

## Raport științific final

### Imbogatirea continutului de silimarina al uleiului de armurariu presat la rece prin valorificarea deseurilor vegetale (SYMPLUS)

(2020 - 2022)

<b>Competiția:</b>	<b>Proiect experimental demonstrativ - PED 2019</b>
Nr. contract:	356PED/2020
Cod proiect:	PN-III-P2-2.1-PED-2019-2461
Domeniul de cercetare:	1.1 - Agro-alimentare
Titlul :	Imbogatirea continutului de silimarina al uleiului de armurariu presat la rece prin valorificarea deseurilor vegetale
Acronim:	SYMPLUS
Data începere proiect:	01/11/2020
Data finalizare proiect:	31/10/2022
Durata (luni):	24
Buget total:	600000 RON
Sursa 1 Bugetul de stat	600000 RON
Sursa 2 Alte surse atrase (cofinanțare):	0 RON
Pagina web proiect:	<a href="https://www.ibiol.ro/proiecte/PNIII/SYMPLUS/index.html">https://www.ibiol.ro/proiecte/PNIII/SYMPLUS/index.html</a>
Instituția coordonatoare:	INSTITUTUL DE BIOLOGIE
Director de proiect:	Dr. Cristina Purcarea
Partener 1 proiect (P1):	Dr. Madalina Valentina Sandulescu-Tudorache

1. Prezentare generală a realizării obiectivelor proiectului, cu punerea în evidență a rezultatelor și gradul de realizare a obiectivelor. Prezentarea trebuie să includă explicații care să justifice diferențele (dacă există) dintre activitățile preconizate și cele realizate.

Proiectul SYMPLUS a realizat o metoda biocatalitica de imbogatire a continutului de silimarina din uleiului de armurariu, bazat pe utilizarea unei noi lipaze bacteriene recombinante obtinute din tulpina criofila *Psychrobacter* SC65A.3 izolata din gheata de spestera din Ghetarul Scarisoara. Imbogatirea continutului de silimarina s-a realizat prin derivatizarea biocatalitica a silibinului, component majoritar in matricea silimarinei extras din deseurile vegetale de armurariu. Reactia de acilare a fost catalizata de lipaza recombinanta PSL2 obtinuta prin clonare si expresie genica in *Escherichia coli* din tulpina adaptata la temperaturi scazute. Metoda biocatalitica dezvoltata a fost optimizata si validata in raport cu variantele utilizand lipaze comerciale.

**Obiectivele** propuse pentru realizarea proiectului au vizat (i) caracterizarea compozitiei uleiului de armurariu si separarea acizilor grasi din uleiul de armurariu, (ii) obtinerea unei noi lipaze microbiene recombinante adaptate pentru cataliza eficienta la temperaturi scazute, (iii) extractia silibinului din deseurile vegetale rezultate in urma presarii la rece pentru obtinerea uleiului de armurariu, (iv) optimizarea si validarea unei metode de obtinere a esterilor de silibina pe baza lipazei psihrofile (cold-

active) și caracterizarea produsilor de esterificare și (v) obținerea și caracterizarea uleiului de armurariu îmbogățit cu derivați de silibin.

**Etapele propuse au fost realizate conform planului de lucru obținând toate livrabilele indicate.**

**Compoziția și proprietățile uleiului de armurariu** au fost determinate și evaluate în comparație cu alte patru uleiuri (măslina, flarea soarelui, in și cânepă) prin spectroscopie de absorbție în infraroșu cu Transformată Fourier (FTIR) și cromatografie HPLC, evidențiind un conținut ridicat de acid linoleic (57-60) și acid oleic (15-22). Caracterizarea parametrilor fizico-chimici a pus în evidență valori ale indicelui de peroxid ca măsură a activității antioxidante indicând o stabilitate bună la oxidare a uleiului de armurariu în ciuda conținutului ridicat de acid linoleic, și valori ridicate ale indicilor de aciditate și de esteri.

**Fractiile componente ale uleiului de armurariu** au fost obținute prin metoda HPLC-DAD/RID, punând în evidență compoziția în acizi grași acid oleic, acid linoleic, acid stearic și acid palmitic în proporție de 4:12:1:1.

