiect din cadrul Programului de cooperare științifică și tehnologică R. Moldova – România, 2016-2018; 18.51.07.01A/PS - Proiect de Stat *Diminuarea contaminării materiei prime și produselor alimentare cu microorganisme patogene*, 2018-2019; 20.80009.5107.09 - Proiect de Stat *Ameliorarea calității și siguranței produselor alimentare prin biotehnologie și inginerie alimentară*, 2020-2023; Proiectul *SER-ECO-2023 - „Valorisation de composés bioactifs issus de déchets agro-industriels par encapsulation lyposomale”*, cercetător stagiar, 2023-2024.

Pentru confirmarea ipotezei de cercetare au fost aplicate metode concrete pentru fiecare obiectiv, aprobate la nivel național și internațional. Cercetarea a fost efectuată în etape și a constat în: determinarea efectului antimicrobian calitativ și cantitativ a fracțiilor biologice asupra tulpinilor de referință, determinarea efectului microbicid și microbiostatic a extractelor și pudrelor vegetale încorporate în diverse matrici alimentare (*in situ*). Testul cu radicalul liber DPPH a fost aplicat pentru aprecierea activității antioxidante. În conformitate cu scopul și obiectivele stabilite, au fost aplicate metode clasice și moderne de cercetare: metode microbiologice, fizico-chimice (spectroscopia UV/vis, FTIR, cromatografia de lichide – HPLC), modelarea matematică, metode statistice de prelucrare a rezultatelor.

Importanța teoretică și inovația științifică a lucrării. Studiul s-a axat pe aprecierea activității antibacteriene a pudrelor și extractelor vegetale autohtone. A fost identificat spectrul de acțiune al acestor preparate asupra tulpinilor de referință, preponderent responsabile de alterarea alimentelor. În premieră s-a evaluat efectul microbiostatic și microbicid a fracțiilor vegetale încorporate în matrici alimentare. În baza rezultatelor cercetării a fost obținut 1 brevet de invenție – „Procedeu de fabricare a înghețatei”.

Aprobarea rezultatelor științifice. Rezultatele cercetării acumulate în cadrul tezei au fost prezentate și discutate la **foruri științifice naționale și internaționale**: Conferințele Studenților, Masteranzilor și Doctoranzilor, UTM, Chișinău (2019 - 2021); Conferința Internațională „Modern Technologies in the Food Industry”, Chișinău (2018); Conferința Internațională „Achievements and perspectives of modern chemistry dedicated to the 60th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry”, Chișinău (2019); Conferința Internațională „The days of the Academy of Technical Sciences from Romania - XIV edition”, Chișinău (2019); Conferința științifică internațională, „Perspectivele și Problemele Integrării în Spațiul European al Cercetării și Educației”, Ediția a VIII-a, Cahul (2021); Conferința Internațională „International Conference Intelligent valorisation of agro-industrial wastes”, Chișinău (2021); Conferința Internațională „The 7th International Conference Ecological & Environmental Chemistry”, Chisinau (2022), Conferința națională cu participare internațională „Abordarea O singură sănătate – realizări și provocări ”Ediția” a II-a, Chișinău, Republica Moldova (2023); Simpozionul Internațional „Euro-Aliment”, Galați (2019); Simpozionul Internațional „Euro-Aliment”, Galați, România (2021); Conferința Internațională „Works of the International Conference on Carotenoid Research and Applications in Agro-Food and Health”, Cyprus (2019); „The 16th International Conference of Constructive Design and Technological Optimization in Machine Building Field, OPROTEH 2021; Conferința Internațională „Aspecte moderne ale conservării sănătății umane, Procesele celei de-a 15-a Conferință științifică și practică interdisciplinară internațională, a 30-a aniversare de la înființarea Institutului de Cercetare în Fitoterapie al Universității Medicale de Stat”, Ujhorod, Ucraina (2022). **Saloane naționale și internaționale de invenții**: Expoziția europeană de creativitate și inovație „Euroinvent-2021”, Iași (2021); The10th International Symposium. Food connects people and shares science in a resilient world. Galați, Romania (2021).

Publicații la tema tezei. Rezultatele cercetării și problemele abordate au fost publicate în următoarele lucrări științifice: 1 capitol în monografia colectivă „Analiza riscurilor asociate alimentației în Republica Moldova”; 7 articole în reviste indexate în baze de date Web of Science și SCOPUS; 2 articole în reviste științifice din străinătate recunoscute, indexate BDI; 6 articole în reviste științifice din Registrul Național (B+), 20 rezumate ale lucrărilor publicate în culegeri de lucrări ale conferințelor internaționale (16) și naționale (4); 1 brevet de invenție și un ghid metodic.

Sumarul capitolelor tezei. Teza de doctor include adnotare (în limbile română, rusă și engleză), introducere, 4 capitole, concluzii generale, recomandări practice, 236 surse bibliografice și 3 anexe. Textul de bază conține 130 pagini, inclusiv 34 tabele și 29 figuri.

Cuvinte-cheie: efect antibacterian, extracte, pudre vegetale, polifenoli, diluții succesive, difuzimetric, antioxidanți, conservanți.

CONTINUTUL TEZEI

1 Compuși biologici cu acțiune antimicrobiană – sursă promițătoare pentru diminuarea contaminării alimentelor și reducerea rezistenței microorganismelor la antibiotice

Capitolul unu relatează problema maladiilor transmisibile prin alimente, enumeră agenții etiologici implicați în bolile alimentare precum și epidemiologia bolilor alimentare. Alimentele sunt vehiculul ideal pentru dispersia microorganismelor patogene. Antibioticele sunt unele dintre cele mai utilizate preparate. Este analizată criza rezistenței la antibiotice și abuzarea excesivă a antibioticelor în agricultură și aportul alimentelor în răspândirea bacteriilor rezistente la antimicrobiene. Au fost studiate surse și căi de răspândire a RAM și studiat fenomenul de rezistență antimicrobiană la nivel mondial și în Republica Moldova.

Reviul bibliografic caracterizează compuși antimicrobieni naturali, fructele de pădure și plantele ca surse naturale împotriva agenților responsabili de alterarea alimentelor. Se descriu componente active ale extractelor din plante, capacitatea antioxidantă a acestora, precum și mecanismul de acțiune a lor. Capitolul descrie mecanisme de acțiune implicate în inhibarea creșterii bacteriilor, cum ar fi destabilizarea membranei citoplasmatică, permeabilizarea membranei plasmatică, acțiuni directe asupra metabolismului microbial și privarea substraturilor necesare creșterii microbiene. Utilizarea acestor compuși ca conservanți alimentari.

2 Materiale și metode de cercetare

În calitate de preparate cu efecte antimicrobiene au fost utilizate pulbere și extracte vegetale de cătină, măceșe, păducel, aronia și tescovina de struguri din soiuri roșii; plante aromate - busuioc, rozmarin și cimbru. A fost întrebuințată materia vegetală autohtonă din Republica Moldova (RM) oferită de Universitatea Tehnică a Moldovei, Facultatea Tehnologie Alimentelor. Pentru studiul *in vitro* în capitolul 2 au fost incluse tulpini de referință (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* serovar Aboni NCTC 6017, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus*, ATCC11778, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Geobacillus stearothermophilus* ATCC7953, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Listeria monocytogenes* ATCC 19118, *Candida albicans* ATCC 10231), *Staphylococcus aureus* CCM 2461, *Listeria monocytogenes* CCM 4699, *Bacillus cereus* CCM 2010, *Bacillus subtilis* CCM 1991, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955, *Shigella sonnei* CCM 4421, *Salmonella* Enteritidis, CCM 4420, *E. coli* CCM 3954 (care provin din două colecții de culturi American Type Culture Collection (ATCC) și Colecția Cehă de Microorganisme, (Centrul de Cercetare AgoBioTech), Nitra, Slovacia. Au fost utilizate produse alimentare (cu diferite concentrații de extracte): crenvurști, cremă de brânză, înghețată.

Cercetările au fost efectuate pe etape, conform programului stabilit. Investigațiile au fost structurate și desfășurate în conformitate cu următoarele etape: studierea surselor bibliografice de specialitate > caracteristica și definirea problemei, stabilirea obiectivelor > organizarea și desfășurarea cercetării (examinarea *in vitro* a efectului antimicrobial ale preparatelor vegetale din fructe de pădure, stabilirea *in situ* a efectului microbiostatic a unor fracții vegetale, determinarea acțiunii antioxidante, microincapsularea, prelucrarea statistică a datelor, analiza și descrierea lor) > implementarea unor rezultate în practică.

Capitolul include descrierea a două categorii de metode de cercetare: metode clasice microbiologice și analize fizico - chimice. La prima categorie se referă screeningul preparatelor naturale și determinarea CMI și CMB ale compușilor chimici noi. La cea de-a doua categorie se referă metodele de determinare a capacității antioxidante, determinarea conținutului total de polifenoli și microincapsularea.

3 Efectul antimicrobial al preparatelor de origine naturală

La prima etapă a fost efectuat screeningul și s-a determinat concentrațiile minimă inhibitoare (CMI) și minimă bactericidă (CMB) a preparatelor naturale. Efectul antibacterian al preparatelor naturale s-a testat pe tulpini Gram-pozitive, Gram-negative și micete levuriforme. În calitate de preparate naturale cu efect antibacterian au fost utilizate pulbere și extracte din următoarele fructe de pădure și plante aromate: cătină, măceșe, tescovină de struguri, aronie, păducel, busuioc, cimbru, rozmarin.

3.1 Determinarea activității antimicrobiene a pudrelor vegetale prin metoda godeurilor

Scopul studiului a fost de a determina dacă agenții etiologici sunt rezistenți sau sensibili la agenții antimicrobieni naturali testați. Activitatea potențială antibacteriană a pulberilor din fructe de pădure și a extractelor a fost inițial determinată prin metoda difuziei în godeuri cu agar. În conformitate cu obiectivele preconizate, pe parcursul cercetării s-a determinat *in vitro* efectul microbiostatic și microbicid la contact direct cu diferite tipuri de pulbere vegetală obținute din fructe de pădure asupra bacteriilor ce alterează produsele alimentare. Datele din tabelul 3.1 demonstrează activitatea antimicrobiană a (căținei, măceșe, aronia, păducel) și șrot din fructe de cățina albă, măceșe și tescovina de struguri, împotriva bacteriilor Gram negative și Gram pozitive.

Tabelul 3.1. Zonele de inhibiție a pulberilor vegetale asupra microorganismelor patogene

Pulbere	Diametrul zonei de inhibiție completă a creșterii (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Cățina	22,0±0,2	20,0±0,2	18,2±0,3	17,4±0,4
Șrot de cățina	18,0±0,1	17,1±0,3	15,2±0,3	13,2±0,3
Măceșe	16,0±0,3	15,1±0,2	10,3±0,4	9,3±0,3
Șrot de măceșe	12,0±0,2	12,2±0,2	9,3±0,3	8,1±0,1
Tescovina de struguri	11,0±0,1	11,0±0,3	9,2±0,2	7,3±0,2
Aronia	10,0±0,2	9,4±0,4	7,1±0,1	7,2±0,2
Păducel	10,0±0,1	11,2±0,2	8,2±0,2	7,2±0,2

*Valorile fiecărui test realizat în triplicate și calculat ca medie ±eroare standard (SE), analiza statistică - ANOVA, ($\alpha \leq 0,05$) cu GraphPad 5. *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 13883

Toate preparatele au manifestat activitate antimicrobiană. Pudrele vegetale din cățina albă au manifestat efect inhibitor față de toate tulpinile testate. Un efect accentuat au dovedit pulberile din cățina albă. Șrotul de cățina are de asemeni acțiune vădită asupra tuturor tulpinilor luate în studiu.

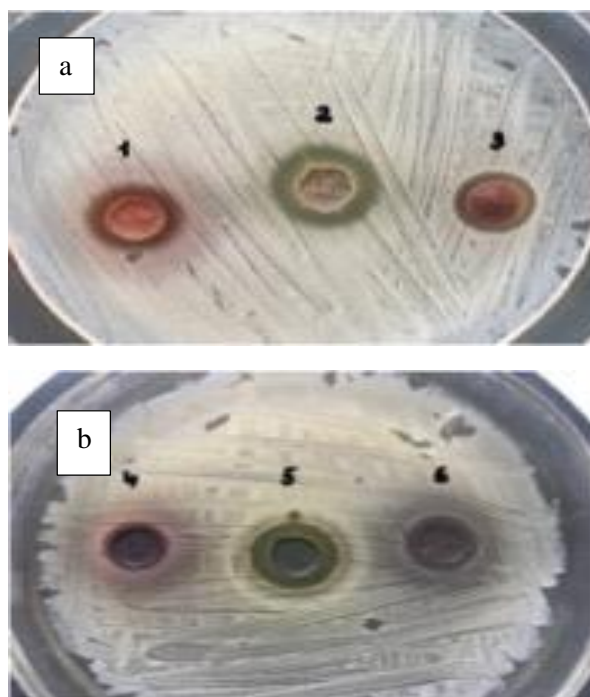


Figura 3.1. Acțiunea diferitor tipuri de materie vegetală asupra tulpinei de *S. aureus*

a) 1 - păducel; 2 - șrot de cățină; 3 - măceș; b) 4 - aronia; 5 - cățină; 6 - tescovina de struguri.

Cățina și șrotul de cățină au fost foarte active față de *S. aureus*, diametrul zonei de inhibiție este de 22±0,2 mm și pentru șrotul de cățină de 18±0,1 mm în diametru (fig. 3.1). Conform figurii 3.1, pulberea din măceșe a demonstrat un efect mai moderat, diametrul zonei de inhibiție 16±0,3 mm pentru *S. aureus* și 15±0,2 mm pentru *B. subtilis*. Aronia și păducelul au o valoare de activitate antibacteriană mai redusă, diametrul zonei de inhibiție este 10±0,1 mm pentru *S. aureus* și, respectiv, 9,3±0,3 și 11±0,1 mm pentru *B. subtilis*. Aceleași pulbere vegetale au fost utilizate pentru bacteriile Gram negative. *E. coli* și *K. pneumoniae* au fost mai sensibile față de preparatele de cățină, diametrul de inhibiție fiind 18±0,1 mm pentru *E. coli* și 17±0,3 mm pentru *K. pneumoniae*.

