

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



# **TEZĂ DE DOCTORAT**

## **REZUMAT**

**Valorificarea unor compuși biologic activi din  
cătină prin dezvoltarea unor produse  
alimentare cu valoare adăugată**

**Doctorand,  
Diana ROMAN**

**Coordonator științific,  
Prof. univ. dr. ing. habil. Gabriela RÂPEANU**

**Seria I.7: INGINERIA PRODUSELOR ALIMENTARE Nr. 21**

**GALAȚI 2023**



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



# **TEZĂ DE DOCTORAT**

**Valorificarea unor compuși biologic activi din  
cătină prin dezvoltarea unor produse  
alimentare cu valoare adăugată**

**(Rezumatul tezei de doctorat)**

**Doctorand,  
Diana ROMAN**

<b>Președintele comisie:</b>	<b>Prof. univ. dr. ing.</b>	<b>Gabriela Elena BAHRIIM</b>
<b>Coordonator științific:</b>	<b>Prof. univ. dr. ing.</b>	<b>Gabriela RÂPEANU</b>
<b>Referenți:</b>	<b>Prof. univ. dr. chim.</b>	<b>Monica BUTNARIU</b>
	<b>Prof. univ. dr. ing.</b>	<b>Georgiana Gabriela CODINĂ</b>
	<b>Prof. univ. dr. ing.</b>	<b>Oana Emilia CONSTANTIN</b>

**Seria I.7: INGINERIA PRODUSELOR ALIMENTARE Nr. 21**

**GALAȚI**

**2023**

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

**Domeniul 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 8: Inginerie și management în agricultură și dezvoltare rurală**

**Domeniul ȘTIINȚE SOCIALE**

**Seria E 1: Economie**

**Seria E 2: Management**

**Seria SSEF: Știința sportului și educației fizice**

**Domeniul ȘTIINȚE UMANISTE ȘI ARTE**

**Seria U 1: Filologie- Engleză**

**Seria U 2: Filologie- Română**

**Seria U 3: Istorie**

**Seria U 4: Filologie- Franceză**

**Domeniul MATEMATICĂ ȘI ȘTIINȚE ALE NATURII**

**Seria C: Chimie**

**Domeniul ȘTIINȚE BIOLOGICE ȘI BIOMEDICALE**

**Seria M: Medicină**

**Seria F: Farmacie**

## CUPRINS

Denumire	Pag. teză	Pag. rezumat
<b>Introducere</b>	<b>15</b>	<b>6</b>
<b>Introduction</b>	<b>18</b>	-
<b>STUDIUL DOCUMENTAR</b>	<b>21</b>	-
<b>Aspecte teoretice privind funcționalitatea compușilor biologic activi din fructe, frunze și semințe din cătină</b>		
<b>CAPITOLUL 1. Cătina (<i>Hippophae rhamnoides L.</i>) – sursă importantă de compuși biologic activi</b>	<b>22</b>	-
1.1. Introducere	22	-
1.2. Încadrarea taxonomică a <i>Hippophae Rhamnoides L.</i>	22	-
1.3. Distribuția geografică a <i>Hippophae Rhamnoides</i> în lume și în România	23	-
1.4. Caracteristicile generale, etimologice și morfologice ale <i>Hippophae Rhamnoides</i>	24	-
1.5. Valoarea economică, alimentară și terapeutică a fructelor de cătină, a semințelor, lăstarilor	24	-
1.6. Principalele clase de compuși biologic activi din cătină	25	-
1.6.1. Carotenoidele. Structura și funcțiile carotenoidelor	26	-
1.6.2. Compușii polifenolici. Structura și clasele de polifenoli	26	-
1.7. Efecte pentru sănătate ale compușilor biologic activi din cătină	27	-
1.7.1. Efecte ale carotenoidelor pentru sănătate	27	-
1.7.2. Efecte ale polifenolilor din cătină pentru sănătate	29	-
1.8. Bibliografie	30	-
<b>CAPITOLUL 2. Principalele tehnici utilizate la extracția compușilor biologic activi din cătină</b>	<b>35</b>	-
2.1. Aspecte teoretice	35	-
2.2. Tehnicile convenționale de extracție	35	-
2.3. Tehnicile asistate de extracție	36	-
2.4. Metode avansate de extracție a compușilor biologic activi	38	-
2.5. Bibliografie	39	-
<b>CAPITOLUL 3. Posibilități de microîncapsulare a compușilor biologic activi</b>	<b>41</b>	-
3.1. Aspecte generale	41	-
3.2. Criteriile de clasificare a tehnicilor de microîncapsulare	41	-
3.3. Caracteristicile fizico-chimice a materialului de încapsulare	42	-
3.4. Coacervarea	44	-
3.5. Liofilizarea	45	-
3.6. Microîncapsularea carotenoidelor	45	-
3.7. Aplicații ale utilizării cătinei în industria alimentară, cosmetică, farmaceutică și furajeră.	45	-
3.8. Bibliografie	51	-

<b>II. STUDIUL EXPERIMENTAL</b>	<b>57</b>	<b>-</b>
<b>Cercetări privind valorificarea compușilor biologic activi din fructele de cătină:</b>		
<b>Extracție, caracterizare fitochimică, încapsulare și perspective pentru utilizare în industria alimentară</b>		
<b>CAPITOLUL 4. Evaluarea comparativă a unor metode de extracție cu solvenți diferiți din perspectiva obținerii unor extracte bogate în compuși biologic activi din fructele de cătină</b>	<b>58</b>	<b>9</b>
4.1. Aspecte generale	58	9
4.2. Pretabilitatea utilizării fructelor de cătină	58	-
4.3. Obiectivele studiului	59	9
4.4. Materiale și metode de analiză	59	9
4.4.1. Reactivi utilizați	59	-
4.4.2. Aparatura utilizată	59	-
4.4.3. Materiale utilizate	60	9
4.5. Analiza comparativă a metodelor de extracție a compușilor bioactivi din fructele de cătină	60	9
4.5.1. Extracția asistată de microunde (EAM)	64	-
4.5.2. Extracția convențională cu solvenți (ECS)	65	-
4.6. Caracterizarea fitochimică a extractelor obținute	66	-
4.6.1. Determinarea conținutului total de carotenoide	66	-
4.6.2. Determinarea conținutului total de polifenoli (CTP)	66	-
4.6.3. Determinarea conținutului total de flavonoide (CTF)	67	-
4.6.4. Activitate antioxidantă (AA)	67	-
4.7. Analiza statistică	68	-
4.8. Rezultate și discuții	68	11
4.8.1. Analiza fitochimică comparativă a extractelor de cătină prin diferite metode de extracție	68	11
4.8.2. Analiza fitochimică comparativă a extractelor de cătină prin metoda EAU utilizând două tehnici de extracție diferite	71	13
4.8.3. Evaluarea comparativă a activității antioxidante a extractelor	74	14
4.8.4. Evaluarea comparativă a activității antioxidante a probelor obținute prin metoda de extracție asistată de ultrasunete separată și secvențială	77	16
4.8.5. Corelarea rezultatelor	80	17
4.9. Concluzii parțiale	82	18
4.10. Bibliografie	83	-

<b>CAPITOLUL 5. Dezvoltarea unor ingrediente bogate în compuși bioactivi extrași cu solvenți polari din cătină pentru aplicații în industria alimentară</b>	<b>89</b>	<b>19</b>
5.1. Aspecte generale	89	19
5.2. Obiectivele studiului	90	19
5.3. Materiale și metode	91	-
5.3.1. Reactivii utilizați	91	-
5.3.2. Aparatura utilizată	91	-
5.3.3. Materialele utilizate	91	-
5.4. Metode pentru obținere a unor ingrediente bogate în compuși bioactivi și caracterizarea lor	91	-
5.4.1. Extracția compușilor biologic activi din cătina liofilizată	91	-
5.4.2. Evaluarea profilului fitochimic al extractului din fructe de cătină	92	-
5.4.3. Analiza cromatografică a carotenoidelor din extractele de cătină	93	-
5.4.4. Microîncapsularea compușilor biologic activi extrași din cătină	93	-
5.4.5. Caracterizarea pudrelor de cătină	94	-
5.4.6. Eficiența de încapsulare carotenoidelor din extractele obținute	94	-
5.4.7. Analiza colorimetrică a pudrelor de cătină	95	-
5.4.8. Microscopia confocală cu scanare laser (MCSL) a pudrelor de cătină.	95	-
5.4.9. Digestibilitate <i>in vitro</i> a carotenoidelor din pulberile obținute	95	-
5.5. Analiza statistică	95	-
5.6. Rezultate și discuții	96	19
5.6.1. Evaluarea profilului fitochimic al extractelor de cătină	96	19
5.6.2. Evaluarea profilului fitochimic al pudrelor de cătină	101	22
5.6.3. Stabilitatea eficienței de încapsulare a pudrelor de cătină pe parcursul a 270 zile de depozitare	105	24
5.6.4. Analiza colorimetrică și stabilitatea culorii în timp a pudrelor de cătină	106	25
5.6.5. Analiza morfologică și structurală a pudrelor de cătină utilizând microscopia confocală cu laser	109	27
5.6.6. Digestibilitatea <i>in vitro</i> a pudrelor obținute din extract de cătină	111	28
5.7. Corelarea rezultatelor cercetării	113	-
5.8. Concluzii parțiale	114	29
5.9. Bibliografie	115	-
<b>CAPITOLUL 6. Utilizarea unor ingrediente încapsulate pe bază de carotenoide extrase din cătină pentru obținerea sosului de maioneză cu valoare adăugată</b>	<b>120</b>	<b>31</b>
6.1. Introducere	120	31
6.2. Obiectivele studiului	121	31
6.3. Materiale și metode	121	-
6.3.1. Reactivii utilizați	121	-
6.3.2. Aparatura de laborator	121	-
6.4. Extracția și caracterizarea carotenoidelor din fructele de cătină	122	-

6.4.1	Conținutul total de carotenoide din extractul de cătină	122	-
6.4.2	Activitatea antioxidantă <i>in vitro</i> a extractului de cătină	122	-
6.5	Microîncapsularea și caracterizarea carotenoidelor totale din extractul de fructe de cătină	123	-
6.5.1	Caracterizarea fitochimică a pulberilor și determinarea eficienței încapsulării	123	-
6.5.2	Microscopia confocală cu scanare laser a pulberilor	124	-
6.5.3	Caracterizarea culorii CIELAB a pulberilor	124	-
6.5.4	Digestibilitatea <i>in vitro</i> a carotenoidelor încapsulate	125	-
6.5.5	Depozitarea și evaluarea stabilității culorii în timp a pudrelor	125	-
6.6	Prepararea și caracterizarea sosului de maioneză	125	-
6.6.1	Caracterizarea sosului de maioneză cu valoare adăugată	126	-
6.7	Analiza statistică a datelor	127	-
6.8	Rezultate și discuții	128	31
6.8.1	Caracterizarea fitochimică a extractului de fructe de cătină	128	31
6.8.2	Caracterizare fitochimică a pudrelor de cătină	128	32
6.8.3	Analiza structurii morfologice a microcapsulelor prin MCSL	131	33
6.8.4	Analiza culorii pudrelor de cătină	132	34
6.8.5	Digestibilitatea simulată <i>in vitro</i> a carotenoidelor totale din pudre	133	35
6.8.6	Stabilitatea compușilor fitochimici și a culorii pudrelor de cătină	134	36
6.8.7	Caracterizarea fizico-chimică a maionezei cu valoare adăugată	138	39
6.8.8	Caracterizarea fitochimică a maionezei cu valoare adăugată	139	40
6.8.9	Analiza culorii maionezei cu valoare adăugată	141	41
6.8.10	Analiza texturii maionezei cu valoare adăugată	142	41
6.8.11	Analiza senzorială a maionezei cu valoare adăugată	143	42
6.9	Corelarea rezultatelor	144	43
6.10	Concluzii parțiale	147	45
6.11	Bibliografie	148	-
<b>CAPITOLUL 7. Concluzii finale</b>		<b>153</b>	<b>47</b>
<b>CAPITOLUL 8. Contribuții personale și perspective de continuare a studiilor</b>		<b>156</b>	<b>50</b>
<b>CAPITOLUL 9. Valorificarea rezultatelor</b>		<b>157</b>	<b>51</b>
<b>CAPITOLUL 10. Anexe</b>		<b>159</b>	<b>-</b>
Anexa 1. Lista figurilor		159	-
Anexa 2. Lista tabelor		161	-
Anexa 3. Fișa de analiză senzorială a variantelor experimentale de Sos de maioneză cu valoare adăugată		163	-

**Cuvinte cheie:** *Hippophae Rhamnoides*, microîncapsulare, compuși biologic activi, produse cu valoarea adăugată



## Introducere

Noțiunea de „alimente funcționale” își are originea în Japonia anilor 80 ai secolului trecut și a fost practică în multe țări din Asia în efortul de a îmbunătăți sănătatea generală a populației. În anul 1991 a apărut conceptul de Foods for Specified Health Use (FOSHU), iar în prezent sunt peste 100 de alimente recunoscute ca fiind FOSHU. Produsele alimentare pot fi considerate alimente funcționale dacă, împreună cu impactul nutrițional de bază, au și efecte benefice asupra uneia sau mai multor funcții ale organismului. Ele trebuie să îmbunătățească starea generală și fizică și/sau să scadă riscul de evoluție a unei boli. Nu numai producătorii din industria alimentară ci și industria farmaceutică a devenit interesată de acest domeniu, în consecință a apărut așa-numita zonă gri, care descrie suprapunerea intereselor industriilor alimentare și farmaceutice.

Având în vedere interesul semnificativ pentru dezvoltarea alimentelor cu efect terapeutic pronunțat, „proiectarea” produselor alimentare funcționale a devenit larg răspândită în practica mondială. Astfel de produse, nefiind medicamente, au un efect fiziologic pozitiv asupra organismului uman. Acest efect se datorează prezenței fibrelor alimentare, oligozaharidelor, aminoacizilor, glicozidelor, acizilor organici, fosfolipidelor, acizilor grași nesaturați, mineralelor, vitaminelor, antioxidanților, bifido-bacteriilor, enzimelor de origine vegetală în alimente și este capabil să elimine sau să reducă impactul negativ asupra corpului uman al unor factori reali, cum ar fi poluarea, stresul precum și alți factori externi. În același timp, pentru funcționarea normală a corpului uman sunt necesare nu numai un aport de vitamine și minerale, adică complexe vitamino-minerale echilibrate, dar și o gamă mai largă de componente alimentare naturale cum sunt pigmentii naturali, oleozinele, compuși biologic activi la care organismul uman este adaptat genetic și care, prin urmare, sunt factori nutriționali și de sănătate. Pentru a păstra sănătatea umană, produsele alimentare trebuie să îmbunătățească metabolismul și să crească rezistența organismului la influențele negative ale mediului. În acest sens, este de actualitate dezvoltarea de produse specializate cu o compoziție echilibrată, cu efect terapeutic și profilactic, ținând cont de nevoile fiziologice ale diferitelor grupe de vârstă ale populației.