Deseul vegetal (srotul) provenit în urma procesului tehnologic de obținere a uleiului de armurariu prin presare la rece a fost utilizat pentru extracția silimarinei și a silibinului, cu un randament de 1.5 % pentru silimarina și 0.5 % pentru silibin raportat la reziduul vegetal rezultat în urma procesului tehnologic de obținere a uleiului de armurariu prin presare la rece (obținut de la firma Dachim SRL, Turda).

**Procesul de optimizare s-a realizat într-o primă etapă utilizând amestecul extracelular lipazic al bacteriei *Psychrobacter* SC65A.3, urmat apoi de enzima PSL2 recombinantă obținută din această tulpină.**

Imobilizarea **fractiei lipazice extracelulare** s-a realizat pe suprafața unui suport solid prin legături covalente utilizând particule magnetice sau bile de rășină funcționalizate. Cele 5 biocompozite rezultate s-au obținut cu un randament de imobilizare de 90-99% și cu activitate reziduală în intervalul 80-128% și au fost analizate prin metode FTIR DRIFT și SEM. Caracterizarea parametrilor cinetici la 25°C și 37°C a indicat o eficiență catalitică superioară a enzimei libere. În cadrul etapei de **optimizare a procesului de acilare biocatalitică a silibinului** au fost testați agenți de acilare atât acizi grași, cât și esteri metilici ai acizilor grași, punând în evidență capacitatea catalitică bivalentă a lipazei "cold-active" de a cataliza reacții de *esterificare* și *transesterificare*. Activitatea lipolitică a enzimei imobilizate a fost mai ridicată decât cea a formei libere pentru toate tipurile de biocompozite, cu o selectivitate proporțională cu lungimea catenei agentului de acilare (Gheorghita GI, Paun VI, Neagu S, Maria GM, Enache M, Purcarea C, Parvulescu VI, Tudorache M (2021) *Catalysts*, 11(11):1390).

**Lipaza recombinantă PSL-2** din bacteria *Psychrobacter* SC 65A3 izolată din gheata de peștera din Ghetașul Scarisoara a fost **obținută** prin clonarea și expresia heteroloagă în *Escherichia coli* și purificare într-o singură etapă prin cromatografie de afinitate. În aceste etape au rezultat **doi noi produse**: (1) plasmidul pPSL2 conținând gena lip2 din bacteria crioofilă *Psychrobacter* sp. SC65A.3 în vectorul de

expresie pHAT2 si (2) Enzima PSL2 recombinanta purificata. Enzima a fost **caracterizata** indicand o activitate catalitica importanta specifica enzimelor de tip lipaza, pH optim neutru (7,2), o stabilitate termica ridicata la temperaturi de 40°C si o activitate reziduala de peste 60% la 90°C, stabilitate fata de diversi solventi organici pentru cataliza in mediu hidrofob si parametri cinetici si o specificitate de substrat si eficienta catalitica ridicate pentru acilarea cu agenti de tip rest acil al acizilor palmitic (C16) si stearic (C18).

Lipaza PSL2 recombinanta a fost **imobilizata in matrice polimerica de natura polizaharidica** Na-alginat si K-caraginan utilizand structuri PET modificate cu tiol si DMC pentru construirea compozitelor enzimatic utilizate in procesul de acilare a silibinului. **Enzima PSL2 imobilizata in acest sistem constituie al 3-lea produs obtinut in cadrul proiectului.** In cazul seriei de biocatalizatori generati, reactia optima de conversia a silibinului (100%) s-a obtinut pentru imobilizarea enzimei in cele doua matrici polizaharidice in absenta incapsularii in PET. Fata de extractul enzimatic, imobilizarea enzimei s-a realizat in matrice polimerica pentru a evita efectul solventului (THF) de inhibare a activitatii catalitice a enzimei in urma contactului direct enzima – solvent organic.