Măceșele și tescovina au manifestat efect moderat față de aceste bacterii. Activitatea antibacteriană cu valori mai reduse au manifestat aronia și păducelul cu

un diametru inhibitor echitabil pentru ambele tulpini (tab. 3.1.). Din datele obținute putem concluziona că preparatele de cătină sunt active asupra tulpinilor luate în studiu. Bacteriile Gram pozitive s-au dovedit a fi mai sensibile, în special *S. aureus*.

3.1.1 Efectul antimicrobian a diferitor soiuri de cătină, determinat prin metoda godeurilor

În continuare au fost utilizate diferite soiuri de cătină sub formă de pudră (R1, 2, 4, 5; C6, AGG, AGA, Pomona, Mr.Sandu, Seirola). Spre testare au fost selectate tulpinile menționate în tabel 3.2.

Tabelul 3.2. Zonele de inhibiție a diferitor soiuri de cătină asupra microorganismelor patogene

Soiuri Cătină	Diametrul zonei de inhibiție completă a creșterii (mm)				
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
R1	22,0±0,2	19,3±0,4	Lipsă	12,4±0,5	Lipsă
R2	24,2±0,3	22,2±0,2	13,1±0,2	13,5±0,6	Lipsă
R4	26,1±0,3	24,3±0,2	15,2±0,1	15,2±0,3	Lipsă
R5	26,2±0,4	25,2±0,3	14,3±0,3	15,4±0,4	Lipsă
C6	24,2±0,3	26,4±0,5	14,3±0,3	17,4±0,2	Lipsă
AGG	29,2±0,5	28,2±0,3	18,2±0,3	18,2±0,4	Lipsă
AGA	30,3±0,4	29,4±0,4	18,2±0,5	18,4±0,2	Lipsă
Pomona	21,3±0,2	22,2±0,1	Lipsă	12,3±0,2	Lipsă
Mr. Sandu	28,2±0,3	27,4±0,3	11,3±0,2	18,3±0,4	Lipsă
Seirola	25,4±0,3	26,4±0,2	13,2±0,4	15,2±0,3	Lipsă

Notă: Valorile fiecărui test realizat în triplicate și calculat ca medie \pm eroare standard (SE), analiza statistică - ANOVA, ($\alpha \leq 0,05$) cu GraphPad 5, Lipsa – lipsa efectului antimicrobian

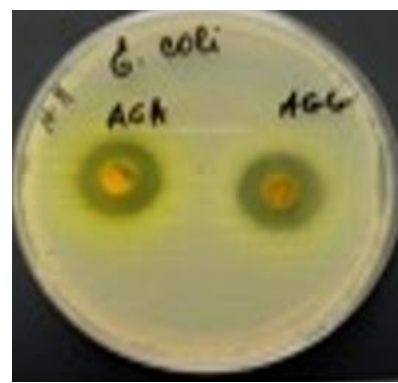
Conform rezultatelor obținute s-a constatat, că toate tipurile de cătină au activitate pronunțată asupra microorganismelor testate, excepție este *C. albicans* ATCC 10231. Cea mai înaltă activitate bacteriostatică asupra bacteriilor *S. aureus* ATCC 25923 au manifestat-o preparatele din soiurile de cătină AGA și AGG cu un diametru de 30 mm și respectiv 29 mm. Efectul antibacterian față de *B. subtilis* a fost semnificativ mai ridicat în cazul AGA și AGG, cu o zona de inhibiție de 29 și 28 mm. Alte tipuri de cătină de asemenea sunt active asupra tulpinilor Gram pozitive cu o diferență de 2-3 mm. A fost remarcat, că soiurile de cătină alba AGA și AGG sunt foarte active, inclusiv și pe tulpinile Gram negative, cu excepția *S. Typhimurium* (fig. 3.2).



Activitatea AGA și AGG
asupra *S. aureus* ATCC 25923



Activitatea AGA și AGG
asupra *B. subtilis* ATCC 6633



Activitatea AGA și AGG
asupra *E. coli* ATCC 25922

Figura. 3.2. Acțiunea diferitor soiuri de cătină asupra bacteriilor Gram pozitive și Gram negative

Cea mai sensibilă tulpină față de aceste preparate este *S. aureus* (fig. 3.2). În concluzie putem remarca că aceste preparate au acțiune antibacteriană diferită și depinde de tipul de microorganism. Bacteriile Gram pozitive sunt mai sensibile față de toate tipurile de cătină. Efectul antifungic a soiurilor noi de cătină asupra *C. albicans* ATCC 10231 nu a fost pus în evidență prin metoda difuziei în gel (fig. 3.2).

3.1.2 Rezistența activității antimicrobiene a pulberilor vegetale în timp

A fost evaluat efectul antimicrobian pudrelor vegetale după doi ani de păstrare (2020-2022). Prezentul studiu a fost realizat pentru a determina eficacitatea antimicrobiană cu posibilitatea de-a evalua eficacitatea acestora la păstrare. În acest scop au fost utilizate tulpinile de referință prezentate în tabelul 3.3. Pentru testare s-au utilizat pulberile de măceșe, tescovină și soiuri noi de cătină cultivate în Republica Moldova. Pulberile vegetale au fost testate peste o perioadă de 2 ani (2020-2022). Pentru a aprecia eficacitatea preparatelor în timp, după doi ani, s-au folosit metode cantitative și calitative de determinare a activității antibacteriene (tab. 3.3).

Tabelul 3.3. Activitatea antimicrobiană a pulberilor vegetale în timp* asupra microorganismelor patogene

Pulberi vegetale	Diametrul zonei de inhibiție completă a creșterii (mm)								
	<i>S. aureus</i> CCM 2461	<i>L. monocytogenes</i> CCM4699	<i>B. cereus</i> CCM2010	<i>B. subtilis</i> CCM1991	<i>C. perfringens</i> CCM4991	<i>E. coli</i> CCM3954	<i>S. sonnei</i> CCM 4421	<i>P. aeruginosa</i> CCM 3955	<i>S. Enteritidis</i> CCM 4420
FN tescovina Bugac	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	6,8
FNmesca tescovina	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă
FN sem tescovina	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă
Măceșe	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă	Lipsă
C6-cătină	15,2±0,1	6,8±0,4	14,2±0,1	11,4±0,3	Lipsă	14,4±0,3	15,4±0,3	16,2±0,3	14,2±0,1
R1 cătină	12,3±0,2	Lipsă	11,3±0,1	6,8±0,4	Lipsă	Lipsă	12,2±0,2	12,5±0,3	16,4±0,3
AGA - cătină	18,3±0,1	13,2±0,3	15,3±0,2	14,2±0,3	Lipsă	12,5±0,2	19,3±0,3	15,2±0,4	18,6±0,5
R4 cătină	19,3±0,2	14,5±0,4	16,4±0,6	14,2±0,3	Lipsă	12,4±0,1	17,0±0,3	16,5±0,5	18,2±0,3
Mr.Sandu - cătină	17,5±0,4	13,5±0,3	14,3±0,2	16,0±0,3	Lipsă	11,4±0,5	14,4±0,3	19,2±0,3	17,0±0,2

Notă: * - după o perioadă de păstrare timp de doi ani (2020 -2022), condiții ambientale. Lipsa efectului antibacterian. Valorile fiecărui test realizat în triplicate și calculat ca medie ±eroare standard (SE), analiza statistică - ANOVA, ($\alpha \leq 0,05$) cu GraphPad

Rezultatele obținute (tab. 3.3) denotă că diferite tipuri de tescovină nu au avut activitate asupra tulpinelor de referință testate. Măceșele nu au manifestat efect antibacterian față de microorganismele testate. *S. aureus* a prezentat cea mai mare sensibilitate față de preparatele de cătină iar zonele de inhibiție înregistrate au fost 15, 12, 18, 19 și 17 mm pentru C6, R1, AGA, și R4 respectiv, Mr. Sandu.

Dacă se efectuează un studiu comparativ a pulberilor vegetale incipient și după o perioadă de doi ani se poate menționa că unele din pulberile vegetale (soiuri de cătină) și-au păstrat activitatea antibacteriană. În studiu au fost utilizate și pudre din măceșe și tescovină din struguri,

la fel după o perioadă de doi ani. Însă pudrele din tescovină și măceșe nu au demonstrat activitate antibacteriană. Se atestă o activitate antibacteriană mai diminuată după o perioadă de timp asupra bacteriilor gram pozitive (*S. aureus*, *E.coli*) cu o diferență a diametrului zonei de inhibiție de aproximativ 10 mm (fig.3.3).

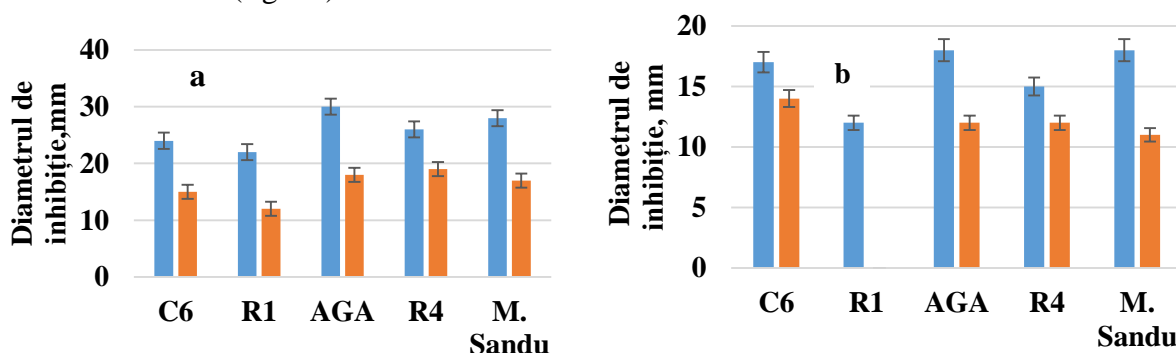


Fig. 3.3. Studiu comparativ al evoluției activității antibacteriene la păstrare (2020-2022) a pulberilor de cătină asupra microorganismelor patogene a) *S. aureus*, b) *E. coli*

Remarcăm că soiurile de cătină și-au păstrat activitatea antimicrobiană după o perioadă de doi ani cu o diminuare mai pronunțată a efectului antibacterian asupra bacteriilor Gram pozitive. Activitatea antibacteriană a soiurilor de cătină s-a diminuat în timp, iar soiul de cătină R1 nu a manifestat activitate antibacteriană asupra tulpinei de *E.coli* (fig.3.3).

3.1.3 Activitatea antimicrobiană a pulberilor vegetale și extractelor de busuioc, cimbru și rozmarin asupra microorganismelor patogene

Prin metoda difuziei în godeuri, eficacitatea unei game de pulbere și extracte a fost determinată împotriva *B. cereus*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *G. stearothermophilus*, *E. coli*, *S. Aboni*, *C. albicans* (tab. 3.4). Extractul de cimbru a prezentat cea mai mare zonă de inhibiție împotriva *C. albicans* (29,3 mm) și pentru *S. aureus* cu o zonă de inhibiție de 26,3 mm. Cimbru a manifestat activitate împotriva tuturor microorganismelor luate în studiu. O activitate remarcată a demonstrat-o și extractul de rozmarin cu o zonă de inhibiție de 27 mm pentru *G. stearothermophilus* urmată de extractul de busuioc cu inhibiția zonei de creștere de 26,3 mm pentru *S. aureus*.

Tabelul 3.4. Activitatea antimicrobiană a extractelor din busuioc, rozmarin și cimbru asupra microorganismelor patogene

Tulpini de referință	Zone de inhibiție, mm (extracte)		
	Busuioc	Cimbru	Rozmarin
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	26,3±0,6	26,3±0,6	21,3±0,2
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	11,0±0,4	25,3±0,6	18,3±0,5
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	8,3±0,6	13,7±0,7	18,7±0,3
<i>G. stearothermophilus</i> ATCC 7953	15,3±0,5	20,0±0,5	27,0±0,6
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	11,0±0,3	29,3±0,6	19,0±0,4
<i>E. coli</i> ATCC 25922	8,6±0,7	10,0±0,7	15,0±0,6
<i>S. Abony</i> NCTC 6017	9,0±0,5	8,0±0,7	13,0±0,5

Rezultatele activității antibacteriene au arătat că toate extractele din plante au demonstrat activitate antibacteriană împotriva microorganismelor testate, cel mai activ extract s-a dovedit a fi extractul din cimbru (tab. 3.4).

3.1.4 Activitatea antimicrobiană a pulberilor vegetale asupra *L. monocytogenes* ATCC 19118, *L. monocytogenes* EGDe (godeuri)

Listeria monocytogenes este un microorganism Gram pozitiv facultative anaerob, temperatură optimă de creștere ce variază între limitele de la - 0,4 °C la 45 °C (Osek et al., 2022). *Listeria*

monocytogenes este un microorganism psicrotrofic (capabil să crească și să se înmulțească în timpul depozitării la rece) și doar câteva celule prezente în produsul final se pot înmulți până la un nivel periculos pentru consumatori (Sandulachi et al., 2020).

Scopul studiului a fost de-a determina activitatea antibacteriană a pulberilor și extractelor de fructe de pădure pe *L. monocytogenes*. S-a utilizat tulpina de referință *Listeria monocytogenes* ATCC 19118. S-a testat activitatea antibacteriană a pulberilor din fructe de pădure: cătina, aronia, măceșe, păducel și tescovina (tab. 3.5). Argumentele pentru determinarea sensibilității listeriilor față de aceste preparate a fost că aceste bacterii au capacitate de a se multiplica și a supraviețui în condiții extreme a mediului.

Tabelul 3.5. Activitatea antimicrobiană a pulberilor vegetale asupra *Listeria monocytogenes* ATCC 19118

Pulbere	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19118
	Diametrul zonei de inhibiție completă a creșterii (mm)
Cătina	22,5±0,3
Șrot de cătina	16,3±0,3
Aronia	-
Tescovina de struguri	12,5±0,3
Măceșe	16,3±0,3
Șrot de măceșe	17,8±0,4
Păducel	-

Notă: - preparatele nu au fost active asupra *Listeria monocytogenes*

Conform rezultatelor obținute observăm ca cea mai înaltă activitate înregistrată față de *L. monocytogenes* ATCC 19118 a fost demonstrată de pulberile de cătină cu zona de inhibiție de 22,5 mm, urmată de măceș șrot cu zonă de inhibiție 17,8 mm (fig. 3.4).



