

Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați
Școala doctorală de Științe Fundamentale și Inginerești



TEZĂ DE DOCTORAT
REZUMAT

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Doctorand,
Daniela SEREA

Conducător științific,
Prof.univ.dr.ing. Gabriela-Elena BHRIM

Conducător științific în cotutelă,
Prof.univ.dr.ing. Gabriela RÂPEANU

Seria I 1. BIOTEHNOLOGII Nr. 16
GALAȚI
2023

Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați
Școala doctorală de Științe Fundamentale și Inginerești



TEZĂ DE DOCTORAT

**Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele
rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor
ingrediente cu valoare adăugată**

(Rezumatul tezei de doctorat)

**Doctorand,
Daniela SEREA**

Președinte:	Prof.univ.dr.ing. Nicoleta STĂNCIUC
Conducător științific:	Prof.univ.dr.ing. Gabriela-Elena BAHRIM
Conducător științific în cotutelă:	Prof.univ.dr.ing. Gabriela RÂPEANU
Referenți științifici:	Prof.univ.dr.ing. Adriana DABIJA
	Prof.univ.dr.ing. Simona Ioana VICAȘ
	Prof.univ.dr.ing. Iuliana APRODU

**Seria I 1. BIOTEHNOLOGII Nr. 16
GALAȚI
2023**

Seriile tezelor de doctorat susținute public în UDJG începând cu 1 octombrie 2013 sunt:

[Domeniul fundamental ȘTIINȚE INGINEREȘTI](#)

Seria I 1: Biotehnologii

Seria I 2: Calculatoare și tehnologia informației

Seria I 3: Inginerie electrică

Seria I 4: Inginerie industrială

Seria I 5: Ingineria materialelor

Seria I 6: Inginerie mecanică

Seria I 7: Ingineria produselor alimentare

Seria I 8: Ingineria sistemelor

Seria I 9: Inginerie și management în agricultură și dezvoltare rurală

[Domeniul fundamental ȘTIINȚE SOCIALE](#)

Seria E 1: Economic

Seria E 2: Management

Seria SSEF: Știința sportului și educației fizice

[Domeniul fundamental ȘTIINȚE UMANISTE ȘI ARTE](#)

Seria U 1: Filologie- Engleză

Seria U 2: Filologie- Română

Seria U 3: Istorie

Seria U 4: Filologie - Franceză

[Domeniul fundamental MATEMATICĂ ȘI ȘTIINȚE ALE NATURII](#)

Seria C: Chimie

[Domeniul fundamental ȘTIINȚE BIOLOGICE ȘI BIOMEDICALE](#)

Seria M: Medicină

Seria F: Farmacie

CUPRINS

	Pagină teză	Pagină rezumat
INTRODUCERE	18	1
I. STUDIUL DOCUMENTAR	27	-
CAPITOLUL 1. CONSIDERAȚII TEORETICE PRIVIND SEPARAREA, PROPRIETĂȚILE BIOACTIVE ȘI STABILIZAREA COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN EPICARPUL DE STRUGURI ROȘII	29	-
1.1. Caracterizarea morfologică și compozițională a epicarpului de struguri roșii din soiul <i>Băbească neagră</i>	29	-
1.1.1. Aspecte morfologice și compoziționale ale strugurilor din soiul <i>Băbească neagră</i>		-
1.1.2. Efecte fiziologice ale compușilor bioactivi prezenți în epicarpul boabelor de struguri roșii	34	-
1.2. Tehnici de extracție utilizate pentru separarea compușilor bioactivi din pielea de struguri roșii	35	-
1.2.1. Tehnici convenționale de extracție a compușilor bioactivi	36	-
1.2.2. Tehnici moderne de extracție a compușilor bioactivi	38	-
1.3. Microîncapsularea compușilor biologic activi	40	-
1.3.1. Metode de încapsulare aplicate în industria alimentară	43	-
1.3.2. Aplicațiile microîncapsulării compușilor bioactivi	44	-
Referințe bibliografice	45	-
II. STUDIUL EXPERIMENTAL	56	-
CAPITOLUL 2. EVALUAREA COMPARATIVĂ A METODELOR DE EXTRAȚIE A COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN EPICARPUL BOABELOR DE STRUGURI ROȘII DIN SOIUL <i>BĂBEASCĂ NEAGRĂ</i>	58	6
2.1. Aspecte generale	58	6
2.2. Obiectivele studiului	59	7
2.3. Materiale și metode	59	7
2.3.1. Materiale, reactivi și echipamente	59	-
2.3.2. Extracția cu solvenți a compușilor biologic activi din PS liofilizate	60	-
2.3.3. Extracția combinată cu solvenți și ultrasunete a compușilor biologic activi din PS liofilizate	60	-
2.3.4. Extracția cu microunde a compușilor biologic activi din PS liofilizate	60	-
2.3.5. Extracția compușilor biologic activi prin tratament cu preparate enzimatic	61	-
2.3.6. Optimizarea condițiilor extracției asistate de ultrasunete	61	-
2.3.7. Caracterizarea fitochimică a extractelor	61	-
2.3.8. Analiza statistică a datelor experimentale	64	-
2.4. Rezultate și discuții	64	7
2.4.1. Profilului fitochimic al extractelor obținute prin extracția cu solvenți	64	7
2.4.2. Profilului fitochimic al extractelor obținute prin extracția asistată de ultrasunete	69	-

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

2.4.3. Profilului fitochimic al extractelor obținute prin extracția cu microunde	73	-
2.4.4. Profilul fitochimic al extractelor obținute prin extracția asistată de preparate enzimatiche	76	-
2.4.5. Optimizarea extracției compușilor bioactivi prin tehnica asistată de ultrasunete folosind metoda analizei suprafeței de răspuns	79	8
2.5. Concluzii parțiale	87	13
Referințe bibliografice	88	
CAPITOLUL 3. CARACTERIZAREA CHIMICĂ ȘI EVALUAREA STABILITĂȚII TERMICE ȘI A POTENȚIALULUI BIOACTIV AL EXTRACTULUI DIN EPICARPUL BOABELOR DE STRUGURI ROȘII (SOIUL BĂBEASCĂ NEAGRĂ)	94	15
3.1. Aspecte generale	94	15
3.2. Obiectivele studiului	95	15
3.3. Materiale și metode	95	-
3.3.1. Materiale, reactivi și echipamente	95	-
3.3.2. Extracția compușilor bioactivi prin metoda asistată de ultrasunete	96	-
3.3.3. Caracterizarea fitochimică a extractului din pielea de struguri roșii	96	-
3.3.4. Identificarea compușilor antocianidici din extract prin cromatografie lichidă de înaltă performanță	96	-
3.3.5. Evaluarea stabilității la tratamentul termic a compușilor biologic activi și a activității antioxidante din extract	97	-
3.3.6. Cinetica reacțiilor de denaturare termică a compușilor biologic activi	97	-
3.3.7. Investigarea comportamentului termic și funcțional al antocianilor prin tehnici de modelare moleculară	98	-
3.3.8. Evaluarea capacității extractului de inhibare <i>in vitro</i> a enzimelor metabolice	94	-
3.3.9. Analiza statistică a datelor experimentale	100	-
3.4. Rezultate și discuții	100	16
3.4.1. Compoziția fitochimică a extractului	100	-
3.4.2. Profilul cromatografic al compușilor bioactivi din extract	101	16
3.4.3. Comportamentul cinetic al compușilor bioactivi sub influența tratamentului termic	102	18
3.4.4. Studii comportamentului termodinamic al compușilor bioactivi în extract	111	25
3.4.5. Evaluarea potențialului extractului de inhibare a unor enzime implicate în sindromul metabolic	113	28
3.5. Concluzii parțiale	117	31
Referințe bibliografice	117	-
CAPITOLUL 4. VALORIFICAREA EXTRACTULUI OBTINUT DIN EPICARPUL BOABELOR DE STRUGURI ROȘII (SOIUL BĂBEASCĂ NEAGRĂ) PRIN MICROÎNCAPSULARE ȘI PRODUCEREA DE INGREDIENTE FUNCȚIONALE	123	32
4.1. Aspecte generale	123	32
4.2. Obiectivele studiului	124	32
4.3. Materiale și metode	125	-
4.3.1. Materiale, reactivi și echipamente	125	-
4.3.2. Extracția compușilor bioactivi	126	-
4.3.3. Variantele experimentale pentru microîncapsularea compușilor biologic activi din PS roșii	126	-
4.3.4. Determinarea profilului fitochimic al microcapsulelor	127	-

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

4.3.5. Eficiența microîncapsulării compușilor antocianici în compozitele formulate	127	-
4.3.6. Analiza microstructurală a compozitelor prin microscopie electronică de baleiaj	127	-
4.3.7. Stabilitatea la depozitare a compușilor fitochimici	127	-
4.3.8. Analiza statistică a datelor experimentale	128	-
4.4. Rezultate și discuții	128	33
4.4.1. Analiza comparativă a eficienței încapsulării compușilor bioactivi	128	33
4.4.2. Analiza morfologică și structurală a compozitelor obținute prin încapsularea extractului	129	34
4.4.3. Caracterizarea fitochimică a pudrelor și evaluarea stabilității potențialului bioactiv prin conservare	130	35
4.5. Concluzii parțiale	132	36
Referințe bibliografice	133	-
CAPITOLUL 5. OBȚINEREA UNOR PRODUSE ALIMENTARE CU VALOARE ADĂUGATĂ PRIN VALORIFICAREA COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI EXTRAȘI DIN EPICARPUL BOABELOR DE STRUGURI ROȘII (SOIUL BĂBEASCĂ NEAGRĂ)	136	38
5.1. Aspecte generale	136	38
5.2. Obiectivele studiului	137	38
5.3. Materiale și metode	138	39
5.3.1. Materiale, reactivi și echipamente	138	-
5.3.2. Obținerea extractului și a pudrei din pielita de struguri roșii	138	-
5.3.3. Obținerea și caracterizarea unui sortiment de biscuiți aglutenici cu adaos de pudră din pielita de struguri roșii	138	39
5.3.3.1. Determinarea caracteristicilor fitochimice ale biscuiților	139	-
5.3.3.2. Determinarea caracteristicilor fizico-chimice ale biscuiților	140	-
5.3.3.3. Analiza culorii biscuiților	140	-
5.3.3.4. Evaluarea caracteristicilor senzoriale ale biscuiților	140	-
5.3.4. Obținerea și caracterizarea unui sortiment de bere cu adaos de extract din pielita de struguri	140	40
5.3.4.1. Determinarea caracteristicilor fitochimice ale probelor de bere și evaluarea stabilității potențialului bioactiv în timpul depozitării	141	-
5.3.4.2. Determinarea caracteristicilor fizico-chimice ale berii cu valoare adăugată	142	-
5.3.4.3. Analiza culorii probelor de bere după obținere și pe perioada depozitării	142	-
5.3.5. Analiza statistică a datelor experimentale	142	-
5.4. Rezultate și discuții	143	40
5.4.1. Caracterizarea potențialului bioactiv și analiza senzorială a biscuiților cu adaos de pudră liofilizată din pielita boabelor de struguri Băbească neagră	143	-
5.4.1.1. Caracterizarea potențialului bioactiv al pudrei vegetale utilizată ca bioingredient	144	-
5.4.1.2. Caracterizarea potențialului bioactiv al biscuiților aglutenici cu valoare adăugată	144	40
5.4.1.3. Stabilitatea compușilor biologic activi în biscuiți în timpul depozitării	145	41
5.4.1.4. Caracterizarea fizico-chimică a biscuiților cu valoare adăugată	145	41
5.4.1.5. Analiza culorii biscuiților cu valoare adăugată	146	42
5.4.1.6. Analiza senzorială a biscuiților dietetici aglutenici cu valoare adăugată	147	43

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

5.4.2. Caracterizarea potențialului bioactiv și analiza senzorială a berii cu adaos de extract din pielița boabelor de struguri <i>Băbească neagră</i>	148	-
5.4.2.1. Caracterizarea fitochimică a extractului din pielița de struguri utilizat la obținerea berii cu valoare adăugată	148	-
5.4.2.2. Caracterizarea fizico-chimică a probelor de bere fără adaos de extract	149	44
5.4.2.3. Caracterizarea fitochimică a berii cu valoare adăugată și evaluarea stabilității compușilor fitochimici în timpul depozitării	150	45
5.4.2.4. Evaluarea culorii berii cu adaos de compuși bioactivi și studiul stabilității acestora în timpul păstrării	154	46
5.5. Concluzii parțiale	157	48
Referințe bibliografice	157	-
CAPITOLUL 6. CONCLUZII FINALE	164	49
CAPITOLUL 7. CONTRIBUȚII PERSONALE ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A STUDIILOR	166	51
CAPITOLUL 8. DISEMINAREA REZULTATELOR ANEXE	167	53
Anexa 1. Lista figurilor	171	-
Anexa 2. Lista tabelelor	174	-

Cuvinte cheie: pieliță de struguri roșii, compuși biologic activi, antociani, microîncapsulare, ingrediente naturale, produse cu valoare adăugată

Introducere

Alimentația și selecția alimentelor pentru un stil de viață sănătos, reprezintă principalele preocupări ale societății umane din cele mai vechi timpuri. O nutriție corectă și adecvată este crucială pentru sănătate, în special în perioadele în care sistemul imunitar trebuie susținut. Accesul limitat la alimente nutritive și funcționale poate compromite oportunitățile de a avea o dietă sănătoasă și variată, influențând valoarea nutritivă și funcțională a hranei. Schimbările socio-economice și a stilului de viață, pot conduce la un consum crescut de alimente extrem de procesate, care tind să fie bogate în grăsimi, zaharuri și sare. Cu toate acestea, chiar și cu ingrediente bioactive limitate, consumatorul poate să urmeze o dietă care să susțină un stil de viață sănătos. Fructele și legumele sunt resurse alimentare recomandate pentru o alimentație sănătoasă. Acestea se consumă proaspete, găsite parțial sau complet, în funcție de natură și tehnicile de procesare. Odată cu schimbarea stilului alimentar și creșterea populației, atât producția, cât și modul de prelucrare a produselor vegetale s-au îmbunătățit substanțial pentru a satisface cererea consumatorilor. Din această perspectivă o cantitate ridicată de subproduse este generată prin prelucrarea fructelor și a legumelor care au impact în pierderi nutriționale, economice și poluarea mediului înconjurător. Prelucrarea fructelor și legumelor generează o cantitate ridicată de deșeuri, care reprezintă 25–30% din greutatea materiei prime prelucrate. Strugurii reprezintă cele mai cultivate fructe la nivel mondial, cu o producție estimată la peste 79 de milioane de tone în 2018, potrivit Organizației pentru Alimentație și Agricultură (FAOSTAT). Consumul de struguri este benefic pentru sănătatea umană datorită conținutului ridicat de substanțe bioactive cu rol funcțional (Sousa și colab., 2014). Aproximativ 75% din producția de struguri este destinată producției de vin, rezultând subproduse reziduale în proporție de 20–30% (García-Lomillo și González-SanJosé, 2017). Principalele subproduse rezultate din vinificație sunt tescovina care este constituită din epicarpul boabelor (pieliță), pulpă, semințe și ciorchini (Balbinoti și colab., 2020). Pelițele boabelor de struguri sunt considerate un subprodus valoros, regăsiindu-se în proporție de aproximativ 65% în componența tescovinei. Pelița boabelor de struguri roșii este bogată în compuși bioactivi, în principal antociani, cu rol de pigment și cu capacitate antioxidantă (Yilmaz și Toledo, 2004). Antocianii din strugurii roșii au valoare tehnologică și funcțională (Leong și colab., 2016; Zhang și colab., 2018). În acest sens, extracția acestor compuși reprezintă o alternativă pentru obținerea de produse cu valoare adăugată, care pot fi folosite ca ingrediente în industria alimentară, cosmetică și farmaceutică, pe principii de biorafinare.

Teza de doctorat, intitulată *Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și*

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată, a avut ca obiectiv principal studiul compușilor biologic activi prezenți în epicarpul (pieleța) boabelor de struguri roșii (soiul *Băbească neagră*), antociani, flavonoide și polifenoli totali, în vederea obținerii unor compozite funcționale cu rol de ingrediente alimentare cu utilizări în industria alimentară. S-a avut în vedere obținerea unor produse care nu sunt disponibile pe piața națională (biscuiți aglutenici și sortimente de bere cu adaos de extract din pielețe). Pentru extracția compușilor bioactivi din epicarpul boabelor de struguri roșii s-au utilizat diferite tehnici de extracție (extracția convențională cu solvenți, extracția etanolică asistată de ultrasunete, extracția etanolică asistată de microunde, extracția etanolică asistată de enzime). Modificările structurale și conformaționale induse compușilor bioactivi după extracția din matricea naturală au fost studiate folosind tehnici de cromatografie lichidă de înaltă performanță și modelare moleculară.

Principalele **obiective științifice** vizate în studiile realizate sunt:

- Testarea diferitelor metode de extracție a compușilor bioactivi (polifenoli totali, antociani monomerici, flavonoide) din epicarpul boabelor de struguri roșii din soiul *Băbească neagră* pentru obținerea unor extracte cu potențial funcțional, în principal cu activitate antioxidantă superioară.
- Evaluarea comportamentului compușilor biologic activi extrași din epicarpul boabelor de struguri roșii din soiul *Băbească neagră* prin tratament termic, în scopul elucidării mecanismelor de degradare și a optimizării condițiilor de obținere și păstrare a extractelor bogate în compuși biologic activi și cu activitate antioxidantă superioară.
- Obținerea de compozite funcționale prin tehnici de microîncapsulare a extractului bogat în compuși biologic activi în matrici polimerice naturale pentru formularea unor bioingrediente cu valoare adăugată și stabilitate ridicată a potențialului bioactiv.
- Dezvoltarea unor tehnologii de obținere a unor produse (biscuiți aglutenici, sortimente de bere) cu valoare adăugată prin utilizarea pudrelor și a extractelor din pielețe de struguri (*Băbească neagră*), bogate în compuși bioactivi și cu activitate antioxidantă superioară.

I. Teza de doctorat este structurată în două părți și șapte capitole, după cum urmează: **STUDIUL DOCUMENTAR (Capitolul 1)**, intitulat ***Considerații teoretice privind separarea, proprietățile bioactive și stabilizarea compușilor bioactivi din epicarpul de struguri roșii***, este structurată în trei subcapitole în care se prezintă cele mai recente date din literatura de specialitate privind caracterizarea compușilor bioactivi din epicarpul (pieleța) boabelor de struguri roșii, din soiul *Băbească neagră*, și impactul tehnologic și funcțional al acestora. Totodată sunt descrise tehnicile utilizate pentru extracția și microîncapsularea compușilor

bioactivi din epicarpul boabelor de struguri.

II. REZULTATELE EXPERIMENTALE, în care sunt incluse investigațiile desfășurate pe durata stagiului doctoral și rezultatele obținute, împărțite în patru capitole, după cum urmează:

Capitolul 2, intitulat ***Evaluarea comparativă a metodelor de extracție a compușilor bioactivi din epicarpul boabelor de struguri din soiul Băbească neagră***, prezintă organizarea experimentelor care au vizat extracția și separarea compușilor biologic activi (antociani monomerici, flavonoide și polifenoli totali) din piețile de struguri roșii (*Băbească neagră*), din perspectiva creșterii randamentului de extracție și obținerii unor extracte cu valoare funcțională superioară (activitate antioxidantă). S-au studiat patru metode de extracție: extracția convențională cu solvenți, extracția asistată de ultrasunete, extracție asistată de microunde și extracția cu adaos de preparate enzimatic, și s-au variat o serie de parametri tehnologici cu impact în eliberarea compușilor bioactivi și anume: concentrația de solvenți și combinația acestora, temperatura și timpul de extracție. Utilizarea soluțiilor etanolice (50% , 70% și 96%), în amestec cu acizi (acid acetic glacial, acid citric 99,5%, acid clorhidric 0,1N), este eficientă pentru extracția compușilor bioactivi țintă, atât prin extracția convențională, cât și combinată cu microunde, ultrasunete sau tratament enzimatic. Randamentul de extracție al compușilor țintă și activitatea antioxidantă a extractului variază în corelație cu parametrii de extracție specifici, care au fost optimizați în funcție de scopul urmărit.

Capitolul 3, intitulat ***Caracterizarea chimică și evaluarea stabilității termice și a potențialului bioactiv al extractului din epicarpul boabelor de struguri roșii (soiul Băbească neagră)***, prezintă rezultatele studiilor care au vizat caracterizarea compoziției fitochimice a extractului obținut prin tehnica convențională de extracție cu solvenți (etanol 96% în amestec cu 0,1 N HCl, la temperatura de 50°C, timp de 55 de minute). S-a evaluat stabilitatea termică a compușilor bioactivi din extract prin modelare cinetică și studii termodinamice. S-a demonstrat stabilitatea termică superioară a antocianilor în intervalul de temperatură 80-120°C, corelat cu menținerea stabilității activității antioxidante. S-a demonstrat capacitatea extractului de a inhiba o serie de enzime cu impact metabolic (α -amilaza, α -glucosidaza, lipaza și lipoxigenaza), în care antocianul malvidin-3-O-glucozid joacă un rol important, efect demonstrat prin studii de andocare moleculară *in silico*. Tratamentul termic la temperatura de 140°C reduce semnificativ efectul inhibitor al enzimelor implicate în sindromul metabolic.

