

UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI
FACULTATEA DE BIOLOGIE ȘI GEOLOGIE
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE INTEGRATIVĂ

TEZA DE DOCTORAT - REZUMAT

**Caracterizarea a șase specii de plante din genul *Allium* și
explorarea proprietăților extractelor vegetale**

Coordonator de doctorat:

Prof. Dr. Anca-Livia BUTIUC

Student doctorand:

Ioana Andreea BARBU

Cluj-Napoca,

2025

Cuprins

INTRODUCERE	4
CAPITOLUL I	11
Caracterizarea a șase specii de <i>Allium</i>	11
I.1. Introducere	11
I.2. Materiale și metode	13
I.2.1. Colectarea frunzelor	13
I.2.2. Microscopie optică	14
I.2.3. Microscopie electronică cu baleiaj (SEM)	14
I.2.4. Microscopie electronica cu transmisie (TEM)	15
I.2.5. Analiza computațională	15
I.3. Rezultate	16
I.3.1. Microscopie optică	16
I.3.2. Microscopie electronică cu baleiaj (SEM)	21
I.3.3. Diferențe între frunzele de <i>A. obliquum</i> și <i>A. fistulosum</i>	25
I.3.3.1. Analiza microscopică	26
I.3.3.2. Analiza computațională	29
I.4. Discuții	31
I.5. Concluzii	32
Bibliografie	33
Capitolul II	36
Obținerea și caracterizarea extractelor de <i>Allium</i>	36
II.1. Caracterizarea fitochimică și activitatea antimicrobiană a unor extracte de <i>Allium</i>	36
II.1.1. Introducere	36
II.1.2. Materiale și Metode	37
II.1.2.1. Prepararea materialului vegetal și a extractelor	37
II.1.2.2. Analiza fitochimică a extractelor de <i>Allium</i>	38
II.1.2.2.1. Conținutul total de polifenoli (TPC)	38
II.1.2.2.2. Conținutul total de flavonoizi (TFC)	38
II.1.2.2.3. Conținutul total de tiosulfinați (TTC)	39
II.1.2.3. Analiza cromatografică a extractelor de <i>Allium</i>	39

II.1.2.4. Metoda difuzimetrică	40
II.1.2.5. Metoda microdiluțiilor (MIC and MBC)	41
II.1.2.6. Analiza statistică	41
II.1.3. Rezultate	42
II.1.3.1. Compoziția fitochimică a extractelor de <i>Allium</i>	42
II.1.3.2. Activitatea antimicrobiană	44
II.1.4. Discuții	47
II.1.5. Concluzii	49
MATERIALE SUPLIMENTARE Capitolul II.1.	50
Referințe	55
II.2. Compoziția Chimică și Activitatea Antioxidantă a șase extracte de <i>Allium</i> utilizând metode biomimetice bazate pe proteine	61
II.2.1. Introducere	61
II.2.2. Materiale și Metode	63
II.2.2.1. Obținerea extractelor	63
II.2.2.2. Analiza fitochimică	63
II.2.2.3. Activitatea de eliminare a radicalilor liberi a extractelor de <i>Allium</i>	65
II.2.2.3.1. Metoda DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)	65
II.2.2.3.2. Metoda ABTS [2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)].....	65
II.2.2.4. Activitatea de neutralizare a peroxidului de hidrogen a extractelor de <i>Allium</i>	66
II.2.2.5. Interacțiunea extractelor de <i>Allium</i> cu cyt c și hemoglobina	66
II.2.2.6. Activitatea de neutralizare a radicalilor hidroxilici a extractelor de <i>Allium</i>	66
II.2.2.7. Interacțiunea cu albumina serică bovină (BSA) a extractelor de <i>Allium</i>	67
II.2.2.8. Analiza statistică	67
II.2.3. Rezultate	67
II.2.3.1. Activitatea de eliminare a radicalilor liberi a extractelor de <i>Allium</i>	67
II.2.3.2. Activitatea extractelor de <i>Allium</i> de neutralizare a radicalilor hidroxilici	68
II.2.3.3. Activitatea extractelor de <i>Allium</i> de neutralizare a peroxidului de hidrogen.....	69
II.2.3.4. Interacțiunea cu Hemoglobina și Cytochromul c a extractelor de <i>Allium</i>	70
II.2.3.5. Interacțiunea extractelor de <i>Allium</i> cu albumina serică bovină	73
II.2.3.6. Analiza fitochimică a extractelor	73