Teza de doctorat intitulată **Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată** aduce contribuții originale prin proiectarea unor produse alimentare suplimentate cu compuși bioactivi din resurse vegetale ale naturii care au un potențial mare și pot fi valorificate de către omenire. Interesul crescut a savanților din întreaga lume asupra valorificării materialelor vegetale și a extractelor cu substanțe biologic activi, vine cu dezvoltarea de alimente sănătoase prin valorificarea acestor compuși biologic activi. Teza de doctorat evidențiază potențialul compușilor biologic activi extrași din cătină cu efecte antioxidante pentru organismul uman și posibilitatea obținerii de bioingrediente cu funcții și destinații diverse. Studiul s-a axat pe analiza profilului fitochimic al extractelor din fructe de cătină din care au fost dezvoltate ingrediente sub formă de pudre cu potențial antioxidant și cu putere de colorare ridicată, fiind potențiali înlocuitori ai coloranților artificiali din industria alimentară.

La baza realizării acestei lucrări a stat curiozitatea proprie față de compoziția fitochimică a fructelor de cătină, adică a compușilor lipofili cât și hidrofili din fructul de cătină, cât și posibilitatea de a valorifica potențialul acesteia, prin crearea unor ingrediente care ulterior pot fi folosite cu preponderență în industria alimentară. Ținând cont de faptul că, cătina este o plantă, care se adaptează ușor condițiilor meteorologice, climatice și de sol ar fi păcat pentru societate

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

---

să nu fie valorificată și utilizată în diverse ramuri ale industriilor de prelucrare și nu numai. Natura ne dă posibilitatea de a ne folosi de toate resursele sale, noi oamenii trebuie doar să le valorificăm fără ai aduce daune.

Principalele **obiective științifice** ale tezei de doctorat sunt:

- Evaluarea profilului fitochimic al extractelor din fructe de cătină obținute prin diferite tehnici de extracție și corelarea rezultatelor cu activitatea antioxidantă a extractelor.
- Microîncapsularea compușilor biologic activi în diferite matrici din proteine și poliglucide și obținerea de ingrediente cu valoare adăugată.
- Caracterizarea ingredientelor obținute și evaluarea stabilității acestora timp de 9 luni de zile.
- Elaborarea și realizarea unei scheme tehnologice pentru obținerea unui produs cu valoare adăugată cu adaos de pudră din extract de cătină și caracterizarea produsului obținut din punct de vedere fitochimic, fizico-chimic și senzorial.

Teza de doctorat este structurată în două părți, anume:

- STUDIUL DOCUMENTAR**, intitulat "**Aspecte teoretice privind funcționalitatea compușilor biologic activi din fructe, frunze și semințe de cătină**" are trei capitole în care au fost sistematizate considerațiile teoretice din literatura de specialitate privind importanța cătinii pentru omenire și sănătate, metodele de extracție și încapsulare cât și aplicațiile ingredientelor obținute în diferite domenii precum industria alimentară, furajeră și cosmetică.
- STUDIUL EXPERIMENTAL**, intitulat "**Cercetări privind valorificarea compușilor biologic activi din fructele de cătină: Extracție, caracterizare fitochimică, încapsulare și perspective pentru utilizare în industria alimentară**" cuprinde 3 capitole, în care se regăsesc rezultatele obținute pe parcursul studiului de doctorat. Rezumatul capitolelor constă în:

**Capitolul 4**, intitulat **Evaluarea comparativă a unor metode de extracție cu solvenți diferiți din perspectiva obținerii unor extracte bogate în compuși biologic activi din fructele de cătină** prezintă rezultatele obținute folosind diferite metode de extracție, precum și identificarea și cuantificarea compușilor biologic activi din cătină (carotenoide, polifenoli totali și flavonoide totale) și a activității antioxidante utilizând metode spectrofotometrice și tehnici avansate precum cromatografia în fază lichidă (HPLC).

**Capitolul 5**, intitulat **Dezvoltarea unor ingrediente bogate în compuși bioactivi extrași cu solvenți polari din cătină pentru aplicații în industria alimentară** reprezintă rezultatele obținute prin încapsularea în diferite matrici a compușilor biologic activi extrași din cătină precum, carotenoidele și polifenolii, caracterizarea pudrelor obținute din punct de vedere fitochimic, structural, colorimetric, al digestibilității *in vitro* și stabilității la păstrare a acestora.

**Capitolul 6**, intitulat **Utilizarea unor ingrediente încapsulate pe bază de carotenoide extrase din cătină pentru obținerea sosului de maioneză cu valoare adăugată** arată

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

---

rezultatele obținute prin elaborarea tehnologiei de brevetare pentru prepararea sosului de maioneză cu valoarea adăugată și funcționalitate sporită datorită înlocuirii conservanților și coloranților.

Fiecare capitol al studiului experimental include: introducere, obiectivele studiului, materiale și metode de analiză, rezultate și discuții, concluzii parțiale și bibliografie.

**Capitolul 7, Concluzii finale** prezintă concluziile finale ale experimentelor realizate.

**Capitolul 8, Contribuții personale și perspective de continuare a studiilor** prezintă contribuții personale și viitoare perspective de continuare a tezei.

**Capitolul 9, Valorificarea rezultatelor** prezintă o listă de publicații și participări la conferințe naționale și internaționale. Rezultatele cercetărilor au fost diseminate prin publicarea a **3 articole științifice** în reviste cotate și indexate ISI (Polymers, The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI – Food Technology, Inventions), precum și **10 comunicări** la manifestări științifice reprezentative pentru domeniul ingineriei produselor alimentare. A fost depus la OSIM o cerere de brevet de invenție pentru obținerea unui produs cu valoare adăugată (Sos pe bază de maioneză cu adaos de pudră din extract de cătină microîncapsulat).

Teza de doctorat are 163 pagini, în care sunt incluse 44 de figuri, 17 tabele și 3 anexe. Studiul documentar reprezintă 25%, iar partea experimentală 75%.

Partea experimentală a tezei a fost posibilă datorită infrastructurii *Centrului Integrat de Cercetare Expertiză și Transfer Tehnologic (BioAlimentTehnIA)* ([www.bioliment.ugal.ro](http://www.bioliment.ugal.ro)), din cadrul Facultății de Știință și Ingineria Alimentelor, Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați.

Teza s-a realizat sub coordonarea științifică a comisiei de îndrumare cu următoarea componență:

- **Prof. univ. dr. ing. Gabriela RÂPEANU**- conducător de doctorat
- **Prof. univ. dr. ing Nicoleta STĂNCIUC**- coordonator științific
- **Prof. univ. dr. ing. Gabriela Elena BHRIM**- coordonator științific
- **Prof. univ. dr. ing Iuliana APRODU**- coordonator științific

## CAPITOLUL 4. EVALUAREA COMPARATIVĂ A UNOR METODE DE EXTRACȚIE CU SOLVENȚI DIFERIȚI DIN PERSPECTIVA OBȚINERII UNOR EXTRACTE BOGATE ÎN COMPUȘI BIOLOGIC ACTIVI DIN FRUCTELE DE CĂȚINĂ

### 4.1. Aspecte generale

Cățina (*Hippophae rhamnoides L.*) numită și cătină de râu, face parte din Ordinul *Eleagnales*, familia *Elaeagnaceae*, și este o plantă originară din Europa și Asia, care în prezent este larg răspândită în întreaga lume (Górnás și colab., 2014; Michel și colab., 2012). Fructele recoltate de la aceste plante reprezintă o sursă importantă de compuși biologic activi, cum ar fi carotenoidele:  $\alpha$  și  $\beta$ -carotenul, licopenul, luteina și zeaxantina (Pop și colab., 2014), flavone precum: izorhamnetina, quercetina, kaempferolul (Guo și colab., 2017), vitamine (vitaminele C și E), acizi organici, aminoacizi, micro- și macro-nutrienți, fiind considerate fructe cu potențial industrial ridicat (Asofiei și colab., 2019).

### 4.3. Obiectivele studiului

În primul capitol din studiul experimental obiectivele științifice au fost următoarele:

- Compararea rezultatelor obținute prin trei metode de extracție a compușilor biologic activi din fructele de cătină liofilizate (extracția convențională cu solvenți, extracția cu solvenți asistată cu ultrasunete, extracția cu solvenți asistată cu microunde).
- Compararea rezultatelor extracției secvențiale și a celei separate și evaluarea conținutului de compuși bioactivi și a activității antioxidante.
- Evaluarea conținutului de compuși biologic activi din cătină, precum: conținutul de carotenoide totale, conținutul de  $\beta$ -caroten, conținutul de licopen, conținutul de polifenoli totali, conținutul de flavonoide totale și capacitatea antioxidantă a extractelor obținute prin cele trei metode propuse, utilizând metode spectrofotometrice de analiză.

### 4.4. Materiale și metode de analiză

#### 4.4.3. Materiale utilizate

Cățina a fost achiziționată dintr-o piață locală din zona Galați. Boabele de cătină au fost spălate cu apă distilată și uscate cu un prosop de hârtie până la uscare completă, iar ulterior au fost congelate și liofilizate la temperatura de  $-42$  °C presiune de 0,1 mBar timp de 48 de ore utilizând un liofilizator CHRIST Alpha 1-4 LD Plus (Germania).

### 4.5. Analiza comparativă a metodelor de extracție a compușilor bioactivi din fructele de cătină

În vederea potențării conținutului de compuși bioactivi din fructele de cătină, s-a decis dezvoltarea, integrarea și implementarea a trei metode de extracție (extracția asistată cu ultrasunete (EAU), extracția asistată de microunde (EAM), extracția convențională (ECS)), cu solvenți de extracție polari (etanol, acetonă, acetat de etil, acid formic și apă ultrapură) și nepolari

**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată**

(hexan) de natură hidrofilă sau lipofilă (uleiul de floarea soarelui), conform datelor prezentate în tabelul 4.1.

În selectarea solventului adecvat s-a ținut cont de polaritatea solventilor, matricea probei și componentele acesteia, precum și de conținutul de umiditate care joacă un rol important, toate probele fiind supuse liofilizării pentru a exclude variabila respectivă.

Cele trei metode de extracție propuse pentru cercetare: EAU, EAM și ECS sunt cunoscute pentru obținerea extractelor bogate în compuși biologic activi.

**Tabel 4.1.** Caracteristicile metodelor de extracție

Codul probei	Solvenți pentru extracții	Parametri	
		Timp, minute(secunde,ore) / Temperatură, °C / Frecvență, KHz/ Putere, W	
		EAU	
EAU1	Etanol-96%		
<b>EAU2</b>	<b>Etanol-acetonă (4:3)</b>		
EAU3	Etanol:Hexan:Acetonă(4:3:1)		
<b>EAU4</b>	<b>Acetat de etil:Hexan (2:1)</b>		
EAU5	Acetat de etil:Hexan (1:2)		
EAU6	Hexan:Acetonă (2:1)		45 minute / 40 °C/ 40 KHz / 100 W
EAU7	Acetonă-80%:Etanol-70%(1:1)		
EAU8	Etanol 70%		
EAU9			15 minute / 40 °C/ 40KHz / 100 W
EAU10			30 minute / 40 °C/ 40KHz / 100 W
EAU11	Ulei de floarea soarelui		45 minute / 40 °C/ 40KHz / 100 W
		EAM	
EAM1	Etanol-70%		15 secunde / 47÷61 °C / 420W
EAM2			30 secunde / 70.6 °C / 1050 W
EAM3	Ulei de floarea soarelui		40 secunde / 47.5 °C / 735 W
EAM4			30 secunde / 54.2 °C / 525 W
		EAM-EAU	
			EAU - 15 minute / 40-50 °C / 40 KHz /100 W
EAM-EAU1	Ulei de floarea soarelui		EAM - 30 secunde / 42.1°C / 525W
		ECS	
ECS1	Etanol-70%		48h / 40°C

EAM este o tehnică modernă de extracție foarte cunoscută, care însă implică costuri mai mari față de EAU, mulți cercetători de-a lungul timpului au optimizat această metoda de extracție.

Pentru a efectua extracția asistată de ultrasunete am monitorizat principalii parametri cum sunt temperatura, timpul și puterea instalației de ultrasunete.

De asemenea a fost realizat un experiment prin combinarea EAU cu EAM pe aceeași matrice, folosind uleiul de floarea soarelui.

S-a hotărât parcurgerea a două metode de extracție: separată și secvențială, pentru a compara rezultatele extracțiilor din punct de vedere fitochimic. Au fost efectuate extracții secvențiale cu diferite amestecuri de solvenți utilizând aceeași matrice liofilizată ca sursă de compuși biologic activi. Reziduul care a fost obținut după prima extracție cu amestec de acetat

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

de etil: hexan (2:1), a fost în continuare extras consecutiv cu 20 mL amestec de solvent etanol:hexan (4:3), 20 mL amestec de solvenți acid formic:acetonă:apă (0,35:20:80) și în final extracția cu apă - 20 mL. După adăugarea solventului peste matricea inițială, extracția EAU a fost aplicată de fiecare dată, utilizând parametrii din Tabelul 4.2.

**Tabel 4.2.** Codificarea probelor în funcție de metodele de extracție secvențiale și separate asistate de ultrasunete

Cod extract	Solvenți utilizați pentru extracții	Parametrii de extracție
		Timp, minute (secunde,ore)/Temperatură, °C/Frecvență, KHz/Putere, W
SqEAU1 SeEAU1	Acetat de etil:hexan(2:1) =2:1	20 minute / 40 °C / 40 KHz
SqEAU2 SeEAU2	Etanol: Hexan(4:3) = 4:3	20 minute / 40 °C / 40 KHz
<b>SqEAU3 SeEAU3</b>	<b>Acid formic:Acetonă:Apă (0,35:20:80) = 0,35:20:80</b>	<b>20 minute / 40 °C / 40 KHz</b>
SqEAU4 SeEAU4	Apă	20 minute / 50 °C / 40 KHz

Partea lichidă obținută din fiecare etapă de extracție a fost colectată și concentrată sub vid, pentru analize fitochimice și antioxidante ulterioare. Pentru a compara probele, a fost efectuată și o extracție separată în aceleași condiții, care a fost repetată de patru ori.

Scopul acestui studiu a fost de a compara rezultatele extracției secvențiale și a extracției separate prin prisma evaluării conținutului de compuși bioactivi și a activității antioxidante din fructele de cătină liofilizate.

### 4.8. Rezultate și discuții

#### 4.8.1. Analiza fitochimică comparativă a extractelor de cătină prin diferite metode de extracție

Pentru analiza fitochimică a extractelor obținute, a fost utilizată o combinație de trei metode: extracția convențională cu solvenți, extracția asistată de ultrasunete și extracția asistată de microunde. A fost realizată o variere a parametrilor de extracție cât și a solvenților utilizați. Valorile componentelor fitochimice prezente în fructele de cătină liofilizate, analizate și obținute prin diferite metode de extracție, sunt prezentate în Tabelul 4.3.