Capitolul 4, intitulat ***Valorificarea extractului din epicarpul boabelor de struguri roșii (soiul Băbească neagră) pentru obținerea unor ingrediente bioactive prin microîncapsulare***, prezintă modalitățile de obținere a unor compozite funcționale, prin microîncapsularea extractului obținut prin extracție convențională asistată de ultrasunete, bogat în compuși bioactivi (polifenoli totali, antociani și flavonoide) în matrici polimerice (izolat proteic din zer,

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

proteine din zer, carboximetil celuloză, pectină, gumă arabică și maltodextrină), în diferite combinații. S-a stabilit că antocianii sunt compușii care se leagă eficient de suporturile testate. Eficiența încapsulării depinde de tipul materialelor testate și de proporția acestora în formularea matricii. Rezultate superioare privind eficiența încapsulării au fost obținute prin combinarea izolatului proteic din zer cu carboximetil celuloză. Pudrele obținute în aceste condiții au prezentat stabilitate privind compoziția fitochimică și activitatea antioxidantă, după 28 de zile de păstrare la temperatura camerei, cu limitarea accesului oxigenului și a luminii.

Capitolul 5, intitulat ***Obținerea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin valorificarea compușilor biologic activi extrași din epicarpul boabelor de struguri roșii (soiul Băbească neagră)***, descrie experimentele realizate și rezultatele obținute în elaborarea a două tehnologii de obținere a unor produse alimentare cu valoare funcțională îmbunătățită prin aportul compușilor bioactivi extrași din epicarpul boabelor de struguri roșii, și anume biscuiți aglutenici și bere cu potențial funcțional superior. S-a demonstrat stabilitatea caracteristicilor bioactive pe perioada depozitării produselor (biscuiți - 28 de zile, la 24°C; bere - 21 de zile, la temperatura de 4°C). Rezultatele obținute certifică calitatea de ingrediente naturale cu potențial bioactiv a extractului și a pudrei liofilizate, obținute din piețele boabelor de struguri roșii din soiul *Băbească neagră*, pentru utilizări multiple în industria alimentară, promovând principiile economiei circulare.

Fiecare capitol al studiului experimental este structurat în subcapitole, după cum urmează: *Aspecte generale, Obiectivele studiului, Materiale și metode, Rezultate și discuții, Concluzii parțiale și Referințe bibliografice.*

Capitolul 6 prezintă ***Concluzii finale*** ale studiilor realizate din perspectiva rezultatelor obținute cu valoare inovativă, cu impact fundamental și aplicativ.

Capitolul 7, intitulat ***Contribuții personale și perspective de continuare a studiilor***, prezintă principalele contribuții ale tezei de doctorat la dezvoltarea cunoașterii fundamentale și aplicative prin tematica abordată și noile perspective conturate de continuare a studiilor.

Capitolul 8 prezintă ***Diseminarea rezultatelor cercetărilor*** prin evidențierea principalelor lucrări publicate în reviste relevante de pe fluxul principal al publicațiilor și comunicate la manifestări științifice de prestigiu din țară și străinătate. Astfel, rezultatele cercetărilor au fost valorificate prin elaborarea a **4 articole științifice** publicate, în reviste cotate sau indexate WOS (*Antioxidants*-FI=7,675, *Sustainability*- FI=3,889, *Inventions, The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI-Food Technology*), precum și **15 comunicări** la manifestări științifice reprezentative.

Pe parcursul studiilor doctorale, doctoranda a făcut parte din echipele de

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

cercetare a două proiecte finanțate din fondurile proprii ale Universității „Dunărea de Jos” din Galați, și anume:

1. *Soluuții inovatoare și emergente pentru design-ul unor co-microcompozite naturale pentru îmbunătățirea funcționalității alimentelor*, Contract de finanțare 3637/30.09.2021.
2. *Strategii inovative de valorificare a subproduselor agro-alimentare în produse cu valoare economică promovând principiile economiei circulare*, Contract de finanțare 14888/11.05.2022.

Activitățile de cercetare din cadrul tezei de doctorat au fost derulate în cadrul *Centrului integrat de cercetare, expertiză și transfer tehnologic (BioAliment-TehnIA)* (www.bioaliment.ugal.ro), din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați.

Teza s-a realizat sub coordonarea științifică în cotelă a doamnelor Prof.dr.ing. Gabriela-Elena BHRIM și Prof.dr.ing. Gabriela RÂPEANU și a comisiei de îndrumare alcătuită din: Prof.dr.ing. Iuliana APRODU – coordonator studii de modelare și andocare moleculară, Prof. dr.ing. Nicoleta STĂNCIUC – coordonator studii de analiză spectrofotometrică și co-microîncapsulare și Conf.dr.ing. Oana-Emilia CONSTANTIN – coordonator studii de elaborare produse cu valoare adăugată.

CAPITOLUL 2

EVALUAREA COMPARATIVĂ A METODELOR DE EXTRACȚIE A COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN EPICARPUL BOABELOR DE STRUGURI ROȘII DIN SOIUL *BĂBEASCĂ NEAGRĂ*

2.1. Aspecte generale

Producția de struguri la nivel mondial este de aproximativ 60 de milioane de tone pe an. Având în vedere compușii bioactivi, polifenolii sunt majoritari și se regăsesc în proporție de 75% în epicarpul boabelor (pieleță) și semințe (Ghafoor și colab., 2010). Vinificarea strugurilor generează o cantitate importantă de subproduse reziduale, cu potențial ridicat de valorificare (Teixeira și colab., 2014; Lima și colab., 2017). Tescovina este principalul produs secundar rezultat de la presarea strugurilor, care reprezintă 20-25% din greutatea fructelor, conținând pielețe, semințe, ciorchini și alte componente solide. Din punct de vedere fizico-chimic tescovina este un substrat complex care conține glucide simple și complexe, proteine, pectine, compuși fenolici și proantocianidine insolubile (Dávila și colab., 2017). În plus, tescovina de struguri este o matrice complexă care reunește diferite categorii de compuși polifenolici, incluzând atât molecule simple precum acizii hidroxicinamici și hidroxibenzoici, cât și molecule complexe precum flavonoidele (Cheynier și colab., 2012; Rockenbach și colab., 2011).

Există un potențial deosebit de valorificare a subproduselor rezultate din procesul de vinificație prin procedee de biorafinare și biovalorificare, o atenție deosebită fiind acordată tescovinei și drojdiei de vin reziduale (Ali și colab., 2010). Epicarpul sau pieleța de struguri (PS) roșii este valoroasă datorită conținutului semnificativ în molecule monomerică și polimerică precum antociani, flavan-3-oli, flavonoli, dihidroflavonoli, acizi hidroxibenzoici și hidroxistilbene (Wang și colab., 2003). Astfel, PS este considerată o sursă potențială de separare a compușilor bioactivi naturali prin biorafinare (Wang și colab., 2003). Compoziția bioactivă a PS este corelată cu soiul de viță de vie și condițiile horticoale de obținere a strugurilor. Din punct de vedere nutraceutic, o categorie interesantă de compuși regăsiți în struguri o reprezintă compușii fenolici cu activitate antioxidantă remarcabilă, concentrațiile acestora variind în funcție de subprodusul analizat, concentrații mai mari au fost determinate în pielețe și semințe, comparativ cu pulpa strugurilor (Xia și colab., 2010). Deoarece strugurii albi nu conțin antociani, conținutul lor în polifenoli este adesea mai redus comparativ cu cel al strugurilor roșii. Potrivit studiului publicat de Vidal și colab., 2004, antocianii sunt compuși polifenolici care fac parte din clasa flavonoidelor, fiind responsabili de culoarea specifică a strugurilor roșii, în timp ce oligomerii de procianidine și flavan-3-olii cu

masă moleculară mică sunt responsabili de gustul amar (Wang și colab., 2003).

2.2. Obiectivele studiului

Principalele obiective specifice ale acestui studiu au vizat testarea a patru metode de extracție a compușilor biologic activi din PS roșii (soiul *Băbească neagră*) și anume: a) extracția convențională cu solvenți organici; b) extracția etanolică asistată de ultrasunete; c) extracția etanolică asistată de microunde; d) extracția asistată de preparate enzimatice.

Eficiența extracției s-a stabilit prin evaluarea comparativă a profilului fitochimic, prin determinarea conținutului de antociani monomerici totali (AMT), a conținutului de flavonoide totale (CFT), a conținutului de polifenoli totali (CPT) și a activității antioxidante a extractelor obținute.

Utilizând *Metoda Analizei Suprafeței de Răspuns* s-au optimizat condițiile extracției asistate de ultrasunete, prin testarea influenței a patru factori și anume: concentrația de etanol și acid citric, timpul și temperatura de extracție.

2.3. Materiale și metode

Metodele de investigare au vizat:

- Extracția compușilor biologic activi din PS roșii (*Băbească neagră*) s-a realizat prin extracție convențională cu etanol asistată de ultrasunete, prin extracție cu etanol asistată de microunde și prin extracție cu adaos de preparate enzimatice. În vederea caracterizării fitochimice a extractelor, conținutul de AMT s-a determinat prin metoda spectrofotometrică a pH-ului diferențial, rezultatele au fost exprimate ca mg echivalent cianidin-3-O-glucozid (C3G)/g s.u. pentru determinarea conținutului de FT s-a utilizat metoda colorimetrică, pe bază de $AlCl_3$, iar rezultatele au fost raportate ca mg echivalent catehină (EC)/g s.u. conținutul de PT s-a determinat prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu și rezultatele au fost exprimate în mg echivalent acid galic (EAG)/g s.u. iar pentru determinarea activității antioxidante a extractelor s-a utilizat metoda care utilizează DPPH-ul și rezultatele au fost exprimate ca mM Trolox/g s.u.

- Optimizarea condițiilor extracției asistate de ultrasunete prin intermediul modelării matematice și analizei statistice utilizând *Metoda Analizei Suprafeței de Răspuns*, cu ajutorul programul Design Expert, versiunea 13 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, SUA).

2.4. Rezultate și discuții

2.4.1. Evaluarea compușilor biologic activi din extractele obținute din PS roșii utilizând diferite metode de extracție

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

S-au analizat compușii bioactivi și potențialul antioxidant al extractelor obținute folosind soluții de etanol în trei concentrații diferite: 50%, 70% și 96%, în prezență de acid acetic, acid citric și acid clorhidric. S-au variat temperatura și timpul de extracție.

Randamentul de extracție a AMT este variabil în funcție de parametrii extracției. Combinarea extracției convenționale cu solvenți cu tratamentul cu ultrasunete (40 kHz) a permis obținerea unui conținut de antociani de $4,29 \pm 0,04$ mg C3G/g s.u., prin utilizarea ca solvent a etanolului 96% acidifiat cu 0,1 N HCl, după 55 de minute de extracție, la temperatura de 50°C. În cazul conținutului de FT și a activității antioxidante, extracția cu adaos de preparate enzimatice a obținut rezultate remarcabile. În ceea ce privește extracția flavonoidelor totale, o cantitate semnificativă de flavonoide totale în extract, de $17,31 \pm 8,42$ mg EC/g s.u., a fost cuantificată în urma extracției cu adaos de preparate enzimatice în varianta în care s-a utilizat preparatul Zymorouge, după trei ore de extracție. Referitor la activitatea antioxidantă, hidroliza enzimatică cu celulază a condus la obținerea unor rezultate superioare. Astfel, după numai o oră de extracție, s-a obținut un extract cu activitate antioxidantă de $61,48 \pm 1,19$ mM Trolox/g s.u.

Cel mai mare grad de recuperare a CPT ($49,01 \pm 5,08$ mg GAE/g s.u.) din PS roșii a fost obținut prin extracția cu ultrasunete realizată la temperatura de 50°C, după 55 de minute de tratament prin utilizarea ca solvent a soluției de etanol 50% acidifiată cu soluție 1% acid citric. Atât în cazul extracției convenționale cu solvenți cât și a celei asistate de ultrasunete s-a constatat faptul că în cele mai multe cazuri, temperatura de 50 °C a dus la extracția unui conținut mai mare de compuși prin creșterea permeabilității și solubilității pereților celulari și scăderea vâscozității solventului, față de temperatura de 25 °C.

2.4.5. Optimizarea extracției compușilor bioactivi prin tehnica asistată de ultrasunete folosind metoda analizei suprafeței de răspuns

Experimentele au fost proiectate folosind tehnica *Central Composite Design*, iar răspunsurile evaluate au fost: conținutul de antociani monomerici totali (AMT), concentrația polifenolilor totali (CPT) și activitatea antioxidantă (AA) a extractelor obținute prin variația parametrilor analizați (variabile independente).

Tabelul 2.14. Variația parametrilor de extracție și răspunsurile obținute prin proiectarea experimentelor

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Proba	Variabile independente				Răspunsuri		
	A	B	C	D	AMT mg C3G/g s.u.	CPT mg EAG/g s.u.	AA mM Trolox/g s.u.
1	0,10	85	25	65	2,09 ± 0,08	29,01 ± 1,70	19,76 ± 0,25
2	1	67	13,06	45	2,15 ± 0,11	29,97 ± 1,55	18,24 ± 0,13
3	1	67	71,90	45	2,29 ± 0,02	40,97 ± 1,70	15,95 ± 0,39
4	1	67	42	45	2,24 ± 0,02	36,94 ± 1,67	17,26 ± 0,14
5	1	67	42	45	2,25 ± 0,18	37,04 ± 1,49	17,25 ± 0,16
6	0,10	50	25	25	2,45 ± 0,03	29,93 ± 0,38	19,65 ± 0,66
7	2	50	25	65	2,64 ± 0,18	30,12 ± 1,71	19,05 ± 0,89
8	0,10	85	60	65	2,40 ± 0,39	31,09 ± 0,56	18,91 ± 0,50
9	2	50	60	65	2,17 ± 0,22	31,92 ± 0,89	19,31 ± 0,24
10	0,01	67	42	45	2,10 ± 0,09	30,86 ± 1,23	20,16 ± 0,64
11	0,10	50	60	25	2,53 ± 0,29	43,97 ± 0,94	18,38 ± 0,20
12	1	67	42	11, 36	2,05 ± 0,10	31,41 ± 1,39	18,77 ± 0,29
13	2,64	67	42	45	2,49 ± 0,15	35,88 ± 0,98	20,49 ± 0,55
14	2	85	25	25	1,71 ± 0,08	24,67 ± 1,11	20,98 ± 0,40
15	1	67	42	78, 63	2,32 ± 0,11	26,45 ± 1,92	18,72 ± 0,18
16	2	85	60	25	2,07 ± 0,07	31,1 ± 0,56	17,47 ± 0,50
17	1	67	42	45	2,24 ± 0,02	37,12 ± 1,94	17,26 ± 0,27
18	1	67	42	45	2,25 ± 0,00	37,01 ± 1,15	17,26 ± 0,13
19	1	96,93	42	45	2,59 ± 0,10	42,07 ± 1,66	16,35 ± 1,25
20	1	38,06	42	45	2,03 ± 0,16	32,25 ± 1,44	17,61 ± 0,80
21	1	67	42	45	2,25 ± 0,11	37,14 ± 1,96	17,35 ± 0,21

Interacțiunile dintre variabilele independente și efectul acestora asupra răspunsurilor studiate sunt prezentate în **Figura 2.8**.

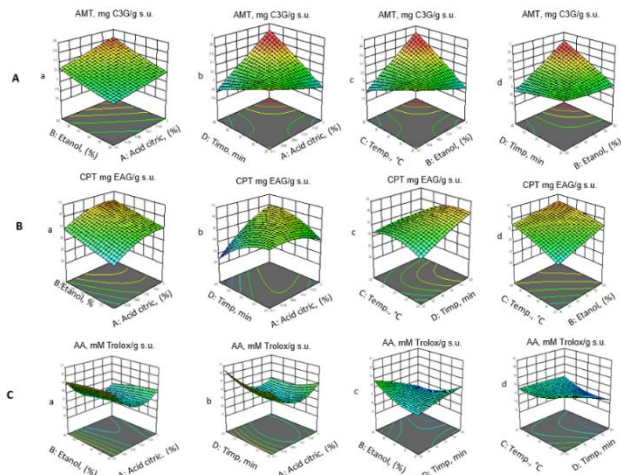


Figura 2.8. Graficele suprafețelor de răspuns care evidențiază efectul variabilelor independente asupra răspunsurilor: **A) AMT**- (a) acid citric-etanol; (b) acid citric-timp; (c) etanol-temperatură; (d) etanol-timp; **B) CPT** - (a) acid citric-etanol; (b) acid citric-timp; (c) temperatură-timp; (d) etanol-temperatură; **C) AA** - (a) acid citric-etanol; (b) acid citric-timp; (c) etanol-timp; (d) temperatură-timp

Optimizarea extracției antocianilor monomerici

Prin modelare matematică și analiză statistică s-a obținut modelul matematic descris de ecuația 2.4 pe baza datelor prezentate în **Tabelul 2.15**.

$$\begin{aligned} \text{AMT, mg C3G/g s.u.} = & 2,26 + 0,1375A + 0,1722B + 0,0380C + & (2.4) \\ & 0,1043D + 0,0368AB - 0,06AC + \\ & 0,3622AD + 0,1324BC + 0,2475BD - \\ & 0,0750CD + 0,0038A^2 + 0,0225B^2 - \\ & 0,008C^2 - 0,0200D^2 \end{aligned}$$

După analiza modelului obținut pentru extracția AMT s-a concluzionat că etanolul prin concentrația sa este factorul cu cea mai mare influență asupra conținutului de antociani din extract. În plus, concentrația de acid citric și timpul de extracție au influențat pozitiv extracția AMT. Interacțiunea dintre concentrațiile de acid citric și etanol (AB) cât și dintre concentrația acidului citric și timpul de extracție (AD), respectiv interacțiunea dintre concentrația de etanol și timpul de extracție (BD) s-a demonstrat a fi benefică în scopul atingerii obiectivului urmărit. Acest răspuns este influențat negativ, așa cum se arată în ecuația 2.4, de interacțiunea dintre concentrația de acid citric și temperatură (AD), cât și de cea dintre temperatura și timpul de extracție (CD).

Analizând suprafețele de răspuns din **Figura 2.8 (Aa-Ad)** reiese că extracția îmbunătățită a AMT se obține prin interacțiunea dintre concentrația acidului citric și timpul de extracție. Concentrația maximă de AMT în extract se obține atunci când se folosește o concentrație de acid citric de 2% g/v și un timp de extracție de aproximativ 65 de minute, menținând constante celalți parametri de extracție (etanol 50%, 25°C).

Efectul negativ al interacțiunii dintre timpul și temperatura de extracție a fost identificat și de **Li și colab., 2019**, care au observat că, în intervalul de temperatură 40-51°C, a existat o creștere semnificativă a randamentului de extracție a AMT, dar la o temperatură mai mare de 51°C, randamentul a început să scadă. Mai mult, așa cum se prezintă în **Figura 2.8 (Ad)**, timpii de extracție mai mici (25 de minute) și concentrații mai mari de etanol (85%) au condus la o valoare scăzută a concentrației de AMT în extract, rezultat care este influențat în principal de concentrația de etanol, comparativ cu efectul determinat de variația temperaturii (**Figura 2.5 Aa, Ac**).

Curba B din graficul perturbației demonstrează, de asemenea, influența concentrației de etanol asupra randamentului de extracție a AMT. Curbele A și D, relevă impactul timpului de extracție și, respectiv, adaosului de acid citric, care au influență nesemnificativă în comparație cu concentrația de etanol din solvent (**Figura 2.9A**).