II.2.4. Discuții	74
II.2.5. Concluzii	78
Referințe	79
CAPITOLUL III	85
Exploatarea biotehnologică a extractelor	85
Efecte antimicrobiene produse de nanoparticulele de aur obținute cu extracte de <i>Allium sativum</i> și <i>Allium ursinum</i>	85
III.1. Introducere	85
III.2. Materiale și metode	87
III.2.1. Obținerea extractelor	87
III.2.2. Biosinteza și caracterizarea nanoparticulelor de Aur (AuNP)	87
III.2.3. Activitatea antimicrobiană	87
III.3. Rezultate	88
III.3.1. Caracterizarea AuNP-urilor prin spectrometrie UV-Vis	88
III.3.2. Activitatea antimicrobiană	89
III.4. Discuții	90
III.5. Concluzii	92
Referințe	93
CAPITOLUL IV	96
Concluzii generale, noutatea rezultatelor și limitările studiului	96
IV.1. Concluzii generale	96
IV.2. Noutatea rezultatelor	97
IV.3. Perspective	97
IV.4. Limitările studiului	98
LISTA PUBLICAȚIILOR INCLUSE ÎN TEZĂ	99
LISTA PUBLICAȚIILOR NEINCLUSE ÎN TEZĂ	99
PARTICIPĂRI LA CONFERINȚE NAȚIONALE ȘI INTERNAȚIONALE	100
MULȚUMIRI	101

REZUMAT

Plantele din genul *Allium* sunt plante perene, erbacee, membre ale familiei Liliaceae. Aceste specii au fost utilizate atât în scopuri culinare, cât și medicinale încă din timpuri preistorice (Harris et al., 2001).

Creșterea rezistenței la antibiotice, împreună cu cererea de terapii inovatoare, i-a determinat pe cercetători să exploreze alternative pe bază de plante. Studii recente au demonstrat că speciile de *Allium* și compușii lor bioactivi - cum ar fi polifenolii, flavonoidele și tiosulfinații (în special alicina) - posedă activități antioxidante notabile (El-Saber Batiha et al., 2020; Barbu et al., 2024), antibacteriene (Gabriel et al., 2022; Barbu et al., 2023), antifungice (Diba și Alizadeh, 2018), antiinflamatorii (Marefati et al., 2021) și antitumorale (Iwar et al., 2024).

Variabilitatea compușilor identificați la speciile de *Allium* este determinată de o serie de factori, inclusiv metoda utilizată pentru prepararea tincturii, solventul utilizat în extracție, biosinteza metaboliților din mezofilul frunzei, precum și caracteristicile morfologice și structurale ale frunzelor și condițiile de mediu predominante. La speciile de *Allium*, sinteza compușilor bioactivi are loc predominant în frunziș, care prezintă diferențe interspecifice în ceea ce privește forma, dimensiunea, stadiul de dezvoltare (fenofază) și numărul de frunze per plantă. Deși atributele structurale ale speciilor de *Allium* au fost documentate pe larg, o corelație definitivă între aceste caracteristici și activitatea biosintetică a constituenților lor bioactivi nu a fost încă stabilită, așa că acest studiu își propune să investigheze acest aspect.

Rezultatele promițătoare obținute folosind extracte de *Allium* au condus la extinderea cercetărilor către formularea extractelor vegetale în sisteme care pot fi aplicate mai ușor, mai eficiente și mai stabile în terapie, cum ar fi nanoparticulele metalice (Coman et al., 2013; Gabriel et al., 2022; Baran et al., 2023) sau hidrogelurile (Widiyanti și Priskawati, 2023), care au demonstrat un impact semnificativ în domeniul medical.

Scopul acestei teze a fost caracterizarea a șase extracte de *Allium* și explorarea proprietăților lor bioactive. Studiul a fost realizat prin combinarea microbiologiei, fitochimiei, precum și a abordărilor de microscopie optică și electronică, pentru a caracteriza structurile implicate în sinteza compușilor fitochimici și proprietățile biologice ale extractelor. Pentru a atinge acest obiectiv, au fost îndeplinite următoarele obiective:

1. Analiza structurală a frunzelor de *A. ursinum*, *A. cepa*, *A. sativum*, *A. senescens* subsp. *montanum*, *A. fistulosum* și *A. obliquum*.