Au fost observate diferențe semnificative statistice la nivelul probelor selectate pentru majoritatea metodelor de extracție utilizate ( $p < 0,05$ ). Probele de extracte cu valori mai mari ale conținutului de compuși bioactivi au fost EAU3-EAU6. Aceste rezultate obținute se pot datora prezenței hexanului în amestecul de extracție. Combinația unui solvent polar (etanol, acetonă în EAU3; acetat de etil în EAU4 și EAU5; acetonă în EAU6) cu unul nepolar (hexan) în diferite proporții conduce la îmbunătățirea solubilizării carotenoidelor nepolare (licopen și  $\beta$ -caroten) care posedă o natură mai hidrofobă și o solubilitate limitată în apă (Strati și Oreopoulou, 2011a).



**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată**

**Tabel 4.3.** Caracterizarea fitochimică a extractelor obținute prin diferite metode de extracție

<b>Cod extract</b>	<b>Carotenoide totale, μg/g s.u</b>	<b>β-caroten, μg/g s.u</b>	<b>Licopen, μg/g s.u</b>	<b>CPT, mg EAG/g s.u.</b>	<b>CFT, mg CE/g s.u.</b>
<b>EAU1</b>	4,57±0,01 <sup>e</sup>	3,84±0,01 <sup>e</sup>	1,15±0,00 <sup>f</sup>	148,19±0,38 <sup>f</sup>	182,44±0,62 <sup>b</sup>
<b>EAU2</b>	25,08±0,03 <sup>b</sup>	21,01±0,01 <sup>b</sup>	5,97±0,02 <sup>b</sup>	<b>805,34±5,5<sup>a</sup></b>	<b>211,65±0,75<sup>a</sup></b>
<b>EAU3</b>	18,14±0,03 <sup>d</sup>	15,12±0,04 <sup>d</sup>	4,17±0,01 <sup>e</sup>	484,67±6,9 <sup>b</sup>	NA
<b>EAU4</b>	<b>42,43±0,17<sup>a</sup></b>	<b>35,35±0,06<sup>a</sup></b>	<b>9,82±0,03<sup>a</sup></b>	61,57±1,76 <sup>g</sup>	NA
<b>EAU5</b>	20,89±0,09 <sup>c</sup>	17,33±0,08 <sup>c</sup>	4,32±0,06 <sup>d</sup>	178,61±9,3 <sup>e</sup>	NA
<b>EAU6</b>	25,20±0,08 <sup>b</sup>	21,17±0,29 <sup>b</sup>	5,52±0,05 <sup>c</sup>	258,03±6,7 <sup>d</sup>	NA
<b>EAU7</b>	0,91±0,01 <sup>f</sup>	0,71±0,02 <sup>f</sup>	0,35±0,01 <sup>g</sup>	339,4±1,05 <sup>c</sup>	72,27±0,62 <sup>f</sup>
<b>EAU8</b>	1,09±0,01 <sup>f</sup>	0,87±0,01 <sup>f</sup>	0,43±0,00 <sup>g</sup>	182,67±0,85 <sup>e</sup>	87,98±4,2 <sup>d</sup>
<b>EAU9</b>	0,23±0,02 <sup>g</sup>	0,20±0,02 <sup>g</sup>	0,05±0,00 <sup>h</sup>	NA	NA
<b>EAU10</b>	0,24±0,03 <sup>g</sup>	0,20±0,03 <sup>g</sup>	0,05±0,01 <sup>h</sup>	NA	NA
<b>EAU11</b>	0,24±0,01 <sup>g</sup>	0,21±0,01 <sup>g</sup>	0,06±0,00 <sup>h</sup>	NA	NA
<b>EAM1</b>	0,97±0,02 <sup>f</sup>	0,77±0,015 <sup>f</sup>	0,38±0,01 <sup>g</sup>	145,04±1,35 <sup>f</sup>	100,16±16,14 <sup>c</sup>
<b>EAM2</b>	0,27±0,02 <sup>g</sup>	0,23±0,019 <sup>g</sup>	0,07±0,01 <sup>h</sup>	NA	NA
<b>EAM3</b>	0,27±0,01 <sup>g</sup>	0,23±0,01 <sup>g</sup>	0,06±0,00 <sup>h</sup>	NA	NA
<b>EAM4</b>	0,22±0,00 <sup>g</sup>	0,18±0,01 <sup>g</sup>	0,05±0,00 <sup>h</sup>	NA	NA
<b>EAU-EAM1</b>	0,22±0,00 <sup>g</sup>	0,20±0,01 <sup>g</sup>	0,05±0,00 <sup>h</sup>	NA	NA
<b>ECS1</b>	1,09±0,02 <sup>f</sup>	0,84±0,02 <sup>f</sup>	0,43±0,01 <sup>g</sup>	149,80±0,86 <sup>f</sup>	79,12±0,51 <sup>e</sup>

Mediile de pe fiecare coloană care nu au în comun o literă la exponent sunt semnificativ diferite conform testului Tukey,  $p < 0,05$ ; NA – proba nu a fost analizată sau nu se aplică

Cele mai potrivite rezultate pentru conținutul total de carotenoide, β-caroten și licopen au fost obținute pentru extracția EAU4 cu amestecul de solvenți acetat de etil:hexan (2:1). Rezultatele s-au datorat polarității amestecului de solvenți și influenței temperaturii, care a permis solubilizarea carotenoidelor nepolare.

La polul opus se afla extracția în ulei de floarea soarelui. Atât pentru extracția EAM, cât și pentru EAU, rezultatele obținute prin utilizarea uleiului de floarea-soarelui ca sistem de extracție au arătat o eficiență de extracție foarte scăzută, ceea ce arată că uleiurile vegetale nu sunt adecvate ca solvenți pentru separarea compușii lipofili.

În ceea ce privește extracția carotenoidelor utilizând ECS cu etanol 70%, s-a obținut un conținut scăzut de carotenoide de  $1,09 \pm 0,02 \mu\text{g CT/g s.u.}$

Conținutul total de carotenoide din extractele obținute prin metodele EAM2-EAM4 a avut valori similare. Deși extracția asistată de microunde (EAM) este considerată o metodă simplă, rapidă și economică pentru extracția carotenoidelor, implicând un timp de extracție scurt cu o cantitate redusă de solvenți, sistemul de extracție cu ulei nu a fost eficient în comparație cu sistemul de solvent utilizat pentru EAU.

Rezultatele obținute pentru EAU a prezentat o compoziție mai simplă a soluției de extracție, un randament mediu al conținutului de carotenoide care a fost superior în toate probele în comparație cu ECS. Prin urmare, EAU a demonstrat că este o metodă simplă, eficientă, rapidă, cu costuri reduse și o alternativă fiabilă pentru extracția acestor compuși bioactivi din matricea studiată sau alte matrici similare.

Conținutul compușilor fenolici din extractele analizate se regăsește în Tabelul 4.3. După cum era de așteptat, extractul sau amestecul de extracție în care este prezent etanol, au fost în general bogate în compuși fenolici. Protocolul EAU2 în care s-au utilizat amestecul de solvenți de

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

etanol:acetonă (4:3) a fost cel mai potrivit pentru extracția polifenolilor totali din cătină. S-au obținut valori mari de  $805,34 \pm 5,5$  mg EAG/g s.u., probabil pentru că ambii solvenți sunt polari și miscibili cu apa. La polul opus se află protocolul EAU4 în care s-a utilizat un amestec de acetat de etil și hexan (2:1) cu conținut total de polifenoli de  $61,57 \pm 1,76$  mg EAG/g s.u.

Valoarea cea mai mare pentru conținutul total de flavonoide a fost de  $211,65 \pm 0,75$  mg EC/g s.u. pentru extracția asistată cu ultrasunete combinată cu un amestec de solvenți etanol:acetonă (EAU2). Cea mai mică valoare de  $72,27 \pm 0,62$  mg EC/s.u. a fost obținută cu amestecul de solvenți etanol:acetonă (EAU7) și este cu 66,0% mai mică în comparație cu cea mai eficientă extracție din această serie de extracții (EAU2).

### 4.8.2. Analiza fitochimică comparativă a extractelor de cătină prin metoda EAU utilizând două tehnici de extracție diferite

Un alt obiectiv al acestui studiu a fost efectuarea unei extracții secvențiale pe matricea de fructe de cătină, pornind de la conceptul că fructele în sine reprezintă un amestec de compuși lipo și hidrosolubili, iar pentru a liza membrana celulară este nevoie de extracții în trepte.

Extracțiile secvențiale au fost, de asemenea, efectuate pe aceeași matrice prin aplicarea diferitelor amestecuri de solvenți, iar rezultatele obținute au fost comparate cu extracțiile separate. Rezultatele obținute sunt prezentate în Tabelul 4.4, și în Figurile 4.2, 4.3 și 4.4.

**Tabel 4.4.** Determinarea compușilor carotenoidici din extractele secvențiale și separate din fructe de cătină

Cod extract	Carotenoide totale, $\mu\text{g/g}$ s.u.	$\beta$ -caroten, $\mu\text{g/g}$ s.u.	Licopen, $\mu\text{g/g}$ s.u.
SeEAU1	$57,81 \pm 0,06^a$	$47,96 \pm 0,04^a$	$11,97 \pm 0,01^a$
SeEAU2	$25,94 \pm 0,03^c$	$21,54 \pm 0,03^c$	$5,30 \pm 0,03^c$
SeEAU3	$3,85 \pm 0,06^e$	$3,33 \pm 0,04^e$	$2,14 \pm 0,02^e$
SeEAU4	$3,73 \pm 0,05^e$	$3,36 \pm 0,04^e$	$2,31 \pm 0,03^e$
SqEAU1	$29,05 \pm 0,04^b$	$24,19 \pm 0,03^b$	$6,41 \pm 0,01^b$
SqEAU2	$12,80 \pm 0,05^d$	$10,62 \pm 0,02^d$	$2,59 \pm 0,02^d$
SqEAU3	$3,30 \pm 0,03^e$	$2,80 \pm 0,02^f$	$1,70 \pm 0,01^f$
SqEAU4	$1,61 \pm 0,02^f$	$1,39 \pm 0,02^g$	$0,87 \pm 0,02^g$

Mediile de pe fiecare coloană care nu au în comun o literă la exponent sunt semnificativ diferite conform testului Tukey,  $p < 0,05$ ; NA – proba nu a fost analizată sau nu se aplică

Așa cum era de așteptat, conținutul total de carotenoide,  $\beta$  caroten și licopen a scăzut atât la extracția ulterioară, cât și la cea separată, datorită scăderii polarității solvenților. Din tabelul 4.4 este clar că extracția separată a avut un conținutul de compuși carotenoidici mai mare, deoarece mixul de solvenți polari folosiți au condus la o extracție maximă posibilă de caroteni totali.

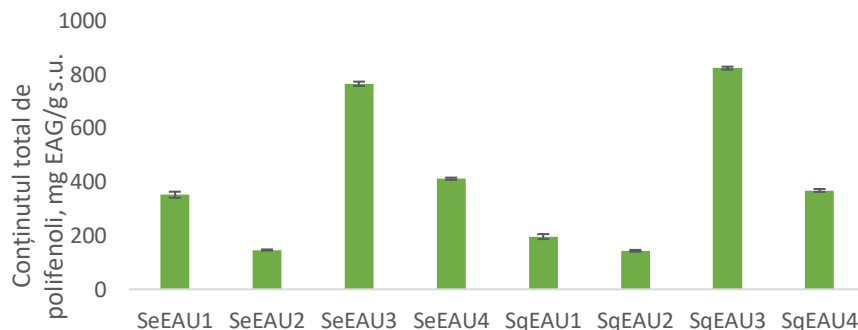
Din Tabelul 4.4 se poate concluziona că, conținutul total de carotenoide este mare atât pentru extracția separată cât și pentru cea ulterioară, pentru probele tratate cu amestec de acetat de etil:n-hexan (2:1), respectiv de  $57,81 \pm 0,06$   $\mu\text{g}$  CT/g s.u. și de  $29,05 \pm 0,04$   $\mu\text{g}$  CT/g s.u..

Din Figura 4.3, se poate observa, o creștere a conținutului total de polifenoli la extracția secvențială, în mod particular atunci când se utilizează amestecul de solvenți acidulați. Astfel, cel mai ridicat conținut de polifenoli a fost de  $823,51 \pm 5,5$  mg EAG/g s.u., și a fost obținut pentru extracția apoasă cu ajutorul acetonei acidulate cu acid formic (SqEAU3), după 20 de minute de



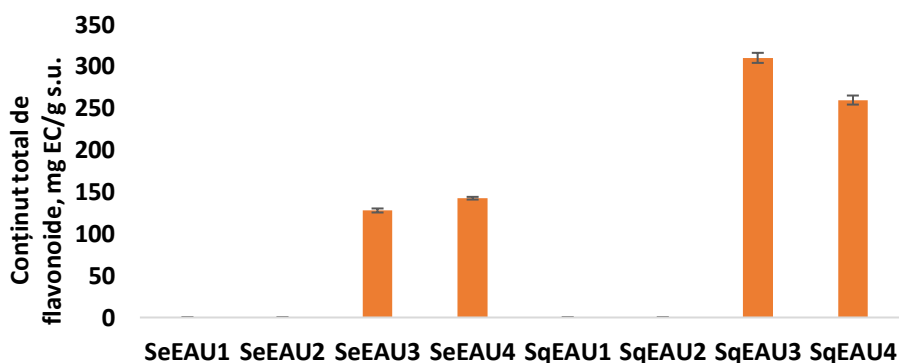
## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

extracție la temperatura de 35-40°C. Metoda dezvoltată este rapidă, simplă, blândă și eficientă pentru extragerea compușilor polifenolici.



**Figura 4.3.** Conținutul de compuși polifenolici totali pentru probele analizate

Cel mai mic conținut de polifenoli cu 83% mai puțin din seria de extracție secvențială a fost obținut cu amestecul de solvent etanol:hexan (SqEAU2), cu valori de  $143,49 \pm 3,2$  mg EAG /g s.u.



**Figura 4.4.** Conținutul de flavonoide totale pentru probele analizate

În schimb, așa cum relevă datele prezentate în Figura 4.4, SqEAU2 amestecul apos cu acetonă acidulată s-a dovedit a fi cel mai eficient amestec de solvenți pentru extracția flavonoidelor totale care au prezentat o valoare de  $310,06 \pm 6,00$  mg EC/g s.u.

### 4.8.3. Evaluarea comparativă a activității antioxidante a extractelor

Activitatea antioxidantă din acest studiu a fost influențată de mai mulți parametri, precum: mediul de extracție hidrofil / lipofil, timpul de extracție etc.