Optimizarea extracției polifenolilor totali

În variantele experimentale studiate, CPT a variat de la 24,67 la 43,97 mg EAG/g s.u. (**Tabelul 2.14**). Modelul matematic obținut corespunde ecuației 2.5.

$$\begin{aligned} \text{CPT, mg EAG/g s.u.} = & 37,41 + 3,19A + 2,88B + 3,10C - 1,10D - & (2.5) \\ & 0,1614AB - 0,9895AC + 5,39AD \\ & - 0,9180BC + 5,21BD - 2,07CD \\ & - 2,42A^2 - 0,6054C^2 - 2,89D^2 \end{aligned}$$

Datele prezentate în **Tabelul 2.14** demonstrează faptul că pentru CPT, factorii analizați și modelul matematic au fost caracterizați de valori semnificative ale probabilității ($p < 0,05$), ceea ce confirmă selecția corespunzătoare a variabilelor independente. Coeficienții ecuației de regresie demonstrează că, adaosul acidului citric, concentrația de etanol și temperatura de extracție influențează pozitiv extracția polifenolilor. Interacțiunile dintre concentrația acidului citric și timpul de extracție (AD) și dintre concentrația de etanol și timpul de extracție (BD) au un efect pozitiv asupra randamentului de extracție a CPT. Dimpotrivă, efectul linear al timpului de extracție are un impact negativ asupra CPT. De asemenea, interacțiunile dintre concentrația de acid citric și concentrația de etanol (AB), concentrația de acid citric și temperatura de extracție (AC), precum și concentrația de etanol și temperatura de extracție (BC), au un efect negativ asupra randamentului polifenolilor totali.

În **Figura 2.8.Ba–Bd** se prezintă graficele tridimensionale ale suprafețelor de răspuns ale interacțiunilor dintre factorii analizați, efectele corelate dintre concentrațiile de acid citric și etanol, respectiv dintre temperatura și timpul de extracție, au cea mai mare influență asupra extracției CPT. Conținutul de compuși fenolici a crescut atunci când concentrația de etanol s-a apropiat de 85% și concentrația de acid citric a fost mai mare de 2% g/v (**Figura 2.8.Ba**). Concentrația de acid citric și concentrația de etanol au avut un impact mai mare asupra concentrației de polifenoli, comparativ cu durata extracției. O scădere a conținutului de compuși fenolici a fost remarcată la o concentrație ridicată de acid citric și după un timp de extracție extins (**Figura 2.8. Bb**). În plus, creșterea CPT odată cu creșterea temperaturii a fost observată la timpuri de extracție scăzute (<25 de minute) și moderați (35 de minute). Totuși, efectul temperaturii devine nesemnificativ statistic la un timp de extracție mai mare (>65 de minute) (**Figura 2.8. Bc**). Datele din figura **Figura 2.8 Bd** demonstrează o creștere considerabilă a CPT o dată cu scăderea temperaturii și creșterea concentrației de etanol din compoziția solventului. Mai mult, graficul perturbațiilor (**Figura 2.9**), care prezintă efectul fiecărei variabile independente asupra CPT, a arătat că atât acidul citric, cât și concentrația de etanol utilizată au avut o influență semnificativă asupra creșterii randamentului de extracție a CPT.

Optimizarea extracției pentru creșterea activității antioxidante

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Valorile înregistrate ale activității antioxidante au variat între 15,95 și 20,98 mM Trolox/g s.u., în funcție de influența diferitelor variabile studiate (**Tablelul 2.14**). Modelul obținut pentru variația activității antioxidante este caracterizat de ecuația 2.6.

$$\begin{aligned} \text{AA, mM Trolox/g s.u.} = & 17,21 - 0,8438A - 0,3931B - 0,6835C \quad (2.6) \\ & - 0,0497D - 11,84AB - 0,4843AD - \\ & 0,4184BC - 0,8576BD + 0,5237CD + \\ & 1,66A^2 - 0,1089B^2 - 0,0656C^2 + \\ & 0,5114D^2 \end{aligned}$$

Activitatea antioxidantă a extractului este influențată pozitiv de interacțiunea dintre temperatura și durata extracției (CD), însă interacțiunea dintre concentrația de acid citric și concentrația de etanol (AB) are un impact negativ semnificativ asupra AA a extractului. Interacțiunile dintre concentrația acidului citric și timpul de extracție (AD), concentrația etanolului și temperatura de extracție (BC), concentrația etanolului și timpul de extracție (BD) exercită de asemenea influență negativă. Așa cum se observă în **Figura 2.8 Ca-Cd** activitatea antioxidantă maximă a fost obținută după 25 de minute de extracție, folosind ca solvent o soluție de etanol 85%, corelat cu adaosul de acid citric (**Figura 2.8 Ca,Cb**), cu efect benefic asupra reducerii timpului de extracție. Scăderea AA a extractului a fost observată la o concentrație crescută de etanol (**Figura 2.8 Cc**). Cu toate acestea, la timp de extracție mai mari (45 de minute) și la o concentrație moderată de etanol (64%) a fost observată o creștere a AA (**Figura 2.8 Cc**). Temperaturile ridicate cresc solubilitatea compușilor fenolici, conducând la o creștere a AA. Totuși, folosind temperaturi de extracție ridicate și un timp de extracție mai mare, compușii fenolici extrași au început să se degradeze, ceea ce se reflectă în scăderea AA (**Figura 2.8 Cd**). Rezultate similare au fost obținute de Li și colab., 2019, care au raportat o corelație negativă între creșterea concentrației de etanol și creșterea temperaturii asupra AA a extractului. Mai mult, curba D din graficul perturbațiilor demonstrează de asemenea influența semnificativă a timpului de extracție asupra AA a extractului (**Figura 2.9C**).

După 25 de minute de extracție, la temperatura de 25°C, folosind ca solvent soluție 85% etanol și 2% g/v acid citric s-a obținut extractul cu cea mai mare AA, de 24,67 mM Trolox/g s.u (metoda cu DPPH). Pentru același soi de struguri, din recolta anului 2012, Constantin și colab., 2015, au raportat o valoare de 4,89 ± 0,02 μM Trolox/g s.u (metoda cu ABTS).

Validarea modelelor matematice

Valoarea dezirabilității cumulate de 0,926 demonstrează fidelitatea proceselor în selecția riguroasă a condițiilor experimentale studiate. Astfel, condițiile ideale pentru creșterea randamentului de extracție a antocianilor și polifenolilor, precum și a activității antioxidante a extractului, folosind extracția convențională asistată

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

de ultrasunete sunt: solvent - etanol 85%, acid citric - 0,85%, temperatura de extracție - 57°C, durata extracției – 52 de minute.

Tabelul 2.16. Validarea modelelor matematice

Răspunsuri	Valoare previzionată	Limite de variație pentru un interval de încredere de 95%	Valoare experimentală
AMT (mg C3G/g s.u.)	2,25	2,23–2,27	2,26
CPT (mg EAG/g s.u.)	37,41	37,09–37,73	37,22
AA (mM Trolox/g s.u.)	17,20	17,08–17,32	17,11

Datele experimentale obținute prin realizarea a trei probe independente demonstrează că modelele matematice rezultate sunt validate, în condiții de extracție optimizate se obțin valori superioare ale conținutului de antociani monomerici totali, compușilor polifenolici totali și activității antioxidante, de 2,26 mg C3G/g s.u., 37,22 mg EAG/g s.u. și, respectiv, 17,11 mM Trolox/g s.u.

2.5. Concluzii parțiale

Rezultatele experimentale prezentate în acest capitol permit formularea următoarelor concluzii parțiale:

- Acest studiu a vizat analiza condițiilor de extracție a compușilor bioactivi din piețile boabelor de struguri roșii (soiul *Băbească neagră*) folosind tehnici convenționale și moderne de extracție, având în vedere creșterea randamentului de extracție a antocianilor și a compușilor polifenolici, în corelație cu îmbunătățirea activității antioxidante.
- În acest scop s-au studiat patru metode de extracție, extracția convențională cu solvenți, extracția asistată de ultrasunete, extracție asistată de microunde și extracția cu adaos de preparate enzimatiche, și s-au variat o serie de parametri tehnologici cu impact în eliberarea compușilor bioactivi și anume: concentrația de solvenți și combinația acestora, temperatura și timpul de extracție.
- Rezultatele obținute au demonstrat că activitatea antioxidantă a extractelor este influențată considerabil de concentrația de etanol folosit drept solvent și durata procesului de extracție. Creșterea temperaturii de extracție nu a avut influență pozitivă asupra potențialului antioxidant al extractelor obținute, în condițiile testate în acest studiu.
- Un randament superior de extracție al antocianilor monomerici totali, de $4,29 \pm 0,04$ mg C3G/g s.u., s-a obținut prin extracție asistată de ultrasunete, utilizând ca solvenți etanol 96% în amestec cu 0,1 N HCl, după 55 de minute de extracție, la temperatura de 50°C.

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

- Cea mai mare concentrație de flavonoide extrase, de $9,55 \pm 2,10$ mg EC/g s.u., s-a obținut prin metoda de extracție convențională, cu soluție de etanol 96%, în amestec cu acid acetic glacial, după 120 de minute de tratament, la temperatura de 50°C .
- Extracția cu soluție de 50% etanol, în amestec cu soluție 1% acid citric împreună cu efectul ultrasunetelor a condus la extracția unui randament superior de polifenoli totali, de $49,01 \pm 5,08$ mg EAG/g s.u., după 55 de minute de extracție, la temperatura de 50°C .
- Utilizarea preparatului enzimatic comercial pe bază de celuloză a condus la obținerea unui extract cu activitate antioxidantă de $61,48 \pm 1,19$ mM Trolox/g s.u., după doar o oră de extracție.
- Utilizarea ultrasunetelor s-a dovedit a fi cea mai eficientă metodă de extracție a compușilor bioactivi. Acest procedeu de extracție a fost supus modelării matematice și analizei statistice folosind *Central Composite Design* și *Metoda Analizei Suprafeței de Răspuns* cu ajutorul programului Design Expert. Modele matematice obținute demonstrează că valori maxime ale concentrației de antociani monomerici totali (2,26 mg C3G/g s.u.), compuși polifenolici totali (37,22 mg EAG/g s.u.) și activitatea de neutralizare a radicalului liber DPPH (17,11 mM Trolox/g s.u.) se pot obține prin extracția convențională asistată de ultrasunete în următoarele condiții: solvent soluție 85% etanol, soluție 0,85% acid citric, temperatura de 57°C , și un timp de extracție de 52 de minute, la o frecvență a ultrasunetelor de 40 kHz.
- În funcție de compușii bioactivi țintă vizați pentru extracție se poate selecta cea mai eficientă metodă și parametri optimi ai procesului pe principiul creșterii randamentului de extracție și a activității antioxidante a extractelor, a productivității și a eficienței economice.

CAPITOLUL 3

CARACTERIZAREA CHIMICĂ ȘI EVALUAREA STABILITĂȚII TERMICE ȘI A POTENȚIALULUI BIOACTIV AL EXTRACTULUI DIN EPICARPUL BOABELOR DE STRUGURI ROȘII (SOIUL BĂBEASCĂ NEAGRĂ)

3.1. Aspecte generale

Producția mondială de vin generează o cantitate ridicată de subproduse (tescovină, sâmburi, pieleță, drojdie reziduală etc.) cu un conținut ridicat de compuși bioactivi cu valoare funcțională. Dintre acești compuși bioactivi, flavonoidele, antocianinele și derivații de stilben sunt compușii de interes pentru industriile alimentară, cosmetică și farmaceutică, datorită proprietăților antioxidante, antimicrobiene, inclusiv antivirale sau antitumorale pe care le dețin (Teixeira și colab., 2014).

Recuperarea și valorificarea subproduselor rezultate în urma procesului de vinificare în produse cu valoare adăugată este considerată a fi o strategie eficientă utilizată cu scopul de a elimina deșeurile agro-alimentare și de a preveni contaminarea mediului înconjurător (Devesa-Rey și colab., 2011). Conform studiilor din literatura de specialitate, procesatorii din industria alimentară acordă o atenție deosebită obținerii de alimente cu caracteristici senzoriale și nutriționale îmbogățite cu compuși bioactivi. Această tendință este determinată de relevanța asupra sănătății consumatorilor a compușilor bioactivi, în special a polifenolilor. Multiple studii au demonstrat diferite activități biologice ale antocianilor, cum ar fi activitate anticancerigenă, antioxidantă, antiinflamatorie, antimutagenă etc. (Lao și colab., 2017).

3.2. Obiectivele studiului

Obiectivele specifice ale studiilor prezentate în acest capitol au fost, după cum urmează:

- Evaluarea calitativă și cantitativă avansată a profilului fitochimic al extractului obținut din PS roșii (soiul *Băbească neagră*) prin extracție asistată de ultrasunete.
- Evaluarea stabilității compușilor biologic activi (antociani monomerici, polifenoli totali, flavonoide și a capacității antioxidante) din extract, în intervalul de temperaturi 80 – 140°C, cu un timp de menținere între 0 – 40 minute.

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

- Studiul cineticii de degradare termică a antocianilor din extract, în corelație cu activitatea antioxidantă, din perspectiva evaluării comportamentului la procesare și a utilizării extractelor ca ingrediente în industria alimentară.
- Determinarea parametrilor termodinamici asociați degradării claselor de compuși (polifenoli, flavonoide, antociani) analizați, pentru a evalua dacă modelul cinetic corelat procesului este un model termodinamic.
- Investigații de modelare moleculară privind comportamentul în timpul tratamentului termic al antocianilor extrași din PS.
- Evaluarea unor proprietăți biologice ale extractului prin evaluarea potențialului de inhibiție al unor enzime implicate în sindromul metabolic.

3.4. Rezultate și discuții

3.4.2. Profilul cromatografic al compușilor bioactivi din extract

Profilul cromatografic al extractului din PS roșii, soiul *Băbească neagră*, este prezentat în **Figura 3.1**. Se evidențiază prezența a nouă antociani (**Tabelul 3.1**): trei compuși principali (cianidin, peonidin și malvidin – peak-urile 6, 8, 9), și șase derivați glucozidici (delfinidin, cianidin, petunidin, pelargonidin, malvidin și peonidin 3-O-cumaril glucozid – peak-urile 1, 2, 3, 4, 5, 7). Profile similare au fost obținute prin analiza extractelor din 14 soiuri de struguri din regiunea Adriatică de Est; antocianii identificați au fost delfinidin, cianidin, petunidin, peonidin și malvidin, împreună cu derivații lor cu grupări 3-monoglucozidice, acetil și p-cumaril (**Budic-Leto și colab., 2018**). Peak-ul majoritar (5) a fost identificat ca malvidin 3-O-glucozid, fiind cuantificată o concentrație de $13,83 \pm 0,11$ mg extract concentrat din PS/g s.u. Rezultate similare au fost obținute pentru extractele din două soiuri de struguri, *Gros noir* și *Muscat noir*, în care malvidin 3-O-glucozidul a fost antocianul predominant (**Benmeziane și colab., 2016**). **Kharadze și colab., 2018**, au obținut un profil similar pentru cinci soiuri de struguri roșii (**Alexandrouli, Mujuretuli, Saperavi, Otskhanuri Sapere, Ojaleshi**), în care malvidin 3-O-glucozidul a fost compusul preponderent.

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

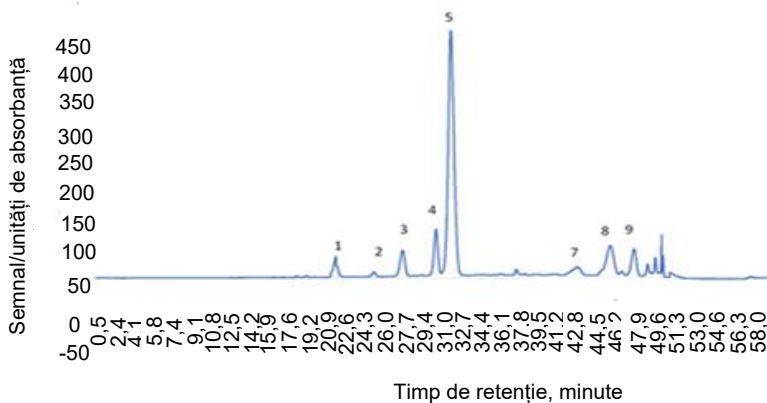


Figura 3.1. Profilul cromatografic al extractului din PS roșii (*Băbească neagră*); Peak-uri: **1** - delfinidin 3-O-glucozid; **2** - cianidin 3-O-glucozid; **3** - petunidin 3-O-glucozid; **4** - pelargonidin 3-O-glucozid; **5** - malvidin 3-O-glucozid; **6** –cianidin; **7**- peonidin 3-O-cumaril-glucozid; **8** - peonidin; **9** – malvidin

Tabelul 3.1. Analiza calitativă și cantitativă a antocianilor din extractul din PS roșii (*Băbească neagră*) prin cromatografie HPLC

Peak	Compus identificat	Timp de retenție, min	Concentrație mg extract concentrat din PS/g s.u.
1	Delfinidin 3-O-glucozid	21,02	1,25 ± 0,02
2	Cianidin 3-O-glucozid	25,01	0,58 ± 0,00
3	Petunidin 3-O-glucozid	27,00	<LC*
4	Pelargonidin 3-O-glucozid	29,90	2,91 ± 0,01
5	Malvidin 3-O-glucozid	30,90	13,83 ± 0,11
6	Cianidin	37,80	0,61 ± 0,00
7	Peonidin-3-O-cumaril glucozid	42,20	<LC*
8	Peonidin	45,10	2,26 ± 0,03
9	Malvidin	47,10	2,14 ± 0,01

LC – limita de cuantificare.

3.4.3. Comportamentul cinetic al compușilor bioactivi sub influența tratamentului termic

Influența tratamentului termic asupra antocianilor

Principalii factori care afectează stabilitatea antocianilor sunt: structura chimică, concentrația, temperatura, pH-ul, lumina, prezența oxigenului, natura solventului, prezența unor enzime, flavonoide, proteine sau ioni metalici (Karasu și colab., 2016). Efectul tratamentului termic asupra conținutului de antociani din extractul obținut din PS roșii, în intervalul de temperatură 80 – 140°C, este prezentat în **Figura 3.2**.

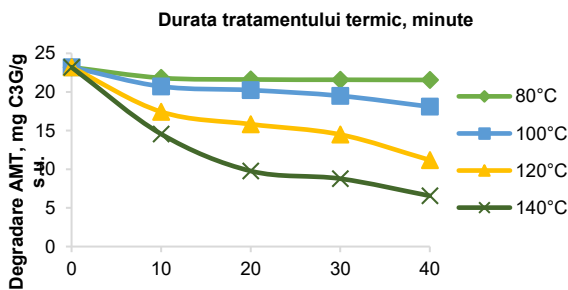


Figura 3.2. Influența tratamentului termic asupra stabilității AMT, din extractul de PS roșii (*Băbească neagră*), la diferite temperaturi (♦ 80°C, ■ 100°C, ▲ 120°C, × 140°C)

Rezultatele obținute au fost liniarizate prin logaritmare și s-a verificat aplicabilitatea modelului cinetic de ordinul I, cu ajutorul metodei de regresie liniară (**Figura 3.3**).

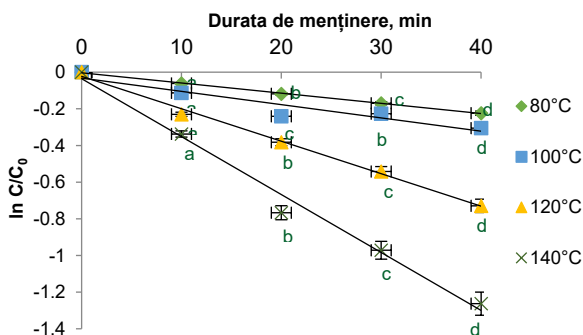


Figura 3.3. Degradarea izotermă a AMT din extractul de PS roșii (*Băbească neagră*), la diferite temperaturi (◆ 80°C, ■ 100°C, ▲ 120°C, × 140°C)

Pentru toate temperaturile studiate, încălzirea timp de 10 minute a condus la pierderi semnificative de antociani (**Figura 3.2**). La temperatura de 80°C, după 10 minute de tratament, s-a observat o reducere a concentrației cu 6%, în timp ce la temperatura de 140°C, s-a înregistrat o reducere a concentrației până la 28,60%. Prin creșterea timpului de încălzire la 20 minute, s-a înregistrat o reducere substanțială a conținutului de AMT, de la 11,17% la 53,57% pentru tot intervalul de temperaturi studiate, cuprins între 80°C și 140°C. Rezultate similare au fost obținute în alte studii efectuate pe diferite matrici vegetale.

Tabelul 3.2. Variația parametrilor cinetici de degradare termică a antocianilor monomerici totali (AMT)

Temperatura °C	$k \cdot 10^{-2} (\text{min}^{-1})$	$t_{1/2} (\text{min})$	D (min)	Ea ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
80	$0,56 \pm 0,01^d$	$123,77 \pm 0,21^a$	$411,17 \pm 4,54^a$	$36,63 \pm 0,07^a$
100	$0,72 \pm 0,01^c$	$96,27 \pm 0,11^b$	$319,80 \pm 0,51^b$	
120	$1,77 \pm 0,48^b$	$39,16 \pm 0,01^c$	$130,08 \pm 1,01^c$	
140	$3,16 \pm 0,01^a$	$21,93 \pm 0,30^d$	$72,86 \pm 0,81^d$	

*Rezultatele sunt media a 3 determinări independente \pm deviația standard. Literele diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative ($p < 0,05$)

Datele prezentate în **Tabelul 3.2** demonstrează faptul că antocianinele extrase din epicarpul boabelor de struguri roșii (soiul *Băbească neagră*) s-au degradat cu o viteză mai redusă, valorile parametrului k variind de

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

la $0,56 \pm 0,01 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, la temperatura de 80°C , până la $3,16 \pm 0,01 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, la temperatura de 140°C .