2. Caracterizarea chimică a extractelor de *Allium* și testarea activității antimicrobiene și antioxidante.

3. Biosinteza verde a nanoparticulelor de aur (Au) cu extract de *Allium*, caracterizarea acestora și testarea activității antimicrobiene.

Această teză este organizată în patru capitole: primele trei prezintă activitățile întreprinse pentru atingerea obiectivelor propuse, în timp ce al patrulea prezintă concluziile generale ale studiului.

Capitolul I prezintă caracterizarea structurală a frunzelor a șase specii de *Allium* și explorează potențiala lor corelație cu sinteza compușilor fitochimici și compoziția chimică a extractelor acestora, utilizând microscopia optică (LM) și microscopia electronică cu scanare-transmisie (S/TEM). Analiza SEM a relevat diferențe substanțiale în morfologia frunzelor. Observațiile LM au permis examinarea detaliată a epidermei superioare și inferioare, precum și a mezofilei. Frunzele prezintă o epidermă caracterizată prin pereți celulari groși, straturi cuticulare și ceruri epicuticulare.

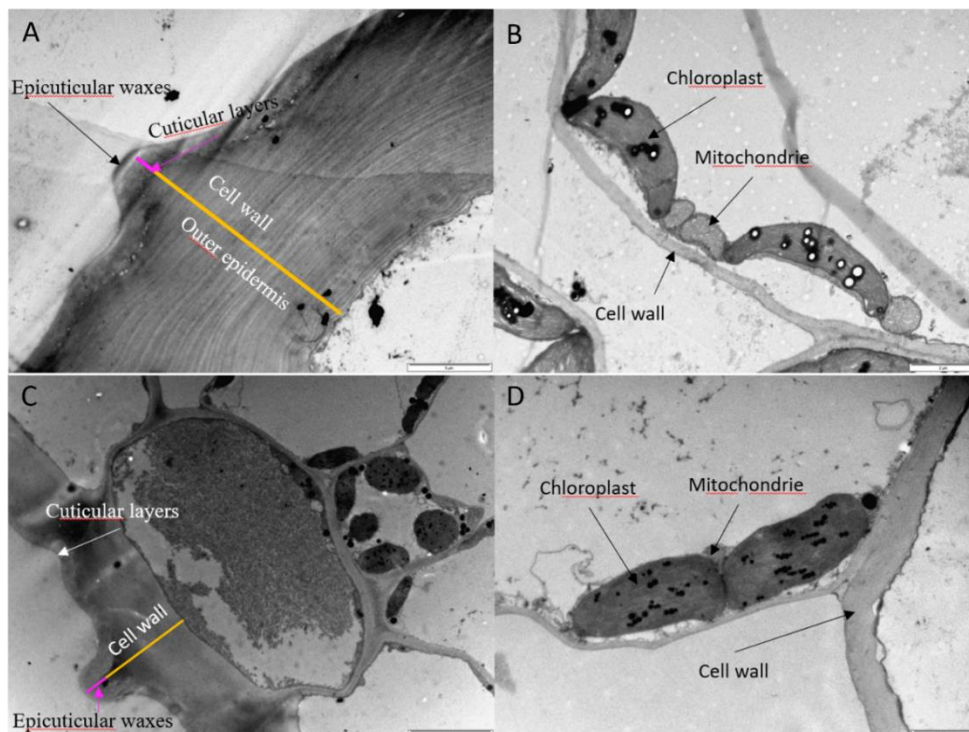


Figura 1. Microscopia electronică de transmisie (TEM) a frunzelor de (A, B) *A. fistulosum*; (C, D) *A. obliquum*.

Spre deosebire de celelalte specii examinate, *A. fistulosum* și *A. cepa* nu au o epidermă inferioară, cloroplastele aflându-se exclusiv sub epiderma externă.

Din punct de vedere ultrastructural (Figura 1), aceste două specii prezintă pereți celulari epidermici și distribuții similare ale cloroplastelor. Prezența ambelor straturi epidermice la *A. obliquum*, *A. sativum*, *A. ursinum* și *A. senescens* ar putea explica conținutul lor mai mare de allicină. Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare pentru a confirma aceste constatări.

Capitolul II este împărțit în două subcapitole și își propune să descrie obținerea extractelor și să caracterizeze efectele antimicrobiene și antioxidante produse de acestea.

