

## RAPORT ȘTIINȚIFIC ȘI TEHNIC

**Titlu proiect: Dezvoltarea și optimizarea tehnologiei de fermentare inovativă a polenului de albine pentru realizarea de produse tri-biotice (3-BIOTIC)**

**Contract de finantare nr. 6 BG/2016**

**Etapă 2/2017: Validarea tehnicilor de cultura și metodelor de testare/ Derulare stăgii practice/**

### **Diseminare rezultate**

Etapă a avut trei obiective majore, respectiv validarea unor tehnici și metode de lucru asimilate de agentul economic Medica, derularea de stăgii de practică ale masteranzilor și doctoranzilor în unitatea economică și diseminarea rezultatelor și a produsului.

- În cazul tehnicilor de biologie moleculară utilizate pentru evaluarea populației de probiotice din consorții SCOBY a fost validată metoda identificării prin amplificarea unor fragmente specifice grupelor de lactobacili cu caracteristici probiotice și s-a reșuit elaborarea unei curbe etalon de cuantificare a populației probiotice prin intermediul qPCR. Secvențierea a evidențiat prezența speciei *Pediococcus pentosaceus* în produsul fermentat de Kombucha.
- Din punct de vedere statistic, analiza de citometrie în flux a determinat faptul că aproximativ 91,2 - 93,4% din totalul celulelor bacteriene din probele analizate sunt vii, în timp ce doar un procent redus de 0,4 - 0,7% sunt moarte. În concluzie, rezultatele obținute conform standardului 19344:2015 a evidențiat faptul că bacteriile izolate din consorțiul Soby sunt viabile și nu au membrana celulară afectată.
- În cazul testării caracteristicilor probiotice, ca urmare a screeningului pentru formarea de halou de bacteriocine și a rezistenței la săruri biliare s-au evidențiat izolatele de S1 și L5 au fost reținute pentru studii ulterioare ca tulpini cu potențial probiotic ridicat. Metodele au fost validate în aceleași condiții în laboratoarele Medica.
- Referitor la adhezivitatea celulelor bacteriene, în cazul tulpinii L5 creșterea timpului de expunere (4h) a celulelor intestinale la suspensia bacteriană a condus la o aderență semnificativă a lactobacililor la substratul celular. În concluzie, tulpina de bacterie lactică utilizată în acest studiu a arătat o aderență difuză la linia celulară Caco-2.
- În probele de polen fermentat în kombucha s-a observat o scădere masivă a cantității de carbohidrați (hexoze, zahăruri reducătoare și pentoze) comparativ cu probele martor (probe de polen nefermentat). Datele obținute indică faptul că prin fermentația polenului în consorțiu SCOBY/Kombucha se obține un produs cu conținut crescut de fibre dietetice, mărind potențialul prebiotic al acestuia. Prin fermentație are loc o creștere a biodisponibilității fito-nutrienților prezenți în granulele de polen.
- În cazul determinării glucidelor fermentescibile și a activității antioxidante, metodele de determinare cantitativă au fost validate în cadrul laboratoarelor de la agentul economic, prin efectuarea aceluși metode la același tip de probe și cu aceleași echipamente. Rezultatele obținute la beneficiar au fost comparabile ca ordin de mărime, ceea ce a permis validarea metodelor.
- Determinare cromatografică prin HPLC a glucidelor a fost validată la agentul economic prin utilizarea unui echipament KNAUER. Validarea s-a realizat utilizând aceleași probe de polen fermentat în Kombucha față de un martor (polen nefermentat). Rezultatele obținute pe cele două echipamente au fost comparabile, ceea ce a permis validarea metodei.
- În perioada de raportare au fost implicați în stăgii practice la agentul economic Medica S.A 2 studenți masteranzi și 2 doctoranzi din USAMV București, Facultatea de Biotehnologii.
- În această etapă toți partenerii s-au implicat în diseminare. Astfel, au fost depuse și acceptate 2 articole ISI, iar membrii echipei de proiect au participat la 2 evenimente științifice, fiind susținute 3 prezentări cu rezultatele proiectului.