Stabilitatea termică a flavonoidelor

Modificările flavonoidelor (CFT) în extractul din PS roșii, după tratamentul termic în intervalul de temperaturi $80\text{--}140^\circ\text{C}$ în funcție de timpul de procesare sunt prezentate în **Figura 3.4**.

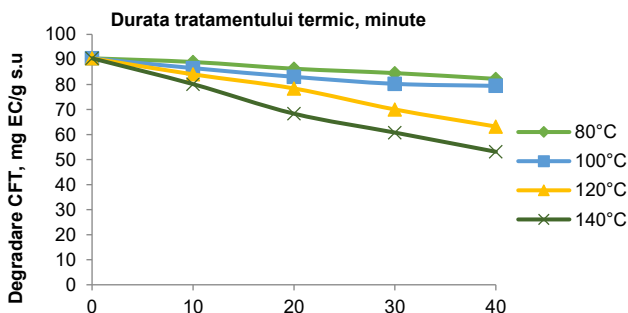


Figura 3.4. Influența tratamentului termic asupra stabilității CFT din extractul de PS roșii (*Băbească neagră*) la diferite temperaturi (◆ 80°C , ■ 100°C , ▲ 120°C , × 140°C)

Conținutul de flavonoide în extract urmează o tendință descendentă în intervalul de temperaturi studiate. Astfel, prin creșterea temperaturii de la 100°C la 140°C , timp de 40 de minute, s-a observat o reducere de la 12,18% până la 41,25% a CFT.

Rezultatele obținute au fost liniarizate prin logaritmare și s-a verificat aplicabilitatea modelului cinetic de ordinul I, cu ajutorul metodei de regresie liniară (**Figura 3.5**)

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

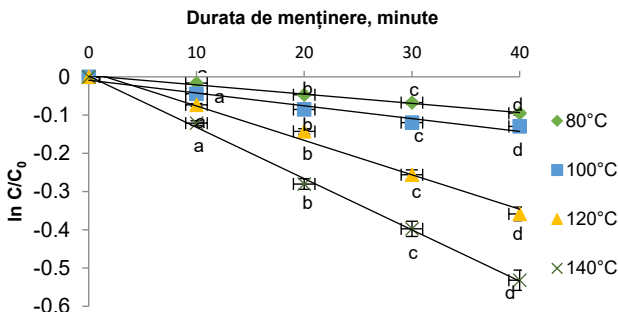


Figura. 3.5. Degradarea izotermă a CFT în extractul de PS roșii (*Băbească neagră*) tratat la diferite temperaturi (◆ 80°C, ■ 100°C, ▲ 120°C, × 140°C)

Parametrii cinetici ai procesului de degradare termică a CFT sunt prezentați în **Tabelul 3.3**.

Tabelul 3.3. Variația parametrilor cinetici ai procesului de degradare termică a CFT, în extractul din PS (*Băbească neagră*)

Temperatura °C	$k \cdot 10^{-2} (\text{min}^{-1})$	$t_{1/2} (\text{min})$	D (min)	Ea ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
80	$0,24 \pm 0,002^d$	$288,81 \pm 0,40^a$	$959,41 \pm 3,71^a$	$37,22 \pm 0,02^a$
100	$0,33 \pm 0,01^c$	$210,04 \pm 0,93^b$	$697,75 \pm 1,71^b$	
120	$0,90 \pm 0,003^b$	$77,01 \pm 0,91^c$	$255,84 \pm 1,71^c$	
140	$1,34 \pm 0,05^a$	$51,72 \pm 0,91$	$171,83 \pm 0,30^d$	

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literele diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative ($p < 0,05$).

Degradarea CFT urmează modelul cinetic de ordinul I. Valorile constantei vitezei de degradare (k) au crescut de la $0,24 \pm 0,002 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ la $1,34 \pm 0,01 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, corelat cu creșterea temperaturii. Energia de activare pentru degradarea termică a flavonoidelor totale a fost de $37,22 \pm 0,002 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. O reducere a timpului de înjumătățire în cazul flavonoidelor a fost corelată cu creșterea temperaturii, și anume valori de $288,81 \pm 0,40$ minute, la temperatura 80°C și de $51,72 \pm 0,91$ minute, la temperatura de 140°C.

Influența tratamentului termic asupra polifenolilor

În urma tratamentului termic în intervalul de temperaturi studiat (80–140°C, timp de 40 de minute), CPT din extractul obținut din PS roșii a soiului *Băbească neagră* a scăzut de la $164,61 \pm 4,15 \text{ mg EAG/g s.u.}$ până la $74,83 \pm 4,15 \text{ mg EAG/g s.u.}$

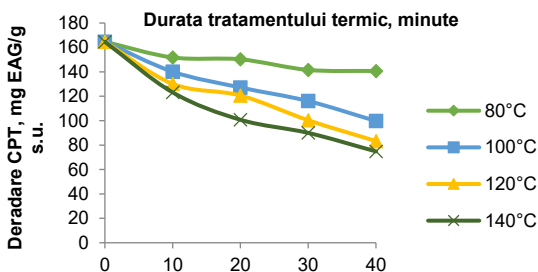


Figura 3.6. Influența tratamentului termic asupra CPT din extractul de PS roșii (*Băbească neagră*), la diferite temperaturi (◆ 80°C, ■ 100°C, ▲ 120°C, × 140°C)

După cum se poate observa în **Figura 3.6**, prin creșterea temperaturii de la 80°C la 140°C și a timpului de tratament de la 0 la 40 de minute, s-a observat o reducere procentuală a cantității de polifenoli totali în extract de la 14,96% până la 45,45%.

Și în cazul CPT, rezultatele obținute au fost liniarizate prin logaritmare și s-a verificat aplicabilitatea modelului cinetic de ordinul I cu ajutorul metodei de regresie liniară (**Figura 3.7**).

După 10 minute de încălzire, degradarea CPT începe și avansează rapid, cu o reducere semnificativă, de la 7,80%, la temperatura de 80°C, până la 23,50%, la temperatura de 140°C (**Figura 3.7**). S-a observat o reducere a concentrației de polifenoli în extracte, de 22,70% și 38,80%, prin tratamentul termic al probelor la temperatura de 100°C și, respectiv, 120°C, timp de 30 de minute. În mod similar, CPT din extractul de prune (*Prunus domestica*) raportat de [Turturică și colab., 2016](#), s-a redus cu 4% până la 23%, prin tratament termic în intervalul de temperatură 70–90°C, iar degradarea a ajuns până la 43–72 % în intervalul de temperaturi 100–110°C.

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

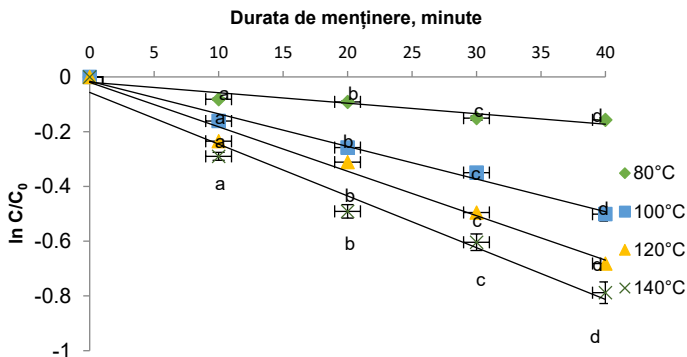


Figura 3.7. Degradarea izotermă a CPT din extractul de PS roșii (*Băbească neagră*) tratat la diferite temperaturi (◆ 80°C, ■ 100°C, ▲ 120°C, × 140°C)

Tablelul 3.4. Parametri cinetici calculați pentru degradarea termică CPT din extractul de PS roșii (*Băbească neagră*)

Temperatura °C	$k \cdot 10^{-2} (\text{min}^{-1})$	$t_{1/2} (\text{min})$	D (min)	Ea (kJ·mol ⁻¹)
80	0,38 ± 0,002 ^d	182,40 ± 6,04 ^a	605,94 ± 0,20 ^a	31,61 ± 0,07 ^a
100	1,19 ± 0,01 ^c	58,24 ± 3,01 ^b	193,49 ± 0,51 ^b	
120	1,62 ± 0,003 ^b	42,78 ± 1,01 ^c	142,13 ± 0,91 ^c	
140	1,89 ± 0,001 ^a	36,67 ± 3,03 ^d	121,82 ± 0,41 ^d	

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literele diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative (p<0,05).

Pentru degradarea termică a CPT, valoarea constantei vitezei de degradare (k) a crescut de la $0,38 \pm 0,002 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ la $1,89 \pm 0,001 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$.

Creșterea temperaturii de la 80°C la 140°C a determinat o reducere substanțială a timpului de înjumătățire ($t_{1/2}$), care a variat de la $182,40 \pm 6,04$ minute, la temperatura de 80°C, până la valoarea de $36,67 \pm 3,03$ minute, la temperatura de 140°C.

Influența tratamentului termic asupra activității antioxidante

În urma tratamentului termic, capacitatea antioxidantă, exprimată ca activitate anti-radicalică asupra 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (metoda DPPH), a scăzut. În intervalul de temperaturi studiat, 80–140°C, s-a înregistrat o scădere a capacității

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

antioxidante de 6,52–46,89%, pentru timpul de tratament de 40 de minute (**Figura 3.8**). O dată cu creșterea timpului de procesare termică s-a observat o scădere graduală a capacității antioxidante. Astfel, după 40 de minute de tratament, la temperatura de 120°C, s-a înregistrat o scădere a capacității antioxidante de 38,41% iar după 40 de minute de tratament, la temperatura de 140°C, s-a observat o scădere a capacității antioxidante de 46,89%.

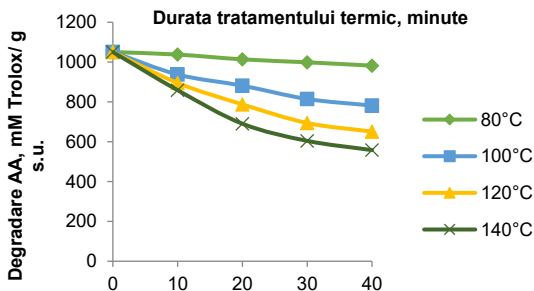


Figura 3.8. Influența tratamentului termic asupra stabilității AA din extractul de PS roșii (*Băbească neagră*) la diferite temperaturi (◆ 80°C, ■ 100°C, ▲ 120°C, × 140°C)

Așa cum se poate observa din **Figura 3.8**, AA a extractului este influențată de temperatură. Astfel, în intervalul de temperaturi 80–140°C s-a înregistrat o reducere a valorilor AA, care a variat între 1,21–18,25%, după 10 minute. Gradul de degradare este influențat de temperatură dar și de timpul de tratament termic (**Figura 3.9**). Astfel, după 40 de minute de tratament, la temperatura de 120°C, s-a observat o scădere cu 38,05% a valorilor AA și o scădere cu 44,02%, prin tratament la temperatura de 140°C, având în vedere același timp de procesare.

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

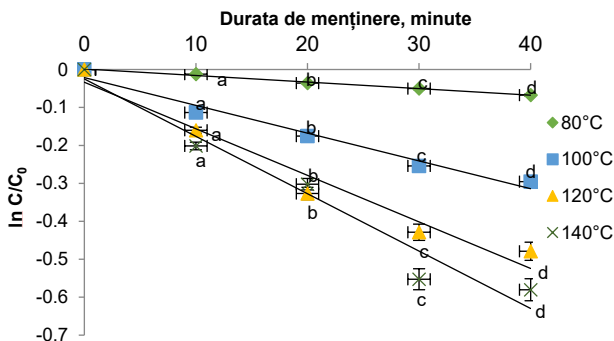


Figura 3.9. Degradarea izotermă a AA în extractul de PS roșii (*Băbească neagră*), la diferite temperaturi (◆ 80°C, ■ 100°C, ▲ 120°C, × 140°C)

Aceste variații sunt corelate cu degradarea compușilor bioactivi cu capacitate antioxidantă. În **Tabelul 3.5** se prezintă variația parametrilor cinetici de modificare a AA a extractului prin degradare termică. Valorile constantei vitezei de degradare (k) cresc corelat cu creșterea temperaturii, ceea ce sugerează o sensibilitate termică ridicată a compușilor bioactivi din PS roșii (*Băbească neagră*). Pentru AA, se constată o creștere a valorii parametrului k , de la $0,17 \pm 0,03 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ la $1,51 \pm 0,01 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$.

Tabelul 3.5. Parametri cinetici de variație a activității antioxidante (metoda DPPH) prin tratamentul termic al extractului din PS roșii (*Băbească neagră*)

Temperatura °C	$k \cdot 10^{-2} (\text{min}^{-1})$	$t_{1/2} (\text{min})$	D (min)	Ea ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
80	$0,17 \pm 0,003^d$	$407,73 \pm 1,20^a$	$1354,46 \pm 3,01^a$	$43,59 \pm 0,02^a$
100	$0,73 \pm 0,001^c$	$94,95 \pm 0,26^b$	$315,42 \pm 0,71^b$	
120	$1,23 \pm 0,001^b$	$56,35 \pm 0,20^c$	$187,20 \pm 0,91^c$	
140	$1,51 \pm 0,001^a$	$45,90 \pm 1,12^d$	$152,48 \pm 0,02^d$	

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente \pm deviația standard. Literale diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificativ ($p < 0,05$).

3.4.4. Studiul comportamentului termodinamic al compușilor bioactivi în extract

Valorificarea unor compuși biologici activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

În privința antocianilor monomerici totali (AMT), din datele prezentate în **Tabelul 3.6** se poate observa că ΔH a variat corelat cu temperatura, de la $33,69 \pm 0,41$ kJ/mol la $33,20 \pm 0,25$ kJ/mol. Valorile pozitive ale ΔH certifică degradarea antocianilor prin reacție endotermă (Merciali și colab., 2015). Spontaneitatea reacției chimice este descrisă de constanta ΔG , care în acest studiu a variat de la $120,01 \pm 1,04$ kJ/mol la $113,94 \pm 1,04$ kJ/mol. Acest lucru indică faptul că degradarea AMT este o reacție ireversibilă și non-spontană. Entropia de activare (ΔS) reprezintă gradul de dezordine a moleculelor dintr-un sistem și este legată de numărul de molecule cu energie adecvată care pot reacționa (Peron și colab., 2017).

Tabelul 3.6. Parametri termodinamici care descriu degradarea AMT în extractul din PS roșii (*Băbească neagră*)

Temperatura (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol·K)	ΔG (kJ/mol)
80	$33,69 \pm 0,41^{a*}$	$-193,50 \pm 2,11^a$	$120,01 \pm 1,04^a$
100	$33,53 \pm 0,25^a$	$-197,44 \pm 2,12^c$	$107,17 \pm 1,06^d$
120	$33,36 \pm 0,17^a$	$-195,39 \pm 3,06^b$	$110,15 \pm 1,08^c$
140	$33,20 \pm 0,25^a$	$-195,50 \pm 2,09^b$	$113,94 \pm 1,04^b$

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente \pm deviația standard. Literele diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative ($p < 0,05$).

În **Tabelul 3.7** se prezintă valorile entalpiei de activare (ΔH), ale energiei de dezintegrare liberă (ΔG) și ale entropiei de activare (ΔS), pentru comportamentul termic al flavonoidelor, la diferite temperaturi. Din analiza datelor obținute se poate observa că ΔG a variat între $104,49$ și $116,88$ kJ/mol, prin creșterea temperaturii în intervalul 80 – 140°C . Valorile ΔS sunt corelate cu numărul de molecule cu energie adecvată care pot reacționa eficient. Valorile negative ale ΔS indică o libertate structurală mai redusă decât cea a reactanților și confirmă, de asemenea, că procesul este ireversibil. Valorile ΔS au variat de la $-198,88$ J/mol·K, la temperatura de 80°C , la $-201,20$ J/mol·K, la temperatura de 140°C .

Tabelul 3.7. Parametri termodinamici care descriu degradarea CFT în extractul din PS roșii (*Băbească neagră*)

Temperatura (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol·K)	ΔG (kJ/mol)
80	$34,28 \pm 0,21^a$	$-198,88 \pm 0,79^a$	$104,49 \pm 1,04^d$
100	$34,12 \pm 0,14^a$	$-202,34 \pm 0,80^c$	$109,59 \pm 1,06^c$
120	$33,95 \pm 0,20^a$	$-199,51 \pm 0,95^{ab}$	$112,36 \pm 1,12^b$
140	$33,79 \pm 0,14^a$	$-201,20 \pm 0,79^{bc}$	$116,88 \pm 1,14^a$

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente \pm deviația standard. Literele diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative ($p < 0,05$).

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Tabelul 3.8. Parametri termodinamici care descriu degradarea CPT în extractul din PS roșii (*Băbească neagră*)

Temperatura (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol·K)	ΔG (kJ/mol)
80	26,68 ± 0,14 ^{ab}	-210,94 ± 0,54 ^c	103,14 ± 1,00 ^d
100	28,51 ± 0,17 ^a	-206,71 ± 0,21 ^a	105,62 ± 1,12 ^c
120	28,34 ± 0,09 ^a	-208,90 ± 0,14 ^b	110,44 ± 1,16 ^b
140	28,18 ± 0,14 ^a	-211,92 ± 0,14 ^c	115,70 ± 1,18 ^a

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literele diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative ($p < 0,05$).

Valorile scăzute ale activării ΔH în ceea ce privește degradarea CPT (**Tabelul 3.8**) indică faptul că formarea complexului activat este favorizată, deoarece bariera energetică pentru a ajunge la starea de tranziție este scăzută. Valorile entalpiei de activare au fost similare pentru toate condițiile experimentale, variind de la 26,68 kJ/mol la 28,18 kJ/mol. Semnul pozitiv al ΔH indică un proces de degradare endotermic a CPT.

Valorile scăzute ale ΔH obținute pentru degradarea activității antioxidante (**Tabelul 3.9**) indică faptul că formarea complexului activat este favorizată deoarece bariera energetică necesară atingerii stării de tranziție este scăzută. Valorile entalpiei de activare au fost scăzute pentru toate condițiile experimentale, variind de la 40,66 ± 0,15 kJ/mol până la 40,16 ± 0,17 kJ/mol. În general, ΔH este legat de rezistența legăturilor rupte și formate în starea de tranziție dintre reactanți, precum și de efectul de solvatare, care poate diferi pentru o moleculă dată.

Valorile ΔG au crescut o dată cu creșterea temperaturii, ceea ce indică o reacție nespontană. Valorile negative ale ΔS sugerează că starea de tranziție indusă de temperatură are o libertate structurală mai redusă comparativ cu reactanții, iar procesul de modificare a activității antioxidante prin efectul temperaturii este ireversibil.

Tabelul 3.9. Parametri termodinamici care descriu variația AA în extractul din PS roșii (*Băbească neagră*)

Temperatura (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol·K)	ΔG (kJ/mol)
80	40,66 ± 0,15 ^a	-183,68 ± 2,08 ^c	105,50 ± 1,04 ^d
100	40,49 ± 0,52 ^a	-178,65 ± 2,14 ^a	107,13 ± 1,07 ^c
120	40,33 ± 1,02 ^a	-180,69 ± 2,02 ^b	111,34 ± 1,09 ^b
140	40,16 ± 0,17 ^a	-184,77 ± 2,07 ^c	116,47 ± 1,04 ^a

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literale diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative ($p < 0,05$).

3.4.5. Evaluarea potențialului extractului de inhibare a unor enzime implicate în sindromul metabolic

Enzimele digestive sunt enzime cheie care influențează digestia și absorbția nutrienților. Scăderea activității enzimelor α -amilaza și α -glucozidaza conduce la reducerea metabolismului glucidelor (Yang și colab., 2020).

Sindromul metabolic este o tulburare metabolică cu etiologii multiple, caracterizată prin hiperglicemie cronică și tulburări ale metabolismului carbohidraților și al grăsimilor (Costamagna și colab., 2016).

S-a evaluat efectul inhibitor *in vitro* asupra enzimelor, α -glucozidaza, α -amilaza, lipaza pancreatică și lipoxigenaza, al extractului de PS roșii (soiul *Băbească neagră*), înainte și după tratamentul termic la temperaturi de 80°C și 140°C, timp de 20 de minute. Capacitatea inhibitorie a fost testată utilizând concentrații de extract de 0,50, 1 și 5 $\mu\text{g/mL}$, iar rezultatele sunt prezentate în **Tabelul 3.10** și **Tabelul 3.11**.