Figura 3.4. Activitatea pulberilor vegetale asupra *L. monocytogenes* ATCC 19118

Păducelul și aronia nu au activitate împotriva acestei tulpini. În concluzie putem afirma că asupra *L. monocytogenes* un efect semnificativ a demonstrat-o cătina, dar împotriva acțiunii păducelului și aroniei este rezistentă. De asemenea, activitatea antimicrobiană a extractelor vegetale a fost determinată și pe tulpini din colecția EGDe (tab. 3.6).

Testări similare s-au efectuat asupra *L. monocytogenes* EGDe, oferită de universitatea Galați. Pentru determinarea efectului antibacterian s-au utilizat extracte hidrosolubile și liposolubile obținute din cătina, păducel, aronie, tescovină, măceșe.

Tabelul 3.6. Activitatea antimicrobiană a pulberilor vegetale asupra *L. monocytogenes* EGDe

Extracte lichide*	<i>Listeria monocytogenes</i> EGDe				
	diametrul zonei de inhibiție a creșterii (mm)				
	Cătină	Măceș	Tescovină	Aronie	Păducel
C1	32,4±0,3	20,5±0,5	20,5±0,5	12,4±0,5	0
C2	30,2±0,4	21,5±0,4	20,5±0,5	9,5±0,4	0
H1	29,4±0,5	21,3±0,4	n/t	15,5±0,1	0
H2	30,2±0,3	22,2±0,3	n/t	16±0,2	0
P1	27,5±0,3	26,4±0,3	n/t	n/t	0
P2	27,4±0,3	25,5±0,5	n/t	n/t	0

Notă: C - concentrat 1,2; L – extract liposolubil 1,2; P. - proba 2016 1,2; n/t - nu s-a testat din cauza extractelor nedisponibile.

Extractul C1 din cătină a prezentat cel mai pronunțat efect față de *L. monocytogenes* EGDe (cu o zonă de inhibiție de 32 mm), urmată de C2 și H2, H1 (cu o zonă de inhibiție echivalentă de 30,29. În cazul *L. monocytogenes* ATCC 19118, este de remarcat faptul că preparatele din păducel nu au fost active și la fel împotriva *L. monocytogenes* EGDe (tulpina de referință oferită de universitatea Dunărea de jos) (tab. 3.6).

3.2 Determinarea concentrațiilor minime inhibitoare a pulberilor vegetale

Există diferite tehnici *in vitro* pentru a testa concentrațiile minime inhibitoare (CMI) și concentrațiile minime bactericide (CMB) pentru a determina sensibilitatea sau rezistența la antimicrobiene a microorganismelor. Scopul studiului a fost de-a determina dacă agentul etiologic este rezistent sau sensibil la agenții antimicrobieni naturali testați.

3.2.1 Determinarea CMI și CMB ale pulberilor vegetale prin metoda diluțiilor succesive în medii lichide

Testările au fost efectuate prin metoda diluțiilor succesive în medii lichide, cu repicarea ulterioară pe mediul în plăci (tab. 3.7).

Tabelul 3.7. Concentrații minime inhibitoare (CMI*) și concentrații minime bactericide (CMB*) a pulberilor vegetale asupra microorganismelor patogene.

Pulbere	<i>S. aureus</i> ATCC 25923		<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883		<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	
	CMI* mg/mL	CMB* mg/mL	CMI* mg/mL	CMB* mg/mL	CMI* mg/mL	CMB* mg/mL	CMI* mg/mL	CMB* mg/mL
Cătină	1,95±0,12	3,90±0,23	7,81±0,37	15,6±0,7	15,6±0,5	31,25±1,25	3,90±0,15	7,81±0,21
Șrot de cătină	15,63±0,33	31,25±1,03	62,50±2,37	125±5,0	62,5±2,1	125±5,0	7,81±0,19	15,62±0,41
Aronia	15,63±0,37	31,25±0,62	-	-	-	-	31,25±0,98	62,5± 1,8
Tescovină	7,81±0,19	15,62±0,41	62,50±1,57	125±5,0	-	-	7,81±0,37	15,6±0,7
Măceșe	3,91±0,15	7,81±0,21	31,25±0,98	62,5±1,8	62,5±2,1	125±5,0	7,81±0,37	15,6± 0,7
Păducel	41,67±0,56	83,33±1,23	62,50±1,87	125±5,0	-	-	41,67±0,56	83,33±1,23
Șrot de măceș	3,91±0,23	7,81±0,29	31,25±0,71	62,5±2,5	62,5±2,1	125±5,0	7,81±0,19	15,62±0,41

Notă: *Valorile testelor realizate în triplicate, medie ±eroare standard (SE), analiza statistică – ANOVA, ($\alpha \leq 0,05$), GraphPad 5

S-a demonstrat că cea mai mică concentrație inhibitoare și bactericidă asupra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 o au pulberile vegetale din cătină albă, cu o concentrație minimă inhibitoare de 1,95±0,12 mg/mL, urmată de șrot și de pulbere de măceș (3,91±0,15

mg/mL) și tescovina de struguri ($7,81 \pm 0,19$ mg/mL). În cazul *E. coli* și *K. pneumoniae* concentrații minime inhibitoare și bactericide manifestă doar pulberea de cătină albă. Aronia nu manifestă activitate asupra bacteriilor Gram negative luate în studiu. Preparatele din măceșe și păducel atestă acțiune slabă asupra *E. coli* ATCC 25922, dar *K. pneumoniae* ATCC 13883 este rezistentă la păducel. Este de remarcat că aceste preparate au efect vădit și asupra *B. subtilis* (tab. 3.7).

3.2.2 Determinarea concentrațiilor minime inhibitoare ale pulberilor vegetale (în timp) prin metoda microdiluțiilor

Datele obținute prin difuzie în godeuri a pulberilor brute și extractelor au sugerat că acestea au avut o activitate antibacteriană potențială împotriva bacteriilor Gram pozitive și Gram negative. Preparatele vegetale au demonstrat activitate antibacteriană diversă, în continuare aceste extracte au fost testate pe tulpini Gram pozitive și Gram negative pentru a determina concentrațiile minime inhibitoare și concentrațiile minime bactericide (tab.3.8).

Tabelul 3.8. Determinarea CMI* și CMB* ale extractelor vegetale (în timp) prin metoda microdiluțiilor asupra microorganismelor patogene

Tulpini de referință	CMI/CMB	Extr C6	Extr R1	Extr AGA	Extr R4	Ms.S
<i>E. coli</i> CCM 3954	CMI50	65,21	15,46	15,46	15,46	15,46
	CMB90	67,18	18,12	18,12	18,12	18,12
<i>B. cereus</i> CCM2010	CMI50	5,82	15,46	8,26	8,26	8,26
	CMB90	7,23	18,12	10,42	10,42	10,42
<i>L. monocytogenes</i> CCM 4699	CMI50	34,83	15,46	8,26	15,46	5,82
	CMB90	37,23	18,12	10,42	18,12	7,23
<i>B. subtilis</i> CCM 1991	CMI50	34,83	34,83	15,46	8,26	8,26
	CMB90	37,23	37,23	18,12	10,42	10,42
<i>P. aeruginosa</i> CCM3955	CMI50	34,83	65,21	15,46	15,46	8,26
	CMB90	37,23	67,18	18,12	18,12	10,42
<i>S. Enteritidis</i> CCM4420	CMI50	15,46	8,26	8,26	8,26	8,26
	CMB90	18,12	10,42	10,42	10,42	10,42
<i>S. sonnei</i> CCM 4421	CMI50	34,83	15,46	129,26	15,46	8,26
	CMB90	37,23	18,12	131,46	18,12	10,42
<i>C. perfringens</i> CCM 4991	CMI50	15,46	15,46	34,83	15,46	15,46
	CMB90	18,12	18,12	37,23	18,12	18,12
<i>S. aureus</i> CCM2461	CMI50	34,83	34,83	15,46	5,82	8,26
	CMB90	37,23	37,23	18,12	7,23	10,42

Notă: CMI - concentrația minimă inhibiție, CMB - concentrația minimă bactericidă; $p \leq 0,05$.

Rezultatele obținute (tab. 3.8) au indicat niveluri diferite a CMI în funcție de tulpina bacteriană testată. Astfel activitatea extractelor ale celor cinci tipuri de preparate naturale (obținute din cătină), CMI a variat de la 67,18 $\mu\text{g/mL}$ la 5,82 $\mu\text{g/mL}$. Extractul C6 a prezentat cele mai slabe CMI dintre toate extractele testate. Toate bacteriile testate au prezentat niveluri diferite de CMI la R1 și C6. Cea mai scăzută CMI observată în extractul R1 a fost de 8,26 $\mu\text{g/mL}$ pentru *S. Enteritidis*, în timp ce extractul AGA din aceeași plantă a înregistrat cel mai mic CMI pentru *B. cereus*, *L. monocytogenes* și *S. Enteritidis* cu o valoare de 8,26 $\mu\text{g/mL}$. Cea mai mica valoare CMI pentru R4 a fost 5,82 $\mu\text{g/mL}$ la *S. aureus*, iar Ms. Sandu a înregistrat CMI de 5,82 $\mu\text{g/mL}$ împotriva *L. monocytogenes*. Se menționează că aceste preparate peste un interval de timp au demonstrat activitate antibacteriană, ceea ce a fost demonstrat prin metodele calitative și cantitative (tab. 3.8).

3.2.3 Determinarea CMI și CMB a extractelor din busuioc, cimbru, rozmarin

Testarea concentrației minime inhibitorii a demonstrat că toate extractele de plante testate au prezentat activitate antibacteriană împotriva tulpinelor de testat *B. cereus*, *E. faecalis*, *C. albicans*, *G. stearothermophilus* cu valori CMI variind de la 0,7 mg/mL a 45 mg/mL.

Extractele testate au prezentat niveluri diferite de activitate antimicrobiană în funcție de speciile testate, așa cum se indică în tabelul 3.9.

Tabelul 3.9. CMI și CMB ale extractelor din busuioc, cimbru, rozmarin

Tulpini de referință	Concentrația plantei din extract, mg/mL					
	Busuioc		Cimbru		Rozmarin	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	22,5	22,5	2,8	5,6	0,7	0,7
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	45,0	90,0	5,6	5,6	2,8	11,2
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	22,5	22,5	5,6	11,2	2,8	5,6
<i>G. stearothermophilus</i> ATCC 7953	11,2	22,5	1,4	2,8	0,7	1,4

Notă: CMI – concentrația minimă inhibitorie; CMB – concentrația minimă bactericidă; $p \leq 0,05$.

Cel mai activ dintre extractele menționate în tabelul 3.9 a fost extractul de rozmarin. Acesta la concentrația de 0,7 mg/ml are acțiune bacteriostatică și bactericidă asupra *B. cereus* și *G. stearothermophilus* (CMB 1,4 mg/mL) și extractul de cimbru a demonstrat valori CMI între 1,4 și 5,6 mg/mL (tab. 3.9). Efect antibacterian vădit acest extract îl posedă asupra *G. stearothermophilus*. Cele mai joase valori CMI a prezentat extractul de busuioc cu valori cuprinse între 11,2 și 45 mg/mL. Extractele de cimbru, busuioc și rozmarin au un efect pronunțat asupra *G. stearothermophilus*. Din toate preparatele naturale testate în acest studiu menționăm că extractele de cimbru, rozmarin și busuioc au avut activitate asupra *C. abicans* (tab. 3.9).

3.2.4 Determinarea concentrațiilor minime de inhibiție (CMI) și concentrațiilor minime bactericide a pulberilor vegetale asupra *L. monocytogenes* ATCC 19118

S-au determinat și valorile CMI și CMB prin metoda diluțiilor succesive în bulion asupra *L. monocytogenes* (tab. 3.10). Acest microorganism este considerat unul dintre cei mai importanți agenți patogeni responsabili de infecțiile alimentare. *L. monocytogenes* este un agent patogen bacterian oportunist care are capacitatea de a supraviețui în condiții extreme de mediu întâlnite în natură și în lanțul alimentar, cum ar fi concentrații mari de sare, interval mare de pH, uscare și temperaturi scăzute (Sandulache et al., 2020).

Tabelul 3.10. Determinarea CMI și CMB a pulberilor vegetale asupra *Listeria monocytogenes* ATCC 19118

Pulbere	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19118	
	CMI*, mg/mL	CMB*, mg/mL
Cătina	31,25	62,5
Șrot de cătina	62,5	125
Tescovina de struguri	125	250
Măceșe	62,5	125
Șrot de măceșe	62,5	125

*Nota CMI- cantitatea minimă de inhibitoare, CMB - cantitatea minimă bactericidă ; $p \leq 0,05$.

Rezultatul testului de determinare a concentrației minime de inhibiție a indicat diferite valori a CMI în funcție de preparatul testat. Cel mai puternic efect dintre preparate o are cătina. Acest preparat la concentrația de 62,5 mg/mL manifestă acțiune bactericidă asupra *L. monocytogenes* ATCC19118. Rezultatele obținute corelează pozitiv cu datele bibliografice.

Astfel, cătina (*Hippophae rhamnoides L.*) asigură destabilizarea și permeabilizarea membranei citoplasmatică, inhibarea enzimatică de către produșii oxidați (Negi et al., 2005). Are loc inhibarea sintezei acizilor nucleici a bacteriilor Gram-negative și Gram-pozitive. Se produce bacteriostază prin deteriorarea a membranelor celulare (Cristi et al., 2020). Tescovina de struguri manifestă efect moderat asupra *L. monocytogenes* ATCC 19118, cu valorile CMI și CMB respective de 125 mg/mL și 250 mg/mL.