**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată**

**Tabel 4.5.** Activitatea antioxidantă (DPPH) a probelor obținute prin diferite metode de extracție

<b>Cod extract</b>	<b>AA, mM Trolox/g s.u. (DPPH)</b>	<b>I<sub>DPPH</sub>, (%)</b>
EAU1	1,81±0,01 <sup>b</sup>	76,80±0,47 <sup>b</sup>
<b>EAU2</b>	<b>2,15±0,01<sup>a</sup></b>	<b>90,75±0,22<sup>a</sup></b>
EAU3	1,09±0,01 <sup>d</sup>	46,66±0,33 <sup>c</sup>
EAU4	0,59±0,01 <sup>e</sup>	22,21±0,28 <sup>d</sup>
EAU5	0,01±0,00 <sup>f</sup>	1,07±0,05 <sup>e</sup>
EAU6	0,03±0,01 <sup>f</sup>	2,01±0,26 <sup>e</sup>
EAU7	1,84±0,00 <sup>b</sup>	89,56±0,16 <sup>a</sup>
EAU8	1,56±0,01 <sup>c</sup>	75,97±0,61 <sup>b</sup>
EAU9	NA	NA
EAU10	NA	NA
EAU11	NA	NA
EAM1	1,56±0,00 <sup>c</sup>	76,24±0,19 <sup>b</sup>
EAM2	NA	NA
EAM3	NA	NA
EAM4	NA	NA
EAM - EAU1	NA	NA
ECS1	1,54±0,01 <sup>c</sup>	75,21±0,38 <sup>b</sup>

Mediile de pe fiecare coloană care nu au în comun o literă la exponent sunt semnificativ diferite conform testului Tukey,  $p < 0,05$  NA – proba nu a fost analizată sau nu se aplică

În Tabelul 4.5 sunt prezentate rezultatele activității antioxidante a extractelor obținute cu metoda care utilizează radicalul liber DPPH.

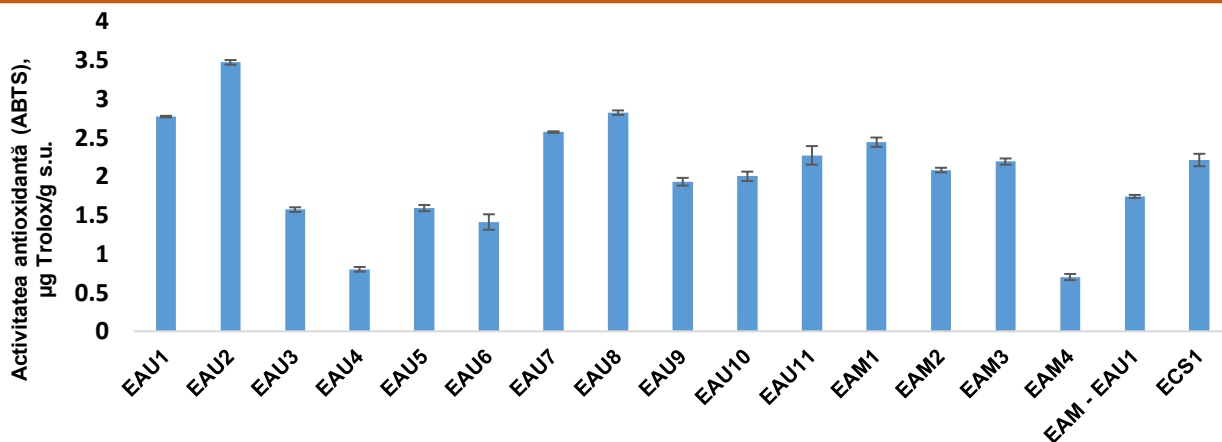
Cele mai potrivite rezultate s-au obținut prin extracție asistată cu ultrasunete în combinație cu amestecul de solvenți etanol : acetonă.

Valoarea cea mai ridicată a activității antioxidante de 2,15 mM Trolox/g s.u. a fost obținută prin utilizarea amestecului de solvenți etanol:acetonă(4:3) – EAU2, acest extract prezentând și o inhibiție asupra radicalului liber DPPH de 90,75%.

Valoarea cea mai mică a activității antioxidante a fost obținută cu amestecul de acetat de etil: hexan (1:2) – EAU5 și a prezentat o inhibiție de numai  $1,07 \pm 0,05\%$  asupra radicalilor liberi DPPH.

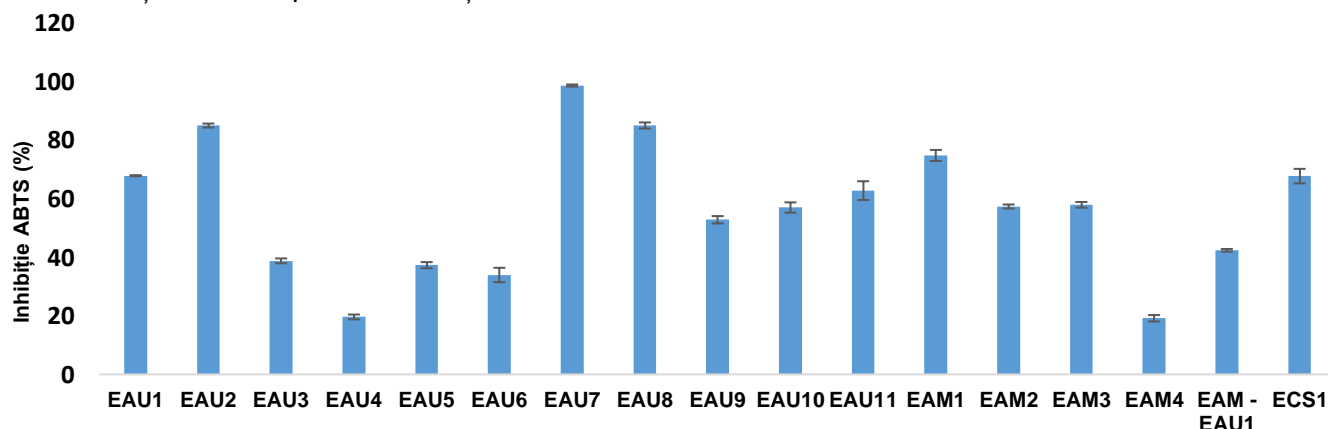
În Figura 4.5 și Figura 4.6 sunt prezentate valorile activității antioxidante pentru probele obținute prin diferite metode de extracție (metoda care utilizează radicalul ABTS).

**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată**



**Figura 4.5.** Activitatea antioxidantă (ABTS) pentru probele obținute prin diferite metode de extracție

Din figura 4.5 se poate presupune că activitatea antioxidantă nu este influențată de metoda de extracție, dar probabil solvenții folosiți influențează activitatea antioxidantă. Astfel probele EAU1, EAU8, EAM1 și ECS1 au obținut valori ale AA prin metoda captării radicalului liber ABTS de respectiv 2,77 µg Trolox/g; 2,88 µg Trolox/g; 2,44 µg Trolox/g și 2,21 µg Trolox/g la care s-au folosit soluții alcoolice pentru extracție.



**Figura 4.6.** Procentul de inhibiție a radicalului ABTS pentru probele obținute prin diferite metode de extracție

Analizând datele din Figura 4.5 se observă că, valoarea cea mai ridicată a activității antioxidante de 3,47 µg Trolox/g s.u. a fost obținută atunci când pentru extracție s-a utilizat amestecul de solvenți etanol:acetonă în raport de 4:3 – EAU2. În Figura 4.6 se observă că acest extract obținut din fructe de cătină a prezentat o inhibiție asupra radicalului ABTS de aproximativ 85,01%.

Valoarea cea mai mică a activității antioxidante pentru extractul din cătină a fost obținută cu ulei de floarea soarelui – EAM4 și a avut o valoare de 0,70 µg Trolox/g s.u. Același extract a prezentat o inhibiție de numai 19,18% dată de radicalii liberi ABTS.

Astfel, rezultatele obținute de alți cercetători relevă o dependență clară între solvenții de extracție și activitatea antioxidantă, iar metoda de extracție aleasă (EAU, EAM sau ECS) definește rezultatul final.

#### 4.8.4. Evaluarea comparativă a activității antioxidante a probelor obținute prin metoda de extracție asistată de ultrasunete separată și secvențială

Au fost de asemenea, analizate seriile de extracții secvențiale și separate, care prevedeau metoda de determinare a activității antioxidante eficientă pentru caracterizarea profilului hidrofil și lipofil al cătinii liofilizate.

În Tabelul 4.6 sunt prezentate rezultatele activității antioxidante (metoda care utilizează radicalul DPPH și metoda care utilizează radicalul ABTS) a probelor prin extracția secvențială și separată a extractelor de cătină asistată de ultrasunete.

**Tabel 4.6.** Activitatea antioxidantă a probelor obținute prin metode de extracție secvențiale și separate

Cod probă	AA, mMTrolox/mL extract (DPPH)	I <sub>DPPH</sub> ,(%)	AA, μg Trolox/mL extract (ABTS)	I <sub>ABTS</sub> ,(%)
SeEAU1	0,07±0,01 <sup>e</sup>	4,07± 0,57 <sup>e</sup>	0,85±0,03 <sup>e</sup>	25,65±0,85 <sup>c</sup>
SeEAU2	0,64±0,01 <sup>c</sup>	35,29±0,41 <sup>c</sup>	0,78±0,01 <sup>e</sup>	19,28±0,23 <sup>d</sup>
<b>SeEAU3</b>	<b>1,70±0,00<sup>a</sup></b>	<b>88,78±0,18<sup>a</sup></b>	<b>3,66±0,05<sup>b</sup></b>	<b>98,35±1,24<sup>a</sup></b>
SeEAU4	1,13±0,01 <sup>b</sup>	57,21±0,23 <sup>b</sup>	2,64±0,04 <sup>d</sup>	73,50±1,04 <sup>b</sup>
SqEAU1	0,03±0,02 <sup>e</sup>	2,25±0,77 <sup>e</sup>	0,53±0,04 <sup>f</sup>	12,49±0,96 <sup>f</sup>
SqEAU2	0,17±0,01 <sup>d</sup>	9,84±0,75 <sup>d</sup>	0,623±0,03 <sup>f</sup>	17,65±0,70 <sup>e</sup>
<b>SqEAU3</b>	<b>1,72±0,01<sup>a</sup></b>	<b>89,00±0,40<sup>a</sup></b>	<b>4,01±0,01<sup>a</sup></b>	<b>99,29±0,23<sup>a</sup></b>
SqEAU4	1,73±0,01 <sup>a</sup>	88,88±0,46 <sup>a</sup>	3,49±0,02 <sup>c</sup>	97,77±0,62 <sup>a</sup>

Mediile de pe fiecare coloană care nu au în comun o literă la exponent sunt semnificativ diferite conform testului Tukey,  $p < 0,05$ .

Rezultatele obținute pentru activitatea antioxidantă dată de ambii radicali liberi la extracția secvențială sunt diferite de rezultatele extracției separate.

Pentru extracțiile secvențiale prin utilizarea metodei de evaluare a activității antioxidante care utilizează radicalul liber DPPH s-au obținut valori ale activității antioxidante destul de reduse cuprinse în intervalul 0,03 – 1,73 μg Trolox/g s.u. Cea mai mare valoare a activității antioxidante de 1,73 μg Trolox/g s.u. a fost obținută pentru extracția secvențială SqEAU4, iar cea mai mică valoare de 0,03 μg Trolox/g s.u. a fost obținută în cazul extracției secvențiale SqEAU1.

Valorile inferioare ale inhibiției radicalului ABTS (ABTS+) ale extractelor secvențiale și separate (SqEAU2 și SeEAU2) cu etanol 70% indică faptul că amestecurile etanolice sunt mai potrivite pentru inhibarea radicalului ABTS (ABTS+).

Cea mai ridicată valoare a activității antioxidante a fost obținută folosind amestecul de extracție format din acid formic, acetonă, apă în proporție de 0,35 : 20 : 80, cu valori ale AA de 4,01 ± 0,01 μg Trolox/mL pentru metoda care utilizează radicalul liber ABTS și cu o inhibiție de 99,29 ± 0,23%. Din cele expuse mai sus și rezultatele obținute se observă că valorile cele mai mici ale activității antioxidante s-au obținut pentru amestecul de extracție format din etil acetat : hexan în proporție de 2:1 ceea ce este caracteristic extractele lipofile.

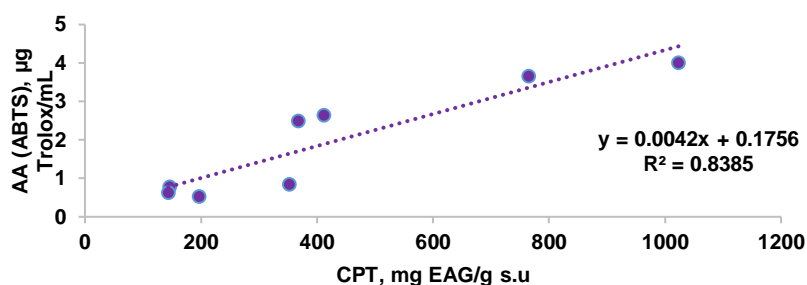
Așa cum se observă din Tabelul 4.6, valoarea cea mai ridicată a inhibiției radicalului DPPH a fost de 88,88 ± 0,46 %, în cazul utilizării apei ca solvent de extracție SqEAU4, iar cea mai mică valoare a inhibiției radicalului DPPH a fost de 2,25 ± 0,77 % în cazul amestecului de acetat de etil:hexan în proporție de (2:1) ca mediu de extracție.

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

Valoarea cea mai ridicată a inhibiției radicalului ABTS a fost de  $99,29 \pm 0,23 \%$ , în cazul folosirii pentru extracție a amestecului de solvenți de extracție acid formic:acetonă:apă în proporție de 0,35:20:80 – SqEAU3, iar cea mai mică valoare a inhibiției radicalului ABTS a fost de  $12,49 \pm 0,96\%$  în cazul folosirii amestecului acetat de etil:hexan în proporție de (2:1) ca mediu de extracție - SqEAU1.

### 4.8.5. Corelarea rezultatelor

Corelația Pearson a fost aplicată pentru a măsura relația liniară între diferite grupuri de compuși bioactivi și activitatea antioxidantă. Valorile mai mari ale coeficientului de corelație au sugerat o contribuție mai mare pentru compușii polifenolici și flavonoide la capacitatea antioxidantă a extractelor.



**Figura 4.9.** Corelarea activității antioxidante asupra radicalul ABTS cu conținutul total de polifenoli (CPT) din extractul obținut prin EAU

Astfel conținutul de compuși polifenolici obținuți prin metoda care folosește tehnica colorimetrică Folin-Ciocalteu a prezentat o corelație mai puternică cu activitatea antioxidantă obținută prin metoda de captare a radicalului ABTS ( $R^2 = 0,8385$ ) față de activitatea antioxidantă obținută prin metoda de captare a radicalului DPPH ( $R^2 = 0,5509$ ) (Figura 4.9).