Sistemul biocatalitic obtinut a fost testat in conditii experimentale diferite pentru a alege parametrii optimi care sa asigura o buna eficienta catalitica de convertire a silibinului in derivat esteric. Au fost testati solventii THF si etanol alaturi de alti solventi (MeOH, DMSO, DMF), evidentiind valori ale conversiei silibinului ne-afectate de tipul de solvent utilizat. Astfel, design-ul **biocompozitelor** a permis **conservarea activitatii** catalitice a enzimei in cadrul procesului de acilare a silibinului **in mediu organic** in diferiti solventi. Pentru optimizarea conditiilor de conversie a silibinului utilizand doua tipuri de biocompozite au fost testate 8 conditii de reactie variind concentratia si tipul de substrat (acid gras), cantitatea de enzima, si tipul de solvent, in prezenta unei cantitati constante (1 mg) de silibin, cu randament optim obtinut pentru ambele structuri in cazul utilizarii a 4 centri catalitici si demonstrand **versatilitatea sistemului realizat** cu adaptabilitate pentru **agenti de acilare diferiti.**

**Validarea** sistemului enzimatic propus s-a efectuat prin masuratori comparative ale conversiei silibinului utilizand o serie de catalizatori enzimatici la 25°C si 40°C in prezenta lipazei PSL2 in solutie si imobilizata cu cele doua tipuri de carbohidrati **in comparatie cu 5 lipaze comerciale.** Performantele sistemului enzimatic obtinut pe baza enzimei PSL2 evaluate pe baza randamentului de conversie a silibinului in esteri ai acizilor grasi au fost confirmate pentru reactia la 25°C pentru enzima imobilizata cu Na-alginat realizand o conversie a silibinului de 45%, corespunzator **unei activitati de 30 de ori mai ridicata decat a lipazei comerciale Novozym 435** si o activitate de 16% mai ridicata la 40°C. Astfel, metoda enzimatica realizata utilizand noua lipaza PSL2 prezinta avantaj in obtinerea esterilor de silibin printr-o **conversie superioara la temperaturi scazute fata de enzimele comerciale.**

**Produsii rezultati** prin aceasta metoda (derivatii de silibin) au fost **caracterizati fizico-chimic**, indicand au o buna solubilitate in mediu hidrofob. La nivelul **actiunii biologice**, derivatilor de silibin obtinuti au avut un efect activator de 11.5% asupra ratei de crestere a culturii bacteriene de *Staphylococcus aureus* la o concentratie finala de 60 µg/ml in mediu de cultura.

Derivatii de silibin obtinuti au fost suplimentati in masa de ulei de armurariu pentru imbunatatirea activitatii sale antioxidante. **Caracterizarea fizico-chimica a uleiului imbogatit** au indicat o crestere usoara a valorilor indicilor de ion (Ii), de aciditate (Ia) și de peroxid (Ip) si variatii mai mari ale indicelui de saponificare (Is) sugerand transesterificări cu formarea unor esteri mai complecsi. Valorile indicilor de hidroxil (Ih) si analizele Spectrele FTIR-ATR au indicat modificari ale gruparilor functionale la nivelul legaturii C-O din grupările esterice, confirmand natura derivatilor obtinuti. **Activitatea antioxidanta a uleiului de armurariu imbogatit cu esteri de silibin** obtinuti prin noua metoda catalitica indica o crestere a potentialului antioxidativ al uleiului in intervalul 10,09-15,96 nmol/μl ulei, corespunzator unei activitati suplimentare de 96,7-211,1% nmol/μl/μg derivat de silibin in functie de cantitatea de esteri de silibin adaugata (2-20 μg). Activitatea antioxidanta suplimentara datorata esterilor de silibin adaugati in uleiul de armurariu corespunde unei valori de 0.3114 nmol/μl ulei/μg derivat.

**Managementul** proiectului a prevazut semnarea unui „Consortium agreement” si 9 reuniuni de lucru ale partenerilor IBB-UB

2 februarie 2021, 10 iunie 2021, 30 septembrie 2021, 20 octombrie 2022

9 martie 2022, 3 iunie 2022, 6 septembrie 2022, 15 septembrie 2022, 14 octombrie 2022

**Valorificarea rezultatelor** s-a realizat prin publicarea a 3 articole ISI (2 Q2 si 1 Q1), 1 articol ISI in evaluare (Q2) si 1 articol in curs de redactare asupra metodei obtinute, o aplicatie de brevet nationala (OSIM) si 11 conferinte internationale si nationale (**detalii Sectiunea 5**).