3.2.5 Determinarea concentrațiilor minime de inhibiție a pulberilor vegetale asupra *L. monocytogenes* EGDe

Preparatele utilizate pentru a determina efectul antibacterian asupra *L. monocytogenes* ATCC19118 au fost testate și asupra tulpinei de *L. monocytogenes* EGDe (univ. Dunărea de jos, Galați, România). Au fost utilizate extracte concentrate și pudre de cătină, măceșe, aronie, păducel. S-a determinat CMI cu ajutorul spectrofotometrului, se măsoară DO la o $\lambda = 600$ nm. Tot ce este peste valoare 0,1 la DO se consideră creștere microbiană. Cătina a demonstrat proprietăți antimicrobiene pentru *L. monocytogenes* mai pronunțate decât măceșul. CMI a extractelor hidroalcoolice pentru fiecare dintre C1, H1, H2, proba 1, 2, împotriva *L. monocytogenes* au fost 2,6 mg/mL și respectiv pentru C2 – 5,2 mg/mL (fig. 3.5a). Extractele hidroalcoolice de măceșe au manifestat un efect mai diminuat asupra *L. monocytogenes* cu valori echitabile ale CMI de 4,2 mg/mL pentru extracte concentrate, hidroalcoolice și liposolubile(C1, H1, H2, L1 și L2)(fig. 3.5b).

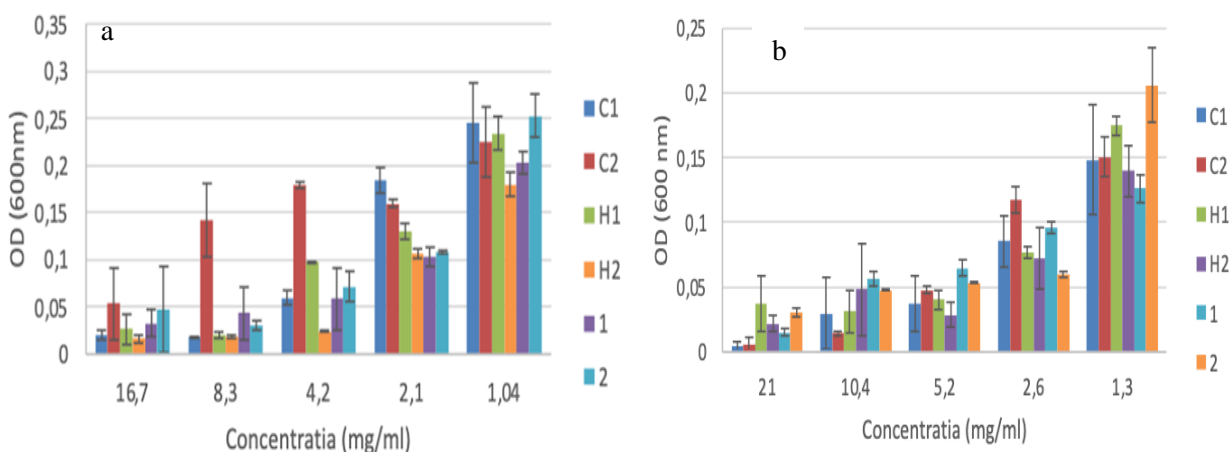


Figura 3.5. Concentrația minimă inhibitorie a extractelor vegetale pentru *L. monocytogenes* EGDe a) cătină, b) măceșe

Comparativ cu tescovina, aronia a fost mai activă, CMI constituie 1,9; 3,9 și 7,8 mg/mL pentru H1, H2, C1,2. Probabil că aceste proprietăți se datorează compoziției chimice a cătinii și a măceșului, ceea ce confirmă rezultatele unor studii anterioare (Efenberger et al., 2021; Sandulachi et al., 2020), Cătina manifestă cel mai pronunțat efect asupra *L. monocytogenes*, în special extractul concentrat 1 și 2, urmat de măceșe și tescovina de struguri din soiuri roșii. S-a constatat, că aceste preparate au acțiune antibacteriană diferită, care depinde de specia de microorganisme. Bacteriile Gram pozitive sunt mai susceptibile față de toate tipurile de cătină.

3.3 Activitatea antimicrobiană și antioxidantă a extractelor – mecanisme de interacțiune

Polifenolii și carotenoidele servesc drept conservanți în procesarea alimentelor. Alterarea alimentelor și toxiinfecțiile alimentare cauzate de creșterea bacteriilor patogene sunt probleme majore în industria alimentară. Există un interes pentru utilizarea conservanților naturali activi.

Astfel, prezintă importanță deosebită, cercetarea mecanismelor de acțiune antimicrobiană și antioxidantă a compușilor bioactivi din plante (Finley et al., 2011; Poljsak et al., 2021).

3.3.1 Compoziția extractelor din tescovină de struguri și fructe de pădure

Antioxidanții sunt capabili să oprească aceste reacții în lanț prin oxidarea cu radicalii liberi și blocând astfel acțiunea lor. Aceste proprietăți sunt caracteristice mai multor familii de compuși chimici: tioli, fenoli, carotenoizi etc. În tabelul 3.11 este prezentată compoziția polifenolilor individuali, identificați în extracte hidroetanolicе din fructe de pădure și tescovina de struguri (metoda HPLC) (Sandulachi et al., 2020; Ghendov-Mosanu et al., 2022).

Tabelul 3.11. Polifenoli individuali identificați în extracte hidroetanolicе din fructe de pădure și tescovina de struguri

Polifenoli	Cătină, mg/100mL	Măceșe, mg/100mL	Aronia, mg/100mL	Tescovină de struguri, mg/100mL
Acid galic	0,16±0,01	0,85±0,01	0,39±0,01	1,95±0,01
Acid <i>m</i> -hidroxibenzoic	0,020±0,002	0,020±0,001	0,13±0,01	0,010±0,002
Acid protocatehic	0,98±0,01	0,43±0,01	1,88±0,01	0,32±0,01
Acid <i>p</i> -hidroxibenzoic	0,21±0,01	0,19±0,01	0,21±0,01	0,34±0,01
Acid gentisic	0,15±0,01	0,27±0,01	-	-
Acid vanilic	0,17±0,01	0,13±0,01	0,09±0,01	-
Acid salilic	24,48±0,05	1,07±0,01	2,65±0,02	-
Acid siringic	-	-	0,05±0,01	0,19±0,01
Acid <i>p</i> -cumaric	0,010±0,002	0,010±0,001	0,06±0,01	-
Acid ferulic	2,19±0,01	0,32±0,01	5,51±0,03	0,82±0,01
Acid cafeic	0,006±0,001	-	0,09±0,01	-
Acid sinapic	0,13±0,01	-	0,08±0,01	0,008±0,001
Catehină	-	2,05±0,01	15,41±0,15	1,34±0,01
Epicatehină	0,37±0,01	0,49±0,01	4,7±0,02	-
Quercetină	0,030±0,005	0,020±0,001	-	0,19±0,01
Hiperozidă	38,53±0,02	0,41±0,01	0,97±0,01	0,37±0,01
Procianidină B1	0,19±0,01	0,70±0,01	0,27±0,01	1,33±0,01
Procianidină B2	0,10±0,01	1,75±0,01	0,12±0,01	15,34±0,15
Acid clorogenic	1,43±0,02	-	-	-
Polidatină	5,40±0,01	0,06±0,01	1,27±0,01	-
<i>Trans</i> -resveratrol	1,20±0,01	-	0,005±0,001	-
<i>Cis</i> -resveratrol	4,17±0,01	0,010±0,001	0,011±0,001	-
Esterul metilic al acidului ferulic	25,43±0,02	1,44±0,01	1,48±0,02	0,74±0,01

Notă: *rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard

Extractele din fructe de cătină conțin cantități semnificative de acid salilic (24,48 mg/100 mL), hiperozidă (38,53 mg/100 mL), ester metilic al acidului ferulic (25,43 mg/100 mL) alte substanțe se conțin în cantități mai mici. extractele din măceșe au cantități importante de substanțe, precum derivații acidului hidroxibenzoic, acidului hidroxicinamic, flavone, flavonoide și esterul metilic al acidului ferulic. principalii compuși fenolici detectați în extractul de aronia au fost catechina (15,41 mg/100 mL), epicatechina (4,7 mg/100 mL) ș.a. S-a constatat, că extractele utilizate prezintă surse bogate în substanțe bioactive. extractele de tescovină de struguri conțin cantități semnificative de procianidină B2, acid galic, catehină, procianidina B1, acidul ferulic.

3.3.2 Compoziția și activitatea antioxidantă a extractelor de busuioc

Conținutul total de polifenoli determinat din extractul de busuioc a fost de 26,18 mg GAE/g s.u. Polifenolii individuali au fost identificați prin cromatografie lichidă de performanță cuplată cu mass-spectrometrul ESI echipată și matrice de fotodiode (HPLC-DAD-ESI-MS) (tab. 3.12).

Tabelul 3.12. Conținutul de polifenoli totali și individuali și activitatea antioxidantă a extractului de busuioc utilizat pentru experimente

Indici	Conținut
Conținutul total de polifenoli (Folin–Ciocâlțeu), mg GAE/g s.u.	26,18 ± 0,21
Epigallocatechină, mg/g s.u	0,72 ± 0,09
Acid cicoric, mg/g s.u	1,00 ± 0,13
Quercetină-rutinozidă, mg/g s.u	0,75 ± 0,02
Luteolin-glucozidă, mg/g s.u	0,85 ± 0,05
Acid dehidrodiferulic, mg/g s.u	3,10 ± 0,26
Acid rosmarinic, mg/g s.u	13,81 ± 0,57
Rosmarinat de metil, mg/g s.u	17,08 ± 0,39
Carnosol, mg/g s.u	4,78 ± 0,06
Rosmadial, mg/g s.u	6,45 ± 0,01
Neidentificate	8,46 ± 0,17
Activitate antioxidantă (DPPH), mM TE/g s.u	644 ± 21
Activitate antioxidantă (ABTS), mM TE/g s.u	8,95 ± 0,03

Notă: DPPH—2,2-difenil-1-picrilhidrazil; ABTS—2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid). Valorile din tabel reprezintă mediile a trei încercări replicate ± abaterea standard.

Un total de nouă compuși fenolici au fost detectați în extractul de busuioc (tab. 3.12). Compușii au fost atribuiți acizilor fenolici și clasei de flavonoide. Metil-rosmarinatul și acidul rosmarinic s-au dovedit a fi cele mai abundente (17,08 și respectiv 13,81 mg/g s.u.). Rezultatele obținute în acest studiu sunt în concordanță cu alte studii (Khatib, S. et al, 2021; Romano et al., 2022) unde acidul rosmarinic este raportat ca fiind cel mai reprezentat acid fenolic în busuioc. Conținutul acidului cicoric și acidului dehidro-diferulic reprezintă 1,3 mg/g s.u. și, respectiv, 3,1 mg/g s.u.

3.3.3 Activitatea antioxidantă a extractelor de fructe de pădure și tescovină de struguri

Activitatea antioxidantă a extractelor de fructe de pădure și tescovină a fost determinată după o perioadă de păstrare de 2 ani. Capacitatea de captare a radicalilor liberi a extractelor a fost evaluată utilizând testul 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) utilizat pe scară largă. Testul DPPH oferă un mod ușor și rapid de estimare a activității antioxidante. Acest test se bazează pe transferul de electroni. DPPH produce o soluție violetă în etanol sau metanol. Au fost efectuate testări ce vizau analiza comparativă a activității antioxidante a extractelor de cătină albă și tescovină în funcție de concentrația lor. Rezultatele testelor efectuate pentru extractul din soiul B1 (Bulgac) sunt prezentate în figura 3.6.

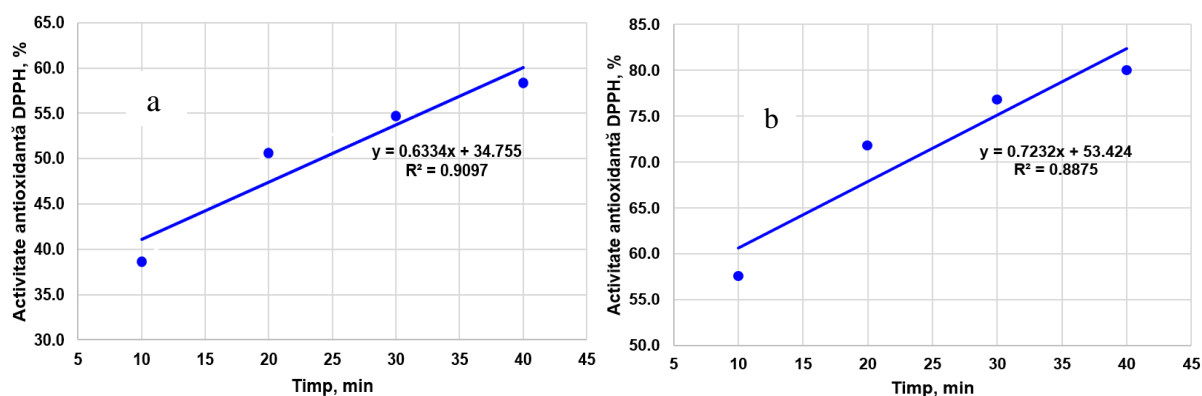


Figura 3.6. Activitatea antioxidantă a extractului de tescovină de struguri (soiul B-1): a – extract pur (1 g extract uscat + 25 mL of 96 % etanol); b – raport 1:2 (1 parte extract + 1 parte etanol).

S-a constatat, că extractul pur (fig. 3.6 a) asigură o AA de 80 % DPPH inhibat. În cazul extractului diluat cu etanol în proporție de 1:2, AA constituie 60 % (fig. 3.6 b). Astfel, reducerea concentrației extractului la 50 % poate fi asociată scăderii potențialului antioxidant cu 25%. Astfel, diluția finală selectată a fost de 1 la 2 (1:2) ($y = 0,6334x + 34,755$, $R^2 = 0,9097$).

Cercetările efectuate au demonstrat, că la concentrații mari de extract curbele cinetice ale modificărilor activității antioxidante în timp sunt mai paralele cu axa X (timp). Activitatea antioxidantă totală constituie 80 – 85 % și nu depinde într-o măsură considerabilă de volumul extractului.

4 Analiza *in situ* a acțiunii microbiostatice și microbicide a unor extracte și pudre vegetale

Deși activitatea microbiostatică plantelor vegetale reprezintă o sursă promițătoarea de soluții alternative pentru utilizarea lor în scopul diminuării contaminării microbiene a materiei prime și produselor alimentare, eficacitatea acestor compuși se demonstrează a fi semnificativ mai redusă *in situ*, după includerea lor în matricea alimentelor reale, decât *in vitro*. În cadrul tezei au fost examinate efectele microbiostatice și microbicide ale unor extracte și pudre vegetale în diferite categorii de produse contaminate cu microorganisme, capabile să le colonizeze accidental.