### 4.9. Concluzii parțiale

În acest studiu, au fost testate mai multe tehnici de extracție pentru a evalua profilul fitochimic al fructelor de cătină: extracția convențională folosind etanol 70%, extracția asistată de ultrasunete folosind amestec de solvenți organici și extracția asistată de microunde cu ulei vegetal ca solvent de extracție.

Rezultatele au arătat că extracția cu solvenți asistată de ultrasunete oferă valori mai mari pentru extracția compușilor biologic activi utilizând următorii parametri: timpul de extracție de 45 minute; temperatura de 40°C, frecvența de 40 kHz și puterea de 100 W.

Extracția cu acetat de etil:hexan (2:1) asistată de ultrasunete a dus la separarea unei cantități mai mari de compuși carotenoidici (carotenoide totale,  $\beta$  caroten și licopen).

Cel mai mare randament de extracție al compușilor hidrofili (polifenoli totali și flavonoide totale) a fost obținut cu amestecul de extracție format din acid formic: acetonă:apă (0,35: 20:80), extracția asistată de ultrasunete, prin extracții secvențiale ale compușilor. Cea mai mare inhibiție a radicalilor liberi DPPH și ABTS a fost obținută cu amestecul de etanol:acetonă și acid formic:acetonă:apă, utilizând extracția asistată de ultrasunete.

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

---

Analiza compușilor fitochimici ai extractelor obținute din fructe de cătină prin cele două metode secvențială și separată relevă faptul că această matrice este bogată atât în compuși liposolubili (carotenii), cât și hidrosolubili (polifenolii). Procesul de extracție secvențial poate fi optimizat, astfel încât se pot extrage compuși bioactivi cu un randament superior de extracție.

A fost calculat indicele de corelație Pearson pentru doi indicatori precum conținutul total de polifenoli și activitatea antioxidantă, care a indicat faptul că valorile respective pot fi corelate cu un indice de corelare de 0,8385. Aceste rezultate permit să tragem concluzia că în prezentul studiu compușii polifenolici din extracțiile de cătină au o putere antioxidantă mai mare față de compușii carotenoidici extrași din cătină.

Rezultatele obținute demonstrează că utilizarea metodei de extracție în mai multe etape este capabilă să recupereze și să izoleze diferite fracțiuni din extract (carotenoide și polifenolice) cu proprietăți biofuncționale.

## CAPITOLUL 5. DEZVOLTAREA UNOR INGREDIENTE BOGATE ÎN COMPUȘI BIOACTIVI EXTRAȘI CU SOLVENȚI POLARI DIN CĂTINĂ PENTRU APLICAȚII ÎN INDUSTRIA ALIMENTARĂ

### 5.1. Aspecte generale

Compușii principali de interes științific prezenți în cantități mari în fructele de cătină sunt carotenoidele și flavonele. Carotenoidele reprezintă pigmenți lipofili cu structură tetraterpenoide și culori precum galben, portocaliu până la roșu. Flavonoidele sunt metaboliți secundari prezenți în fructele de cătină și fac parte din clasa polifenolilor, având și culori ce variază de la galben la portocaliu.

Cu toate acestea, utilizarea carotenoidelor și flavonelor ca ingrediente funcționale este limitată din cauza instabilității lor chimice, a bio-disponibilității slabe cât și a bio-accesibilității. Tehnica microîncapsulării reprezintă o soluție pentru rezolvarea problemelor legate de stabilitatea acestor compuși valoroși.

Coacervarea complexă se bazează pe atracția electrostatică dintre moleculele încărcate cu sarcini electrice diferite. Această atracție produce un complex cu două faze distincte. Una reprezintă o fază bogată în polimeri (denumită și coacervat), iar cealaltă este soluția solvent ([de Souza Simões și colab., 2017](#)).

### 5.2. Obiectivele studiului

Studiul experimental a avut următoarele obiective științifice:

- Extracția compușilor biologic activi utilizând un amestec de solvenți (acetonă, acid acetic glacial și apă) pentru extractul E1 și numai apă pentru extractul E2, urmat de microîncapsularea prin coacervare complexă și liofilizare a compușilor biologic activi din fructele de cătină, utilizând diferite matrici de încapsulare precum: izolatul de proteine din zer (IPZ) în combinație cu carboximetilceluloza (CMC).
- Caracterizarea pudrelor de cătină obținute (codificate: pudră - P1 și pudră - P2) din punct de vedere fitochimic cu accent pe conținutul de carotenoide totale, conținut de polifenoli totali, activitate antioxidantă, digestibilitate *in vitro*, eficiența încapsulării, analiza colorimetrică și stabilitatea în timp a pudrelor obținute.
- Analiza structurii și morfologia pulberilor folosind tehnica de microscopie confocală cu scanare laser (MCSL).

### 5.6. Rezultate și discuții

#### 5.6.1. Evaluarea profilului fitochimic al extractelor de cătină

Compușii bioactivi din fructele de cătină liofilizate au fost extrași cu diferite amestecuri de solvenți folosind metoda EAU. Pentru extracție, s-au folosit solvenți polari, cum ar fi acetonă și apă. Au fost obținute două extracte, iar conținutul fitochimic al ambelor extracte este prezentat în Tabelul 5.2. Adaosul de acetonă și acid acetic glacial în apă a condus la o creștere semnificativă a randamentului de extracție a compușilor fitochimici ( $p < 0,05$ ) atât pentru compușii lipofili cât și pentru compușii hidrofili (Tabel 5.2). Acest lucru se poate explica prin intensificarea puterii de rupere a pereților celulari cu amestecul de solvenți. Astfel, extractul E1 a prezentat un conținut

**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată**

de licopen de  $1,69 \pm 0,01$  mg LC/g s.u. iar extractul E2 de numai  $0,87 \pm 0,01$  mg LC/g s.u. Conținutul de  $\beta$ -caroten din extractul E1 a prezentat un conținut de  $2,79 \pm 0,02$  mg  $\beta$ C/g s.u. și extractul E2 de  $1,38 \pm 0,02$  mg  $\beta$ C/g s.u.

În ceea ce privește conținutul de compuși hidrofilii, din extractul E1 s-a cuantificat un conținut de flavonoide totale de  $310,06 \pm 6,01$  mg EC/g s.u. și un conținut de aproximativ  $127,80 \pm 2,41$  mg EC/g s.u. în extractul E2. De asemenea, conținutul în polifenoli totali al extractelor analizate a fost de  $823,50 \pm 5,51$  mg EAG/g s.u. și de aproximativ  $368,12 \pm 5,37$  mg EAG/g s.u. pentru extractul E1 și, respectiv, extractul E2.

Activitatea antioxidantă a extractelor a fost cuantificată prin două metode diferite de captare a radicalilor liberi DPPH și ABTS. Astfel, activitatea antioxidantă evaluată cu valori procentuale ale inhibiției radicalului DPPH a fost de 92% pentru E1 și 61,01% pentru E2, iar pentru radicalul ABTS de 4,36 și 3,81%.

**Tabel 5.2.** Profilul fitochimic al extractelor obținute din fructe de cătină liofilizate

<b>Compuși fitochimici</b>	<b>Extractul E1</b>	<b>Extractul E2</b>
Conținutul de licopen (mg LC/g su)	$1,69 \pm 0,01^d$	$0,87 \pm 0,01^d$
Conținutul de $\beta$ -caroten (mg $\beta$ C/g su)	$2,79 \pm 0,02^d$	$1,38 \pm 0,02^d$
Conținutul de carotenoide totale (mg CT/g su)	$3,30 \pm 0,03^d$	$1,60 \pm 0,01^d$
Conținutul total de flavonoide (mg EC/g su)	$310,06 \pm 6,01^b$	$127,80 \pm 2,41^b$
Conținutul total de polifenoli (mg EAG/g su)	$823,50 \pm 5,51^a$	$368,12 \pm 5,37^a$
Activitatea antioxidantă ABTS (inhibiția, %)	$4,36 \pm 0,01^d$	$3,81 \pm 0,02^d$
Activitatea antioxidantă DPPH (inhibiția, %)	$92,00 \pm 0,42^c$	$61,01 \pm 0,42^c$

Valorile care nu au în comun o literă pe același rând sunt semnificativ diferite ( $p < 0,05$ ) conform testului Tukey, 95% încredere

Așa cum era de așteptat, alegerea solventului de extracție reprezintă un pas decisiv în extracția compușilor biologic activi din cătină, pentru obținerea randamentului mare de compuși bioactivi, cât și a activității antioxidante care utilizează radicalii liberi ABTS și DPPH.

În prezentul studiu, combinația de solvenți precum acid acetic, acetonă și apă a condus la extracția unei cantități ridicate de compuși biologic activi cu o activitate antioxidantă care utilizează radicalii liberi DPPH și ABTS remarcabilă.

În tabelul 5.2 este prezentat conținutul total de carotenoide din extractele E1 și E2 obținut prin extracția asistată de ultrasunete cu solvenții precum acetona, acid acetic glacial și apă.

Cel mai eficient amestec pentru extracția compușilor hidrofilii a fost amestecul de acid acetic, acetonă și apă (E1), cu un conținut total de polifenoli de  $823,50 \pm 5,51$  mg EAG/g s.u. și un conținut total de flavonoide de  $310,06 \pm 6,01$  mg EC/g su. Rezultatele obținute pentru extractele din prezenta lucrare prezintă valori mai mari față de cele raportate de alți cercetători, probabil datorită polarității amestecului de solvenți folosiți, metodei de extracție utilizate și condițiilor de creștere, recoltare a fructelor de cătină.

CTP și CTF se corelează cu rezultatele obținute pentru activitatea antioxidantă, cu valori de  $92,00 \pm 0,42\%$  inhibiție față de radicalul DPPH.



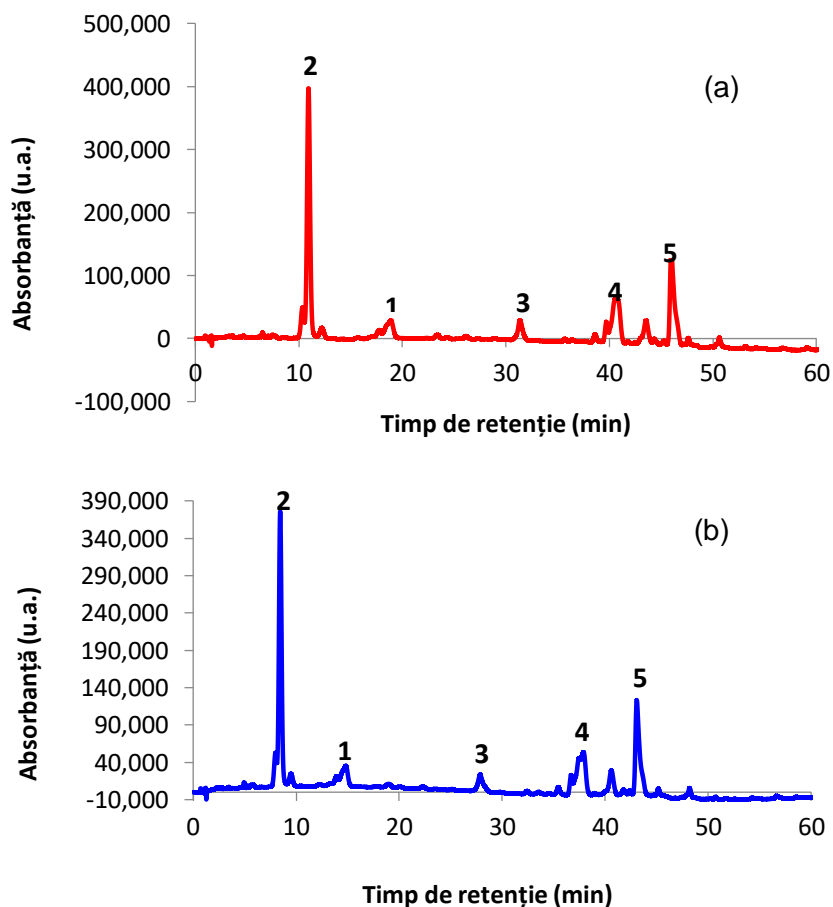
## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

Așa cum se observă din datele prezentate în Tabelul 5.2, valoarea activității antioxidante a extractelor a fost diferită în cazul celor două extracte evaluate, cele mai bune rezultate fiind obținute de extracția cu acidul acetic, acetona și apă pentru inhibiția ambilor radicali liberi DPPH și ABTS. Astfel, extractul E1 a prezentat o valoare a inhibiției de  $4,36 \pm 0,01\%$  față de radicalul liber ABTS și o valoare a inhibiției de  $92,00 \pm 0,42\%$  față de radicalul DPPH.

Pentru extractul E2, s-au evidențiat rezultate semnificativ mai mici ale inhibiției ( $p < 0,05$ ), de  $3,81 \pm 0,02\%$  față de radicalul liber ABTS și de  $61,01 \pm 0,42\%$  inhibiție față de radicalul liber DPPH. Valorile obținute de mulți cercetători sunt diferite dar pot fi omologate între ele prin corelarea metodei de extracție cu solventului folosit.

### Analiza cromatografică a extractelor de cătină

Pentru caracterizarea profilului fitochimic a carotenoidelor din extracțiile obținute, a fost analizat profilul cromatografic prin metoda de cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC) (Figura 5.4). Tehnica HPLC a permis identificarea a cinci compuși carotenoidici prezenți în ambele extracte (Figura 5.4). Diferența dintre profilurile cromatografice ale celor două extracte constă în cantitatea de compuși cuantificată



**Figura 5.4.** Profilul cromatografic al carotenoidelor din extractele de fructe de cătină liofilizate E1 (a) și E2 (b): peak 1—astaxantină; peak 2—zeaxantină; peak 3— $\beta$ -criptoxantină; peak 4—licopen; peak 5— $\beta$ -caroten.

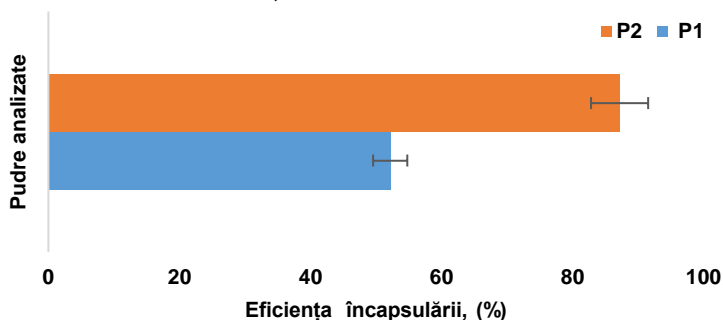
## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

Astfel, în extractul E1 au fost determinate: 0,81 mg/g s.u. astaxantină, 5,11 mg/g s.u. zeaxantină, 0,43 mg/g s.u.  $\beta$ -criptoxantină, 0,96 mg/g s.u. licopen și 2,71 mg/g s.u.  $\beta$ -caroten (Figura 5.4a).

