

*Университет „Проф. д-р Асен Златаров“, гр. Бургас*  
*Научно-изследователска и художествено-творческа дейност*



*Отчет за първа година*  
*по договор към НИХ №463/2022г.*  
Срок на проекта – две години (2022 – 2024 г.)

*Тема на проекта: „Изследване на*  
*антимикробна активност на екстракти от*  
*гроздови семки и люспи“*

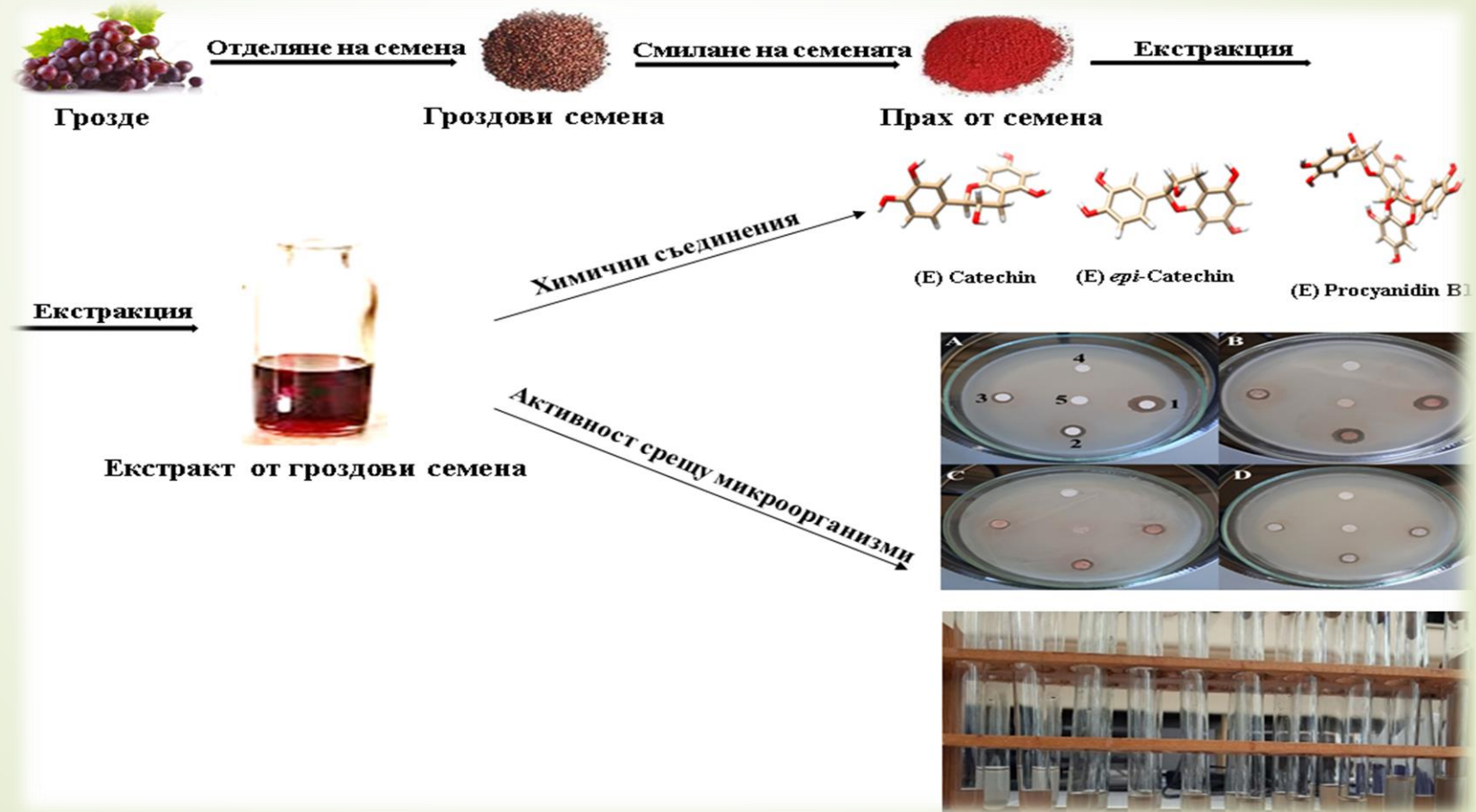
*Ръководител проект: Ас. Д-р Димитрина Кръстева*