Tabelul 3.10. Capacitatea extractului din PS roșii (*Băbească neagră*) netratat termic de inhibare a enzimelor implicate în sindromul metabolic

Proba	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$ extract)			
	α -Amilaza	α -Glucozidaza	Lipaza	Lipoxigenaza
Extract	3,06 ± 0,30 ^a	1,06 ± 0,16 ^b	7,62 ± 0,86 ^a	1,64 ± 0,71 ^a
Martor-Acarboză	3,91 ± 0,44 ^a	1,75 ± 0,14 ^a	-	-
Martor-Orlistat	-	-	3,18 ± 0,33 ^b	-
Martor-Quercitină	-	-	-	1,18 ± 0,20 ^a

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literale diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative ($p < 0,05$).

Extractul netratat a prezentat o capacitate ridicată de inhibare a enzimei α -amilaza, la concentrații scăzute. Rezultatele obținute indică faptul că extractul netratat termic poate suplini cu succes acarboza. Extractul din PS roșii netratat a avut o valoare IC₅₀ mai mică pentru α -glucozidază (1,06 ± 0,16 $\mu\text{g/mL}$) comparativ cu α -amilază (3,06 ± 0,30 $\mu\text{g/mL}$), cu valori apropiate de capacitatea de inhibiție a substanțelor de referință.

Extractul a exercitat un efect inhibitor și asupra lipazei panceratice. Valoarea IC₅₀ a extractului a fost de 7,62 ± 0,86 $\mu\text{g/mL}$, în timp ce pentru proba martor cu Orlistat a fost semnificativ mai redusă (3,18 ± 0,33 $\mu\text{g/mL}$).

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Pentru lipoxigenază valoarea IC₅₀ a extractului a fost 1,64 ± 0,07 μg/mL, mai mare decât cea probei martor cu quercetină (1,18 ± 0,02 μg/mL).

Capacitatea de inhibare a enzimelor a fost testată, de asemenea, pentru extractul tratat termic, timp de 20 de minute, la temperaturi de 80°C și 140°C (**Tabelul 3.11**).

Tabelul 3.11. Capacitatea extractului din PS roșii (*Băbească neagră*) tratat termic de inhibare a enzimelor implicate în sindromul metabolic

Temperatura	IC ₅₀ (μg/mL extract)			
	α-Amilaza	α-Glucozidaza	Lipaza	Lipoxigenaza
25°C	3,06 ± 0,30 ^a	1,06 ± 0,16 ^b	7,62 ± 0,86 ^c	1,64 ± 0,71 ^c
	3,14 ± 0,33 ^a	1,02 ± 0,17 ^b	8,70 ± 0,38 ^b	2,29 ± 0,01 ^b
140°C	5,06 ± 0,33 ^a	1,79 ± 0,02 ^a	13,37 ± 1,71 ^a	2,75 ± 0,01 ^a

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literale diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative (p<0,05).

Pentru fiecare enzimă testată, valorile IC₅₀ au crescut o dată cu creșterea temperaturii de tratament a extractului (p<0,05) (**Tabelul 3.11**), corelat cu denaturarea termică a compușilor bioactivi din extract. Astfel, pentru α-amilază valoarea IC₅₀ a crescut de la 3,06 ± 0,30 μg/mL extract la 5,06 ± 0,31 μg/mL extract, prin creșterea temperaturii de tratament a extractului. O creștere mai puțin evidentă a valorii IC₅₀ cu efect semnificativ (p<0,05) a fost observată în cazul α-glucozidazei, de la 1,06 ± 0,16 μg/mL extract (25°C) la 1,79 ± 0,02 μg/mL extract, tratat la temperatura de 140°C. Activitatea de inhibare a lipazei a prezentat cea mai mare creștere, de la 7,62 ± 0,86 μg/mL extract (25°C) la 13,37 ± 1,71 μg/mL extract, tratat la temperatura de 140°C. Activitatea de inhibare a lipoxigenazei a prezentat o creștere de la 1,64 ± 0,71 μg/mL extract (25°C) la 2,75 ± 0,01 μg/mL extract, tratat la temperatura de 140°C.

Efectul antocianilor din extractul din PS roșii (*Băbească neagră*) asupra enzimelor asociate sindromului metabolic a fost studiat prin experimente de andocare moleculară *in silico*. Complexele care rezultă prin legarea antocianinei majoritare, malvidin 3-O-glucozid (M3G), din extractul studiat de enzimele α-amilaza, α-glucozidaza, lipaza și lipoxigenaza sunt prezentate în **Figura 3.10**.

O analiză a modelelor rezultate prin andocare, care implică enzima α-amilaza ca receptor indică faptul că, în cazul tuturor celor trei complexe cu scoruri superioare, M3G s-a atașat la suprafața enzimei, în imediata apropiere a situsului catalitic (**Figura 3.10 a**). Antocianii au stabilit legături cu resturile Trp58, Trp59, Tyr62, Leu162, Thr163, Leu165, Asp300, His305 și Gly306 din structura enzimei. În cazul α-glucozidazei, nu s-a evidențiat legarea M3G de

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

resturile de aminoacizi din centrul catalitic. Rezultatele simulărilor de andocare moleculară în cazul în care lipaza a fost receptorul au indicat că moleculele M3G se atașează cu mare afinitate la nivelul unei cavități superficiale de la suprafața enzimei, în imediata vecinătate a restului de aminoacid Phe77 situat în centrul catalitic (**Figura 5.10 c**). Legarea M3G în vecinătatea situsului catalitic influențează recunoașterea substratului specific și transformarea acestuia de către lipază (**Garza și colab., 2011**).

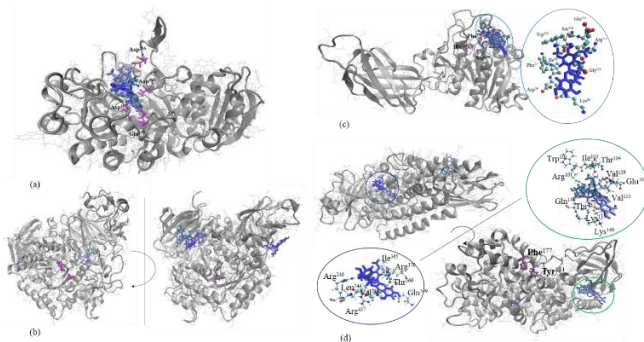


Figura 3.10. Legarea antocianinei (M3G) din extractul de PS roșii (*Băbească neagră*) de moleculele enzimelor α -amilază (a), α -glucozidază (b), lipază (c) și lipoxigenază (d), demonstrată prin andocare moleculară. Moleculele enzimaticelor-argint; Molecula M3G - nuanțe de albastru, albastru verzui; Resturile de aminoacizi implicați în legarea M3G – violet. Imaginile au fost obținute folosind software-ul VMD (**Humphrey și colab., 1996; Serea și colab., 2022**)

Au fost identificate două situsuri de legare diferite ale M3G de lipoxigenază (**Figura 3.10 c**). Ambele situsuri-uri potențiale de legare a ligandului fiind situate în zone înguste de pe suprafața proteinei încărcate pozitiv. Primul situs de legare este polar și implică trei resturi ale aminoacidului arginină (Arg) situate în pozițiile 246, 370 și 457. Al doilea situs de legare conține resturi nepolare constând în trei aminoacizi încărcăți pozitiv (Arg101, Lys133 și Lys140) și unul încărcat negativ (Glu108). Ambele situsuri de legare a ligandului sunt distanțate de resturile de aminoacizi Phe177 și Tyr181 din centrul catalitic (**Gilbert și colab., 2011**). Având în vedere compoziția bogată în compuși bioactivi a extractului din PS roșii (soiul *Băbească neagră*), deși concentrația lor este destul de scăzută în comparație cu M3G, aceștia pot afecta activitatea enzimelor asociate cu sindromul metabolic. Prin urmare, rezultatele experimentale obținute pot fi explicate pe baza efectului cumulativ al compușilor din extract.

3.5. Concluzii parțiale

➤ S-a studiat stabilitatea termică a compușilor bioactivi (antociani, flavonoide, polifenoli) din extractul de PS roșii (soiul *Băbească neagră*), obținut prin extracție asistată de ultrasunete (40 kHz), folosind ca solvent etanol 85% în amestec cu 0,85 % acid citric , la temperatura de 57°C, timp de 52 de minute.

➤ Cinetica de inactivare termică s-a studiat cu o frecvență de 10 minute, timp de 40 de minute, prin tratament la temperaturile de 80°C, 100°C, 120°C și 140°C. Degradarea antocianilor, flavonoidelor și a polifenolilor, precum și modificarea activității antioxidante a extractului corespund unui model cinetic de ordinul întâi.

➤ Parametrii cinetici și termodinamici obținuți demonstrează o dependență ridicată de temperatură, a compușilor bioactivi și o dependență moderată, pentru activitatea antioxidantă a extractului.

➤ Studiile cinetice au evidențiat o termostabilitate ridicată a antocianilor în extract prin tratament la temperaturi în intervalul 80–120°C, corelat și cu menținerea stabilității activității antioxidante.

➤ S-a dovedit că extractul este eficient pentru inhibarea activității unor enzime cu impact metabolic (α -amilaza, α -glucozidaza, lipaza și lipoxigenaza), cu un grad de inhibare superior, comparativ cu probele martor (compuși de referință specifici). Potențialul inhibitor se reduce substanțial prin tratamentul termic al extractului la temperaturi de 80°C și 140°C.

➤ Prin andocare moleculară *in silico* s-a demonstrat efectul antoacianinei malvidin 3-O-glucozid (M3G) în inhibarea enzimelor studiate, ceea ce oferă perspective valoroase pentru aplicabilitatea tehnologică și potențialul funcțional al extractului studiat, corelat cu stabilitatea termică superioară demonstrată pentru antociani.

➤ Studiile oferă date științifice importante, cu valoare fundamentală și aplicativă pentru procesarea termică a extractului bioactiv din PS roșii (soiul *Băbească neagră*), în vederea asigurării stabilității proprietăților tehnologice și funcționale.

CAPITOLUL 4

VALORIFICAREA EXTRACTULUI OBȚINUT DIN EPICARPUL BOABELOR DE STRUGURI ROȘII (SOIUL BĂBEASCĂ NEAGRĂ) PRIN MICROÎNCAPSULAREA ȘI PRODUCEREA DE INGREDIENTE FUNCȚIONALE

4.1. Aspecte generale

Dezvoltarea ingredientelor alimentare funcționale pe bază de plante a devenit un obiectiv major al industriei alimentare moderne, ca răspuns la cerințele impuse de consumatori cu privire la necesitatea înlocuirii aditivilor sintetici, dar și conștientizării importanței alimentației pentru sănătate. Prin urmare, există un mare interes pentru identificarea, izolarea, caracterizarea și utilizarea compușilor biologic activi din surse vegetale, în special prin valorificarea subproduselor agro-alimentare ([Dominguez și colab., 2020](#)).

În ultimele decenii, o serie de cercetări s-au concentrat pe separarea, caracterizarea și utilizarea compușilor biologic activi în industria alimentară ([Munekata și colab., 2020](#)). Cu toate acestea, mulți dintre compușii bioactivi din surse vegetale nu au aplicabilitate în industria alimentară din cauza solubilității scăzute, a stabilității lor chimice reduse sau a impactului negativ asupra calității și a inocuității alimentelor. Compușii din surse naturale au proprietăți antioxidante, antimicrobiene, aromatizante, colorante și biologic active și sunt utilizați pe scară largă în industria alimentară pentru scopuri tehnologice și funcționale ([Lorenzo și colab., 2018](#)). Procesarea alimentelor poate determina diminuarea sau pierderea funcționalității acestor compuși în sistemele alimentare.

4.2. Obiectivele studiului

În cadrul acestui capitol, se propun diferite strategii de dezvoltare a unor ingrediente cu funcționalitate multiplă, care valorifică potențialul PS roșii (soiul *Băbească neagră*) ca sursă valoroasă de compuși biologic activi, prin microîncapsulare. Astfel, compușii polifenolici din PS au fost extrași utilizând tehnici de extracție optimizate, prezentate în **Capitolul 2**, în vederea obținerii unui randament superior de extracție a compușilor bioactivi și a creșterii potențialului antioxidant al extractului.

S-a urmărit stabilizarea proprietăților biologice ale compușilor bioactivi, aplicând liofilizarea ca tehnică de microîncapsulare și s-au obținut compozite funcționale, sub formă de pudre fine, colorate, cu funcționalitate ridicată și multiplă. Pudrele obținute au fost analizate din punct de vedere al eficienței microîncapsulării compușilor biologic activi, a compoziției fitochimice și a potențialului antioxidant.

4.4. Rezultate și discuții

4.4.1. Analiza comparativă a eficienței încapsulării compușilor bioactivi

Microîncapsularea a fost utilizată cu scopul obținerii unor compozite funcționale sub formă de pudre, de calitate superioară, reducând la minimum degradarea oxidativă a compușilor biologic activi din extractul de PS roșii (soiul *Băbească neagră*). Producerea de microcapsule s-a realizat printr-o metodă combinată, care a utilizat coacervarea complexă urmată de liofilizare, obținându-se pulberi fine, de culoare mov. Pulberile rezultate au fost caracterizate în ceea ce privește eficiența microîncapsulării, AMT, CFT, CPT și activitatea antioxidantă.

S-a stabilit eficiența încapsulării antocianilor, compuși bioactivi majoritari din compoziția extractului obținut prin extracția cu solvenți asistată de ultrasunete (Oancea și colab., 2018). Datele prezentate în **Tabelul 4.1**, demonstrează că eficiența încapsulării antocianilor din extractul de PS roșii a fost influențată de componentele matricii de încapsulare și raportul dintre acestea, deoarece amestecul cu o concentrație mare de polizaharide a permis obținerea unor valori mai ridicate pentru eficiența de microîncapsulare a antocianilor. Astfel, eficiența încapsulării a crescut semnificativ odată cu concentrația de carbohidrați, variind $85,93 \pm 0,44\%$ și $93,24 \pm 0,65$ (**V1**), $72,25 \pm 0,18\%$ și $66,25 \pm 1,75\%$ (**V2**) și, respectiv, $66,13 \pm 1,11\%$ și $57,99 \pm 1,73\%$ (**V3**).

Tabelul 4.1. Eficiența încapsulării antocianilor din extractul din PS roșii (*Băbească neagră*)

Variante experimentale	Variante de formulare a matricii de încapsulare	Eficiența încapsulării, %
V1	V1-1	$85,93 \pm 0,44$
	V1-2	$93,24 \pm 0,65$
V2	V2-1	$72,25 \pm 0,18$
	V2-2	$66,25 \pm 1,75$
V3	V3-1	$66,13 \pm 1,11$
	V3-2	$57,99 \pm 1,73$

4.4.2. Analiza morfologică și structurală a compozitelor obținute prin încapsularea extractului

Morfologia externă a pulberilor poate fi vizualizată în imaginile obținute prin microscopie electronică cu scanare (SEM) prezentate în **Figura 4.2**. Pulberile prezintă diferențe morfologice semnificative, în corelație cu caracteristicile matricilor de încapsulare. Microstructura pulberilor evidențiază caracteristici corelate cu comportamentul și eliberarea controlată a substanțelor bioactive.

În cazul pudrelor obținute prin varianta experimentală V1-2 (**Figura 4.2 a**), în care materialele de încapsulare au fost de IPZ și CMC sunt vizibile atât formațiuni de tip vezicular cât și formațiuni poliedrice distribuite pe suprafețe curbate conectate prin zonă de creastă.

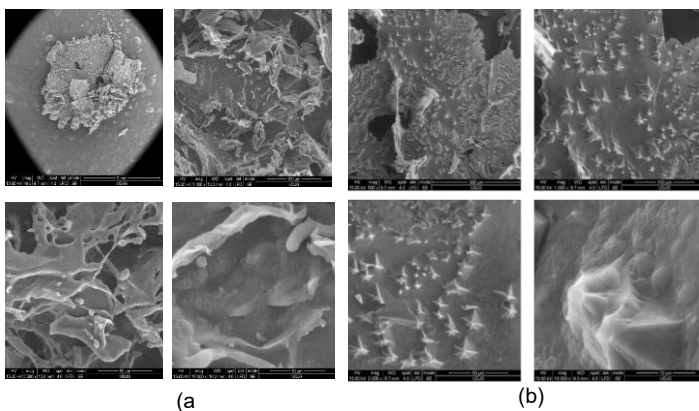


Figura 4.2. Imagini SEM ale compozitelor (pudre) obținute prin încapsularea extractului din pieleță de struguri roșii (*Băbească neagră*) în matricile: (a) Izolat proteic din zer și carboximetilceluloză (V1-2); (b) Izolat proteic din zer și gumă arabică (V3-2)

Se poate observa că suprafața exterioară a microcapsulei are aspect neted datorat proprietăților IPZ de a forma filme. **Figura 4.2 b** prezintă o structură stelată de dimensiuni neuniforme, acest lucru se datorează utilizării gumei arabica și a liofilizării. Adânciturile de pe suprafața microcapsulei indică o retenție mai mare a extractului microîncapsulat, rugozitatea putând apărea și din cauza schimbării bruște a temperaturii în timpul procesului de uscare, când apa se evaporă rapid, provocând contracția pulberii în stadiul de răcire (variantele experimentale V3-2).

4.4.3. Caracterizarea fitochimică a pudrelor și evaluarea stabilității potențialului bioactiv prin conservare

În **Tabelul 4.2.** este prezentat profilul fitochimic al pudrelor obținute prin variația compozițională a matricilor de încapsulare a compușilor bioactivi.

Tabelul 4.2. Profilul fitochimic al compozitelor obținute pe bază de extract din PS roșii *Băbească neagră*

Variante experimentale	Variante de microîncapsulare	AMT mg C3G/g s.u.	CFT, mg EC/g s.u.	CPT, mg EAG/g s.u.	AA, mM Trolox/g s.u.
V1	V1-1	9,03 ± 1,27	8,67±0,13	61,99±6,66	44,84±0,42
	V1-2	10,35±0,57	10,81±0,17	71,04 ± 4,58	46,19± 0,61
V2	V2-1	2,52±0,18	7,60±0,26	26,14±1,93	40,82 ± 0,86
	V2-2	2,94±0,13	6,43 ± 0,66	32,63 ± 2,66	49,56±0,46
V3	V3-1	2,94 ± 0,13	6,43±0,66	32,63 ± 2,66	40,81±0,86
	V3-2	3,37 ± 0,09	8,50±1,14	33,08±5,29	44,35±1,58

După cum se poate observa din **Tabelul 4.2.**, compoziția matricei influențează eficiența legării compușilor bioactivi, rezultate superioare obținându-se prin combinarea IPZ cu CMC, în proporție de 1:1, pentru toate categoriile de compuși bioactivi studiați, mai puțin pentru activitatea antioxidantă, pentru care s-a obținut o valoare mai mare în cazul variantei V2-2 (49,56±0,46 mM Trolox/g s.u.), pentru care eficiența de încapsulare a fost mai mică, de 66,25 ± 1,75%. Acest aspect poate fi explicat prin distribuția diferită a compușilor biologic activi în matrici, cu o distribuție mai mare la suprafața microparticulelor în cazul V2-2 comparativ cu V1-1, pentru care compușii se concentrează în interiorul microparticulelor.

În **Tabelul 4.3.** se prezintă stabilitatea la păstrare (după 28 de zile, la temperatura camerei) a compoziției fitochimice a pudrelor compozite formulate în diferite variante de încapsulare.