În cazul extractului E2, cantitățile de carotenoide cuantificate au avut valori mai mici, după cum urmează: 0,56 mg/g s.u. astaxantină, 4,74 mg/g s.u. zeaxantină, 0,55 mg/g s.u.  $\beta$ -criptoxantină, 0,98 mg/g s.u. licopen și 1,31 mg/g s.u.  $\beta$ -caroten (Figura 4b).

### 5.6.2. Evaluarea profilului fitochimic al pudrelor de cătină

În acest studiu, compușii bioactivi din cătină au fost încapsulați prin coacervare complexă, folosind proteina din izolatul proteic din zer și polizaharida carboximetilceluloză.



**Figura 5.5.** Eficiența încapsulării pudrelor obținute prin încapsularea extractului de fructe de cătină

Pentru ambele pulberi analizate P1 și P2, s-a folosit aceeași cantitate de 0,5 g de extract. Pentru o mai bună dispersie a compușilor carotenoidici și luând în considerare profilul lor lipofil, extractele au fost amestecate cu ulei de floarea soarelui. Caracterizarea extractului microîncapsulat de cătină a fost realizată prin cuantificarea conținutului de licopen (LC), conținutului de  $\beta$ -caroten ( $\beta$ C), conținutului total de carotenoide (CT), conținutului total de flavonoide (CFT), conținutului total de polifenoli (CPT) și a activității antioxidante (AA). Rezultatele obținute în urma acestor experimente sunt prezentate în Tabelul 5.3.

În acest studiu extractele au fost încapsulate în CMC (carboximetil celuloză) și IPZ (izolat proteic din zer) folosind metoda de coacervare complexă, urmată de liofilizare pentru a obține pulberi cât mai stabile. Din datele prezentate în Figura 5.5, se observă că eficiența de încapsulare a pudrei P1 a fost semnificativ mai mică comparativ cu eficiența de încapsulare a pudrei P2 ( $p < 0,05$ ). Rezultatele obținute în acest studiu sunt în acord cu cele raportate de alți cercetători

Cea mai mare eficiență de încapsulare a carotenoidelor a fost pentru pudra P2 încapsulată în izolat proteic din zer și carboximetil celuloză, cu valori de  $87,23 \pm 0,05$  % pentru pudra P2 și de  $52,20 \pm 1,60$ % pentru pudra P1. Ambele pudre au fost obținute în condiții similare, dar cu extracte diferite respectiv E1 (obținut cu amestecul de solvenți acid acetic, acetona și apă) și E2 (obținut cu apă). Valori mai mari ale eficienței încapsulării carotenoidelor pentru pudra P2 se datorează profilului hidrofil al extractului, ceea ce demonstrează că matricele alese se pretează profilului extractului obținut.

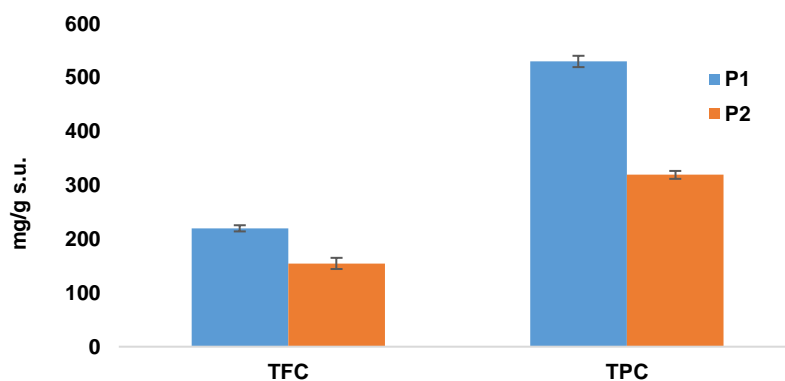
**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată**

**Tabel 5.3.** Profilul fitochimic al pudrelor obținute prin încapsularea extractelor din fructele de cătină liofilizate

Caracterizarea fitochimică a pudrelor	Pudra P1	Pudra P2
Conținutul de lycopen (mg LC/g s.u.)	1,22 ± 0,01 <sup>e</sup>	0,86 ± 0,02 <sup>f</sup>
Conținutul de β-caroten (mg βC/g s.u.)	0,63 ± 0,03 <sup>f</sup>	0,98 ± 0,05 <sup>f</sup>
Conținutul total de carotenoide (mg CT/g s.u.)	2,13 ± 0,03 <sup>e</sup>	1,14 ± 0,04 <sup>f</sup>

Valorile care nu au în comun o literă pe același rând sunt semnificativ diferite ( $p < 0,05$ ) conform testului Tukey, 95% încredere

Conform rezultatelor obținute cel mai mare conținut de caroteni totali a fost raportat pentru pudra P1 fiind de 2,13 ± 0,03 mg CT/g s.u, ceea ce este în concordanță cu valorile obținute pentru extractul E1 folosit pentru microîncapsularea carotenilor (Tabel 5.2.).

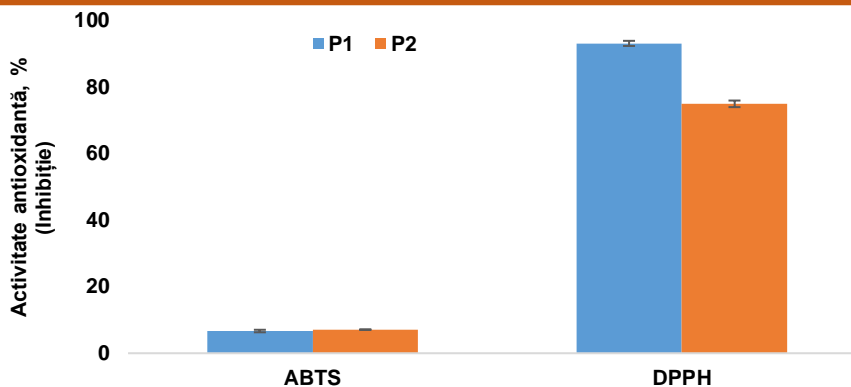


**Figura 5.7.** Conținutul total de flavonoide (TFC, mg EC/g s.u.) și polifenoli (TPC mg EAG/g s.u.) din pudrele P1 și P2

Rezultatele studiului de față demonstrează că, utilizarea izolatului proteic din zer și a catrboximetilcelulozei în calitate de materiale de încapsulare sunt potrivite pentru microîncapsularea extractului obținut din cătină liofilizată.

Conținutul total de polifenoli și flavonoide pentru pudra P1 a fost de 529,84 ± 10,54 mg EAG/g s.u și respectiv de 219,86 ± 5,71 mg EC/g s.u. (Figura 5.7.) Aceste rezultate fiind comparativ mai mari față de cele obținute pentru pudra P2 cu valori ale CPT de 319,14 ± 7,37 mg EAG/g s.u și ale CFT de 154,68 ± 10,36 mg EC/g s.u. Valorile obținute sunt în concordanță cu conținutul total de polifenoli și conținutul total de flavonoide ale extractelor folosite pentru încapsularea compușilor biologic activi din fructele de cătină. Astfel, această corelare a conținutului total de polifenoli din extract cu valorile CPT din pudre, se datorează probabil formării legăturilor OH din inelul aromatic fenolic cu proteinele din zer.

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată



**Figura 5.8.** Activitatea antioxidantă a pudrelor de cătină P1 și P2 prin metoda radicalului liber ABTS și radicalului liber DPPH

Activitatea antioxidantă a pudrelor a fost cuantificată prin două metode diferite de captare a radicalilor liberi DPPH și ABTS (Figura 5.8.). Din rezultatele obținute se poate afirma că metoda de determinare a activității antioxidante prin captarea radicalului liber DPPH se pretează mai bine pentru pudrele obținute datorită profilului hidrofili al încapsulatelor. Astfel prin metoda de captare a radicalului liber DPPH s-au obținut valori pentru pudra P1 de  $93,05 \pm 0,77\%$  inhibiție a radicalului DPPH și respectiv de  $74,90 \pm 0,99\%$  inhibiție a radicalului liber DPPH pentru pudra P2.

Pudra P1 a prezentat valorile mai mari pentru licopen, caroteni totali, conținut total de polifenoli și conținut total de flavonoide. Conținutul de  $\beta$ -caroten, pe de altă parte, a fost mai mare în pudra P2, precum și activitate antioxidantă de captare a radicalului liber ABTS. Valori comparativ mai mici s-au obținut pentru activitatea antioxidantă de captare a radicalului liber ABTS, comparativ cu rezultatele obținute pentru activitatea antioxidantă de captare a radicalului liber DPPH.

Rezultatele obținute pentru activitatea antioxidantă prin metoda de captare a radicalului liber DPPH au fost de  $295,93$  și  $387,08 \mu\text{M Trolox/g}$  și de  $230,61$  și  $830,36 \mu\text{M Trolox/g}$  pentru metoda de captare a radicalului liber ABTS. Aceasta demonstrează încă odată că aplicarea metodelor de determinare a activității antioxidante utilizând diferiți radicali liberi depinde de profilul fitochimic al matricei analizate și parametrii de încapsulare a compușilor bioactivi.

### 5.6.3. Stabilitatea eficienței de încapsulare a pudrelor de cătină

Valorile eficienței de încapsulare pot prezice stabilitatea în timp a compușilor din interiorul matricei de încapsulare. În Tabelul 5.4. este prezentată variația eficienței încapsulării a carotenoidelor pe parcursul a 180 și 270 de zile de depozitare la temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$  și la întuneric.

Analizând datele prezentate în tabelul 5.4 se observă o ușoară scădere a eficienței încapsulării carotenoidelor în timp pentru ambele pulberi analizate. Astfel, eficiența încapsulării pentru pudra P1 este cu 7% mai mică după 270 de depozitare la temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$  la întuneric, iar eficiența de încapsulare pentru pudra P2 a prezentat o scădere cu 12% a eficienței încapsulării după 270 de zile de depozitare la temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$  la întuneric.

Eficiența de încapsulare (EE) este un prim indicator pentru termenul de valabilitate al pulberilor care conțin carotenoide.

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

**Tabel 5.4.** Eficiența de încapsulare inițială a pulberilor și stabilitatea eficienței de încapsulare după 270 de zile de depozitare

Pudrele	Stabilitatea eficienței de încapsulare, %		
	0 zile	după 180 zile	după 270 zile
P1	52,20 ± 1,60 <sup>b</sup>	49,20 ± 0,02 <sup>b</sup>	48,88 ± 0,01 <sup>b</sup>
P2	87,23 ± 0,05 <sup>a</sup>	80,45 ± 0,03 <sup>a</sup>	76,43 ± 0,01 <sup>a</sup>

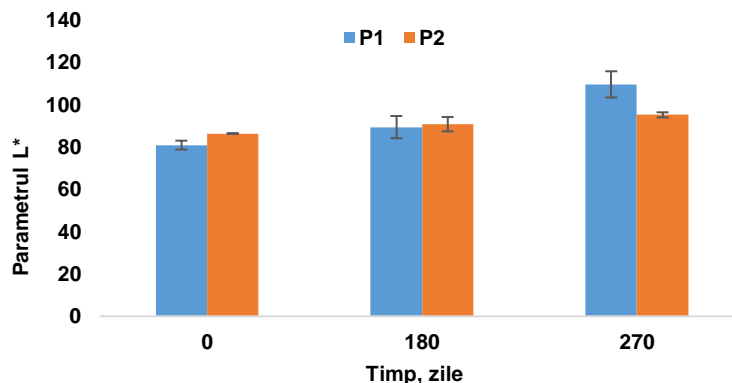
Valorile care nu au în comun o literă pe același rând sunt semnificativ diferite ( $p < 0,05$ ) conform testului Tukey, 95% încredere

Pudrele P1 și P2, pe parcursul depozitării la temperatura camerei fără ambalare (recipiente de sticlă cu staniol), au eliberat ulei, iar oxidarea acestuia ar putea duce la degradarea structurii pudrelor și scăderea eficienței de încapsulare a lor.

### 5.6.4. Analiza colorimetrică și stabilitatea culorii în timp a pudrelor de cătină

Rezultatele analizei colorimetrice a pulberilor sunt prezentate în Figurile 5.8., 5.9. și 5.10. În cadrul analizei colorimetrice au fost determinați următorii parametri: luminozitatea ( $L^*$ ), parametrul  $a^*$  (roșu) și parametrul  $b^*$  (galben), care au fost monitorizați pe parcursul a 270 de zile de depozitare la temperatura de 4°C, la întuneric.

Experimentul a durat 270 de zile, pe parcursul căruia pudrele P1 și P2 au fost depozitate în condiții de refrigerare la temperatura de 4°C în tuburi de sticlă brune, închise ermetic. Din rezultatele obținute putem concluziona că ambele pudre pe parcursul celor 270 zile au avut o creștere a indicelui de luminozitate, adică pudrele au devenit mai deschise la culoare. Acest proces fiind ireversibil și se explică prin degradarea carotenoidelor înglobate în matricele de IPZ și carboximetilceluloză și probabil oxidarea uleiului folosit pentru încapsulare. Degradarea carotenoidelor este strâns legată de dimensiunile sferozomilor de carotenoide înglobate în matricele de încapsulare, de condițiile de stocare a pulberilor, de procesele de oxidare. Cu cât dimensiunea sferozomilor este mai mică, iar materialul de încapsulare mai subțire cu atât degradarea are loc mai repede, implicit ceea ce duce la decolorarea pudrelor.



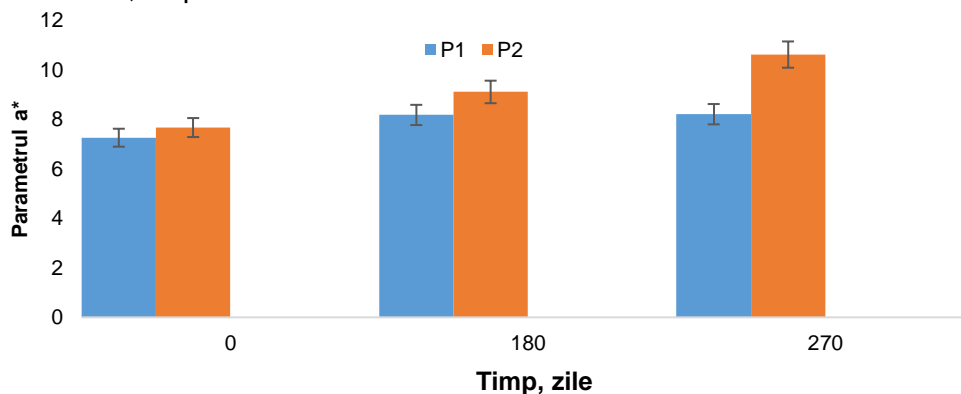
**Figura 5.9.** Stabilitatea luminozității timp de 270 zile pentru pudrele P1 și P2

Din Figura 5.9. se poate concluziona că pudra P1 are o luminozitate mai mare cu aproximativ 29%, iar pudra P2 cu 9% în ziua a 270 de depozitare, față de ziua încapsulării.