# Научен колектив

- Ас. д-р Димитрина Кръстева – ръководител на проекта, катедра „Биотехнология“
- Доц. д-р Катя Габровска – катедра „Биотехнология“
- Гл. ас. д-р Галина Йорданова – катедра „Биотехнология“
- Гл. ас. д-р Галина Григорова – катедра „Биотехнология“
- Инж. Велина Бойчева Йорданова, докторант – свободна форма към Университет „Проф. д-р Асен Златаров“
- Ани Димитрова – студент III курс, спец. „Хранителни биотехнологии“
- Деси Стоянова – студент III курс, спец. „Хранителни биотехнологии“
- Жармена Желева – студент IV курс, спец. „Хранителни биотехнологии“

# Цел на проекта

- Целта на настоящият проект е получаването на антиоксидантни екстракти от гроздови семки и гроздови люспи на различни сортове червено грозде, както и изследване, и сравняване на тяхната антимикробна активност спрямо различни видове микроорганизми - замърсители на храни.



## Задачи за първата година

- ▶ Получаване на екстракти от гроздови семки на различни сортове червено грозде.
- ▶ Определяне на общото фенолно съдържание на екстракти от гроздови семки.
- ▶ Изследване на жизнеспособността на микробиални клетки, замърсители на храни в присъствие на различни количества екстракти от гроздови семки.
- ▶ Определяне на антимикробната активност на екстрактите от гроздови семки чрез използването на дисково- дифузионен метод.
- ▶ Определяне на минималната инхибиторна концентрация на екстрактите от гроздови семки.

# Постигнати резултати









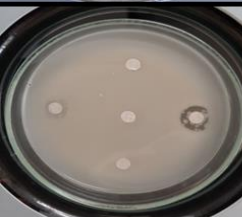

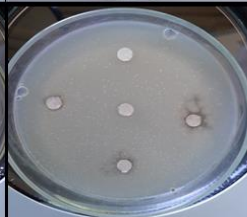
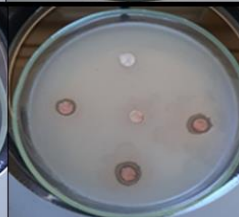
1. Получени са екстракти от гроздови семена (GE) на три сорта червено грозде - „Каберне Совиньон“, „Марселан“ и „Пино Ноар“ и един сорт бяло грозде „Тамянка“.
2. Определено е общото фенолно съдържание на екстракти от гроздови семки.

Сорт грозде	Общо фенолно съдържание, mg GAE/g	Общи флавоноиди, mg QE/g	Антоцианинови пигменти, mg CGE/g	Аскорбинова киселина, mg/g
Каберне Совиньон	223.62	106.5652	0.5054	3.0027
Марселан	228.15	71.2872	0.2162	2.7134
Пино Ноар	447.87	83.0883	0.0413	11.0757
Тамянка	160.84	60.9214	-	4.8834

Таб. 1. Сравнение на общите антиоксидантни характеристики на екстракти от семки на три сорта червено грозде и един сорт бяло грозде

3. Определена е антимикробната активност на екстрактите от гроздови семки чрез използването на дисково- дифузионен метод.

На фиг. 1 са представени снимките от дисково- дифузионен метод за всеки вид от изследваните екстракти. Очевидно е, че всички екстракти проявяват силна антимикробна активност.

Екстракт	Каберне Совиньон	Марселан	Пино Ноар	Тамянка
Бактерии				
<i>St. aureus</i>				
<i>Bac. Subtilis</i>				
<i>E. coli</i>				

Фиг. 1. Изображение на анализа на дисковата дифузия на екстракти на семки при инкубиране на бактериални клетки за 24 часа

Освен това диаметърът на инхибиращите зони зависи от концентрацията на екстрактите.