Tabelul 4.3. Stabilitatea compușilor bioactivi în pudrele compozite, după 28 de zile de depozitare, la temperatura camerei, în absența luminii

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Momentul analizei/ Varianta de încapsulare	AMT, mg C3G/g s.u.	CFT, mg EC/g s.u.	CPT, mg EAG/g s.u.	AA, mM Trolox/g s.u.
V1-1				
Inițial	9,03 ± 1,27 ^{BA}	8,67±0,13 ^{BA}	59,68±6,66 ^{BA}	44,84 ± 0,42 ^{BA}
După 28 zile	9,00 ± 1,24 ^{BA}	8,65 ± 0,13 ^{BA}	61,78±6,63 ^{BA}	44,80 ± 0,42 ^{BA}
V1-2				
Inițial	10,35 ± 0,57 ^{BA}	10,81±0,17 ^{BA}	71,04 ± 4,58 ^{BA}	46,19± 0,61 ^{BA}
După 28 zile	10,22 ± 0,55 ^{BA}	10,78 ± 0,17 ^{BA}	71,00 ± 4,48 ^{BA}	46,12 ± 0,58 ^{BA}
V2-1				
Inițial	2,52 ± 0,18 ^{BA}	7,60 ± 0,26 ^{BA}	26,14±1,93 ^{BA}	40,82 ± 0,86 ^{BA}
După 28 zile	2,48 ± 0,15 ^{BA}	7,58 ± 0,24 ^{BA}	26,09±1,90 ^{BA}	40,78 ± 0,83 ^{BA}
V2-2				
Inițial	2,94 ± 0,13 ^{BA}	8,36 ± 0,66 ^{BA}	32,63 ± 2,66 ^{BA}	49,56 ± 0,46 ^{BA}
După 28 zile	2,90 ± 0,13 ^{BA}	8,28 ± 0,63 ^{BA}	32,60 ± 2,63 ^{BA}	49,36 ± 0,36 ^{BA}
V3-1				
Inițial	2,94 ± 0,13 ^{BA}	6,43 ± 0,66 ^{CA}	32,63 ± 2,66 ^{BA}	40,81 ± 0,86 ^{BA}
După 28 zile	2,90 ± 0,13 ^{BA}	6,40 ± 0,63 ^{CA}	32,58 ± 2,59 ^{BA}	40,71 ± 0,78 ^{BA}
V3-2				
Inițial	3,37 ± 0,09 ^{BA}	8,50 ± 1,14 ^{BA}	33,08 ± 5,29 ^{BA}	44,35 ± 1,58 ^{BA}
După 28 zile	3,36 ± 0,08 ^{BA}	8,48 ± 1,12 ^{BA}	33,05 ± 5,24 ^{BA}	44,15 ± 1,38 ^{BA}

* Pentru fiecare compus fitochimic testat și fiecare variantă de pudră testată, valorile care se află pe aceleași rând care nu împărtășesc aceleași litere mici sunt statistic diferite la $p < 0,05$.

Analizând datele obținute se observă că prin păstrarea pudrelor timp de 28 de zile la temperatura camerei, în absența oxigenului și a luminii se mențin proprietățile bioactive, iar conținutul de AMT, CFT, CPT și AA nu a variat semnificativ ($p < 0,05$) la depozitare.

4.5. Concluzii parțiale

Studiul prezentat în acest capitol a vizat valorificarea extractului din PS roșii (soiul *Băbească neagră*), bogat în compuși bioactivi pentru a obține ingrediente cu potențial funcțional prin microîncapsulare. Rezultatele obținute au permis elaborarea următoarelor concluzii parțiale:

- Combinația de tehnici de microîncapsulare propusă (coacervare – liofilizare) a vizat utilizarea comparativă a unor matrici biopolimerice, pe bază de izolat de proteic din zer, maltodextrină, carbozimetilceluloză, pectină și gumă arabică, în diferite concentrații și proporții pentru microîncapsularea extractului din PS de struguri roșii (soiul *Băbească neagră*) (în șase variante experimentale).
- Indiferent de suportul încapsulare utilizat au rezultat pudre fine, de culoare mov/violet cu microparticule de diferite dimensiuni.
- Compozitele obținute sub formă de pudră au fost caracterizate din punctul de vedere al compoziției în compuși biologic activi și a eficienței încapsulării. Rezultatele au evidențiat o eficiență sporită de încapsulare a antocianilor.

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

- Eficiența microîncapsulării pentru variantele testate, a variat în funcție de materialul de încapsulare, între 57% și 93%. Amestecul format din soluții 1% zolat proteic din zer și 1% carboximetilceluloză (1:1) (V1-2), a condus la cea mai eficientă legare a compușilor bioactivi, comparativ cu celelalte variante testate. Pudra obținută a prezentat cel mai mare conținut de antociani totali, de $10,35 \pm 0,57$ mg C3G/g s.u. și o activitate antioxidantă de $46,19 \pm 0,61$ mMol Trolox/g su.
- Stabilitatea potențialului bioactiv s-a menținut și după 28 de zile de păstrare a pudrelor, la temperatura camerei, cu limitarea accesului oxigenului și a luminii.
- Rezultatele obținute au evidențiat proprietățile remarcabile de microîncapsulare a combinației biopolimerice obținute din izolatul proteic din zer și carboximetilceluloză, atât ca eficiență a încapsulării cât și ca potențial de retenție a compușilor bioactivi în microparticule la depozitarea controlată.
- Aceste date susțin ipoteza că microîncapsularea extractului din PS roșii (soiul *Băbească neagră*) permite obținerea de compozite (pudre) funcționale care pot fi recomandate ca bioingrediente cu valoare adăugată cu proprietățile tehnologice și funcționale benefice pentru utilizare în industria alimentară dar și în alte domenii, pentru obținerea de furaje, nutraceutice, cosmetice etc.

CAPITOLUL 5

OBȚINEREA UNOR PRODUSE ALIMENTARE CU VALOARE ADĂUGATĂ PRIN VALORIFICAREA COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI EXTRAȘI DIN EPICARPUL BOABELOR DE STRUGURI ROȘII (SOIUL BĂBEASCĂ NEAGRĂ)

5.1. Aspecte generale

Industria alimentară se confruntă în prezent cu probleme legate de gestionarea subproduselor rezultate din prelucrarea industrială a fructelor și legumelor (Bertagnolli și colab., 2014). Industria de procesare a fructelor și legumelor a evoluat considerabil în ultimii 25 de ani, acest lucru a fost determinat și de creșterea cererii de alimente preprocesate și ambalate, în special de preparate gata de consum (*ready to eat*) și în consecință a crescut și cantitatea de produse reziduale. Subprodusele rezultate în urma procesării fructelor și legumelor erau adesea eliminate relativ ieftin, prin compostare, sau utilizate drept hrană pentru animale. Cu toate acestea, după acordul de la Kyoto din anul 1997, problema deșeurilor în societatea modernă a devenit mai proeminentă, deoarece contribuie la multe dintre problemele sustenabilității calității mediului înconjurător. La nivel mondial sunt generate cantități ridicate de subproduse rezultate din procesarea alimentelor. În Europa sunt generate aproximativ 100 milioane de tone de deșeuri și produse secundare în fiecare an, sectorul cu cel mai mare procent fiind cel al industriei băuturilor (26%), precum și cel al procesării fructelor și al legumelor (14,80%) (Marić și colab., 2018). În ceea ce privește categoriile alimentare, cel mai mare nivel de pierdere de la postrecoltare până la distribuție sunt rădăcinile, tuberculii și culturile oleaginoase (25%), cerealele și leguminoase (9%), fructe și legume (30%), carne și alte produse de origine animală (12%) (Socas-Rodríguez și colab., 2021).

5.2. Obiectivele studiului

Studiile prezentate în acest capitol au vizat următoarele obiective specifice:

- Elaborarea unor tehnologii de obținere a două produse cu valoare adăugată (biscuiți aglutenici, bere) care exploatează potențialul funcțional al compușilor bioactivi din pielea boabelor de struguri (PS) roșii (soiul *Băbească neagră*).
- Stabilirea rețetelor tehnologice de obținere a produselor (biscuiți și bere) cu adaos de derivate din PS roșii, pulbere și extract.

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

- Evaluarea caracteristicilor fitochimice și senzoriale ale produselor obținute și a stabilității la depozitare a potențialului bioactiv.
- Evaluarea caracteristicilor senzoriale ale produselor obținute.

5.3. Materiale și metode

5.3.3. Obținerea și caracterizarea unui sortiment de biscuiți aglutenici cu adaos de pudră din pelliță de struguri roșii

Pentru obținerea biscuiților s-a utilizat schema bloc pe operații unitare prezentată în **Figura 5.1**. Ingredientele comerciale, făină de orez, făină de porumb, unt de cocos, green sugar, esență de lămâie, praf de copt, ou și sare, au fost achiziționate de la un supermarket din Galați.

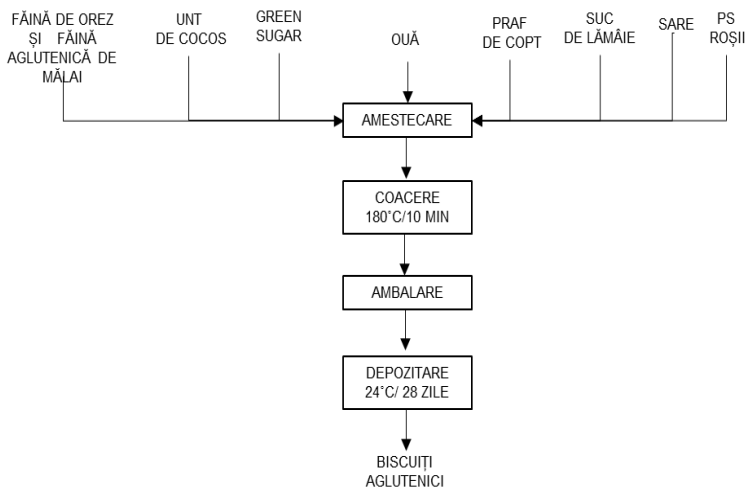


Figura 5.1. Schema bloc pe operații unitare de obținere a biscuiților cu adaos de pudră liofilizată din PS roșii (*Băbească neagră*)

Materiile prime și auxiliare folosite pentru obținerea biscuiților au fost: 250 g amestec de făinuri aglutenice (188 g făină de orez și 62 g făină de porumb), 70 mL ulei de cocos, 100 g green sugar, 1 ou, 2,50 g praf de copt, 1 mL suc proaspăt de lămâie, 0,1 g sare. După pregătirea preliminară, materiile prime au fost amestecate cu un blender de uz casnic, timp de 10 minute. În timpul amestecării s-a adăugat pudră obținută din PS roșii, în concentrație de 1% (g/g)(P1), și 2% (g/g)(P2). Proba martor a fost realizată din aceleași ingrediente fără a se adăuga pudră. Probele au fost realizate în duplicat. După formare, biscuiții au fost supuși operației de coacere la temperatura de 180 °C, timp de 10 minute. După coacere

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

biscuiții au fost ambalați în recipiente închise ermetic și păstrați la temperatura camerei (24°C), timp de 28 de zile, în vederea caracterizării pe durata depozitării.

5.3.4. Obținerea și caracterizarea unui sortiment de bere cu adaos de extract din pieliță de struguri

Un sortiment de bere albă (obținută din grâu) și unul de bere blondă au fost achiziționate de pe piața locală din Galați, România, și au fost folosite drept bază pentru suplimentarea cu extract din PS roșii (EPS) pentru a obține produse cu valoare adăugată. Trei concentrații diferite de EPS, și anume 1, 5 și 10 mg/mL, au fost adăugate în probele de bere, iar variantele experimentale rezultate au fost codificate după cum urmează: P1 + 1 mg EPS/mL, P1 + 5 mg EPS /mL, P1 + 10 mg EPS /mL și respectiv P2 + 1 mg EPS /mL, P2 + 5 mg EPS /mL, P2 + 10 mg EPS /mL. Concentrația de EPS s-a stabilit pe baza rezultatelor unui test senzorial preliminar, menit să identifice concentrația de EPS fără impact asupra gustului produsului final. Proba martor a constat din bere fără adaos de EPS. Probele au fost depozitate la temperatura de 4°C, iar calitatea lor a fost evaluată pe parcursul a 21 de zile de depozitare, în întuneric.

5.4. Rezultate și discuții

5.4.1.2. Caracterizarea potențialului bioactiv al biscuiților aglutenici cu valoare adăugată

Compoziția fitochimică și activitatea antioxidantă a biscuiților obținuți sunt prezentate în **Tabelul 5.2**. Rezultatele obținute confirmă potențialul bioactiv al pudrei din PS roșii (soiul *Băbească neagră*), conținutul compușilor bioactivi în biscuiți crescând proporțional cu concentrația de pudră adăugată. Astfel, adaosul de pudră din PS în compoziția aluatului de biscuiți, în concentrație de 1% (g/g) (P1), respectiv 2% (g/g) (P2), a condus la creșterea evidentă a concentrației de antociani, de la $6,80 \pm 0,01$ mg C3G/100 g biscuiți (P1) la $9,90 \pm 1,70$ mg C3G/100 g biscuiți (P2) și a conținutului de polifenoli, de la $142,50 \pm 14,30$ mg EAG/100 g biscuiți la $235,70 \pm 14,40$ mg EAG/100 g pentru biscuiți.

Activitatea antioxidantă variază în funcție de metoda de analiză utilizată, care este în corelație cu compoziția dozații.

Tabelul 5.2. Compoziția fitochimică a biscuiților aglutenici

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Parametru	Proba		
	M	P1	P2
AMT, mg C3G/100 g produs	-	6,80 ± 0,01 ^a	9,90 ± 1,70 ^a
CFT, mg EC/100 g produs	92,80 ± 12,00 ^a	92,90 ± 15,40 ^a	105,20 ± 1,30 ^a
CPT, mg EAG/100 g produs	142,50 ± 14,30 ^a	188,90 ± 14,30 ^a	235,70 ± 14,40 ^a
AA (DPPH), mM Trolox/100 g produs	1693,70 ± 104,60 ^a	2006,30 ± 19,10 ^a	1943,40 ± 21,30 ^a
AA (Inhibiție DPPH), %	82,31 ± 5,04 ^a	82,62 ± 0,52 ^a	83,72 ± 0,54 ^a
AA (ABTS) mM Trolox/100 g produs	2079,00 ± 15,00 ^a	2220,00 ± 3,00 ^a	2490,00 ± 8,00 ^a
AA (Inhibiție ABTS), %	79,12 ± 0,61 ^a	83,13 ± 0,13 ^a	94,77 ± 0,31 ^a

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literele mici diferite pe rând, evidențiază diferențele semnificative (p<0,05).

5.4.1.3. Stabilitatea compușilor biologic activi în biscuiți în timpul depozitării

Biscuiții au fost păstrați în ambalaj închis ermetic, la temperatura camerei, timp de 28 de zile, după care s-a determinat conținutul de compuși bioactivi (AMT, CFT, CPT) și activitatea antioxidantă. Așa cum se poate observa analizând datele prezentate în **Tabelul 5.3** nu s-au observat modificări semnificative ale concentrației de compuși biologic activi pe perioada păstrării. În ambele variante tehnologice formulate, s-a constatat modificarea activității antioxidante, probabil ca urmare a unor transformări structurale ale compușilor fenolici. Astfel, în proba P1, concentrația de antocani a crescut cu 10%, în timp ce în proba P2 a scăzut cu 5%. Pe de altă parte, după 28 de zile de depozitare, biscuiții obținuți în varianta tehnologică P2 au suferit o reducere accelerată, cu 22%, a activității antioxidante, corelată cu reducerea conținutului total de polifenoli.

Tabelul 5.3. Stabilitatea potențialului funcțional al biscuiților, după 28 de zile de păstrare, la temperatura camerei.

Probe de biscuiți	Timp de păstrare, zile	AMT, mg C3G/100 g	CFT, mg EC/100g	CPT, mg EAG/100g	AA (DPPH), mM Trolox/100g	AA (ABTS), mM Trolox/100g
M	0	nd	92,79 ± 12,01 ^a	142,51 ± 14,28 ^a	1693,70 ± 104,61 ^a	2079,51 ± 15,97 ^a
	28	nd	82,27 ± 1,65 ^a	126,22 ± 3,87 ^a	1679,26 ± 3,39 ^a	1945,03 ± 16,35 ^a
P1 (1%)	0	6,82 ± 0,01 ^a	92,85 ± 15,40 ^a	188,87 ± 14,26 ^a	2006,38 ± 19,13 ^a	2220,03 ± 3,57 ^a
	28	6,72 ± 0,86 ^a	83,35 ± 1,15 ^a	147,14 ± 2,14 ^a	1722,13 ± 5,65 ^a	1860,70 ± 0,15 ^a
P2 (2%)	0	9,97 ± 1,76 ^a	105,19 ± 1,26 ^a	235,65 ± 14,36 ^a	1946,29 ± 16,68 ^a	2490,65 ± 8,09 ^a
	28	9,46 ± 0,03 ^a	82,54 ± 7,73 ^a	139,15 ± 18,23 ^a	2006,11 ± 6,32 ^a	1938,19 ± 3,83 ^a

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literele diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative (p<0,05).

5.4.1.4. Caracterizarea fizico-chimică a biscuiților cu valoare adăugată

Rezultatele analizelor fizico-chimice pentru biscuiții obținuți sunt prezentate în **Tabelul 5.4.**

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Tabelul 5.4. Caracterizarea fizico-chimică a biscuiților cu adaos de pudră din PS roșii (soiul *Băbească neagră*)

Caracteristici	M	P1	P2
Proteine, g/100 g	11,87 ± 0,08 ^a	11,29 ± 0,04 ^a	13,39 ± 2,64 ^a
Grăsimi, g/100 g	15,52 ± 0,19 ^a	15,37 ± 0,06 ^a	15,45 ± 0,20 ^a
Fibre, g/100 g	4,53 ± 0,02 ^a	5,06 ± 0,07 ^c	4,85 ± 0,04 ^b
Umiditate, g/100 g	3,34 ± 0,09 ^a	3,48 ± 0,03 ^a	3,43 ± 0,03 ^a
Cenușă, g/100 g	1,52 ± 0,09 ^a	1,59 ± 0,10 ^a	1,55 ± 0,08 ^a
Glucide g/100 g	58,68 ± 0,34 ^a	58,15 ± 0,38 ^a	58,47 ± 0,15 ^a
Valoare energetică, %			
kcal	289,27 ^c	427,71 ^b	438,35 ^a
kJ	1210,32 ^c	1789,54 ^b	1834,08 ^a

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literele diferite pe rând evidențiază diferențele semnificative (p<0,05).

Biscuiții obținuți au valoare nutritivă și energetică și pot fi recomandați pentru consum pentru persoanele cu nevoi nutriționale speciale (diabet, intoleranță la gluten).

5.4.1.5. Analiza culorii biscuiților cu valoare adăugată

Culoarea este o caracteristică senzorială importantă care influențează acceptabilitatea de către consumatori a alimentelor (Spence și colab., 2015). Probele de biscuiți au fost analizate pentru parametrii colorimetrici CIELAB folosind un colorimetru portabil cu un iluminator C, standardizat cu o placă de referință albă înainte fiecare măsurătoare. Valorile parametrilor de culoare, inclusiv L* (luminozitate), a* (tendența la roșu pentru un a* „+” sau verde pentru un a* „-“), b* (tendența la galben pentru b* „+” sau albastru pentru b* „-“) sunt prezentate în **Tabelul 5.5** și **Figura 5.2**. Valoarea luminozității (L) a scăzut prin suplimentarea cu pudră din PS roșii. Componenta roșie a culorii (a) a fost redusă semnificativ prin adăugarea de PS, fără influență asupra gradului de îmbogățire. Intensitatea albastru-gălbui este reprezentată de parametrul b*, cu o valoare negativă, indicând o tendință spre nuanțe de albastru a probelor. Valorile b* au scăzut semnificativ (p<0,05), pentru toate probele, după păstrarea la temperatura camerei, timp de 4 săptămâni.

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

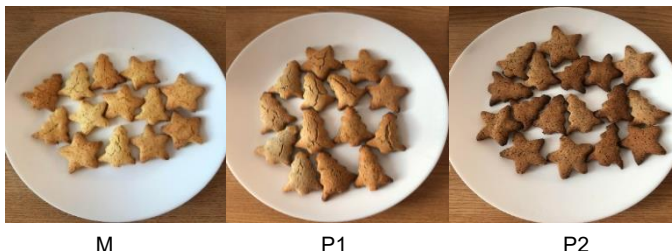


Figura 5.2. Probe de biscuiți cu adaos de PS roșii (soiul *Băbească neagră*): P1-biscuiți cu 1% PS; P2-biscuiți cu 2% PS; M- proba martor (fără adaos de PS)

Biscuiții fără PS (proba martor) au prezentat o nuanță roșiatică (a^* 4,30) și galbenă (b^* de 22,52), sugerând absența antocianilor în probă. Ca urmare a creșterii cantității de PS adăugată la probele de biscuiți, care furnizează cantități importante de antociani din pielea de struguri, valoarea a^* a crescut la 5,37 pentru proba suplimentată cu 2% pudră, comparativ cu prima probă. În schimb, comparativ cu proba martor, culoarea galbenă s-a atenuat, iar b^* a ajuns la valoarea de 13,70.

Tabelul 5.5. Analiza CIELAB a culorii probelor de biscuiți

Caracteristici	M	P1	P2
L	56,37 ± 0,02 ^a	51,87 ± 0,04 ^b	45,00 ± 0,43 ^c
a^*	4,30 ± 0,11 ^b	3,04 ± 0,007 ^c	5,37 ± 0,14 ^a
b^*	22,52 ± 0,26 ^a	13,35 ± 0,02 ^b	13,7 ± 0,29 ^b

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literele diferite pe rând evidențiază diferențele semnificative ($p < 0,05$).