4.1 Evaluarea *in situ* a acțiunii antimicrobiene a extractelor și pudrelor de fructe de pădure în produse din carne

S-a determinat creșterea tulpinilor microbiene *in situ* (crenvrurști), în proba martor și în cele cu adaos de măceși și păducel în concentrație de 0,5 %. Probele contaminate s-au incubat la 37 °C pentru 24, 48, 72 și 96 ore. În tabelul 4.1 sunt prezentate rezultatele monitorizării creșterii tulpinilor patogene *in situ*.

Tabelul 4.1. Numărul de colonii microbiene dezvoltate în probele de crenvrurști contaminați

Tulpina Ziua/Proba	<i>S. aureus</i> ATCC 25923		<i>S. Abony</i> ATCC 6017		<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883		<i>E. coli</i> ATCC 25922		
	10 ⁻³	10 ⁻⁶	10 ⁻³	10 ⁻⁶	10 ⁻³	10 ⁻⁶	10 ⁻³	10 ⁻⁶	
Ziua 1	PM	552	78	difuz	>700	difuz	168	difuz	488
	Măceșe	228	16	difuz	120	difuz	88	difuz	64
	Păducel	96	1	difuz	248	difuz	103	difuz	88
Ziua 2	PM	>1000	268	difuz	>800	difuz	346	difuz	596
	Măceșe	440	23	difuz	228	difuz	114	difuz	264
	Păducel	176	3	difuz	480	difuz	144	difuz	152
Ziua 3	PM	>1000	396	difuz	difuz	difuz	412	difuz	>700
	Măceșe	560	49	difuz	392	difuz	300	difuz	960
	Păducel	222	4	difuz	>1000	difuz	760	difuz	344
Ziua 4	PM	difuz	416	difuz	difuz	difuz	560	difuz	difuz
	Măceșe	difuz	280	difuz	>1000	difuz	372	difuz	difuz
	Păducel	144	3	difuz	>1000	difuz	896	difuz	364

Notă: PM- Proba Martor

Comparând rezultatele obținute am constatat că probele ce conțin adaos de măceșe și păducel au o capacitate mai mare de-a inhiba dezvoltarea tulpinilor testate în comparație cu proba martor. Probele ce conțin păducel au demonstrat un efect mai pronunțat de inhibiție asupra tulpinilor de *S. aureus* ATCC 25923.

Probele cu adaos de fructe de pădure au un efect mai diminuat asupra tulpinilor de bacterii Gram negative ce au fost luate în studiu (fig. 4.1), preponderent asupra tulpinilor de *S. Abony* ATCC 6017.

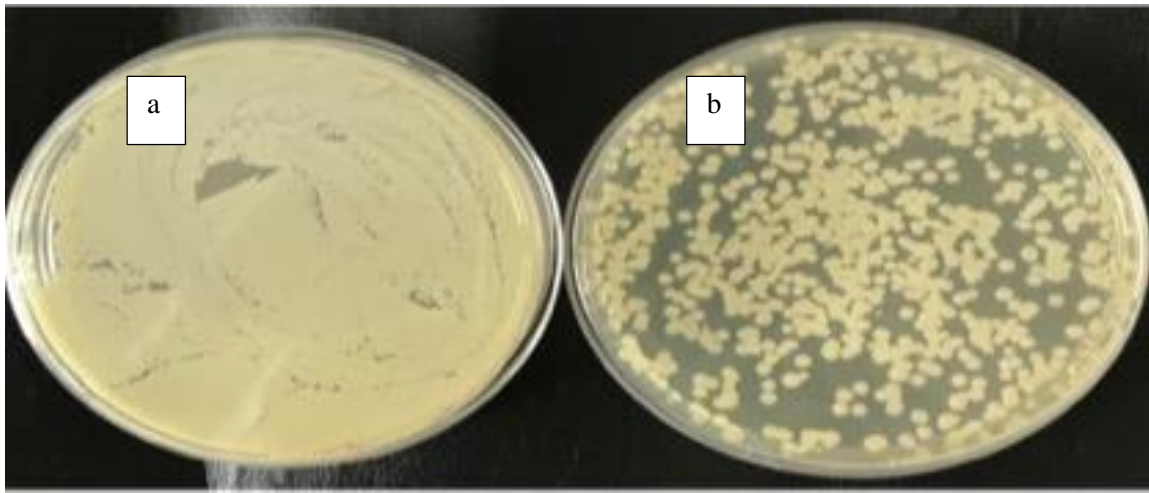


Figura 4.1. Colonii de *Klebsiella pneumoniae* dezvoltate din probele de crenvurști testate după 96 ore (a – proba martor; b – proba cu păducel).

Faza *Lag* (fig.4.2) este definită ca perioada inițială din viața unei populații bacteriene când celulele se adaptează la un nou mediu înainte de a începe creșterea exponențială. Un mic grup de celule sunt plasate într-un mediu bogat în nutrienți, care le permite să sintetizeze proteine și alte molecule necesare pentru replicare. Aceste celule cresc în dimensiune, dar în fază nu apare nici o diviziune celulară (Cojocari et al., 2019). După faza de întârziere, celulele bacteriene intră în faza exponențială, unde are loc diviziunea celulară. În această fază de creștere, antibioticele și dezinfectantele sunt cele mai eficiente.

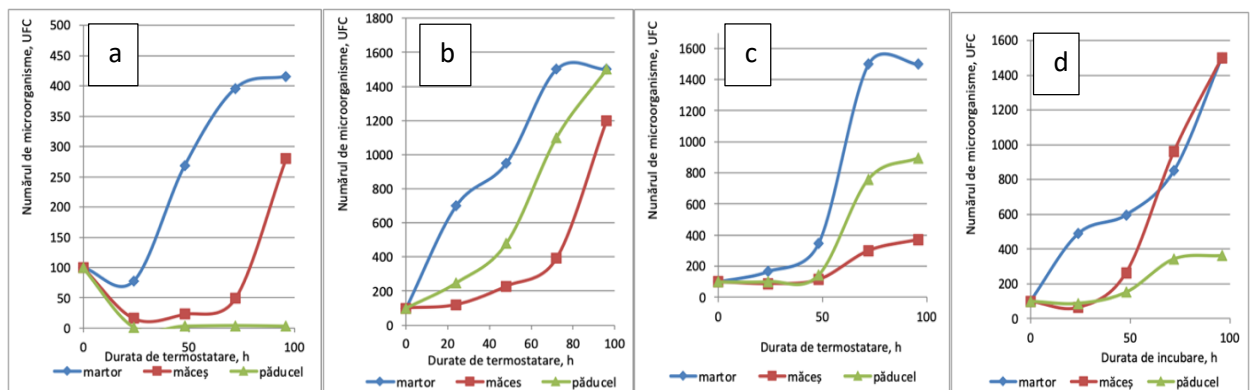


Figura 4.2. Faza *Lag* și Faza *Exponențială* a tulpinilor patogene în probele de crenvurști; (perioada de testare 96 h) a) *S. aureus* ATCC 25923; b) *S. Abony* ATCC 6017; c) *K. pneumoniae* ATCC 13883; d) *E. coli* ATCC 25922

În figura 4.2. se observă că adaosurile de păducel și măceș în probele de crenvurști au mărit faza de *lag* pentru tulpinile de microorganisme inoculate și au diminuat rata de creștere a microorganismelor patogene. În cazul *S. aureus* (fig. 4.2a) adaosul de pudră de păducel inhibă vădit creșterea microorganismelor în perioada evaluată. Pentru *E. coli* (fig. 4.2d) păducelul este, de asemenea, cel mai eficient pentru stagnarea dezvoltării microorganismelor patogene în produsele din carne. În cazul *K. pneumoniae* (fig. 4.2c) efectul pulberii de măceșe este cel mai marcant. Pentru *S. Abony* faza *lag* este observată pe parcursul a 80 ore (crenvurști cu pulbere de măceșe) și de cca 40 h pentru produsele cu adaos de păducel (fig. 4.2b).

În rezultatul testărilor efectuate s-a constatat că adaosul de măceș și păducel în rețeta de fabricare a crenvurștilor poate ține sub control rata de creștere a microorganismelor, inclusiv a celor patogene.

4.2 Evaluarea *in situ* a acțiunii antimicrobiene a unor extracte și pudre vegetale în crema de brânză

Crema de brânză prezintă un mediu favorabil pentru creșterea microorganismelor patogene și oferă condiții de alterare a produsului (Popescu et al., 2023). Scopul acestui studiu a fost de a evalua efectul adăugării de pulberi de fructe de pădure la rețeta de crema de brânză asupra microorganismelor patogene care pot infecta accidental produsul finit. După evaluarea activității antibacteriene la contact direct a extractelor și pulberilor din diverse fructe de pădure și plante, s-a determinat efectul lor bacteriostatic *in situ*, crema de brânză (tab. 4.2).

Tabelul 4.2. Reducerea creșterii microbiene în probele cu cremă de brânză cu adaos de pulberi de fructe de pădure

Proba	Diluții	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		<i>Salmonella Abony</i> ATCC 6017		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	
		I zi, UFC	II zi, UFC	I zi, UFC	II zi, UFC	I zi, UFC	II zi, UFC
S1	10 ⁻⁶	>1000	171	>1000	432	242	125
S3	10 ⁻⁶	38	1	11	1/c	12	1/c
S6	10 ⁻⁶	40	28	42	5	1/c	1/c
S9	10 ⁻⁶	71	51	1/c	1/c	2	1/c
S12	10 ⁻⁶	28	1/c	66	10	6	1/c

Notă: UFC - unități formatoare de colonii, 1/c - lipsa creșterii.

În acest studiu au fost investigate microbiologic următoarele probe cu adaos de pulbere de fructe de pădure (tab. 4.2): cremă de brânză – probă martor – (S1); cremă de brânză cu 2 % pulbere de măceș – (S3); cremă de brânză cu 2 % pulbere de cătină – (S6); cremă de brânză cu pulbere de aronia 2 % – (S9); cremă de brânză cu 2 % pulbere de păducel – (S12). Rezultatele testelor au evaluat efectul antimicrobian al pulberilor de fructe de pădure asupra microorganismelor patogene (*S. Abony*, *S. aureus*, *E. coli*). S-a stabilit că adăugarea de pulberi de fructe de pădure (măceș, aronia, cătină și păducel) poate menține sub control rata de creștere a microorganismelor, inclusiv a agenților patogeni. Cel mai relevant efect antimicrobian a fost observat în cazul pulberilor de fructe de pădure adăugate în cremă de brânză asupra tulpinilor testate de *E. coli*. Pulberile de măceș și aronia adăugate în cremă au manifestat un efect antimicrobian major asupra tulpinilor de *Salmonella*. Adăugarea pulberilor de păducel a manifestat un efect antimicrobian asupra *S. aureus*.

4.3 Efectul extractului de busuioc microîncapsulat asupra calității și stabilității cremei de brânză

Extractul de busuioc se caracterizează printr-o activitate antioxidantă și antimicrobiană ridicată contribuind la reducerea populației de microorganisme patogene și la extinderea termenului de valabilitate al produselor alimentare perisabile. Adăugarea directă a plantelor aromatice la produsele alimentare este cea mai comună metodă aplicată în industrie (Leri et al., 2020; Eghbal et al., 2022; Romano et al., 2022).

Obiectivul studiului a fost de a evalua activitatea antioxidantă și antimicrobiană a extractului de busuioc (*Ocimum basilicum* L.), eficiența microîncapsulării acestuia și efectul adăugării extractului de busuioc microîncapsulat asupra efectelor senzoriale, fizico-chimice și proprietățile texturale ale cremei de brânză în timpul termenului de valabilitate (tab. 4.3).

Parametrii fizico-chimici ai cremei de brânză nu au fost influențați semnificativ de adăugarea de MBE.

Tabelul 4.3. Parametrii fizico-chimici ai cremei de brânză fortificate cu extract de busuioc microîncapsulat*

Parametrii	Probe				
	CB	0.3% CBMBE	0.6% CBMBE	0.9% CBMBE	1.2% CBMBE
Substanță uscată, %	34,32 ± 0,02	34,50 ± 0,01	34,69 ± 0,02	34,89 ± 0,03	35,09 ± 0,03
Conținut de proteine, %	5,82 ± 0,00	5,78 ± 0,01	5,77 ± 0,01	5,75 ± 0,01	5,73 ± 0,01
Conținut de grăsime, %	23,04 ± 0,00	22,93 ± 0,01	22,86 ± 0,01	22,79 ± 0,01	22,72 ± 0,02

Notă: *CB - cremă de brânză fără extract de busuioc microîncapsulat; CBMBE - cremă de brânză cu extract de busuioc microîncapsulat; mediile a trei încercări ± abaterea standard ($p \leq 0,05$).

Creșterea concentrației de MBE în cremă de brânză a condus la o scădere ușoară a conținutului de proteine și grăsimi în intervalele de 5,82–5,73 % și, respectiv, 23,04–22,72 %. Alginatul de sodiu din compoziția EBM a condus la reținerea apei libere și la zăbircirea (smochinirea) conținutului de substanță uscată a probelor de cremă de brânză.