## 2. Prezentarea și argumentarea nivelului de maturitate tehnologică (TRL) la finalul proiectului.

Proiectul a debutat la nivel tehnologic **TRL2** plecand de la obtinerea si caracterizarea prealabila a tulpinilor bacteriene izolate din gheata de peștera din Scarisoara cu evidentierea unei activitati lipazica ridicate (Paun VI, Lavin P, Chifiriuc MC, Purcarea C (2021) *Scientific Reports*. 11, 514) si determinarea secventei genomice a tulpinii psihrofile *Psychrobacter* SC65A.3 (Biopropect PRJNA485764, Accession CP106752) de catre Coordonator, datele din literatura asupra derivatizarii silibinului si expertiza Partenerului in biocataliza privind reactiile de esterificare/transesterificare. Materialul vegetal a fost obtinut de la firma producatoare de ulei de armurariu presat la rece (Dachim SRL). SYMPLUS a dezvoltat o metoda catalitica de derivatizare a silibinului pe baza reactiei cu noua lipaza microbiana activa la temperaturi scazute obtinuta si caracterizata in proiect. Metoda a fost dezvoltata utilizand atat enzima nativa secretata (extracte imobilizate de lipaza din *Psychrobacter* SC65A3) cat si enzima recombinanta obtinuta prin clonare si expresie in *Escherichia coli* (lipaza PSL2 purificata si imobilizata prin incapsulare). Lipaza PSL2 a fost caracterizata, demonstrand o termostabilitate ridicata, rezistența la solventi si o reactie catalitica preferentiala la temperaturi mai scazute (25°C) pentru palmitat si stearat. Metoda bioanalitica a fost optimizata si validata in comparatie cu lipaze comerciale (**TRL4**), rezultand un produs derivatizat al silibinului cu palmitat cu proprietati fizico chimice, activitate

antioxidanta si efect asupra cresterii microbiene superioare in urma imbogatirii uleiului de armurariu presat la rece.

3. Gradul de atingere a rezultatelor estimate (prezentarea produsului/tehnologiei sau a serviciului rezultat al proiectului).

Rezultatele estimate au fost **realizate in totalitate**, conform planului de lucru.

In urma derularii activitatii proiectului au rezultat **3 noi Produse** (plasmid recombinant continand gena lip2 care codifica lipaza cold-active”, enzima PSL2 recombinanta purificata si Biocatalizator lipazic prin incapsularea lipazei PSL2) si **2 noi metode** ((i) metoda de derivatizare enzimatica a silibinului folosind lipaza bacteriana psihrofila si (ii) metoda de obtinere a lipazei bacteriene PSL2 din tulpina bacteriana *Psychrobacter* SC65A3 – care face obiectul unei aplicatii de brevet (OSIM).

4. Impactul rezultatelor obtinute, cu sublinierea celui mai semnificativ rezultat obtinut.

SYMPLUS a condus la obtinerea unei **noi lipaze** stabile si cu eficienta catalitica ridicata pentru procese la temperaturi scazute si la constructul (plasmid) pentru generarea proteinei recombinante cu potential aplicativ in industria alimentara, a detergentilor, pentru sinteze chimice obtinerea biodieselului, in bioremediere.

Variantele de **biocatalizatori** lipazici obtinuti pe baza lipazei PSL2 imobilizate pe diverse tipuri de matrici prezinta un randament ridicat pentru esterificarea silibinului, demonstrand de asemenea un caracter versatil in utilizarea diferitilor agenti de acilare pentru dezvoltarea de biocatalizatori pentru cu aplicatii biotehnologice multiple in functie de reactia catalizata.

**Metoda** elaborata pentru imbunatatirea calitatii uleiului de armurariu prin esterificarea silibinului pe baza unui nou catalizator lipazic activ la temperaturi scazute prezinta avantajul utilizarii deseurilor vegetale rezultate din procesul de presare la rece pentru obtinerea uleiului comercial. Produsul rezultat (ulei de armurariu imbogatit cu esterii de silibin) prezinta o activitate antioxidanta mai ridicata, avand un efect hepatoprotector potential crescut.

Rezultatele obtinute in cadrul acestui proiect constituie un real interes pentru firmele care comercializeaza uleiul de armurariu si valorificarea deseurilor provenite din exploatarea biomasei specifice. Un exemplu este firma Dachim S.R.L. care si-a exprimat interesul pentru tehnologia elaborata la scara de laborator in cadrul proiectului. Membrii celor doua echipe ale proiectului (IBB si UB) au fost intr-o continua colaborare pentru o derulare eficienta si cu un feed-back asigurat a activitatii de laborator. Pentru validarea sistemului biocatalitic elaborat, au fost realizate vizite de lucru in laboratoarele companiei Dachim S.R.L. pentru a se putea observa concret modul in care sistemul biocatalitic elaborat poate fi, pe viitor, implementat.