În primul subcapitol, extractele hidroalcoolice a șase specii de *Allium* obținute prin percolare la rece au fost analizate în ceea ce privește compușii lor fitochimici și activitatea antimicrobiană. Între cele șase extracte, s-au observat diferențe între conținutul de polifenoli și flavonoide, în timp ce *Allium sativum* și *Allium ursinum* au conținuturi similare de tiosulfinați. Metoda HPLC-DAD a fost utilizată pentru a detalia compoziția fitochimică a speciilor bogate în tiosulfinați, *A. sativum* dovedindu-se a fi cel mai bogat în allicină. Activitatea antimicrobiană (Figura 2) a extractelor de *A. sativum* și *A. ursinum* împotriva *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* și *Candida parapsilosis* poate fi corelată cu prezența unor cantități mari de tiosulfinați.

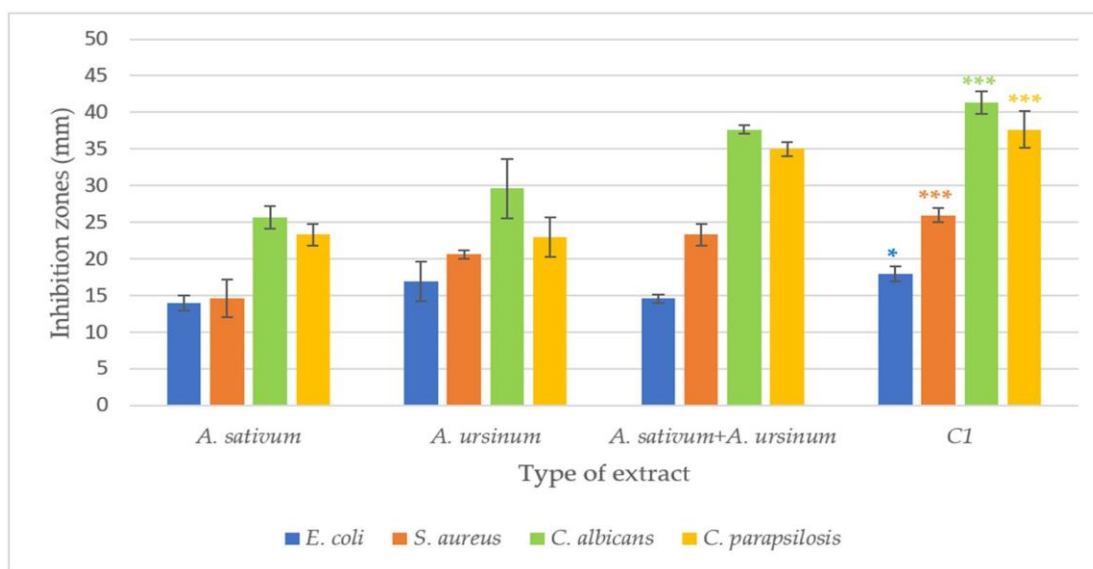


Figura 2. Efectul antrimicrobian al *Allium sativum*, *A. ursinum*, *A. sativum* and *A. ursinum* 1:1 on *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* and *C. parapsilosis*. Valorile reprezintă media a trei măsurători $\pm$ deviația standard; *** $p < 0.0005$, * $p < 0.05$, conform one-way ANOVA.

Ambele extracte au demonstrat rezultate împotriva speciilor de *Candida* și împotriva bacteriilor Gram-pozitive, *Staphylococcus aureus*. Aceste rezultate demonstrează efectul antimicrobian al extractelor și sugerează utilizarea lor ca tratament adjuvant pentru infecțiile microbiene. Acest capitol a fost publicat ca Barbu, I.A., Ciorîță, A., Carpa, R., Moț, A.C., Butiuc-Keul, A., Pârvu, M. (2023) Phytochemical Characterization and Antimicrobial Activity of Several *Allium* Extracts. *Molecules* 28, 3980. [10.3390/molecules28103980](https://doi.org/10.3390/molecules28103980)