Бактерии	Екстракт, mg/ml	<i>St. aureus</i>	<i>Bac. Subtilis</i>	<i>E. coli</i>
Каберне Совиньон	1. 2.25	19	18	17.5
	2. 0.5625	10	9	-
	3. 0.1406	9	8	-
	4. 0.0351	-	-	-
	5. -	-	-	-
Марселан	1. 2.25	8	7.5	2
	2. 0.5625	7	6.5	1.5
	3. 0.1406	6	5.5	-
	4. 0.0351	-	-	-
	5. -	-	-	-
Пино Ноар	1. 2.25	7.5	6.5	6
	2. 0.5625	6.5	6	5
	3. 0.1406	5.5	5	-
	4. 0.0351	-	-	-
	5. -	-	-	-
Тамянка	1. 2.25	18.5	18	8
	2. 0.5625	12	12.5	8.5
	3. 0.1406	9	9.5	6
	4. 0.0351	-	-	
	5. -	-	-	

Табл. 2. Инхибираща зона (mm) на растежа на три вида бактерии вследствие на дифузия на екстракти на семена от Каберне Совиньон, Марселан, Пино Ноар и Тамян, инкубация 24 часа


4. Определена е минималната инхибиторна концентрация на екстрактите от гроздови семки.

бактерии	Каберне Совиньон	Марселан	Пино Ноар	Тамянка
<i>St. aureus</i>	0.009 mg/ml	0.0095 mg/ml	0.011 mg/ml	0.074 mg/ml
<i>Bac. Subtilis</i>	0.0095 mg/ml	0.011 mg/ml	0.019 mg/ml	0.029 mg/ml
<i>E. coli</i>	0.012 mg/ml	0.019 mg/ml	0.026 mg/ml	0.035 mg/ml

*Табл.3. Определяне на минимална инхибираща концентрация на екстрактите от семена на три сорта червено грозде Каберне Совиньон, Марселан, Пино Ноар и един сорт бяло грозде Тамянка с различни концентрации върху три вида бактериални клетки и време на инкубиране 24 часа*

5. Изследвана е жизнеспособността на микробиални клетки, замърсители на храни в присъствие на различни количества екстракти от гроздови семки.

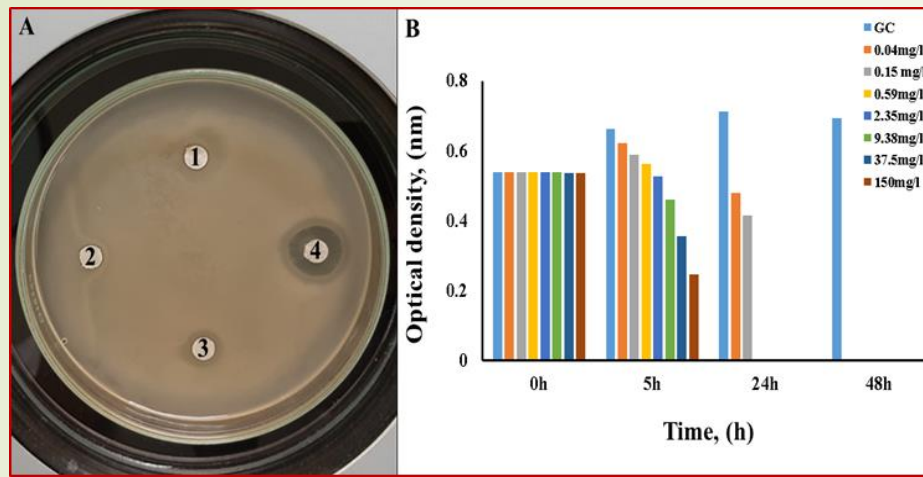




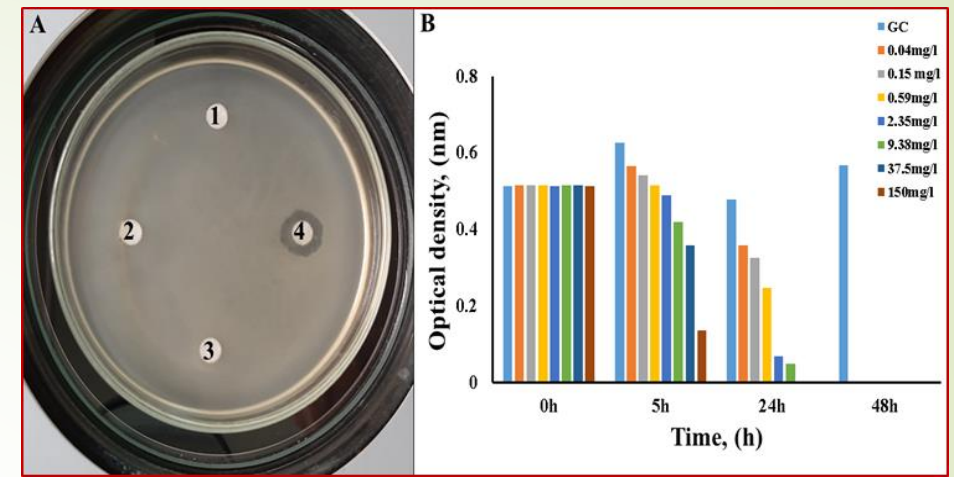
Основната задача на проекта за първата година е определяне на антимикробната активност на различни екстракти от гроздови семки.