Compania Dachim S.R.L. realizeaza in prezent produs de tip ulei de armurariu presat la rece si este direct interesata de implementarea procedului de valorificare a srotului rezultat dupa presare pentru imbunatatirea calitatii uleiului pe care il comercializeaza. Metoda elaborata poate fi usor extinsa in cazul altor aplicatii in industria altor uleiurilor.

A fost realizat un website dedicat proiectului pentru promovarea rezultatelor obtinute <https://www.ibiol.ro/proiecte/PNIII/SYMPPLUS/index.html>.

Diseminarea rezultatelor s-a realizat si sub forma de publicatii stiintifice, o aplicatie de brevet si prezentari in cadrul unor manifestari stiintifice de specialitate.

#### 5. Detalii privind exploatarea și diseminarea rezultatelor proiectului.

##### **Articole (5)**

1. Paun VI, Lavin P, Chifiriuc MC, Purcarea C (2021) First report on antibiotic resistance and antimicrobial activity of bacterial isolates from 13,000-year old cave ice core. *Scientific Reports* 11, 514. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79754-5> (Q1)
2. Gheorghita GI, Paun VI, Neagu S, Maria GM, Enache M, Purcarea C, Parvulescu VI, Tudorache M (2021) Cold-active lipase-based biocatalysts for silymarin valorization through biocatalytic acylation of silybin. *Catalysts*, 11(11):1390. <https://doi.org/10.3390/catal11111390> (Q2)
3. Paun VI, Banciu RM, Lavin P, Vasilescu A, Fanjul-Bolado P, Purcarea C (2022) Antarctic aldehyde dehydrogenase from *Flavobacterium* PL002 as a potent catalyst for acetaldehyde determination in wine. *Scientific Reports*, DOI: 10.1038/s41598-022-22289-8 (Q2)
4. Paun VI, Ion S, Gheorghita GI, Ftodiev A, Sandulescu-Tudorache M, Purcarea C. Cold-active lipase from the ice cave *Psychrobacter* SC65A.3 strain, a new catalyst for silymarin valorization. *Molecules, in evaluare* (Q2)
5. Ion S, Ftodiev A, Gheorghita G, Paun VI, Purcarea C, Tudorache M. New biocatalytic method for silybin derivatization using a cold-active lipase from *Psychrobacter* SC65A3. *in curs de redactare* (Q1/Q2)

##### **Aplicatie patent (1)**

Metodă de obținere a lipazei bacteriene PSL-2 din tulpina bacteriană *Psychrobacter* SC65A3 izolată din gheața de peșteră din Ghețarul Scărișoara. Autori: Purcarea Cristina, Păun Victoria Ioana, Ojovan Bianca-Oana, Sandulescu-Tudorache Mădălina, Ion Sabina. [Numar inregistrare OSIM: A/00652/19.10.2022](#)

##### **Conferinte (11)**

**2021**

### **Contemporary Solutions for Advances Catalytic Materials with a High Impact on Society**

**(CoSolMat2021)**, 11-15 octombrie 2021, Bucuresti (online)

Giulia Gheorghita, Cristina Purcarea, Madalina V. Sandulescu-Tudorache. Biocatalysis based on cold-active lipase for silymarin valorization from vegetal waste of cold-pressed milk thistle oil technology. [Prezentare orală](#)

**15<sup>th</sup> International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations (BIOTRANS 2021)**, 19-22 iulie 2021, Graz, Austria (online)

Giulia Gheorghita, Cristina Purcarea, Madalina V. Sandulescu-Tudorache. Biocatalysis based on cold-active lipase for silymarin derivatization. [Poster](#)

**International Symposium on Biomaterials for Fuels and Chemicals (SBFC)**, 26-28 aprilie, 2021 (online)

Giulia Gheorghita, Cristina Purcarea, Madalina V. Sandulescu-Tudorache. Biocatalysis based on cold-active lipase for silymarin valorization from vegetal waste of cold-pressed milk thistle oil technology. [Prezentare orală](#)

**28<sup>th</sup> INTERNATIONAL KARSTOLOGICAL SCHOOL CLASSICAL KARST “Regional Karstology – Local and General Aspects within International Year of Karst and Caves”**, 14-18 iunie 2021, Slovenia (online)