Al doilea subcapitol prezintă efectele antioxidante a șase extracte de *Allium*, evaluate prin diverse metode spectrofotometrice pentru a demonstra potențialul lor antioxidant. Extractele testate au inclus *Allium fistulosum*, *Allium ursinum*, soiul roșu Arieș de *A. cepa* și varietatea albă de *A. cepa*, *Allium sativum* și *Allium senescens* subsp. *montanum*. Compoziția lor chimică a fost determinată utilizând analiza HPLC-MS. Dintre acestea, soiul roșu Arieș de *A. cepa* a prezentat cea mai puternică activitate antioxidantă, probabil atribuibilă nivelurilor sale ridicate de polifenoli și aliină. Per total, rezultatele confirmă faptul că extractele de *Allium* posedă proprietăți antioxidante semnificative și de eliminare a radicalilor liberi. Mai mult, interacțiunile lor cu citocromul c și hemoglobina sugerează căi promițătoare pentru cercetări viitoare în dezvoltarea de terapii pentru tulburările legate de stresul oxidativ. Acest capitol a fost publicat ca Barbu, I.A., Toma, V.A., Moț, A.C., Vlase, A.-M., Butiuc-Keul, A., Pârvu, M. (2024) Chemical Composition and Antioxidant Activity of Six *Allium* Extracts Using Protein-Based Biomimetic Methods. *Antioxidants* 13, 1182. <https://doi.org/10.3390/antiox13101182>

Capitolul III a avut ca scop examinarea proprietăților antimicrobiene ale nanoparticulelor de aur (AuNP) produse cu extracte de *Allium sativum* și *Allium ursinum*. Aceste extracte, bogate în compuși cu sulf (aliciină), flavonoide și polifenoli, nu numai că au promovat formarea nanoparticulelor, dar le-au sporit și eficacitatea antimicrobiană. Nanoparticulele rezultate au fost caracterizate prin spectroscopie UV-Vis și ulterior evaluate pentru activitatea antimicrobiană. Testele microbiologice *in vitro* (Figura 3) au relevat că nanoparticulele au fost active împotriva bacteriilor Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus*), Gram-negative (*Escherichia coli*) și fungilor (*Candida albicans* și *Candida parapsilosis*). Constatările sugerează că nanoparticulele de aur combinate cu extracte de *Allium* reprezintă o alternativă naturală promițătoare pentru dezvoltarea de agenți antimicrobieni, cu aplicații potențiale în medicină, industria alimentară și industria farmaceutică. Acest capitol a fost publicat ca Barbu, I.A., Biro, O.M., Carpa, R., Butiuc-Keul, A., Pârvu, M. (2025) Antimicrobial effects produced by gold nanoparticles obtained with extracts of

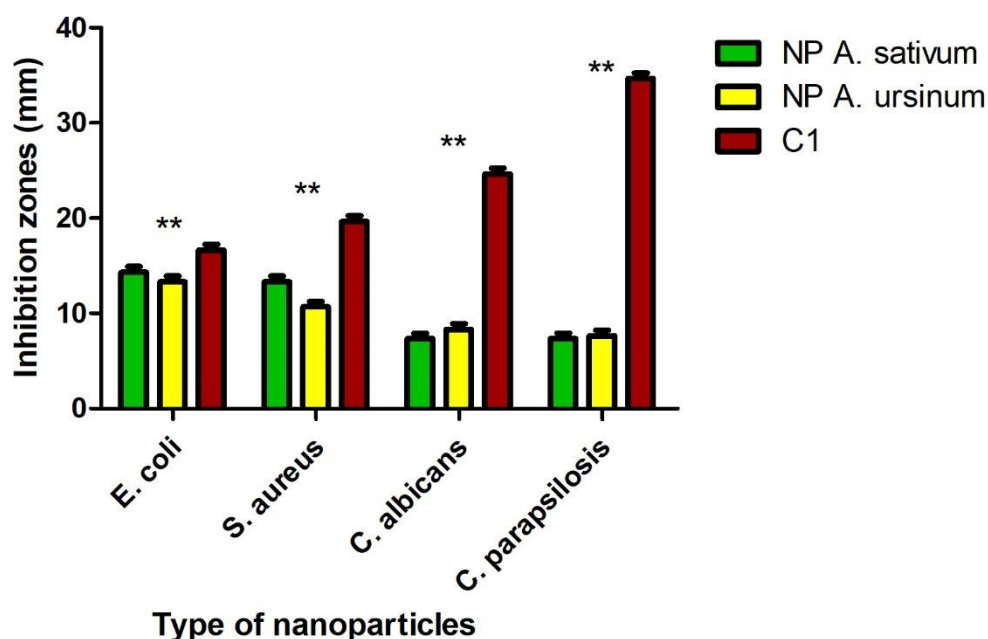


Figura 3. Efectul antimicrobian al AuNP-urilor obținute cu extracte de *Allium sativum* și *A. ursinum* asupra *S. aureus* (C1 – sulfametoxazol), *E. coli* (C1 – cefuroximă), *C. albicans* și *C. parapsilosis* (C1 – voriconazol). Valorile reprezintă media a trei măsurători $\pm$ deviația standard; ** $p < 0,005$, conform one-way ANOVA.