5.4.1.6. Analiza senzorială a biscuiților dietetici aglutenici cu valoare adăugată

Evaluarea senzorială a biscuiților obținuți a fost realizată folosind o scară hedonică cu nouă puncte. Analiza senzorială a fost efectuată urmărind caracteristicile senzoriale: aspectul exterior, aspectul în secțiune, textura, *aftertaste*, aroma, culoarea și gustul. Odată cu creșterea concentrației de pulbere adăugată în aluat, s-a intensificat culoarea roșu-marونیu, datorită prezenței antocianilor (**Figura 5.3**). S-a utilizat scara hedonică de apreciere prin atribute senzoriale, pe o scară de la 1 la 9 (1 – intensitatea minimă a atributului, 9 – intensitatea maximă a atributului).

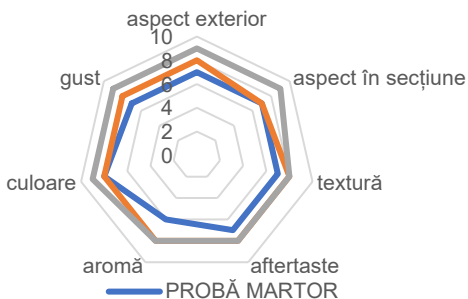


Figura 5.3. Diagrama comparativă a atributelor senzoriale specifice biscuiților: Proba maritor -biscuiți fără adaos de pulbere; P1 și P2 - biscuiți cu adaos de 1% și respectiv 2% pulbere liofilizată din PS roșii (soiul *Băbească neagră*)

În **Figura 5.3** sunt prezentate valorile medii ale caracteristicilor analizate pentru biscuiții obținuți și se poate observa că pentru uniformitatea culorii, cea mai apreciată probă a fost P2. Pentru intensitatea culorii, așa cum era de așteptat, biscuiții cu adaos de 2% PS au fost preferați de paneliști, în timp ce proba maritor a avut cel mai scăzut punctaj. Pentru miros, probele maritor și P1 au fost evaluate similar, în timp ce P2 a avut cel mai redus punctaj. În ceea ce privește aprecierea generală s-a demonstrat că adaosul de pudră din PS roșii nu influențează substanțial caracteristicile senzoriale de bază (culoare, gust, aromă).

5.4.2.2. Caracterizarea fizico-chimică a probelor de bere fără adaos de extract

Caracteristicile fizico-chimice ale probelor de bere utilizată ca bautură de bază pentru îmbogățire cu EPS au fost determinate utilizând un FermentoFlash (Funke-Dr.N. Gerber Labortechnik GmbH, Berlin, Germania) și au vizat conținutul de alcool, extractul, conținutul de CO₂ și pH-ul (**Tablelul 5.7**).

Tablelul 5.7. Parametrii fizico-chimici ai probelor de bere maritor (fără adaos de extract)

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Caracteristici fizico-chimice	Proba de bere	
	P1	P2
	Bere albă	Bere blondă
Alcool masic (%)	4,29 ± 0,01 ^a	3,86 ± 0,03 ^b
Alcool volumic (% vol)	5,39 ± 0,02 ^a	4,90 ± 0,04 ^b
Extract real (°P)	4,25 ± 0,01 ^a	3,89 ± 0,02 ^b
Extract primitiv (°P)	12,48 ± 0,02 ^a	11,34 ± 0,05 ^b
Extract aparent (°P)	2,05 ± 0,01 ^a	1,88 ± 0,02 ^b
CO ₂ (g/100 mL)	0,68 ± 0,02 ^a	0,62 ± 0,01 ^b
pH	4,88 ± 0,02 ^a	4,74 ± 0,04 ^b

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literale diferite pe rând evidențiază diferențele semnificative (p<0,05).

5.4.2.3. Caracterizarea fitochimică a berii cu valoare adăugată și evaluarea stabilității compușilor fitochimici în timpul depozitării

Creșterea valorii nutriționale a produselor alimentare și a băuturilor se poate realiza prin îmbogățirea conținutului în compuși bioactivi prin adăugarea de extracte, fructe sau sucuri de fructe. Pentru îmbogățirea profilului fitochimic al probelor de bere s-a utilizat EPS (*Băbească neagră*), în trei concentrații 1, 5 și 10 mg EPS/mL. Compoziția fitochimică a probelor de bere a fost monitorizată pe parcursul a 21 de zile de depozitare, la temperatura de 4°C.

Tabelul 5.8. Caracterizarea fitochimică și stabilitatea la depozitare (21 de zile, 4°C) a berii albe cu adaos de EPS roșii (*Băbească neagră*)

Proba	Compuși bioactivi*	Perioada de depozitare, zile			
		0	7	14	21
Martor (P1)	AMT, mg C3G/mL	Nd ^d	Nd	Nd	Nd
	CFT, mg EC/mL	0,84 ± 0,00 ^{cd}	0,81 ± 0,01 ^{cd}	0,79 ± 0,08 ^{cd}	0,79 ± 0,06 ^{cd}
	CPT, mg EAG/mL	3,17 ± 0,06 ^{cd}	3,12 ± 0,23 ^{cd}	3,08 ± 0,07 ^{cd}	2,98 ± 0,06 ^{cd}
P1	AMT, mg C3G/mL	0,01 ± 0,00 ^{cd}	0,001 ± 0,00 ^{cd}	0,01 ± 0,00 ^{cd}	0,001 ± 0,00 ^{cd}
	CFT, mg EC/mL	0,964 ± 0,05 ^{cd}	0,96 ± 0,11 ^{cd}	0,96 ± 0,11 ^{cd}	0,92 ± 0,12 ^{cd}
	CPT, mg EAG/mL	3,64 ± 0,30 ^{cd}	3,64 ± 0,06 ^{cd}	3,53 ± 0,23 ^{cd}	3,38 ± 0,17 ^{cd}
P1 +	AMT, mg C3G/mL	0,02 ± 0,00 ^{cd}	0,02 ± 0,00 ^{cd}	0,02 ± 0,00 ^{cd}	0,02 ± 0,00 ^{cd}
	CFT, mg EC/mL	1,10 ± 0,04 ^{cd}	1,07 ± 0,09 ^{cd}	1,06 ± 0,09 ^{cd}	1,01 ± 0,02 ^{cd}
	CPT, mg EAG/mL	4,00 ± 0,10 ^{cd}	3,98 ± 0,19 ^{cd}	3,80 ± 0,44 ^{cd}	3,61 ± 0,15 ^{cd}
5 mg EPS/mL	AMT, mg C3G/mL	0,03 ± 0,00 ^{cd}	0,03 ± 0,00 ^{cd}	0,02 ± 0,00 ^{cd}	0,02 ± 0,00 ^{cd}
	CFT, mg EC/mL	1,23 ± 0,03 ^{cd}	1,21 ± 0,04 ^{cd}	1,18 ± 0,05 ^{cd}	1,10 ± 0,14 ^{cd}
	CPT, mg EAG/mL	4,48 ± 0,10 ^{cd}	4,47 ± 0,06 ^{cd}	4,21 ± 0,11 ^{cd}	4,06 ± 0,07 ^{cd}
10 mg EPS/mL	AMT, mg C3G/mL	0,03 ± 0,00 ^{cd}	0,03 ± 0,00 ^{cd}	0,02 ± 0,00 ^{cd}	0,02 ± 0,00 ^{cd}
	CFT, mg EC/mL	1,23 ± 0,03 ^{cd}	1,21 ± 0,04 ^{cd}	1,18 ± 0,05 ^{cd}	1,10 ± 0,14 ^{cd}
	CPT, mg EAG/mL	4,48 ± 0,10 ^{cd}	4,47 ± 0,06 ^{cd}	4,21 ± 0,11 ^{cd}	4,06 ± 0,07 ^{cd}

Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literale mici diferite pe rând, respectiv literale mari diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative (p<0,05).

Adaosul de EPS în bere a contribuit la îmbogățirea produsului în compuși bioactivi. Rezultatele prezentate în **Tabelul 5.8** certifică conținutul superior de antociani, concentrația de AMT crește o dată cu cantitatea de EPS adăugată în bere. În probele de bere obținute prin îmbogățire cu cele trei concentrații de EPS s-a evidențiat un conținut de AMT de 0,03 mg C3G/mL, în proba cu adaos de 10 mL EPS. În ceea ce privește stabilitatea conținutului de AMT pe perioada păstrării, s-a observat o ușoară scădere (p<0,05), în cazul probelor de bere suplimentate cu cantități mai mari de EPS (P1+5 mg EPS/mL și P1+10 mg EPS/mL). În proba de bere martor CFT a fost de 0,84 mg EC/mL iar CPT de 3,17 mg EAG/mL, compuși care au prezentat stabilitate pe perioada păstrării. Conținutul ridicat de polifenoli totali se datorează faptului că un tip de bere albă a fost utilizat în prezentul studiu pentru suplimentarea cu compuși biologic activi. Un spectru larg

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

de compuși fenolici cu activitate antioxidantă a fost identificat în bere.

Rezultatele privind îmbunătățirea compoziției bioactive a berii blonde prin adaos de EPS sunt prezentate în **Tabelul 5.9**. Din **Tabelul 5.9** se observă că prin adăugarea EPS în compoziția berii blonde s-a obținut o îmbunătățire a compoziției bioactive și a potențialului funcțional al berii, comparativ cu proba martor. Astfel, prin încorporarea EPS în bere, au crescut concentrațiile de antociani, flavonoide și polifenoli totali, în corelație cu cantitatea de extract adăugată. În plus, au fost îmbunătățite și caracteristicile senzoriale, în special a culorii, cu nuanțe spre roșu. Berea conține cantități variate de flavonoide, în funcție de soiurile de orz și hamei, condițiile de creștere, parametri de fabricare ai berii și tipul de bere. Acești compuși influențează culoarea, gustul, aroma, stabilitatea și perioada de valabilitate a berii (Pai și colab., 2015). Conținutul fenolic al berii depinde de calitatea și cantitatea materiilor prime și de parametri de fabricare ai berii și s-a demonstrat că influențează foarte mult aroma și stabilitatea coloidală a berii.

Tabelul 5.9. Caracterizarea fitochimică și stabilitatea la depozitare (21 de zile, 4 °C) a berii albe cu adaos de EPS roșii (soiul *Băbească neagră*)

Proba	Compuși bioactivi*	Timp de depozitare, zile			
		0	7	14	21
Martor (P2)	AMT, mg C3G/mL	Nd ^d	Nd	Nd	Nd
	CFT, mg EC/mL	0,68 ± 0,04 ^{cd}	0,67 ± 0,03 ^{cd}	0,65 ± 0,03 ^{cd}	0,65 ± 0,03 ^{ab}
	CPT, mg EAG/mL	3,33 ± 0,07 ^{cd}	3,33 ± 0,05 ^{cd}	3,24 ± 0,34 ^{cd}	3,00 ± 0,17 ^{cd}
P2	AMT, mg C3G/mL	0,01 ± 0,00 ^{cd}	0,01 ± 0,00 ^{cd}	0,01 ± 0,00 ^{cd}	0,01 ± 0,00 ^{cd}
	CFT, mg EC/mL	0,84 ± 0,03 ^{cd}	0,82 ± 0,02 ^{ab}	0,81 ± 0,06 ^{ab}	0,79 ± 0,05 ^{ab}
	CPT, mg EAG/mL	3,34 ± 0,09 ^{ab}	3,21 ± 0,57 ^{ab}	3,20 ± 0,10 ^{ab}	3,10 ± 0,22 ^{ab}
1 mg EPS/mL	AMT, mg C3G/mL	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,01 ^{ab}	0,01 ± 0,01 ^{ab}
	CFT, mg EC/mL	0,96 ± 0,03 ^{ab}	0,96 ± 0,04 ^{ab}	0,96 ± 0,01 ^{ab}	0,87 ± 0,027 ^{ab}
	CPT, mg EAG/mL	3,94 ± 0,17 ^{ab}	3,58 ± 0,24 ^{ab}	3,530 ± 0,129 ^{ab}	3,41 ± 0,11 ^{ab}
5 mg EPS/mL	AMT, mg C3G/mL	0,03 ± 0,00 ^{ab}	0,03 ± 0,00 ^{ab}	0,03 ± 0,00 ^{ab}	0,03 ± 0,00 ^{ab}
	CFT, mg EC/mL	1,47 ± 0,04 ^{ab}	1,43 ± 0,05 ^{ab}	1,43 ± 0,05 ^{ab}	1,43 ± 0,01 ^{ab}
	CPT, mg EAG/mL	4,35 ± 0,31 ^{ab}	3,94 ± 0,04 ^{ab}	3,91 ± 0,24 ^{ab}	3,76 ± 0,71 ^{ab}

* Nd - concentrație nedetectată
 Rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literale mici diferite pe rând, respectiv literale mari diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative (p<0,05).

Influența compoziției chimice asupra capacității antioxidante a berii, precum și sinergiile diferiților compuși biologic activi, ar trebui de asemenea luate în considerare (Aprodu, 2020). În **Figura 5.4** și **Figura 5.5** sunt prezentate rezultatele privind activitatea antioxidantă a probelor de bere studiate.

5.4.2.4. Evaluarea culorii berii cu adaos de compuși bioactivi și studiul stabilității acesteia în timpul păstrării

Caracteristicile de culoare ale berii cu adaos de EPS în diferite concentrații au fost stabilite folosind metoda EBC și sistemul de culoare CIELAB. Simțul vizual conține trei tipuri de receptori, pentru culoarea roșu, verde și albastru, existenți în cantități inegale, astfel încât culoarea poate fi percepută diferit (Pai și colab., 2015).

Valorificarea unor compuși biologici activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Impactul adăugării EPS asupra culorii berii a fost monitorizat în timpul perioadei de depozitare de 21 de zile, la temperatura de 4°C (**Tabelul 5.10** și **Tabelul 5.11**), iar testul CIELAB s-a dovedit a fi mai eficient în diferențierea probelor de bere în comparație cu metoda EBC. Scăderea semnificativă a luminozității probei și creșterea valorilor a* au fost observate o dată cu creșterea concentrației de EPS adăugat ($p < 0,05$). Intensitatea albastru-gălbui este reprezentată de parametrul b*, cu o valoare negativă indicând o tendință spre nuanțe de albastru. Valorile b* au crescut semnificativ ($p < 0,05$) după păstrarea la temperatura de 4°C, timp de 21 de zile pentru toate probele.

Tabelul 5.10. Evoluția parametrilor de culoare ai berii albe îmbogățită cu extract din pielită de struguri roșii din soiul *Băbească neagră*, timp de 21 de zile de depozitare, la temperatura de 4°C

Proba	Parametri de culoare*	Stabilitate în timp, zile			
		0	7	14	21
Mator (P1)	L	68,05 ± 0,02 ^{ab}	68,10 ± 0,04 ^{ab}	68,94 ± 0,17 ^{ab}	69,83 ± 0,07 ^{ab}
	a	1,20 ± 0,03 ^{ab}	1,07 ± 0,11 ^{ab}	1,20 ± 0,09 ^{ab}	1,50 ± 0,11 ^{ab}
	b	7,67 ± 0,02 ^{ab}	7,85 ± 0,11 ^{ab}	7,70 ± 0,10 ^{ab}	7,60 ± 0,33 ^{ab}
	EBC	18,41 ± 2,57 ^{cd}	17,05 ± 0,28 ^{cd}	17,08 ± 0,33 ^{cd}	17,04 ± 0,34 ^{cd}
P1	L	61,34 ± 0,17 ^{ab}	61,78 ± 0,03 ^{ab}	61,91 ± 0,06 ^{ab}	63,57 ± 1,99 ^{ab}
	a	6,75 ± 0,02 ^{cd}	6,98 ± 0,22 ^{cd}	6,77 ± 0,04 ^{cd}	6,71 ± 0,12 ^{cd}
	b	4,54 ± 0,04 ^{cd}	4,43 ± 0,08 ^{ab}	4,48 ± 0,22 ^{ab}	4,88 ± 0,30 ^{ab}
	EBC	22,52 ± 0,04 ^{ab}	22,55 ± 0,07 ^{cd}	22,54 ± 0,04 ^{cd}	22,52 ± 0,04 ^{cd}
+ 5 mg EPS/mL	L	52,59 ± 0,01 ^{cd}	52,54 ± 0,08 ^{cd}	52,81 ± 0,22 ^{cd}	57,10 ± 0,74 ^{cd}
	a	12,09 ± 0,21 ^{ab}	12,43 ± 0,04 ^{ab}	12,41 ± 0,27 ^{ab}	12,27 ± 0,73 ^{ab}
	b	4,82 ± 0,01 ^{ab}	4,00 ± 0,14 ^{cd}	4,03 ± 0,10 ^{cd}	3,81 ± 1,42 ^{ab}
	EBC	28,5 ± 0,26 ^{ab}	28,48 ± 0,26 ^{ab}	28,32 ± 0,03 ^{ab}	28,5 ± 0,26 ^{ab}
P1 + 10 mg EPS/mL	L	44,04 ± 0,61 ^{cd}	43,66 ± 0,50 ^{cd}	43,65 ± 0,37 ^{cd}	43,66 ± 1,44 ^{cd}
	a	24,54 ± 0,96 ^{ab}	24,88 ± 0,67 ^{ab}	24,26 ± 0,29 ^{ab}	23,50 ± 2,20 ^{ab}
	b	2,27 ± 0,02 ^{cd}	2,21 ± 0,23 ^{cd}	2,40 ± 0,18 ^{cd}	2,49 ± 0,78 ^{cd}
	EBC	30,90 ± 0,34 ^{ab}	30,80 ± 0,20 ^{ab}	31,02 ± 0,06 ^{ab}	30,91 ± 0,34 ^{ab}

*L—luminozitate; a—verde spre roșu; b—albastru spre galben; Pentru fiecare parametru de culoare, rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literele mici diferite pe rând, respectiv literele mari diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative ($p < 0,05$).

Tabelul 5.11. Evoluția parametrilor de culoare ai berii blonde îmbogățită cu extract din pielită de struguri roșii din soiul *Băbească neagră*, timp de 21 de zile de depozitare, la temperatura de 4°C

Proba	Parametri de culoare*	Stabilitate în timp, zile			
		0	7	14	21
Mator (P2)	L	66,15 ± 0,11 ^{ab}	66,39 ± 0,27 ^{ab}	66,88 ± 0,36 ^{ab}	67,83 ± 0,81 ^{ab}
	a	0,89 ± 0,07 ^{cd}	0,92 ± 0,03 ^{cd}	0,88 ± 0,07 ^{cd}	0,88 ± 0,01 ^{cd}
	b	10,36 ± 0,47 ^{ab}	11,46 ± 0,53 ^{ab}	11,01 ± 0,13 ^{ab}	10,00 ± 1,02 ^{ab}
	EBC	8,28 ± 0,26 ^{cd}	8,29 ± 0,25 ^{cd}	8,28 ± 0,27 ^{cd}	8,28 ± 0,27 ^{cd}
P2 + 1 mg EPS/mL	L	62,93 ± 0,20 ^{ab}	63,65 ± 0,48 ^{ab}	63,35 ± 0,14 ^{ab}	63,15 ± 0,76 ^{ab}
	a	4,78 ± 0,09 ^{cd}	4,63 ± 0,33 ^{cd}	4,71 ± 0,20 ^{cd}	4,92 ± 0,39 ^{cd}
	b	10,66 ± 0,24 ^{ab}	9,52 ± 0,32 ^{ab}	9,32 ± 0,49 ^{cd}	9,63 ± 0,74 ^{ab}
	EBC	11,27 ± 0,22 ^{cd}	11,23 ± 0,22 ^{cd}	11,19 ± 0,22 ^{cd}	11,27 ± 0,22 ^{cd}
P2 + 5 mg EPS/mL	L	47,87 ± 0,02 ^{cd}	49,76 ± 0,78 ^{cd}	48,22 ± 0,06 ^{cd}	48,01 ± 0,33 ^{cd}
	a	17,41 ± 0,01 ^{ab}	15,67 ± 0,41 ^{ab}	16,13 ± 0,14 ^{ab}	16,50 ± 0,24 ^{ab}
	b	10,48 ± 0,05 ^{ab}	10,09 ± 0,16 ^{ab}	10,33 ± 0,04 ^{ab}	11,34 ± 0,17 ^{ab}
	EBC	14,44 ± 0,20 ^{ab}	14,42 ± 0,23 ^{ab}	14,42 ± 0,26 ^{ab}	14,44 ± 0,20 ^{ab}
P2 + 10 mg EPS/mL	L	40,28 ± 0,01 ^{cd}	42,53 ± 0,27 ^{cd}	42,94 ± 0,09 ^{cd}	45,89 ± 2,52 ^{cd}
	a	25,81 ± 0,05 ^{ab}	23,86 ± 0,07 ^{ab}	23,83 ± 0,11 ^{ab}	21,48 ± 1,27 ^{ab}
	b	6,91 ± 0,03 ^{ab}	8,44 ± 0,04 ^{cd}	8,57 ± 0,04 ^{cd}	8,65 ± 0,53 ^{ab}
	EBC	22,65 ± 0,20 ^{ab}	22,66 ± 0,18 ^{ab}	22,66 ± 0,16 ^{ab}	22,65 ± 0,20 ^{ab}

*L—luminozitate; a—verde spre roșu; b—albastru spre galben; Pentru fiecare parametru de culoare, rezultatele sunt media a 3 determinări independente ± deviația standard. Literele mici diferite pe rând, respectiv literele mari diferite pe coloană evidențiază diferențele semnificative ($p < 0,05$).