Ojovan B, Gheorghita GR, Paun VI, Purcarea C. Cold active lipases from Scarisoara Ice Cave and their applicative potential. [Poster](#)

**Ziua Internațională a Microorganismelor (ZIM2021)** Bucuresti, 17 septembrie 2021

Paun VI, Cheorgita GR, Iancu L, Ojovan B, Sandulescu-Tudorache MV, Chifiriuc MC, Purcarea C. Genome sequence and applicative potential of the psychrotrophic *Psychrobacter* SC65A3 strain isolated from Scarisoara Ice Cave. [Prezentare orală](#)

**A 61-a Sesiune Anuala de Comunicari Stiintifice a Institutului de Biologie**, Bucuresti, 10 decembrie 2021

Paun VI, Cheorgita GR, Sandulescu-Tudorache MV, Purcarea C. Bacterii din gheata perena din pestera Scarisoara: sursa de biocatalizatori activi la temperaturi scazute. [Prezentare orală](#)

## **2022**

**13<sup>th</sup> International Symposium of the Romanian Catalysis Society. RomCat 2022**, Baile Govora, Romania, 22-24 iunie 2022

Giulia Gheorghita, Sabina Ion, Andreea Ftodiev, Victoria I. Paun, Cristina Purcarea, Madalina Tudorache. Biocatalytic system for silymarin derivatization based on cold-active lipase biocatalyst. [Poster](#)

**10<sup>th</sup> SCAR Open Science Conference**. Online 1-10 august 2022.

Victoria I. Paun, Antonio Mondini, Zohaib Anwar, Paris Lavin, Lea Ellegaard-Jensen, Carsten Suhr Jacobsen, Cristina Purcarea. Ice microbiome response to thermal stress. [Prezentare orală](#)

**9<sup>th</sup> IUPAC International Conference on Green Chemistry**. Atena, Grecia 5-9 septembrie 2022,

Giulia Gheorghita, Sabina Ion, Andreea Ftodiev, Victoria I. Paun, Cristina Purcarea, Madalina Tudorache. Silymarin derivatization using biocatalytic system based on cold-active lipase biocatalyst. [Prezentare orală](#)

**13<sup>th</sup> International Congress on Extremophiles**, Loutraki, Grecia, 18-22 septembrie 2022.

Sabina Ion, Victoria I. Paun, Giulia R. Gheorghita, Andreea Ftodiev, Simona Neagu, Madalina Tudorache, Cristina Purcarea. Psychrophilic bacterial lipase for improved biocatalytic acylation process in oil industry. *Poster*

**Conferinta de Microbiologie "G. Zarnea".** Bucuresti, 29 septembrie 2022.

Victoria I. Paun, Roberta Banciu, Alina Vasilescu, Sabina Ion, Madalina Sandulesc, Cristina Purcarea. Enzime din bacterii psihrofile cu potential aplicativ. *Prezentare orală*

6. Prezentarea livrabilelor/indicatorilor obținuți la finalul proiectului comparativ cu cei propuși.

Nr. crt.	Livrabile/indicatori planificați	Nr.	Livrabile/indicatori realizați	Nr.
1.	Articole ISI	2	3 articole ISI publicate (Q1 si 2 Q2) 1 articol ISI in evaluare (Q2) 1 articol in curs de redactare (Q1)	5
2.	Aplicatie patent	1	Aplicatie patent - OSIM	1
3.	Conferinte stiintifice		8 conferinte internationale, 3 nationale (7 prezentari orale, 4 postere)	11
4	Produce	3	1. Plasmid pPSL2 continand gena lip2 din bacteria psihrofila Psychrobacter sp. SC65A.3 in vectorul de expresie pHAT2 2. Enzima PSL2 recombinanta purificata 3. Biocatalizator lipazic obtinut prin incapsularea lipazei PSL2	3
5.	Metoda	1	1. Metoda de derivatizare enzimatica a silibinului pe baza lipazei extremofile din tulpina bacteriana psihrofila Psychrobacter SC65A.3 2. Metodă de obținere a lipazei bacteriene PSL2 psihrofile	2
6.	Raport asupra compozitiei de acizi grasi a uleiului de armurariu	1	Raport asupra compozitiei de acizi grasi a uleiului de armurariu	1
7.	Raport asupra proprietatilor biofizice si a activitatii antioxidante ale uleiului de armurariu	1	Raport asupra proprietatilor biofizice si a activitatii antioxidante ale uleiului de armurariu	2
8.	Raport asupra activitatii lipazice si specificitatii de substrat al enzimei din microorganisme criofile.	1	Raport asupra activitatii lipazice si specificitatii de substrat al enzimei din microorganisme criofile.	2
9.	Fractii de acizi grasi omega din uleiul de armurariu presat la rece	1	Fractii de acizi grasi omega din uleiul de armurariu presat la rece	1
10.	Lipaza microbiana recombinanta	1	Lipaza microbiana recombinanta	1