За да бъде сравнена антимикробната ефективност на екстрактите от гроздови семки е изследвана **и инхибиторната ефективност на антибиотика Ciprofloxacin** върху бактериалния растеж на два грам-положителни щама (*S. aureus* и *B. subtilis*) и два грам-отрицателни щама (*E. coli* и *Micrococcus sp.*).

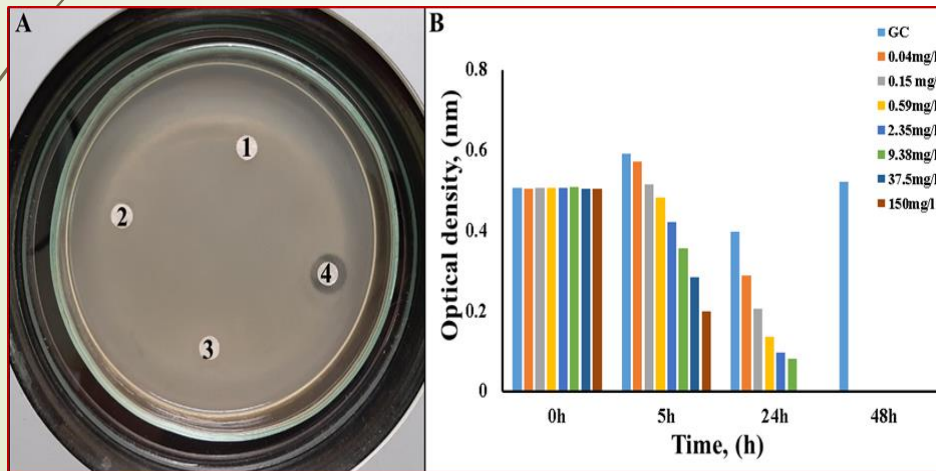
За целта са използвани два метода: дисково-дифузионен метод с измерване на диаметъра на инхибираната зона и метода на разреждането за определяне на минималната инхибираща концентрация (МИС) на антимикробния агент.



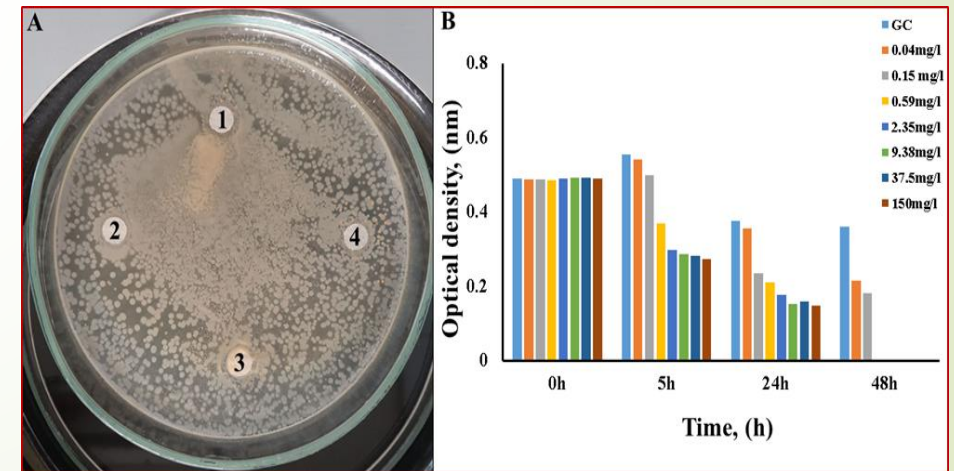
Фиг. 2. Антибактериална активност на Ciprofloxacin срещу *Staphylococcus aureus*. А). Изображение на анализа на дисковата дифузия В). Определяне на минимална инхибираща концентрация на Ciprofloxacin