5.5. Concluzii parțiale

- S-a valorificat potențialul bioactiv al compușilor fitochimici din pielea boabelor de struguri roșii (soiul *Băbească neagră*) pentru obținerea de produse alimentare cu valoare adăugată, cu potențial funcțional îmbogățit, biscuiți aglutenici și bere.
- Utilizarea pudrei liofilizate, obținută din extract din pielea de struguri roșii, în concentrație de 2%, în aluatul pentru obținerea biscuiților aglutenici, a îmbunătățit compoziția bioactivă a produsului finit și potențialul funcțional. Totodată, biscuiții au prezentat caracteristici senzoriale acceptate de consumatori și au fost caracterizați de o stabilitate a proprietăților bioactive, timp de 28 de zile de păstrare, la temperatura camerei (cca. 25°C).
- Suplimentarea unor probe de bere albă și blondă cu extract din pielea de struguri roșii (soiul *Băbească neagră*) a condus la obținerea unor băuturi derivate cu potențial bioactiv crescut, care își păstrează proprietățile funcționale după 21 de zile de păstrare, la temperatura de 4°C. Băuturile obținute au culoare atractivă cu nuanțe derivate de la roșu brun, în corelație cu concentrația de extract adăugată.
- Rezultatele obținute certifică calitatea de ingrediente naturale cu potențial bioactiv ale extractului și pudrei liofilizate obținute din pielea boabelor de struguri roșii din soiul *Băbească neagră*, pentru utilizări multiple în industria alimentară pentru obținerea de produse funcționale, cu stabilitate pe perioada păstrării, promovând principiile economiei circulare.

CAPITOLUL 6

CONCLUZII FINALE

Teza de doctorat intitulată **”VALORIFICAREA UNOR COMPUȘI BIOLOGIC ACTIVI DIN SUBPRODUSELE REZULTATE DE LA PRELUCRAREA STRUGURILOR ROȘII ȘI OBȚINEREA UNOR INGREDIENTE CU VALOARE ADĂUGATĂ”** a avut ca scop principal valorificarea potențialului bioactiv al epicarpului (pieleței) boabelor de struguri (PS) roșii, soiul autohton *Băbească neagră*, în vederea extracției, caracterizării și valorificării în noi produse și ingrediente alimentare cu valoare adăugată.

Identificarea și stabilirea pe baze științifice a unor strategii de valorificare a potențialului nutrițional și funcțional al unor produse secundare rezultate de la procesarea industrială a strugurilor se înscrie în strategiile globale de valorificare a subproduselor agro-alimentare pe principiile economiei circulare, cu impact în domeniile strategice, Bioeconomie, Sănătate, Mediu. Astfel, ideea fundamentală pe baza căreia s-au orientat cercetările desfășurate în cadrul stagiului doctoral a ținut cont de tendința actuală de reorientare a consumatorilor către produsele alimentare cu efecte benefice pentru sănătate, concomitent cu politicile internaționale de reducere a impactului pe care industria îl are asupra mediului înconjurător și valorificarea superioară a resurselor naturale.

Pieleța de struguri (PS) este obținută ca subprodus la procesarea strugurilor, și poate reprezenta, în general, până la 65% din tescovină de struguri, principalul produs rezidual rezultat din vinificație. Acest produs secundar al vinificației strugurilor a fost, în trecut, valorificat în principal prin compostare pentru obținerea de biofertilizatori și pentru extracția unor compuși biologic activi, precum lecitina sau uleul din semințe. Cu toate acestea, cantitățile ridicate de compuși polifenolici prezenți în pielețele de struguri le fac o sursă valoroasă de substanțe fitochimice biologic active. În ceea ce privește profilul fitochimic, pieleța de struguri oferă șansa de valorifica superior substanțele biologic active cu funcții bine definite pentru organismul uman și care pot orienta totodată ideile de afaceri pentru valorificarea inteligentă și sustenabilă a resurselor agro-alimentare, în principal a celor reziduale.

Prin tematica sa, teza de doctorat a vizat studiul comparativ al eficienței diferitelor tehnici de extracție asupra creșterii randamentului de extracție și a compoziției în compuși biologic activi cu potențial funcțional (polifenoli totali, antociani, flavonoide), corelat cu creșterea activității antioxidantelor a extractelor și a stabilității biochimice și funcționale a compușilor extrași. Astfel, au fost testate diferite tehnici de extracție, precum extracție convențională cu solvenți și asistată

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

de ultrasunete, de microunde și de preparate enzimatic, iar prin modelare matematică și analiza statistică a rezultatelor au fost stabilite condiții optime de extracție, pentru obținerea unor extracte bogate în compuși valoroși, cu potențial funcțional și activitate antioxidantă. S-a demonstrat că randamentul de extracție și compoziția fitochimică a extractelor depinde de o serie de parametri, dintre care cea mai mare influență o prezintă modalitatea de prelucrarea matricii (cu microunde, cu ultrasunete, cu enzime), tipul și concentrația solvenților și timpul de extracție.

S-a analizat compoziția fito-chimică a extractelor obținute și stabilitatea compușilor bioactivi în diferite condiții fizico-chimice și prin păstrarea extractelor. În acest sens au fost utilizate metode avansate de investigare precum cromatografie lichidă de înaltă performanță, cinetica de inactivare și modelarea comportamentului termodinamic. În Pprofilul cromatografic al extractelor din PS struguri roșii (soiul *Băbească neagră*) s-au pus în evidență șapte antociani, derivați ai delfinidinei, cianidinei și petunidinei, însă compusul cianidin 3-O-glucozid a fost identificat ca fiind predominant în extractele obținute prin diferitele tehnici de extracție utilizate în acest studiu.

Totodată s-a studiat cinetica de degradare termică a compușilor bioactivi prin studii modelare cinetică, în intervalul de temperaturi 80-140 °C, cu diferiți timpi de procesare. S-a demonstrat că antocianii prezintă o stabilitate termică ridicată, modelul cinetic urmat în degradarea termică fiind de ordinul I.

Prin studii de adnecare moleculară *in vitro* s-a demonstrat efectul compușilor bioactivi din PS roșii (soiul *Băbească neagră*) de inhibare a activității enzimelor implicate în bolile metabolice (hiperglicemie, dislipidemie și stres oxidativ) și anume: α -amilaza, α -glucozidaza, lipaza și lipoxigenaza. Și aceste rezultate sunt importante pentru valorificarea PS roșii (soiul *Băbească neagră*) pentru a obține ingrediente și alimente cu valoare funcțională adăugată.

S-a studiat posibilitatea de microîncapsulare a compușilor bioactivi din extracte prin legare în diferite matrici (izolat proteic din zer, carboximetil celuloză, pectină, gumă arabică și maltodextrină), în diferite combinații, cu obținerea de compozite cu potențial funcțional, stabile din punct de vedere chimic, cu rol de bioingrediente, pentru potențiale utilizări în industria alimentară.

Totodată, în etapa de cercetare aplicativă, au fost obținute variante de produse cu valoare adăugată (biscuiți și bere), prin valorificarea a pudrei liofilizată și a extractului din PS roșii (soiul *Băbească neagră*). Compoziția fito-chimică, caracteristicile senzoriale și stabilitatea potențialului funcțional au constituit caracteristici importante în alegerea procentului de extract sau de pudră, utilizate pentru creșterea valorii funcționale a produselor finite obținute.

CAPITOLUL 7

CONTRIBUȚII PERSONALE ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A STUDIILOR

Teza de doctorat intitulată **”Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată”** reprezintă o lucrare originală, realizată pe parcursul studiilor doctorale prin parcurgerea unor etape de cercetare fundamentală și aplicativă, cu scopul de a stabili strategii de valorificare inteligentă a subproduselor rezultate din vinificația strugurilor roșii (soiul *Băbească neagră*), pentru reintegrarea în lanțul alimentar a unor compuși bioactivi (polifenoli totali, antociani și flavonoide), recunoscuți pentru efectele benefice asupra sănătății consumatorilor.

Studiile au fost efectuate folosind o strategie integrată de cercetare, dezvoltare și inovare care a vizat:

- Testarea într-o abordare originală a diferitelor tehnici de extracție, din perspectiva optimizării condițiilor de recuperare a compușilor biologic activi (polifenoli totali, flavonoide și antociani) din pielea boabelor de struguri roșii a soiului *Băbească neagră*.
- Caracterizarea avansată a extractelor complexe obținute, din punct de vedere fitochimic și a potențialului funcțional (activitatea de inhibare a unor enzime implicate în bolile metabolice), precum și evaluarea stabilității acestor compuși și a potențialului antioxidant al extractelor.
- Studiul comportamentului termodinamic și al cineticii de inactivare termică a compușilor bioactivi din extractele obținute, din perspectiva păstrării prin procesare a potențialului funcțional și a activității antioxidante.
- Formularea unor bioingrediente cu potențial funcțional prin microîncapsulare în diferite matrici și caracterizarea compoziției bioactive și a stabilității compozitelor obținute. Înglobarea compușilor bioactivi din pielea de struguri roșii (soiul *Băbească neagră*), sub formă de pudră liofilizată sau extracte, în produse alimentare (biscuiți aglutenici, bere), cu contribuții valoroase la îmbunătățirea potențialului funcțional, în special a activității antioxidante.
- Fundamentarea științifică a abordărilor standard, integrate, de valorificare a compușilor biologic activi din produse secundare

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

rezultate de la procesarea strugurilor roșii în alimente funcționale, contribuind astfel la aplicarea principiilor de bioeconomie emergentă în România.

➤ Din perspectiva continuării studiilor, abordarea din această teză de doctorat poate fi extrapolată și la alte produse secundare rezultate de la procesarea legumelor și a fructelor, pentru separarea, caracterizarea și valorificarea compușilor biologic activi, pentru obținerea de produse și suplimente alimentare, furaje, nutraceutice, cosmetice etc, cu impact pozitiv asupra creșterii calității vieții, a economiei circulare, pentru valorificarea resurselor agro-alimentare și pentru protecția mediului înconjurător.

CAPITOLUL 8

DISEMINAREA REZULTATELOR

Diseminarea rezultatelor cercetărilor realizate pe întreg parcursul studiilor doctorale s-a concretizat în următoarele contribuții științifice publicate sau comunicate la conferințe naționale și internaționale relevante în domeniul *Biotehnologie*, cereri de brevete și premii, după cum urmează:

A. Articole publicate în reviste cotate ISI

1. **Daniela Serea**, Condurache, N. N., Aprodu, I., Constantin, O. E., Bahrim, G. E., Stănciuc, N., Rapeanu, G. 2022. Thermal Stability and Inhibitory Action of Red Grape Skin Phytochemicals against Enzymes Associated with Metabolic Syndrome. *Antioxidants*, 11(1), 118, <https://doi.org/10.3390/antiox11010118> (Q1, **Factor de impact - 7,675**).
2. **Daniela Serea**, Horincar, G., Constantin, O. E., Aprodu, I., Stănciuc, N., Bahrim, G. E., Rapeanu, G. 2022. Value-Added White Beer: Influence of Red Grape Skin Extract on the Chemical Composition, Sensory and Antioxidant Properties. *Sustainability*, 14(15),9040,<https://doi.org/10.3390/su14159040> (Q2, **Factor de impact - 3,889**).

B. Articole publicate în reviste indexate ISI

1. **Daniela Serea**, Constantin, O.E., Horincar, G., Stănciuc, N., Aprodu, I., Bahrim, G.E., Răpeanu, G. 2023. Optimization of extraction parameters of anthocyanin compounds and antioxidant properties from red grape (Băbească neagră) peels. *Inventions*, 8 (2), 59, <https://doi.org/10.3390/inventions8020059>.
2. **Daniela Serea**, Răpeanu, G., Constantin, O. E., Bahrim, G. E., Stănciuc, N., Croitoru, C. 2021. Ultrasound and enzymatic assisted extractions of bioactive compounds found in red grape skins băbească neagră (vitis vinifera) variety. *The Annals of the University of Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI. Food Technology*, 45(1), 9-25, <https://doi.org/10.35219/foodtechnology.2021.1.01>.

C. Cereri de brevete

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

1. **Daniela Serea**, Georgiana Horincar, Gabriela Rapeanu, Iuliana Aprodu, Gabriela-Elena Bahrim, Nicoleta Stanciuc, *Bere cu valoare adăugată obținută prin adaos de extract de pielăță de struguri roșii*, A/0006/21.01.2022.
 2. **Daniela Serea**, Georgiana Horincar, Gabriela Rapeanu, Gabriela-Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Nicoleta Stanciuc, *Biscuiți aglutenici pentru diabetici cu valoare adăugată obținută prin adaos de pielăță liofilizată de struguri roșii*, A/00297/02.06.2022.
- D. Participări la conferințe naționale și internaționale**
1. **Daniela Serea**, Nicoleta Stănciuc, Gabriela Bahrim, Gabriela Râpeanu, 2020. Extraction and characterization of bioactive compounds from red grape skins. *8th Edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG*, "Dunărea de Jos" University of Galați.
 2. **Daniela Serea**, Nicoleta Stănciuc, Gabriela Râpeanu , Gabriela Bahrim, Luminita Georgescu, 2020. Red grape skins by-products as a functional ingredients used in food industry. *8th Edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG*, "Dunărea de Jos" University of Galați.
 3. **Daniela Serea**, Gabriela-Elena Bahrim, Gabriela Rapeanu, Nicoleta Stanciuc, 2020. Red grape skins as a sustainable source of bioactive compounds: extraction and characterization. *9th Edition of the International Conference Agriculture for Life, Life for Agriculture*, University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine, București.
 4. **Daniela Serea**, Gabriela Bahrim, Gabriela Râpeanu, Oana-Viorela Nistor, Nicoleta Stănciuc, 2020. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from red grape skins (Babeasca neagra variety). *Scientific Symposium "Young people and multidisciplinary research in applied life sciences", 7th Edition*, Section: Food Engineering, Banat's University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine "King Michael I of Romania" Timisoara.
 5. **Daniela Serea**, Gabriela Râpeanu, Nicoleta Stănciuc, Iuliana Aprodu, Gabriela- Elena Bahrim, 2021. Thermostability and biological activity of bioactive compounds recovered from red grape skins (*Băbească neagră* variety). *EuroAliment Symposium*, "Dunărea de Jos" University of Galați.
 6. **Daniela Serea**, Gabriela-Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Nicoleta Stanciuc, Oana Constantin, Gabriela Rapeanu, 2021. Encapsulation of phenolic compounds from grape skin extract in whey protein isolate and pectin. *Multidisciplinary Conference on Sustainable Development, Section: Food Chemistry, Engineering & Technology*, Faculty of Food Engineering Timișoara.

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

7. **Daniela Serea**, GabrielaElena Bahrim, Iuliana Aprodu, Gabriela Râpeanu, 2021. Thermal degradation kinetics of anthocyanins extracted from red grape skin extract of *Babeasca neagra* variety. *9th Edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG*, "Dunarea de Jos" University of Galați.
8. **Daniela Serea**, Gabriela- Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Nicoleta Stănciuc, Oana-Emilia Constantin, Gabriela Râpeanu, 2021 Potential anti-diabetic properties of red grape skin extract: an in vitro study of α -amylase and α -glucosidase inhibition, poster, *9th Edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG*, "Dunarea de Jos" University of Galați.
9. **Daniela Serea**, Nicoleta Stanciuc Iuliana Aprodu, Gabriela Elena Bahrim, Gabriela Rapeanu, 2021. Thermal Stability Of Bioactive Compounds Extracted From Red Grape Skins. *20th International Conference „Life sciences for sustainable development”*, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj- Napoca.
10. **Daniela Serea**, Gabriela-Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Nicoleta Stanciuc, Oana Constantin, Gabriela Rapeanu, 2021. Encapsulation of phenolic compounds from ared grape skin extract in whey protein isolate and pectin. *International scientific symposium “Young researchers and scientific research in life sciences”*, Banat’s University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine “King Michael I of Romania” Timișoara.
11. **Daniela Serea**, Georgiana Horincar, Gabriela-Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Nicoleta Stănciuc, Gabriela Râpeanu, 2022. Effect of the addition of grape skin extract (*Băbească neagră* variety) on bioactive compounds and antioxidant activity of white beer. *10th Edition of Scientific Conference of Doctoral Schools*, "Dunarea de Jos" University Galați.
12. **Daniela Serea**, Gabriela-Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Nicoleta Stănciuc, Gabriela Râpeanu, 2022. Encapsulation of grape skin extract phenolics (*Băbească neagră* variety) using whey protein isolate, carboxymetilcelulose and gum arabica blends. *10th Edition of Scientific Conference of Doctoral Schools*, "Dunarea de Jos" University Galați.
13. **Daniela Serea**, Georgiana Horincar, Gabriela Rapeanu, Iuliana Aprodu, Gabriela-Elena Bahrim, Nicoleta Stanciuc, 2022. Bere cu valoare adaugată obținută prin adaos de extract de pieleță de struguri roșii. *Scientific Research, Innovation And Invention Exhibition Pro Invent, XX Edition*, Universitatea Tehnică din Cluj-Napoca.
14. **Daniela Serea**, Georgiana Horincar, Gabriela Rapeanu, Gabriela-

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Nicoleta Stanciuc, 2022. Biscuiți aglutenici pentru diabetici cu valoare adăugată obținuți prin adaos de pieleți liofilizată de struguri roșii. *Scientific Research, Innovation And Invention Exhibition Pro Invent, XX Edition*, Universitatea Tehnică din Cluj-Napoca.

E. Premii și distincții

1. **Honorable Mention, Poster**, *Extraction and characterization of bioactive compounds from red grape skins*, **Daniela Serea**, Nicoleta Stănciuc, Gabriela Bahrim, Gabriela Râpeanu, 8th edition of *Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG, "Dunarea de Jos" University of Galati*, 2020.
2. **Premiul III, Poster**, *Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from red grape skins (Babeasca neagra variety)*, **Daniela Serea**, Gabriela Bahrim, Gabriela Râpeanu, Oana-Viorela Nistor, Nicoleta Stănciuc. *Scientific Symposium "Young people and multidisciplinary research in applied life sciences", 7th edition, Section: Food Engineering, Banat's University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine "King Michael I of Romania"*, Timisoara, 2020.
3. **Honorable Mention, Poster**, *Thermal degradation kinetics of antocyanins extracted from red grape skin extract of Babeasca neagra variety*, **Daniela Serea**, Gabriela-Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Gabriela Râpeanu. 9th Edition of *Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG, "Dunarea de Jos" University of Galati*, 2021.
4. **Premiul III, Poster**, *Encapsulation of phenolic compounds from ared grape skin extract in whey protein isolate and pectin*, **Daniela Serea**, Gabriela-Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Nicoleta Stanciuc, Oana Constantin, Gabriela Rapeanu, *International scientific symposium "Young researchers and scientific research in life sciences "* Banat's University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine "King Michael I of Romania" Timișoara, 2021.
5. **Honorable Mention, Poster**, *Effect of the addition of grape skin extract (Băbească neagră variety) on bioactive compounds and antioxidant activity of white beer*, **Daniela Serea**, Georgiana Horincar, Gabriela-Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Nicoleta Stănciuc, Gabriela Râpeanu, 10th edition of *Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG, "Dunarea de Jos" University of Galati*, 2022.
6. **Medalie de aur, Medalie de Argint și Diplomă de excelență, Poster**, *Bere cu valoare adaugată obținută prin adaos de extract de pieleți de struguri roșii*, **Daniela Serea**, Georgiana Horincar, Gabriela Rapeanu,

Valorificarea unor compuși biologic activi din subprodusele rezultate de la prelucrarea strugurilor roșii și obținerea unor ingrediente cu valoare adăugată

Iuliana Aprodu, Gabriela-Elena Bahrim, Nicoleta Stanciuc. *Scientific Research, Innovation And Invention Exhibition Pro Invent, XX Edition*, Universitatea Tehnică din Cluj- Napoca, 2022.

7. **Medalie de aur și Diplomă de excelență, Poster**, *Biscuiți aglutenici pentru diabetici cu valoare adăugată obținuți prin adaos de pielită liofilizată de struguri roșii*, **Daniela Serea**, Georgiana Horincar, Gabriela Rapeanu, Gabriela-Elena Bahrim, Iuliana Aprodu, Nicoleta Stanciuc. *Scientific Research, Innovation And Invention Exhibition Pro Invent, XX Edition*, Universitatea Tehnică din Cluj- Napoca, 2022.