<b>11.</b>	Raport asupra stabilitatii, activitatii si specificitatii de substrat ale noii lipaze libere si imobilizate	<b>1</b>	Raport asupra stabilitatii, activitatii si specificitatii de substrat ale noii lipaze libere si imobilizate	<b>1</b>
<b>12.</b>	Batch-uri de lipaza imobilizata		Batch-uri de lipaza imobilizata	<b>8</b>
<b>13.</b>	Raport asupra compozitiei chimice a srotului de armurariu si a fractiunilor de silibin pentru derivatizare	<b>1</b>	Raport asupra compozitiei chimice a srotului de armurariu si a fractiunilor de silibin A/B pentru derivatizare	<b>1</b>
<b>14.</b>	Raport asupra sistemului biocatalitic si a metodei de derivatizare enzimatica a silibinului	<b>1</b>	Raport asupra sistemului biocatalitic si a metodei de derivatizare enzimatica a silibinei A/B	<b>2</b>
<b>15.</b>	Produsi esterificati ai silibinului	<b>1</b>	Produsi esterificati ai silibinului	<b>2</b>
<b>16.</b>	Protocol validat al noii metode biocatalitice utilizand lipaza imobilizata	<b>1</b>	Protocol validat al noii metode biocatalitice utilizand lipaza imobilizata	<b>1</b>
<b>17.</b>	Batch-uri de esteri de silibin		Batch-uri de esteri de silibin	<b>3</b>
<b>18.</b>	Raport asupra caracteristicilor fizicochimice si proprietati biologice ale derivatilor de silibin	<b>1</b>	Raport asupra caracteristicilor fizicochimice si proprietati biologice ale derivatilor de silibin	<b>1</b>
<b>19.</b>	Batch-uri de ulei de armurariu imbunatatit	<b>1</b>	Batch-uri de ulei de armurariu imbunatatit	<b>1</b>
<b>20.</b>	Raport asupra caracteristicilor fizicochimice si enzimaticale ale uleiului de armurariu imbunatatit	<b>1</b>	Raport asupra caracteristicilor fizicochimice si enzimaticale ale uleiului de armurariu imbunatatit	<b>1</b>

Director de proiect  
Dr. Cristina Purcarea



Data: 31.10.2022

## PREZENTARE SINTETICA A PROIECTULUI SYMPLUS

Armurariul (ciulinul de lapte) este o plantă medicinală folosită în aplicații clinice pentru tratamentul hepatitei toxice, ficatului gras, cirozei, leziunilor ischemice și hepatitei virale. În vederea creșterii conținutului compușilor cu activitate antioxidantă din uleiul de armurariu rezultat prin presare la rece cu proprietăți farmacologice antiinflamatoare, imunomodulatoare, anticancer, cardio- și hepatoprotectoare, proiectul SYMPLUS a dezvoltat, optimizat și validat o metodă enzimatică de derivatizare a silibinului, principalul component al plantei, prin valorificarea deșeurilor vegetale rezultate din procesul industrial. Metoda s-a bazat pe utilizarea unei lipaze recombinante din bacteria *Psychrobacter* SC65A.3 izolată din Ghețarul Scărișoara prezentând o stabilitate și eficiență catalitică ridicată pentru reacții la temperaturi scăzute cu aport energetic redus. Enzima a fost imobilizată pentru obținerea unui biocatalizator robust și eficient în procesul catalitic de acilare al silibinului cu acizi grași și derivați ai acizilor grași. Uleiul îmbogățit cu esterii obținuți în reacție a prezentat proprietăți fizico-chimice și biologice superioare, cu o activitate antioxidantă îmbunătățită.