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

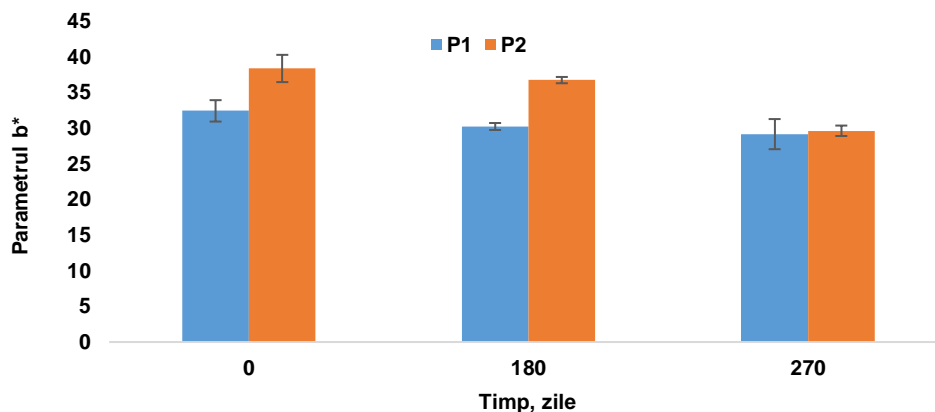
În concluzie putem afirma că procesul de decolorare a pudrelor este strâns legat de matricea de încapsulare și materialul încapsulat.

Parametrul  $a^*$  reprezintă culoarea roșie/verde și reflectă reacțiile de oxidare din pudre pe durata păstrării. Pentru pudra P1 conținutul total de carotenoide prezintă valori de  $2,13 \pm 0,03$  mg CT/g s.u., fiind valori mai mari față de pudra P2 de  $1,14 \pm 0,04$  mg CT/g s.u. Probabil conținutul mai mare de compuși carotenoidici din pudră a dus la o deteriorare mai lentă a culorii pulberilor cu aproximativ o unitate, timp de 270 de zile de stocare.



**Figura 5.10.** Stabilitatea parametrului  $a^*$  timp de 270 zile pentru pudrele P1 și P2

La fel în cazul parametrului de culoare  $L^*$ , definirea parametrului  $a^*$  depinde de materialele de încapsulare și compușii încapsulați.



**Figura 5.11.** Stabilitatea parametrului  $b^*$  timp de 270 zile pentru pudrele P1 și P2

Măsurătorile parametrilor de culoare efectuate în timp arată o scădere semnificativă a parametrului  $b^*$  ( $p < 0,05$ ), care poate fi corelată cu variația eficienței de încapsulare. Acest lucru se poate datora eliberării compușilor din matrice care au dus la degradarea intensității culorii galbene. Pe de altă parte creșterea intensității parametrului  $L^*$ -luminozitatea, de asemenea poate influența nuanța de galben din pudrele microîncapsulate. Valorile parametrului  $b^*$  prezentate în Figura 5.11 arată o intensitate ridicată a culorii galbene inițială pentru ambele pulberi P1 și P2 datorită prezenței carotenoidelor și flavonoidelor din extract, având o valoare ușor mai mare pudra P2.

### 5.6.5. Analiza morfologică și structurală a pudrelor de cătină utilizând microscopia confocală cu laser

Analiza prin microscopia confocală cu laser a celor două probe (Figura 5.12 și Figura 5.13) a vizat clarificarea aspectului morfologic și structural al pulberilor în funcție de metoda de extracție. Pentru analiza probelor, au fost folosite următoarele lasere: laserul Ar (458, 488 și 514 nm) și DSSP (diode în stare solidă pompate cu  $\lambda=561$  nm, deoarece datele din literatură indică intervale de absorbție a carotenoidelor de 448, 476 și 505 nm (Kato și colab., 1991; Marina și colab., 2007)).

Carbhidrații utilizați, în cazul nostru CMC, introduși în matricile de microîncapsulare au prezentat absorbantă între 300 și 400 nm care au fost măsurate de laserul cu diodă (405 nm).

S-au format biofilme fine (marcate în albastru sau verde în funcție de raportul dintre IPZ și biopolimerul polizaharidic) (Figura 5.12). În cadrul matricii de biopolimeri, pot fi văzuți mai mulți pigmenti (în galben-portocaliu) microsferozomi (1–2 $\mu$ m) ancorați în pulberea microîncapsulată. Interacțiunea dintre pigmentii vegetali din fructele de cătină cu compușii polizaharidici din microcapsule nu a provocat modificări asupra absorbției spectrului.

Analiza confocală a probelor după colorarea fluorescentă cu colorant Roșu de Congo a relevat prezența compușilor biologic activi din extractele de fructe de cătină sub formă de sferozomi (marcați în verde) cu diametre diferite cuprinse între 3,83 și 215,78  $\mu$ m. Colorantul Roșu de Congo leagă  $\beta$ -D-glucanii intacti din matricile biopolimerice (McDonald și colab., 2012), precum și peptidele din IPZ (izolat proteic din zer), marcându-le în figura de mai jos în portocaliu (Figura 5.13).

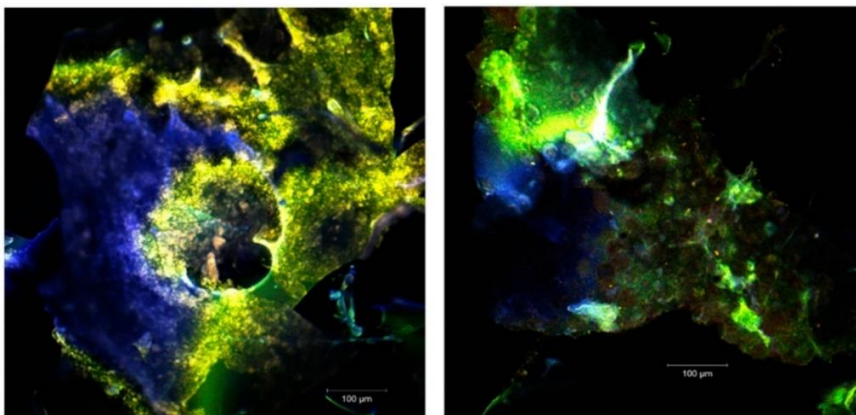


Figura 5.12. Imaginile obținute la microscopul confocal cu scanare laser (MCSL) ale pulberilor native neprelucrate



Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

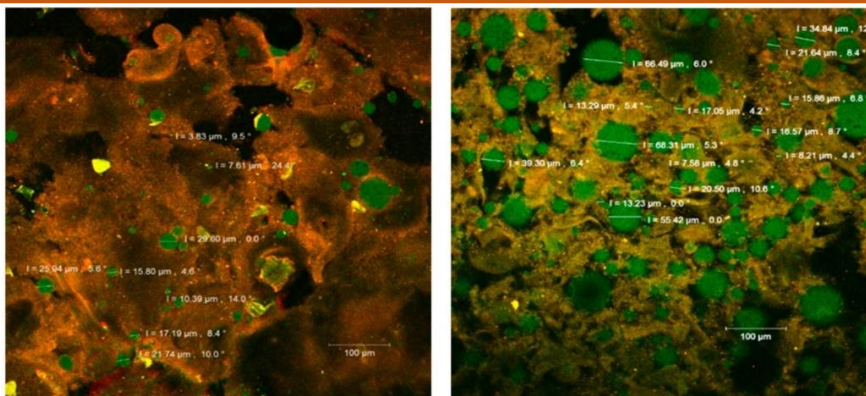


Figura 5.13. Imaginile obținute la microscopul confocal cu scanare laser (MCSL) ale pulberilor cu colorantul fluorofor

Sferozomii mici (<25 µm) sunt vizualizați în pudra P1, în timp ce în pudra P2 sunt de dimensiuni medii. Pudra P2 a prezentat un număr mare de sferozomi de dimensiuni medii, bine individualizați, cu tendința de grupare în clustere și bine stabiliți în matricea folosită de IPZ și CMC.

### 5.6.6. Digestibilitatea *in vitro* a pudrelor obținute din extract de cătină

S-a studiat digestibilitatea pudrelor de cătină încapsulate, în condiții de digestie *in vitro*. În Figura 5.14 și Figura 5.15 este reprezentat procentul de eliberare a CT(caroteni totali), βC(β-caroteni) și LC(licopen) din pulberile P1 și P2 la nivel gastrointestinal.

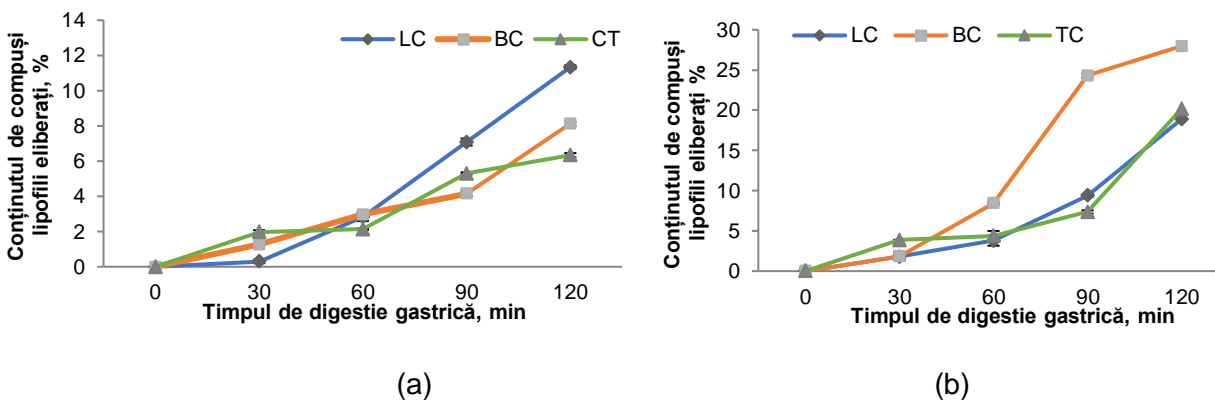


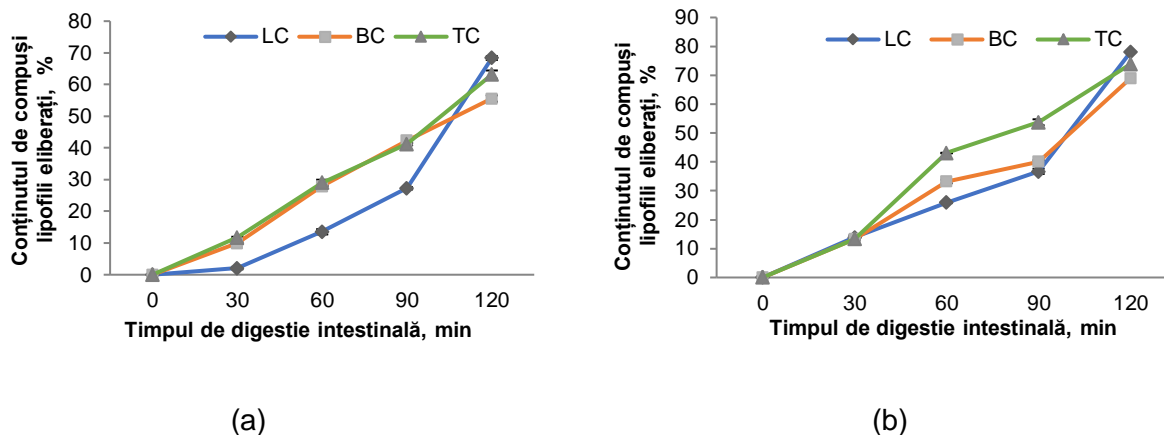
Figura 5.14. Conținutul de compuși lipofili eliberați din pudra P1 (a) și pudra P2 (b) în timpul digestiei gastrice *in vitro*

Rezultatele obținute pentru digestibilitatea *in vitro* realizată în suc gastric simulat au arătat că materialele de încapsulare prezintă un efect protector asupra compușilor lipofili, în special în cazul pudrei P1. Cu toate acestea, a fost observată o ușoară eliberare a compușilor lipofili pentru ambele pulberi în sucul gastric simulat. Conținutul de licopen în pudra P1 după 120 minute de



## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

digestie a prezentat cea mai mare eliberare dintre toți compușii analizați fiind de  $11,33 \pm 0,11\%$  (Figura 5.14a).



**Figura 5.15.** Conținutul de compuși lipofili eliberați din pudra P1 (a) și pudra P2 (b) în timpul digestiei intestinale in vitro

$\beta$ -carotenul și carotenoidele totale eliberate după 120 de minute de digestie gastrică au avut valori de  $8,12 \pm 0,1\%$  și respectiv de  $6,33 \pm 0,12\%$ . În cazul pudrei P2,  $\beta$ -carotenul a prezentat cea mai mare eliberare din toți compușii analizați având valori de  $27,97 \pm 0,26\%$  după 120 de minute (Figura 5.14b).

În condițiile digestiei intestinale simulate, rezultatele arată că se eliberează o cantitate maximă de compuși lipofili după 120 minute de digestie (Figura 5.15). Astfel, pudra P1 a prezentat valori de  $55,59 \pm 0,99\%$ ,  $63,14 \pm 1,3\%$  și  $68,36 \pm 0,62\%$  pentru eliberarea  $\beta$ C, CT și LC, după 120 de minute de digestie (Figura 5.15a). Pudra P2 a prezentat valori ale eliberării compușilor mai mari de  $68,98 \pm 0,41\%$  pentru  $\beta$ -caroteni,  $73,86 \pm 1,03\%$  pentru caroteni totali și  $78,01 \pm 0,91\%$  pentru lycopen după 120 de minute de digestie (Figura 5.15b). Rezultatele sunt în acord cu alte studii prezente în literatura de specialitate.

### 5.7. Concluzii parțiale

Obiectivul principal al acestui studiu a fost de a valorifica extractele bogate în compuși bioactivi din fructele de cătină, precum și configurarea unor modalități de creștere a stabilității și biodisponibilității compușilor bioactivi din fructele de cătină. Compușii biologic activi din fructele de cătină *Hippophae rhamnoides L.* au fost extrași utilizând metoda de extracție asistată de ultrasunete. Rezultatele obținute au permis elaborarea următoarelor concluzii:

S-au folosit diferiți solvenți polari pentru a extrage o cantitate cât mai mare de compuși bioactivi lipofili și hidrofili. Extracția compușilor bioactivi a fost realizată cu un amestec de solvenți precum acid acetic glacial, acetonă, apă pentru E1 și apă pentru extractul E2. Prin adăugarea de acid acetic și acetonă în apă, s-au obținut valori mai ridicate ale conținutului de carotenoide și polifenoli totali în extractul E2.