Capitolul IV prezintă principalele descoperiri și concluzii ale acestei teze, oferind o sinteză cuprinzătoare a rezultatelor cercetării, evidențiind totodată potențialele direcții pentru studii viitoare.

Teza evidențiază modul în care structura frunzelor la speciile de *Allium* afectează biosinteza compușilor activi. Speciile atât cu epidermă superioară cât și inferioară (de exemplu, *A. sativum*, *A. ursinum*) prezintă niveluri mai ridicate de allicină decât cele cu o singură epidermă. Extractele de *Allium*, în special din *A. sativum* și *A. ursinum*, demonstrează efecte antimicrobiene puternice legate de conținutul de tiosulfinați. Activitatea antioxidantă variază în funcție de specie, soiul roșie Arieș de *A. cepa* prezentând cea mai mare capacitate antioxidantă datorită conținutului său de polifenoli și aliină. Nanoparticulele de aur sintetizate din extracte de *Allium* sporesc acțiunea antimicrobiană, oferind potențial în medicină, farmaceutică și industria alimentară.

Per ansamblu, această teză explorează potențialul terapeutic al plantelor din genul *Allium* prin integrarea diverselor abordări analitice. Analiza structurală a frunzelor, profilarea fitochimică a extractelor, împreună cu evaluările antimicrobiene și antioxidante, au oferit rezultate care deschid perspective importante pentru avansarea cercetării în domeniul plantelor medicinale, dezvoltarea de suplimente nutritive sau utilizarea extractelor ca adjuvanți în tratamentul diferitelor boli.

LISTA PUBLICAȚIILOR INCLUSE ÎN TEZĂ

1. Barbu, I.A., Ciorîță, A., Carpa, R., Moț, A.C., Butiuc-Keul, A. and Pârvu, M. (2023) Phytochemical characterization and antimicrobial activity of several *Allium* extracts, *Molecules*, 28, 3980. <https://doi.org/10.3390/molecules28103980>
2. Barbu, I.A.; Toma, V.A.; Moț, A.C.; Vlase, A.-M.; Butiuc-Keul, A.; Pârvu, M. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Six *Allium* Extracts Using Protein-Based Biomimetic Methods. *Antioxidants* **2024**, *13*, 1182. <https://doi.org/10.3390/antiox13101182>
3. Barbu, I.A., Biro, O.M., Carpa, R., Butiuc-Keul, A. and Pârvu, M. (2025) Antimicrobial effects produced by gold nanoparticles obtained with extracts of *Allium sativum* and *Allium ursinum*, *Studia Universitatis Babeș-Bolyai, Biologia* 70(1). <https://doi.org/10.24193/subbbiol.2025.1.15>

LISTA PUBLICAȚIILOR NEINCLUSE ÎN TEZĂ

1. Racz, L.Z., Racz, C.P., Pop, L.-C., Tomoaia, G., Mocanu, A., Barbu, I., Sárközi, M., Roman, I., Avram, A., Tomoaia-Cotisel, M. *et al.* (2022) Strategies for improving bioavailability, bioactivity, and physical-chemical behavior of *curcumin*, *Molecules* 27, 6854. <https://doi.org/10.3390/molecules27206854>

PARTICIPĂRI LA CONFERINȚE NAȚIONALE ȘI INTERNAȚIONALE

Barbu I.A., Carpa R., Ciorîță A., Butiuc-Keul A., Pârvu M. (2022) Antimicrobial activity of *Allium sativum* and *Allium ursinum* extracts.

- Poster at the International Conference and XXXIX Scientific Session of the Romanian Society for Cell Biology (RSCB), October 21-23, 2022, Cluj-Napoca, Romania.

Barbu I.A., Carpa R., Moț A.C., Ciorîță A., Butiuc-Keul A., Pârvu M. (2023) *Allium sativum* and *Allium ursinum* extracts: antimicrobial activity and phytochemical characterization.