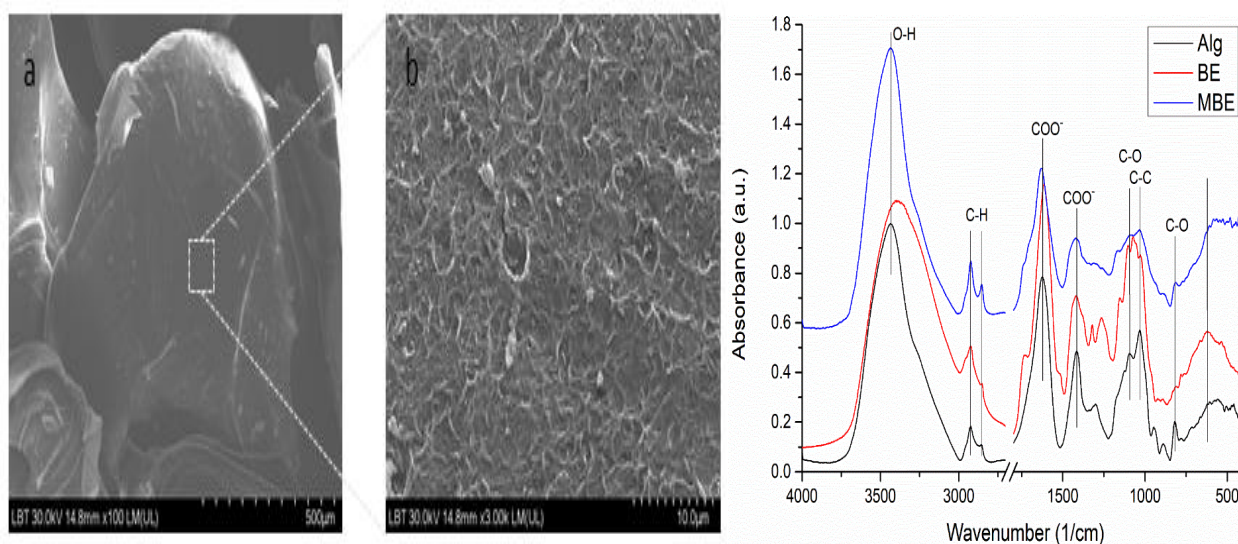


Figura 4.3. Micrografiile MES ale probei de extract de busuioc microîncapsulat (a, b) și spectrele FT-IR ale alginatului de sodiu (Alg), extractului de busuioc (BE) și extractului de busuioc microîncapsulat (MBE), domeniu spectral 4000–400 cm^{-1} și 2700–1800 cm^{-1} .

Busuiocul are aromă specifică, care nu este tolerată de consumatori și nu se asociază cu diferite categorii de produse. În acest context, în cadrul cercetării extractul de busuioc a fost încapsulat în alginatul de sodiu. Analiza imaginilor SEM a arătat că EBM se caracterizează ca microsferă cu suprafață rugoasă, cu dimensiuni variind de la 0,8 până la 1,1 μm (fig.4.3). Spectrul infraroșu cu transformata Fourier (FT-IR) al EBM a evidențiat benzile de vibrație caracteristice grupelor funcționale. Modificările identificate în spectrul EBM în comparație cu spectrele componentelor sale, Alg și EB, pot fi atribuite existenței unor interacțiuni fizice slabe între componente. Prin urmare, prin încapsularea extractului de busuioc cu alginat de sodiu ca material de acoperire, microcapsulele formate pot servi ca purtători de polifenoli pentru alimente (fig.4.3). Valorile pH-ului cremei de brânză îmbogățite cu extract încapsulat de busuioc în timpul de depozitare de 28 de zile la 4 °C sunt prezentate în tabelul 4.4. Ulterior, în timpul de păstrare, pH-ul probei de CB martor, cât și al cremei de brânză cu MBE a scăzut treptat.

Tabelul 4.4. Evoluția valorii pH cremă de brânză fortificată cu extract de busuioc microîncapsulat în timpul păstrării

Termen de păstrare, zile	Probe				
	CB	0,3%CBMBE	0,6%CBMBE	0,9%CBMBE	1,2%CBMBE
1	5,41 ± 0,0 ^h	5,35 ± 0,01 ^g	5,31 ± 0,01 ^f	5,30 ± 0,02 ^{e,f}	5,26 ± 0,01 ^d
7	5,41 ± 0,0 ^h	5,34 ± 0,01 ^g	5,30 ± 0,01 ^{e,f}	5,28 ± 0,01 ^{d,e}	5,24 ± 0,02 ^{c,d}
14	5,35 ± 0,01 ^g	5,31 ± 0,01 ^f	5,30 ± 0,01 ^{e,f}	5,27 ± 0,02 ^{d,e}	5,21 ± 0,01 ^{b,c}
21	5,24 ± 0,01 ^{c,d}	5,27 ± 0,01 ^{d,e}	5,28 ± 0,01 ^{d,e}	5,26 ± 0,01 ^d	5,21 ± 0,01 ^{b,c}
28	5,12 ± 0,01 ^a	5,19 ± 0,01 ^b	5,27 ± 0,01 ^{d,e}	5,25 ± 0,01 ^{c,d}	5,20 ± 0,01 ^b

Notă: CB—cremă de brânză fără extract de busuioc microîncapsulat; CBMBE—cremă de brânză cu extract de busuioc microîncapsulat. Valorile din tabel reprezintă mediile a trei repetiții ± abaterea standard. Literele (a–h) desemnează rezultate diferite din punct de vedere statistic ($p \leq 0,05$).

Aăugarea de EBM în probele de cremă de brânză de la 0,6 la 1,2% a inhibat procesul de post-fermentare în timpul depozitării. Prin urmare, EBM previne dezvoltarea microorganismelor în timpul depozitării, ceea ce demonstrează potențialul lor de conservare.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

1. Extractele și pudrele de cătină, măceșe și tescovină de struguri roșii au manifestat activitate inhibitorie înaltă față de bacteriile *L. monocytogenes* ATCC 19118. Pulberile de măceșe posedă activitate antimicrobiană foarte înaltă față de *S. aureus* ATCC 25923 și *B. subtilis* ATCC 6633. Tulpinile de bacterii Gram negative sunt mai puțin sensibile la efectul pulberilor vegetale în comparație cu bacteriile Gram pozitive (Ghendov-Moșanu et al., 2018; Cojocari et al., 2019; Cojocari et al., 2021; Sturza et al., 2021).
2. A fost testată activitatea antimicrobiană a pulberilor și extractelor din soiurile noi de cătină albă din Republica Moldova (R1, R2, R4, R5, C6, AGG, AGA, Pomona, Mr. Sandu, Seirola) asupra bacteriilor Gram negative, Gram pozitive și levurilor. Efect antibacterian au demonstrat toate soiurile de cătină. Efectul antibacterian a fost analizat și după o perioadă de păstrare (prin congelare) timp de doi ani. Soiurile de cătină și-au păstrat activitatea, cu o ușoară diminuare a activității microbiostatice asupra tulpinilor testate. (Sandulachi et al., 2021; Sandulachi et al., 2022).
3. Extractele de rozmarin, busuioc și cimbru au manifestat activitate antimicrobiană largă, împiedicând proliferarea atât a speciilor bacteriene Gram pozitive, cât și a celor Gram negative, precum și a levurilor. Extractele de rozmarin și busuioc au demonstrat cea mai înaltă activitate asupra tuturor tulpinilor luate în studiu, ceea ce evidențiază potențialul acestor extracte ca agenți antimicrobieni naturali cu aplicații diverse în conservarea alimentelor (Cojocari et al., 2021; Popescu et al., 2021; Macari et al., 2021).
4. A fost analizată compoziția polifenolilor individuali din fructe de pădure, tescovină de struguri și plante aromatice (busuioc). Extractele de tescovină de struguri conțin cantități semnificative de procianidină B2, acid galic, catehină, procianidina B1, acidul ferulic și esterul său metilic. Fructele de cătină conțin cantități semnificative de acid salicilic, hiperozidă, acizi ferulic și clorogenic, esterii lor, polidatină, *cis*- și *trans*- resveratrol. Extractele din măceșe au cantități importante de derivați ai acizilor hidroxibenzoici (salicilic, galic, protocatehic), hidroxicinamic (ferulic), flavone (catehină, epicatehină), flavonoide (procianidină B2 și procianidină B1). Extractele de aronia conțin catechină, epicatechină, acizi hidroxibenzoici, hidroxicinamici și derivații lor, în special acizii galic, para- și metabenzoic, procianidină B1 și B2. Extractele de busuioc conțin cantități

importante de acizi fenolici (metil-rosmarinat, acid rosmarinic, rosmadial, carnosol, acid dehidrodiferulic și acid cicoric) și flavonoide (luteo-lin-glucozidă, querectin-rutinozidă și epigallocatechină).

5. A fost testată activitatea antioxidantă a extractelor de fructe de pădure (cătină, măceșe, aronia) și tescovină de struguri pentru diferite grade de diluție (1:1–1:8). S-a constatat, că deși la scăderea concentrației compușilor biologic activi se atestă reducerea AA (testul DPPH), capacitatea lor de inhibare a radicalilor liberi se păstrează. Majoritatea polifenolilor par să elimine radicalii liberi prin mecanismul de transfer al atomului de hidrogen. Flavonolii prezintă efect antiradicalic mai puternici decât flavonele corespunzătoare datorită prezenței grupării 3-hidroxil. Compușii polifenolici acizi sunt caracterizați printr-un grad ridicat de delocalizare a electronilor p, pentru care deprotonarea cedează speciilor anionice stabilizate prin fenomene de rezonanță, stabilitatea lor fiind sporită de prezența legăturilor de hidrogen (Cojocari et al., 2019; Cojocari, 2023).

6. Efectul microbiostatic al unor fracții vegetale bogate în compuși fenolici a fost analizat *in situ*, pe produse din carne cu adaosuri vegetale. Analiza produselor contaminate cu tulpinile de referință a scos în evidență o activitate antimicrobiană mai pronunțată a pudrelor de măceșe și păducel asupra bacteriilor Gram-pozitive și un efect mai slab asupra bacteriilor Gram-negative. Compararea fazelor Lag și Logaritmică de creștere a tulpinilor microbiene a demonstrat un efect bacteriostatic mai pronunțat al păducelului asupra tulpinilor de *S. aureus* și *E. coli*, iar pudra de măceșe - un efect bacteriostatic mai pronunțat asupra tulpinilor de *S. Abony* și *K. pneumoniae*. Crenvurștii cu adaos de busuioc, în diverse concentrații, au manifestat o capacitate vădită de inhibare a tulpinilor de *E. coli* și un efect moderat asupra *S. Abony*. O activitate vădită asupra tuturor bacteriilor testate a fost remarcată în crenvurștii cu adaos de extracte în concentrații de 0,3 % (Sandulachi et al., 2021; Macari et al., 2021).

7. Efectul microbiostatic al pulberilor de fructe de pădure a fost analizat *in situ*, pe produse lactate cu adaosuri vegetale. Cel mai relevant efect antimicrobian a fost observat în crema de brânză asupra tulpinilor de *E. coli*. Pulberile de măceșe și aronia au manifestat un efect antimicrobian major asupra tulpinilor de *Salmonella*, iar păducelul a manifestat efect antimicrobian major asupra *S. aureus*. Majoritatea microorganismelor patogene inoculate (*S. Abony*, *S. aureus* și *E. coli*) în probele de cremă de brânză cu adaos de pulberi de fructe de pădure au fost distruse după 48 ore de termostatare la 37 °C, ceea ce a demonstrat, că pulberile de măceșe, aronia, cătină și păducel pot menține sub control proliferarea agenților patogeni accidentali (Sturza et al., 2021; Cojocari et al., 2021).

8. A fost testat efectul extractului de busuioc încapsulat în alginat de sodiu asupra stabilității microbiologice, efectelor senzoriale, fizico-chimice și proprietăților texturale ale cremei de brânză. Eficiența de încapsulare a fost de $78,59 \pm 0,01$ %, iar spectrele FTIR a extractelor încapsulate au indicat prezența unor interacțiuni fizice slabe între componente, microcapsulele formate fiind vehicule eficiente de polifenoli pentru alimente. Concentrația optimă de extract încapsulat (0,6 – 0,9 %) asigură inhibarea procesului de post-fermentare, îmbunătățirea gradului de retenție al apei și parametrilor texturali ai cremei de brânză, contribuind astfel la prelungirea termenului de valabilitate al produsului cu 7 zile fata de proba martor. Analiza informațiilor reciproce a fost utilizată pentru stabilirea influenței extractului de busuioc încapsulat asupra texturii, pH și acceptabilității generale a cremei de brânză (Popescu et al., 2023).

9. Încorporarea extractelor și pulberilor din păducel, măceșe, aronie și cătină în înghețată a asigurat un efect antimicrobian pronunțat în raport cu tulpina *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și un efect moderat în raport cu *Salmonella* Abony NCTC 6017 și *Escherichia coli* ATCC 25922, ceea

ce permite recomandarea lor pentru utilizare în industria alimentară în scopul reducerii riscului de contaminare microbiană a materiilor prime și a produselor finite (Popescu et al., 2020).

RECOMANDĂRI PENTRU CERCETĂRI ULTERIOARE

Pe baza rezultatelor acestui studiu se sugerează următoarele recomandări:

1. Extractele acestor plante ar trebui analizate în continuare pentru a identifica principiile antibacteriene specifice lor. Ar fi necesar de efectuat cercetări ulterioare asupra pudrelor vegetale luate în studiu pentru a izola și a identifica compușii activi responsabili de proprietățile lor antimicrobiene, antioxidante și citotoxice scăzute.
2. Se recomandă de a determina activitatea acestor extracte de plante asupra altor specii de microorganisme patogene implicate în alte boli infecțioase, pe lângă activitatea sinergică a acestor plante medicinale în asociere cu antibiotice.
3. Studiile de toxicitate ale plantelor eficiente ar trebui, de asemenea, efectuate pentru a determina indicii de siguranță ai extractelor. Ar trebui efectuate studii clinice pentru a explora potențialul acestor extracte de plante în tratamentul acestor boli infecțioase.
4. Utilizarea antimicrobienulelor pe bază de plante poate fi o alternativă pentru substanțele chimice utilizate în conservarea alimentelor.
5. Adăugarea de antimicrobiene naturale la produsele alimentare fără a afecta negativ caracteristicile senzoriale este încă o provocare pentru cercetători, deoarece concentrațiile care sunt necesare pentru a asigura siguranța alimentelor și a produselor alimentare sunt de câteva ori mai mari decât cele acceptate de consumatorii din punct de vedere senzorial.
6. Noi studii care combină utilizarea antimicrobienulelor cu alte metodologii de conservare a alimentelor sunt necesare pentru a reduce impactul compușilor asupra proprietăților senzoriale.
7. Sunt necesare cercetări suplimentare pentru a înțelege mai bine impactul compușilor fenolici asupra agenților patogeni, proprietăților organoleptice a alimentelor și utilizarea lor relevantă în aplicațiile alimentare.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- ATTARIANSHANDIZ, M. Antimicrobial and preservative effect of berries in food models. *J Food Microbiol.*, 6(6), 2022: p. 126. DOI:10.35841/aafmy-6.6.126.
- CETIN-KARACA, Hayriye. *Evaluation of natural antimicrobial phenolic compounds against foodborne pathogens.* Master's Theses. University of Kentucky, 2011. 652. https://uknowledge.uky.edu/gradschool_theses/652.
- Centers for Diseases Control and Prevention, Foodborne Germs and Illnesses. 2022, [online] [accesat 04.02.2024] Disponibil: <https://www.cdc.gov/foodsafety/foodborne-germs.html>.
- COJOCARI, D., STURZA, R., SANDULACHI, E. et al. Inhibiting of accidental pathogenic microbiota in meat products with berry powders, In: *Journal of Engineering Science*. Vol. 26(1), 2019: pp. 114 - 122. ISSN 2587-3474. DOI: 10.5281/zenodo.2640056.
- CRISTE, A., URCAN, A.C., BUNEA, A. et al. Phytochemical Composition and Biological Activity of Berries and Leaves from Four Romanian Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.) Varieties. In: *Molecules*, 25, 2020: p. 1170. <https://doi.org/10.3390/molecules25051170>. 140.
- EFENBERGER-SZMECHTYK, M., NOWAK, A., CZYŻOWSKA, A. et al. Antibacterial mechanisms of *Aronia melanocarpa* (Michx.), *Chaenomeles superba* Lindl. and *Cornus mas* L. leaf extracts. In: *Food Chemistry*, 350, 2021: p. 129218. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129218>.
- EGHBAL, N., LIAO, W., DUMAS, E. et al. Microencapsulation of natural food antimicrobials: methods and applications. In: *Appl. Sci.*, 12, 2022:3p. 837. <https://doi.org/10.3390/app12083837>.
- FINLEY, J.W., KONG, A.N., HINTZE, K.J. et al. Antioxidants in foods: state of the science important to the food industry. In: *J Agric Food Chem.*, 59(13), 2011: pp. 6837-46. doi: [10.1021/jf2013875](https://doi.org/10.1021/jf2013875).
- Food and Drug Administration's (FDA), Most Common Foodborne Illnesses. [online] [accesat 20.02.2024] Disponibil la: [https://www.fda.gov/files/food/published/Most-Common-Foodborne-Illnesses-\(PDF\).pdf](https://www.fda.gov/files/food/published/Most-Common-Foodborne-Illnesses-(PDF).pdf).
- GHENDOV-MOSANU, A., COJOCARI, D., BALAN, G. et al. Chemometric Optimization of Biologically Active Compounds Extraction from Grape Marc: Composition and Antimicrobial Activity, In: *Molecules*, 27(5), 2022: p.1610; <https://doi.org/10.3390/molecules27051610>.
- JOUDA, Mohamed. The antibacterial effect of some medicinal plant extracts and their synergistic effect with antibiotic and non-antibiotic drugs. *Thesis for the Degree of Master in Biological Science / Microbiology*. Islamic University-Gaza 2013, 134p.
- KHATIB, S., HARNAFI, M., TOUISS, I. et al. HPLC–DAD profiling of a phenolic extract from Moroccan sweet Basil and its application as oxidative stabilizer of sunflower oil. In: *Chem. Pap.*, 75, 2021: pp.1907–1917. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01472-z>.
- LERI, M., SCUTO, M., ONTARIO, M.L. et al. Healthy Effects of Plant Polyphenols: Molecular Mechanisms. In: *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 2020: p. 1250. <https://doi.org/10.3390/ijms21041250>.
- MOHR, K. I., History of Antibiotics Research, In: *How to Overcome the Antibiotic Crisis*. Chapter 499: Springer Cham, 2016: pp. 237-272. [10.1007/82_2016_499](https://doi.org/10.1007/82_2016_499).
- POLJSAK, B.; KOVAČ, V.; MILISAV, I. Antioxidants, Food Processing and Health. In: *Antioxidants*. 10, 2021: p.433. <https://doi.org/10.3390/antiox10030433>. 110.
- POPESCU, L., COJOCARI, D., LUNG, I. et al. Effect of Microencapsulated Basil Extract on Cream Cheese Quality and Stability. In: *Molecules*. 28(8), 2023: pp. 3305. <https://doi.org/10.3390/molecules28083305>.
- POROOSHAT, D. Antimicrobial Resistance: Implications and Costs, *Infection and Drug Resistance*, 2019: pp.3903-3910. <https://doi.org/10.2147/IDR.S234610>.
- ROMANO, R., DE LUCA, L., AIELLO, A. et al. Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaves as a Source of Bioactive Compounds. In: *Foods*. 11, 2022: p. 3212. <https://doi.org/10.3390/foods11203212>.
- SANDULACHI, E., COJOCARI, D., BALAN, G., et al. Antimicrobial Effects of Berries on *Listeria monocytogenes*. In: *Food and Nutrition Sciences*, 11(9), 2020: pp. 873-886. doi: [10.4236/fns.2020.119061](https://doi.org/10.4236/fns.2020.119061).
- SANDULACHI, E., BULGARU, V., GHENDOV-MOSANU, A. et al. Controlling the Risk of *Bacillus* in Food Using Berries. In: *Food and Nutrition Sciences*. 12, 2021: pp. 557-577. doi: [10.4236/fns.2021.126042](https://doi.org/10.4236/fns.2021.126042).
- World Health Organisation (WHO), *Food Safety*, [online] [accesat 04.02.2024] Disponibil: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>.

LISTA PUBLICAȚIILOR AUTORULUI LA TEMA TEZEI

1. MONOGRAFII/CAPITOLE ÎN MONOGRAFII (1)

COJOCARI, D., BALAN, G. Analiza riscurilor de contaminare microbiană a produselor alimentare. Cap.III. pp. 142-165. În: *Monografie colectivă, UTM, Analiza riscurilor asociate alimentației în Republica Moldova*. Ed. **STURZA R.**, GHENDOV-MOȘANU A. Chisinau, Tehnica UTM, 2023. 207 p. ISBN 978-9975-45-982-<http://repository.utm.md/handle/5014/24890>.

2. ARTICOLE ÎN REVISTE ȘTIINȚIFICE

2.1. în reviste internaționale cotate ISI și SCOPUS (7)

1. GHENDOV-MOSANU, A., NETREBA, N., BALAN, G., **COJOCARI, D.** et al Effect of Bioactive Compounds from Pumpkin Powder on the Quality and Textural Properties of Shortbread Cookies. *Foods* 2023, 12, 3907. (IF: 5.2). <http://repository.utm.md/handle/5014/26662>.
2. POPESCU, L., **COJOCARI, D.**, GHENDOV-MOSANU, A. et al The effect of aromatic plant extracts encapsulated in alginate on the bioactivity, textural characteristics and shelf life of yogurt. *Antioxidants* 2023, 12(4), 893. (IF: 7.675). <http://repository.utm.md/handle/5014/26663>.
3. POPESCU L., **COJOCARI D.**, LUNG I. et al Effect of microencapsulated basil extract on cream cheese quality and stability. In: *Molecules* 2023, 28(8), 3305. (IF:4.927). <http://repository.utm.md/handle/5014/26664>.
4. SANDULACHI, E., GHENDOV-MOSANU, A., **COJOCARI, D.** et al The Risk of Fusarium and Their Mycotoxins in the Food Chain. *Advances in Microbiology*, 2021. 11 (10), pp. 541-553. <https://doi.org/10.4236/aim.2021.1110040>. (IF: 1.30)
5. MACARI, A., STURZA, R., LUNG, I. SORAN, M.-L., OPRIS, O. BALAN, G., GHENDOV-MOSANU, A., VODNAR, D.C., **COJOCARI, D.** Antimicrobial Effects of Basil, Summer Savory and Tarragon Lyophilized Extracts in Cold Storage Sausages. *Molecules* 2021, 26, 6678. <https://doi.org/10.3390/molecules26216678>. <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/21/6678>. (IF: 4.587). <http://repository.utm.md/handle/5014/18273>.
6. SANDULACHI, E., MACARI, A., GHENDOV-MOSANU, A., **COJOCARI, D.** et al Antioxidant and Antimicrobial Activity of Basil, Thyme and Tarragon Used in Meat Products, In: *Advances in Microbiology, AiM Vol. 11 No. 11 2021*. (IF:4.411). <http://repository.utm.md/handle/5014/18274>.
7. SANDULACHI, E., **COJOCARI, D.**, BALAN, G. et al Antimicrobial Effects of Berries on *Listeria monocytogenes*. *Food and Nutrition Sciences*, 2020/9/21, 11 (9), pp. 873-886. DOI:10.4236/fns.2020.119061. (IF: 0,97). <http://repository.utm.md/handle/5014/26672>.

2.2. în reviste din străinătate recunoscute (2)

1. BALAN, G., ABU ARAR, S., **COJOCARI, D.** Antibiotic susceptibility of clinical *Acinetobacter baumannii* strains. In: *Международный научный журнал „Научные горизонты”*. 2020, 11 (37), с. ISSN 2587-618X. <http://repository.utm.md/handle/5014/26673>.
2. **COJOCARI, D.**, In vitro antibacterial effect of various berries on *Listeria monocytogenes* a foodborne pathogen, In: *Agrobiodivers Improv Nutr Health Life Qual*, 6, 2022(1), p. 67–74. <http://repository.utm.md/handle/5014/26674>.

2.3. în reviste din Registrul Național al revistelor de profil (cat. B+, 6)

1. **COJOCARI, D.**, GHENDOV-MOSANU, A., STURZA, R. Berry and grape metabolites for antimicrobial applications against foodborne bacterial pathogens. *Journal of Engineering Science* 2023, 30 (4), pp. 147-159. <http://repository.utm.md/handle/5014/26157>.
2. SANDULACHI, E., MACARI, A., **COJOCARI, D.** et al Antimicrobial properties of sea buckthorn grown in the Republic of Moldova. *Journal of Engineering Science*, Vol. XXIX, no. 1 (2022), pp. 164 – 175. <http://repository.utm.md/handle/5014/19849>.
3. **COJOCARI, D.**, STURZA, R., SANDULACHI, E. et al Inhibiting of accidental pathogenic microbiota in meat products with berry powders. *Journal of engineering science*, XXVI (1) 2019. DOI: 10.5281/zenodo.2640056. pp. 114-122. <http://repository.utm.md/handle/5014/2418>.

4. STURZA, R., SANDULACHI, E., **COJOCARI, D.** et al Study of antimicrobial properties of berry powders in cream cheese. *Journal of Engineering Science*, vol.3, 2019, 125-136, DOI: 10.5281/zenodo.3464222. <http://repository.utm.md/handle/5014/5981>.
5. GHENDOV-MOȘANU, A., **COJOCARI, D.**, BALAN, G. et al Antimicrobial activity of rose hip and hawthorn powders on pathogenic bacteria. *Journal of engineering science*, XXV (4) 2018. DOI: 10.5281/zenodo.2576764. pp. 100-107. <http://repository.utm.md/handle/5014/2394>.
6. ALEXANDROV, V., ALJAMAL, A. N., **COJOCARI, D.** Antimicrobial activity of thyme and rosemary extracts. In: *One Health and Risk Management*, 2023, nr. 2(S_Rez), supl. nr. 1, p. 17. ISSN 2587-3458. <http://repository.utm.md/handle/5014/26687>.

3. MATERIALE DIN CULEGERI ALE CONFERINTELOR INTERNAȚIONALE

3.1. conferințe internaționale (peste hotare) (8)

1. MACARI A., **COJOCARI D.**, BORȘ, A. et al The manufacture of sausages with addition of powder from hawthorn berries. In: Book of Abstracts, *The 9th International Symposium EuroAliment-2019*, 5-6 September 2019, Galați, România, p. 47.
2. **COJOCARI, D.**, STURZA, R., RUDIC, V. et al The impact of the carotenoid complex of berry powders on the accidental pathogenic microbiota in sausages. In: *Works of the International Conference on Carotenoid Research and Applications in Agro-Food and Health, Cyprus, 26th-28th November 2019*, p. 57. <http://repository.utm.md/handle/5014/26682>.
3. **COJOCARI, D.** Plant extracts as inhibitors of food borne pathogenic bacteria. *Euro-Aliment 2021, The10th International Symposium. Food connects people and shares science in a resilient world*. Galati, Romania. 2021, p. 117. ISSN 1843-5114. <http://repository.utm.md/handle/5014/20148>.
4. POPESCU, L., STURZA R., **COJOCARI, D.**, Effect of satureja hortensis L. extract on the shelf life of soft-fresh cheese. *Euro-Aliment 2021, The10 the International Symposium. Food connects people and shares science in a resilient world*. Galati, Romania. 2021, p. 73. ISSN 1843-5114. <http://repository.utm.md/handle/5014/20136>.
5. STURZA, R., BALAN G., **COJOCARI, D.** et al Antimicrobial activity of sea buckthorn and chokeberry powders on pathogenic bacteria. *Euro-Aliment 2021, The10th International Symposium. Food connects people and shares science in a resilient world*. Galati, Romania. 2021, p. 109. ISSN 1843-5114. <http://repository.utm.md/handle/5014/20147>.
6. TURCULET, N., GHENDOV-MOSANU, A., STURZA, R., MACARI, A., BALAN, G., **COJOCARI, D.** Influence of carotenoid content in sea buckthorn powder on *Bacillus subtilis* inhabitation. *Euro-Aliment 2021, The10th International Symposium. Food connects people and shares science in a resilient world*. Galati, Romania. 2021, p. 65. ISSN 1843-5114. <http://repository.utm.md/handle/5014/20132>.
7. **COJOCARI, D.** The ability of sea buckthorn to fight against *L. monocytogenes*, *The 16th International Conference of Constructive Design and Technological Optimization in Machine Building Field*, OPROTEH 2021, p.100-101. <http://repository.utm.md/handle/5014/26962>
8. **COJOCARI, D.** Antibacterial potential of berries powder extracts. *Сучасні аспекти збереження здоров'я людини Збірник Праць XV Міжнародної Міждисциплінарної Науково-Практичної Конференції*, (8-9 квітня 2022 року), До 30-річчя заснування НДІ фітотерапії ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Ужгород 2022, p. 14–16, ISBN: 978-617-7825-73-8. <http://repository.utm.md/handle/5014/26686>.