Фиг. 3. Антибактериална активност на Ciprofloxacin срещу *Bacillus subtilis*. А). Изображение на анализа на дисковата дифузия В). Определяне на минимална инхибираща концентрация на Ciprofloxacin



Фиг.4. Антибактериална активност на Ciprofloxacin срещу *E. coli* . А). Изображение на анализа на дисковата дифузия В). Определяне на минимална инхибираща концентрация на Ciprofloxacin при вариране концентрацията на антибиотика



Фиг.5. Антибактериална активност на Ciprofloxacin срещу *Micrococcus sp.* А). Изображение на анализа на дисковата дифузия В). Определяне на минимална инхибираща концентрация на Ciprofloxacin при вариране концентрацията на антибиотика



## *Публикации през отчетния период*

Dimitrina Krasteva, Katya Gabrovska, Yavor Ivanov. Determination of the antimicrobial effectiveness of the antibiotic Ciprofloxacin. Annual of Assen Zlatarov University, Burgas, 2022 (in press);

Dimitrina Krasteva, Yavor Ivanov, Zlatina Chengolova and Tzonka Godjevargova. Antimicrobial potential of grape seed extracts from four grape varieties. Microorganisms (ISSN: 2076-2607), Impact Factor: 4.926, JCR category rank: Q2: Microbiology, 2022 (in press);

# Финансов отчет за първа година на договор НУХ - 463/2022

Получени средства – 6 900.00 лв.,  
Изразходвани средства – 6 797.85 лв.

- ▶ Лабораторен стомахер – 3 360 лв.;
- ▶ Система за екстракция по Soxhlet – 1 669.20лв.;
- ▶ Оптичен полистирол (кювети) и рефрактометър аналогов – 100.80лв.;
- ▶ Лабораторни консумативи и реактиви – 694.49лв.;
- ▶ Канцеларски материали – 218.36лв.
- ▶ Заплащане на рецензенти по отчета – 65.00 лв.;
- ▶ Административно/финансово-счетоводно обслужване – 690.00 лв.

**Университет "Проф.д-р Асен Златаров"**  
 Научно-изследователска и художествено творческа дейност  
 Финансов отчет за първа година на договор НИХ - 463/2022



**Изследване на антимикробна активност на екстракти от  
 гроздови семки и люспи**



Получени средства: 6900.00 лв  
 Изразходени средства: 6797.85 лв  
 Ръководител: д-р Димитрина Кръстева  
 Срок на проекта: 2 години

№ по ред		Сума
<b>1. Към перо "Дълготрайни материални активи" (над праг за същественост):</b>		
1.1	Лабораторен блендер	3360.00
1.2	Система за екстракция по Soxhlet	1669.20
	Общо :	<b>5029.20</b>
<b>2. Към перо "Други материали и активи" :</b>		
2.1	Лабораторни консумативи и реактиви	604.49
2.2	Канцеларски материали	218.36
2.3	Оптичен полистирол и рефрактометър аналогов за измерване	100.80
	Общо :	<b>1013.65</b>
<b>3. Към перо "Програмни продукти и литература":</b>		
3.1		0.00
	Общо :	<b>0.00</b>
<b>4. Към перо "Външни услуги":</b>		
4.1		0.00
	Общо :	<b>0.00</b>
<b>5. Към перо "Такси правоучастия"</b>		
5.2		0.00
	Общо:	<b>0.00</b>
<b>6. Към перо "Командировки":</b>		
6.1	Командировка на членовете на екипа в страната	0.00
	Общо :	<b>0.00</b>
<b>7. Към перо "Заплащане на възнаграждения":</b>		
7.1	Заплащане на членовете на екипа	0.00
	Общо :	<b>0.00</b>
<b>8. Към перо "Рецензенти":</b>		
8.1	Заплащане на рецензенти по отчета	65.00
	Общо :	<b>65.00</b>
<b>9. Към перо "Административно/финансово-счетоводно обслужване":</b>		
9.1	10% от стойността на договора	690.00
	Общо :	<b>690.00</b>
<b>Общо извършени разходи по проекта:</b>		<b>6797.85</b>



*Благодаря за вниманието!*