- Poster at the Annual International Conference of the *Romanian Society of Biochemistry and Molecular Biology*, September 13-15, 2023, Cluj-Napoca, Romania. *Studia Universitatis Babeș-Bolyai, Biology*, 68(2), RSBMB Book of abstracts pp. 93, [Abstract-book-RSBMB-2023_varianta-finala.pdf](#).

Barbu I.A., Carpa R., Moț A.C., Ciorîță A., Butiuc-Keul A., Barbu-Tudoran L., Mircea C., Pârvu M. (2023) Structural characterization of two *Allium* species dependent on their phytochemical profile.

- Poster at BIOTA - Biodiversitate, Tradiții și Actualitate, May 5-6, 2023, Cluj-Napoca, România, Book of abstracts pp. 22, <https://biogeo.ubbcluj.ro/biota-2023/>

References

1. Baran, M.F., Keskin, C., Baran, A., et al. (2023) Green Synthesis of Silver Nanoparticles from *Allium cepa* L. Peel Extract, Their Antioxidant, Antipathogenic, and Anticholinesterase Activit. *Molecules* 28 (5):5. <https://doi.org/10.3390/molecules28052310>
2. Barbu, I.A., Ciorîță, A., Carpa, R., Moț, A.C., Butiuc-Keul, A., Pârvu, M. (2023) Phytochemical Characterization and Antimicrobial Activity of Several Allium Extracts. *Molecules* 28 (10):10. <https://doi.org/10.3390/molecules28103980>
3. Barbu, I.A., Toma, V.A., Moț, A.C., Vlase A-M., Butiuc-Keul, A., Pârvu, M. (2024) Chemical Composition and Antioxidant Activity of Six *Allium* Extracts Using Protein-Based Biomimetic Methods. *Antioxidants* 13(10): 1182. <https://doi.org/10.3390/antiox13101182>
4. Coman, C., Leopold, L. F., Rugină, O. D., Barbu-Tudoran, L., Leopold, N., Tofană, M., Socaciu, C. (2013) Green Synthesis of Gold Nanoparticles by *Allium sativum* Extract and Their Assessment as SERS Substrate. *Journal of Nanoparticle Research* 16(1): 2158. <https://doi.org/10.1007/s11051-013-2158-4>
5. Diba, A. and Alizadeh, F. (2018) In vitro and in vivo Antifungal Activity of *Allium hirtifolium* and *Allium sativum*. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 8(5): 465–74. PMID: [30345234](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30345234/)
6. El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., G. Wasef, L., Elewa, Y.H.A., A. Al-Sagan, A., Abd El-Hack, M.E., Taha, A.E., M. Abd-Elhakim, Y., Prasad Devkota, H. (2020) Chemical Constituents and Pharmacological Activities of Garlic (*Allium sativum* L.): a Review. *Nutrients* 12(3): 872. <https://doi.org/10.3390/nu12030872>
7. Gabriel, T., Vestine, A., Kim, K.D., Kwon, S.J., Sivanesan, I., Chun, S.C. (2022) Antibacterial Activity of Nanoparticles of Garlic (*Allium sativum*) Extract Against Different Bacteria such as *Streptococcus mutans* and *Poryphormonas gingivalis*. *Applied Sciences* 12(7): 3491. <https://doi.org/10.3390/app12073491>
8. Harris, J. C., Cottrell, S. L., Plummer, S., Lloyd, D. (2001) Antimicrobial Properties of *Allium sativum* (garlic). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57(3): 282–286. <https://doi.org/10.1007/s002530100722>

9. Iwar, K., Ochar, K., Seo, Y.A., Ha, B.-K., Kim, S.-H. (2024) *Alliums* as Potential Antioxidants and Anticancer Agents. *International Journal of Molecular Sciences* 25(15): 8079. <https://doi.org/10.3390/ijms25158079>
10. Marefati, N., Ghorani, V., Shakeri, F. (2021) A Review of Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Immunomodulatory Effects of *Allium Cepa* and Its Main Constituents. *Pharmaceutical Biology* 59(1): 285–300. <https://doi.org/10.1080/13880209.2021.1874028>
11. Widiyanti, P. and Ayu Priskawati, Y.C. (2023) Synthesis and Characterization of Hydrogel-Based Hyaluronic Acid-Chitosan-*Allium sativum* Extract for Intraperitoneal Antiadhesion Application. *International Journal of Biomaterials* (1): 5172391. <https://doi.org/10.1155/2023/5172391>