3.2. conferințe internaționale în Republica Moldova(8)

1. STURZA, R., GHENDOV-MOSANU, A., SANDULACHI, E., BALAN, G., **COJOCARI D.** Use of berries to reduce the contamination of bakery products, In: *International Conference Modern technologies, in the food industry*, 2018, p. 289. <http://repository.utm.md/handle/5014/3735>.
2. GHENDOV-MOȘANU, A., **COJOCARI, D.**, BALAN, G. et al Antimicrobial activity of sea buckthorn powder against four pathogenic bacteria strains. In: Book of Abstracts,

International Conference Achievements and perspectives of modern chemistry dedicated to the 60th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry, 2019, p. 39. Ed. <http://repository.utm.md/handle/5014/10610>.

3. **COJOCARI, D.** Antimicrobial activity of berry powders on pathogenic bacteria., *The days of the Academy of Technical Sciences from Romania - XIV edition*, Chişinău, 17-18 octombrie, 2019.

4. **COJOCARI, D.** In vitro antibacterial activity of some plant extracts against *L. monocytogenes*, Conferința științifică internațională, „*Perspectivile și Problemele Integrării în Spațiul European al Cercetării și Educației*”, Ediția a VIII-a 04 iunie 2021, Cahul. <http://repository.utm.md/handle/5014/18870>.

5. **COJOCARI, D.** The potential of berries to serve as selective inhibitors of pathogens and their benefits on health, International Conference *Intelligent valorisation of agro-industrial wastes*, 7-8 October, 2021. <http://repository.utm.md/handle/5014/17741>.

6. **COJOCARI, D., STURZA, Rodica, GHENDOV MOSANU, Aliona.** Microbiostatic Effect of Bioactive Compounds from Agro-Food Industrial Wastes on Microorganisms Causing Food Spoilage, *The 7th International Conference Ecological & Environmental Chemistry*, March 3-4, 2022, Chisinau, Republic of Moldova. <http://repository.utm.md/handle/5014/19856>.

7. CALALB T., BĂLAN G., BENEĂ A., **COJOCARI D.** et al Totalul polifenolic și acțiunea antimicrobiană a extractelor uscate de *Cassia occidentalis* L. *Congresul Național de Farmacie Ediția a XIX-a*. România, Cluj-Napoca, 2023, pp. 116. ISBN 978-606-075-203-5.

8. ALEXANDROV, V., ALJAMAL, A. N., **COJOCARI, D.** Antimicrobial activity of thyme and rosemary extracts, Conferința națională cu participare internațională „*Abordarea O singură sănătate – realizări și provocări*” Ediția a II-a, Chişinău, Republica Moldova, 23-24 noiembrie 2023, p.17-17. ISSN 2587-3458 (Print); e-ISSN 2587-3466 <http://repository.utm.md/handle/5014/26687>

3.3. conferințe naționale

1. **COJOCARI D., BEHTA, E.** Pulberi din fructe de pădure ca antimicrobiene împotriva agenților patogeni Gram pozitivi responsabili de toxiinfecții alimentare, în cadrul *Conferinței Tehnico-Științifice a studenților, masteranzilor și doctoranzilor*, 23-25 martie 2021, Universitatea Tehnică a Moldovei. <http://repository.utm.md/handle/5014/16237>.

2. BEHTA, E., **COJOCARI, D.** The Toxic substances formed in the process of microbial spoilage of the wine and their effect on human body, *Technical Scientific Conference on Ungraduate, Master and PhD Student*, 23-25 March, 2021, TUM. <http://repository.utm.md/handle/5014/16235>.

3. **COJOCARI, D.** Efectul antimicrobian al extractelor vegetale asupra *L. monocytogenes*. *Conferința tehnico-științifică a studenților, masteranzilor și doctoranzilor*, 1–3 aprilie 2020, pp. 405 – 406. <http://repository.utm.md/handle/5014/8566>.

4. **COJOCARI, D.** Acțiunea in vitro a extractelor vegetale bogate în compuși biologic activi asupra microorganismelor responsabile de alterarea alimentelor, *Conferința Studenților, Masteranzilor și Doctoranzilor*, UTM, prezentare în plen, Chişinău, 26-29 martie 2019.

4. BREVETE DE INVENȚIE

POPESCU, L., GHENDOV-MOȘANU, A., STURZA, R., **COJOCARI, D.** et al Procedeu de fabricare a înghețatei. Brevet de invenție de scurtă durată MD 1451 (13) Y din 2020.02.05. Publicat BOPI nr. 8/2020. <http://repository.utm.md/handle/123456789/14635>

ADNOTARE

Cojocari Daniela: „Acțiunea microbiostatică a unor extracte vegetale de compuși fenolici asupra microorganismelor responsabile de alterarea alimentelor”, teza de doctor în științe inginerești, Chișinău, 2024.

Structura tezei: Introducere, 4 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografia din 236 de titluri, 3 anexe, 130 pagini de text de bază, inclusiv 30 figuri și 35 de tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 37 lucrări științifice.

Cuvintele-cheie: activitate antimicrobiană, pudre și extracte, fructe de pădure, plante aromatice, compuși biologic activi, antioxidanți, aditivi alimentari.

Scopul cercetării constă în evaluarea acțiunii microbiostatice a pudrelor și extractelor vegetale din fructe de pădure și condimente asupra microorganismelor responsabile de alterarea alimentelor *in vitro* și *in vivo*, pe diferite categorii de alimente procesate.

Obiectivele cercetării: Determinarea *in vitro* a efectului microbiostatic și microbicid la contactul direct a unor fracții vegetale bogate în compuși fenolici asupra microorganismelor ce cauzează alterarea produselor alimentare; stabilirea *in situ* a efectului microbiostatic a unor fracții vegetale bogate în compuși fenolici pe matrici de produse din carne și mezeluri; stabilirea *in situ* a efectului microbiostatic a unor fracții vegetale bogate în compuși fenolici pe diferite matrici de produse lactate; caracterizarea compoziției compușilor bioactivi și a proprietăților lor antioxidante; analiza proprietăților fizico-chimice, senzoriale și morfologice ale cremei de brânză cu extract încapsulat.

Noutatea și originalitatea științifică: Pentru prima dată, pe baza unui studiu amplu, a fost evaluată acțiunea antimicrobiană a extractelor vegetale bogate în polifenoli asupra tulpinelor de referință. S-a determinat efectul microbiostatic și microbicid al acestor extracte *in situ*, pe diverse matrice alimentare. Au fost estimate compoziția, activitatea antioxidantă și mecanismele posibile de acțiune a extractelor.

Problema științifică soluționată: A fost testată activitatea antimicrobiană a unor extracte vegetale asupra microorganismelor responsabile de alterarea alimentelor *in vitro*. Au fost estimată acțiunea antioxidantă a extractelor vegetale. Acest fapt contribuie la elaborarea unor strategii antiinfecțioase alternative, în scop de a diminua utilizarea aditivilor sintetici și dezvoltarea rezistenței la antimicrobiene.

Semnificația teoretică: Au fost acumulate informații despre activitatea unor preparate (extracte, pudre) vegetale asupra tulpinilor de referință. A fost determinat efectul microbiostatic pe diverse matrice alimentare. Au fost adunate date despre influența acestor extracte asupra prelungirii fazei lag în dezvoltarea bacteriilor.

Valoarea aplicativă: A fost propus și realizat procedeul de fabricare a înghețatei în baza căruia s-a obținut un brevet de invenție.

Implementarea rezultatelor științifice: Conform actului de implementare din 3 septembrie 2021, la întreprinderea SRL Mellang&Compani au fost fabricate 4 loturi experimentale de înghețată cu pudre și cu extracte de aronia, păducel, măceș și cătină în cantitate de 100 kg fiecare. Rezultatele tesărilor microbiologice au servit pentru elaborarea monografiei colective „Analiza riscurilor asociate alimentației în Republica Moldova”, recomandată de către Senatul UTM specialiștilor din domeniul siguranței alimentelor și studenților ciclului II (Masterat) și III (Doctorat).

АННОТАЦИЯ

Даниела Кожокарь: «Микробиостатическое действие некоторых растительных экстрактов фенольных соединений на микроорганизмы, вызывающие порчу пищевых продуктов», кандидатская диссертация по техническим наукам, Кишинев, 2024.

Структура диссертации: введение, 4 главы, общие выводы и рекомендации, библиография из 236 наименований, 3 приложения, 130 страниц основного текста, в том числе 30 рисунков и 35 таблиц. Полученные результаты опубликованы в 37 научных статьях.

Ключевые слова: антимикробная активность, патогенные микроорганизмы, растительные порошки и экстракты, биологически активные соединения, антиоксиданты, пищевые добавки.

Цель исследования - оценить микробиостатическое действие порошков и растительных экстрактов из ягод и специй на микроорганизмы, вызывающие порчу пищевых продуктов *in vitro* и *in situ* на различных категориях переработанных пищевых продуктов.

Задачи исследования: определение *in vitro* микробиостатического и микробицидного действия при прямом контакте некоторых фракций растений, богатых фенольными соединениями, на микроорганизмы, вызывающие порчу пищевых продуктов; установление *in situ* микробиостатического действия некоторых растительных фракций, богатых фенольными соединениями, на различные матрицы мясных и колбасных изделий; установление *in situ* микробиостатического действия некоторых фракций растений, богатых фенольными соединениями, на различные матрицы молочных продуктов; характеристика состава биологически активных соединений и их антиоксидантных свойств; анализ физико-химических, органолептических и морфологических свойств сливочного сыра с капсулированным экстрактом базилика.

Научная новизна и оригинальность: впервые на основе обширного исследования оценено антимикробное действие растительных экстрактов на эталонные штаммы микроорганизмов. Микробиостатическое и микробицидное действие этих экстрактов было определено *in situ* на различных пищевых матрицах. Оценены состав, антиоксидантная активность и возможные механизмы действия экстрактов.

Решение научной задачи: Была исследована антимикробная активность некоторых растительных экстрактов в отношении микроорганизмов, ответственных за порчу пищевых продуктов *in vitro*. Было оценено антиоксидантное действие растительных экстрактов. Этот факт способствует разработке альтернативных противоинфекционных стратегий с целью сокращения использования синтетических добавок и развития устойчивости к противомикробным препаратам.

Теоретическая значимость: собрана информация о действии некоторых растительных препаратов (экстрактов, порошков) на эталонные штаммы микроорганизмов. Определено микробиостатическое действие на различные пищевые матрицы. Были собраны данные о влиянии этих экстрактов на продление лаг-фазы роста бактерий.

Практическая ценность: предложен и реализован процесс производства мороженого, на основании которого получен патент на изобретение.

Внедрение научных результатов: согласно акту внедрения от 3 сентября 2021 года на предприятии SRL Mellang&Compani изготовлено 4 опытные партии мороженого с порошками и экстрактами черноплодной рябины, боярышника, шиповника и облепихи в количестве 100 кг каждая. Результаты микробиологических исследований были использованы при разработке коллективной монографии «Анализ рисков, связанных с пищевыми продуктами в Республике Молдова», рекомендованной Сенатом ОТМ специалистам в области безопасности пищевых продуктов и для студентов циклов II (магистратура) и III (докторантура).

ANNOTATION

Cojocari Daniela: " The microbiostatic action of some plant extracts of phenolic compounds on the microorganisms responsible for food spoilage", doctoral thesis in engineering sciences, Chisinau, 2024.

Thesis structure: Introduction, 4 chapters, general conclusions and recommendations, bibliography of 236 titles, 3 annexes, 130 pages of main text, including 30 figures and 35 tables. The obtained results are published in 37 scientific papers.

Keywords: antimicrobial activity, pathogenic microorganisms, powders and plant extracts, biologically active compounds, antioxidants, food additives.

The research aims to evaluate the microbiostatic action of powders and plant extracts from berries and spices on microorganisms responsible for food spoilage *in vitro* and *in situ*, on different categories of processed foods.

Research objectives: *In vitro* determination of the microbiostatic and microbicidal effect upon direct contact of plant fractions rich in phenolic compounds on microorganisms causing food product spoilage; *in situ* determination of the microbiostatic effect of plant fractions rich in phenolic compounds on different matrices of meat and meat products; *in situ* determination of the microbiostatic effect of plant fractions rich in phenolic compounds on different matrices of dairy products; characterization of the composition of bioactive compounds and their antioxidant properties; analysis of the physico-chemical, sensory, and morphological properties of cream cheese with encapsulated basil extract.

Scientific novelty and originality: For the first time, based on an extensive study, the antimicrobial action of plant extracts on reference strains was evaluated. The microbiostatic and microbicidal effect of these extracts on diverse food matrices was determined *in situ*. The composition, antioxidant activity, and possible mechanisms of action of the extracts were estimated.

Solved scientific problem: The antimicrobial activity of plant extracts on microorganisms responsible for food spoilage was tested *in vitro*. The antioxidant action of plant extracts was estimated. This contributes to the development of alternative anti-infective strategies to reduce the use of synthetic additives and the development of antimicrobial resistance.

Theoretical significance: Information on the activity of plant preparations (extracts, powders) on reference strains was accumulated. The microbiostatic effect on diverse food matrices was determined. Data on the influence of these extracts on prolonging the lag phase in bacterial development were collected.

Applicative value: The process of manufacturing ice cream was proposed and implemented, leading to a patent.

Implementation of scientific results: According to the implementation act of September 3, 2021, at the Mellang&Compani LLC enterprise, 4 experimental batches of ice cream were manufactured with powders and extracts of aronia, hawthorn, rosehip, and sea buckthorn, each in a quantity of 100 kg. The results of microbiological tests were used to develop the collective monograph "*Analysis of risks associated with nutrition in the Republic of Moldova*," recommended by the UTM Senate to specialists in the field of food safety and for Master's and Doctoral students.

COJOCARI DANIELA

**ACȚIUNEA MICROBIOSTATICĂ A UNOR EXTRACTE VEGETALE DE COMPUȘI
FENOLICI ASUPRA MICROORGANISMELOR RESPONSABILE DE ALTERAREA
ALIMENTELOR**

253.06 - TEHNOLOGII BIOLOGICE ȘI CHIMICE IN INDUSTRIA ALIMENTARA

Rezumatul tezei de doctor în științe inginerești

Aprobat spre tipar: 10.06.2024	Formatul hârtiei 60x84
Hârtie ofset. Tipar ofset.	1/16 <u>Tiraj</u> 50 ex.
Coli de tipar.: <u>2,25</u>	Comanda nr. <u>77</u>

UTM, MD 2004, mun. Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, nr. 168.

Editura „TEHNICA UTM”, MD 2045,

mun. Chișinău, str. Studenților 9/9