Profilul cromatografic al ambelor extracte a relevat prezența a cinci compuși lipofili, zeaxantina fiind în concentrația cea mai mare. În urma separării și identificării cromatografice a carotenoidelor din extractul de fructe de cătină cei doi compuși cu concentrație majoritară au fost

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

---

zeaxantina și  $\beta$ -carotenul. De asemenea în ambele extracte au fost identificate licopenul,  $\beta$ -criptoxantina și astaxantină în ordinea descrescătoare a concentrației.

Pentru a crește stabilitatea și biodisponibilitatea compușilor bioactivi, ambele extracte au fost încapsulate într-o matrice de încapsulare compusă din CMC și IPZ. Pentru a obține pulberile cu extract de cătină a fost utilizată tehnica de încapsulare coacervarea complexă, urmată de liofilizare. Caracterizarea compușilor fitochimici a arătat că ambele pulberi au prezentat un conținut ridicat de compuși bioactivi lipofili și hidrofilii. Deși pulberea P2 a prezentat cea mai mare eficiență a încapsulării, pulberea P1 s-a remarcat prin cel mai mare conținut în compuși fitochimici.

Pulberea P2 a prezentat cea mai mare intensitate a culorii galbene, fiind corelată cu conținutul ridicat de compuși bioactivi. Imaginile obținute prin microscopie confocală, au dezvăluit că tehnica de coacervarea complexă și liofilizare a condus la obținerea unor microcapsule scalariforme. Din analiza MCSL se poate afirma faptul că, compușii bioactivi din cătină au structuri complexe sub forma unor microsferozomi de culoare galben-portocaliu (după colorare). Sferozomii identificați în pudra P1 au avut dimensiuni mici de 25  $\mu$ m, în timp ce în pudra P2, sferozomii au prezentat dimensiuni medii, evidențiați prin tendința de formare a unor clustere în matricea de izolat proteic din zer și carboximetilceluloză.

S-a realizat de asemenea digestibilitatea *in vitro* a pudrelor din cătină pentru a testa funcționalitatea acestora. Ambele pulberi au prezentat o eliberare substanțial mai mare a compușilor lipofili în sucul intestinal simulat, însă la pudra P2 s-a remarcat cea mai mare eliberare de compuși bioactivi. Aceste rezultate sugerează că, în ciuda diferențelor dintre pulberi, ambele ar putea fi utilizate în aplicații alimentare ca posibili agenți de livrare a compușilor bioactivi țintă (carotenoide și polifenoli).

Rezultatele obținute pot oferi dovezi cu privire la modul în care compușii biologic activi vizați din cătină pot fi utilizați în dezvoltarea ingredientelor funcționale pentru aplicații multiple. Pulberile obținute exercită activități biologice demonstrate în acest studiu și acestea le fac potrivite pentru aplicații multiple ca ingrediente cu valoare adăugată, putând fi utilizate cu succes în industria alimentară, industria textilă, cosmetică și farmaceutică.

## CAPITOLUL 6. UTILIZAREA UNOR INGREDIENTE ÎNCAPSULATE PE BAZĂ DE CAROTENOIDE EXTRASE DIN CĂTINĂ PENTRU OBȚINEREA SOSULUI DE MAIONEZĂ CU VALOARE ADĂUGATĂ

### 6.1 Introducere

În ciuda tuturor avantajelor și beneficiilor pe care le aduce îmbogățirea alimentelor cu extracte vegetale, încorporarea directă a extractelor de plante de cătină în alimentele procesate este încă o provocare. Condițiile actuale de procesare ale alimentelor precum și interacțiunea cu alți constituenți ai alimentelor pot conduce la degradarea carotenoidelor. Tehnica de încapsulare este cea mai bună abordare pentru a le crește stabilitatea și biodisponibilitatea compușilor biologici activi. Procesul de încapsulare a fost definit ca fiind un proces care asigură stabilitatea unei substanțe specifice prin captarea acesteia într-un alt material, evitând astfel contactul cu orice factor extern care poate duce la degradare (de Freitas Santos și colab., 2021).

Sosurile sunt consumate în întreaga lume și sunt asociate cu diverse alimente datorită influenței lor pozitive asupra gustului și culorii. Cel mai cunoscut sos este maioneza. Maioneza reprezintă o emulsie rece ulei-în-apă (U/A) compusă în principal din gălbenuș de ou și ulei vegetal. Din punct de vedere nutrițional, are valoare energetică ridicată datorită grăsimilor folosite, dar aduce și vitamine, proteine și minerale (Khalid, și colab.,2021).

Maioneza este bogată în acizi grași nesaturați, ceea ce o face sensibilă la procesul de oxidare. Acest proces ar putea elibera compuși toxici, cum ar fi radicalii liberi, care pot afecta sănătatea consumatorului, proprietățile senzoriale și stabilitatea în timpul depozitării. Oxidarea maionezei ar putea fi prevenită prin adăugarea de antioxidanți naturali din extracte de plante (Khalid, și colab.,2021).

### 6.2 Obiectivele studiului

Obiectivele științifice ale prezentului studiu au fost:

- Extracția carotenoidelor din fructele de cătină, urmată de caracterizare privind conținutul fitochimic și activitatea antioxidantă.
- Încapsularea extractelor de cătină prin coacervare complexă și liofilizare folosind diferite matrici de încapsulare. Pulberile obținute au fost caracterizate în ceea ce privește eficiența încapsulării, conținutul fitochimic, activitatea antioxidantă, stabilitatea la depozitare, culoarea, structura morfologică și digestibilitatea *in vitro*.
- Obținerea unui sos de maioneză cu valoare adăugată prin încorporarea pudrei de cătină și caracterizarea acestuia. Probele de maioneză obținute au fost caracterizate din punct de vedere al compușilor fitochimici și al activității antioxidante precum și din punct de vedere al proprietăților lor de textură, culoare și senzoriale dar și stabilitatea compușilor fitochimici la depozitare.

### 6.8 Rezultate și discuții

#### 6.8.1 Caracterizarea fitochimică a extractului de fructe de cătină

Carotenoidele din fructele de cătină au fost extrase prin metoda asistată cu ultrasunete, folosind ca solvenți o combinație de etanol și hexan. Extractul (E) rezultat a fost analizat fitochimic

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

și, în continuare, încapsulat în două matrici de încapsulare diferite compuse din IPZ și CMC pe de o parte și alginat, agar și chitosan pe de altă parte. Astfel, au rezultat două pulberi, codificate P1 și respectiv P2.

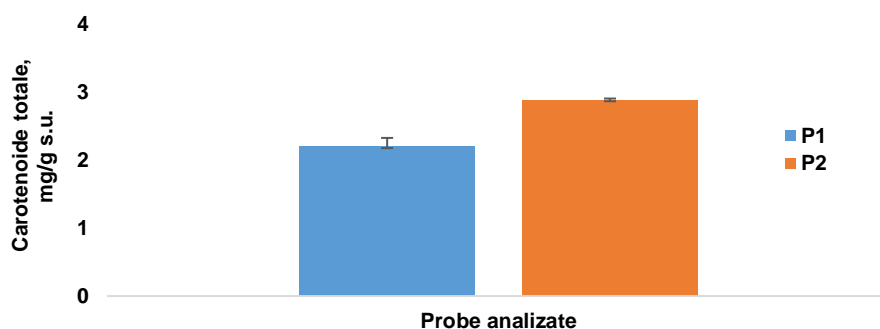
A fost cuantificat conținutul total de carotenoide din extractul de fructe de cătină cu o valoare de  $32,33 \pm 1,52$  mg CT/g s.u. și o activitate antioxidantă utilizând metoda de captare a radicalului liber ABTS de  $422,03 \pm 1,33$   $\mu$ M Trolox /g s.u. extract.

### 6.8.2 Caracterizare fitochimică a pudrelor de cătină

În prezentul studiu, compușii biologic activi din extract au fost încapsulați prin coacervarea complexă, urmată de uscare prin liofilizare. Pudrele obținute au fost caracterizate fitochimic și din punct de vedere al eficienței de încapsulare.

#### Conținutul total de carotenoide

Din analiza rezultatelor obținute prezentate în Figura 6.2, se observă că utilizarea combinației de matrici de încapsulare ca alginat, agar și chitosan (P2) a captat cantități mai mari de carotenoide din extractul de cătină, prezentând și valori a eficienței de încapsulare (EE) semnificativ mai mari în comparație cu varianta P1 cu izolat proteic din zer și carboximetilceluloză ( $p < 0,05$ ).



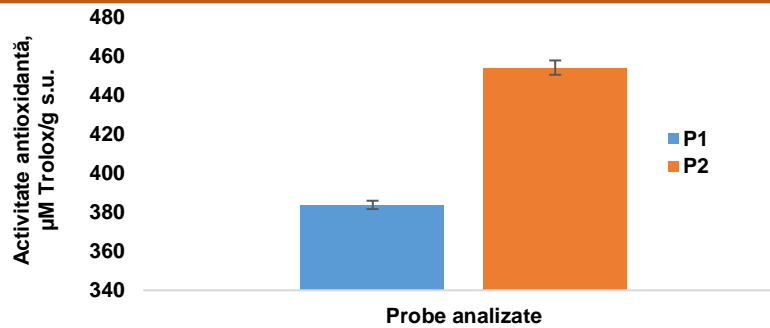
**Figura 6.2.** Conținutul de carotenoide totale al celor două pudre P1 și P2

Astfel, s-au obținut valori de  $2,20 \pm 0,13$  mg CT/g s.u. și  $2,89 \pm 0,02$  mg CT/g s.u. pentru carotenoidele totale.

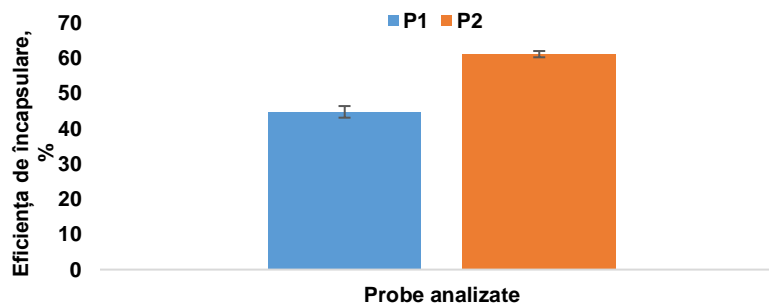
#### Activitatea antioxidantă

Această diferență a conținutului de carotenoide dintre cele două pudre se reflectă și în activitatea antioxidantă a pudrelor (Figura 6.3). În ceea ce privește activitatea antioxidantă, pudrele P1 și P2 au prezentat valori de  $383,73 \pm 2,14$   $\mu$ M Trolox/g s.u. pentru pudra P1 și, respectiv,  $454,04 \pm 3,67$   $\mu$ M Trolox/g s.u. pentru pudra P2.

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată



**Figura 6.3.** Activitatea antioxidantă a celor două pudre P1 și P2 obținute din extractul de cătină



**Figura 6.4.** Eficiența de încapsulare a celor două pudre P1 și P2 obținute din extractul de cătină

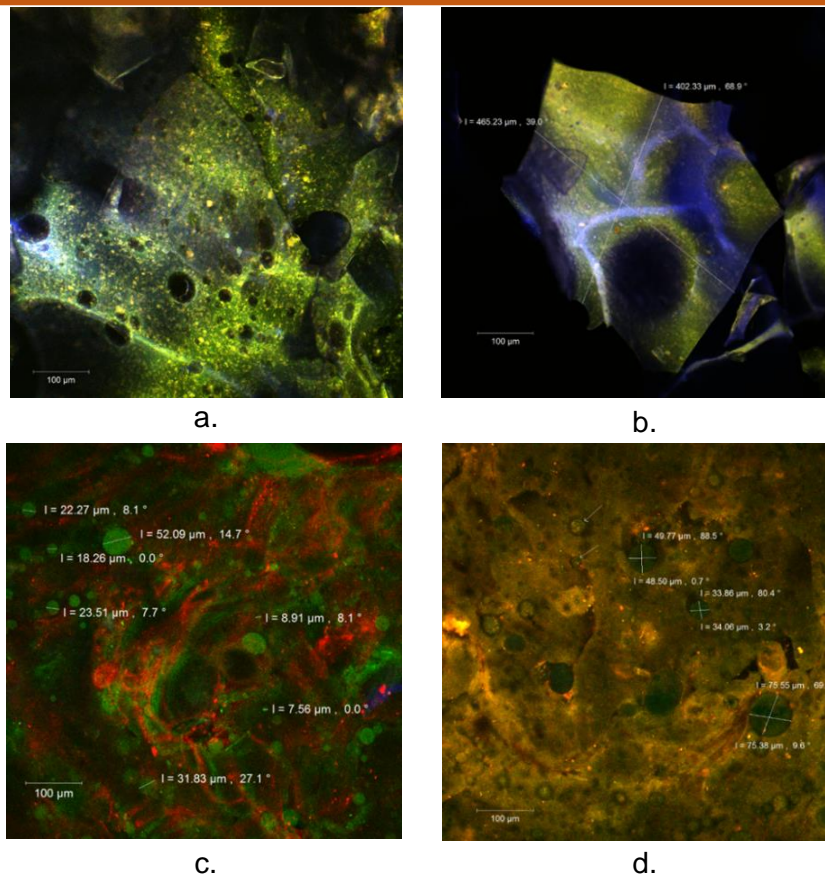
Ambele pudre au prezentat valori de 44,78% pentru pudra P1 și respectiv de 61,17% pentru pudra P2, pentru eficiența de încapsulare a carotenoidelor (Figura 6.4).

### 6.8.3 Analiza structurii morfologice a microcapsulelor prin MCSL

Morfologia microcapsulelor a fost evaluată prin microscopie cu scanare laser punct cu punct, iar imaginile 3D rezultate sunt prezentate în Figura 6.5.

În forma nativă, s-au format biofilme fine de culoare albastră sau verde în funcție de raportul de IPZ sau de polizaharide. Carotenoidele din extractul de cătină s-au ancorat în matricea de încapsulare sub formă de microsferozomi de culoare galben până la portocaliu (1-2 μm) (Figura 6.5 a, b).

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată



**Figura 6.5.** Imaginile microscopiei de scanare laser confocală (MCSL) ale pulberilor native, necolorate (a, b) și colorate cu fluorofor (c, d)

După colorarea pudrelor cu fluorofor Roșu de Congo (Figura 6.5 c, d), carotenoidele din extract apar sub formă de sferozomi verzi de dimensiune medii de 7,56 μm până la 75,55 μm în ambele pulberi. Compușii carotenoidici sunt bine individualizați și stabili în matricele de încapsulare, dar cu tendința de a se grupa în clustere. Rezultatele sunt în concordanță cu eficiența de încapsulare a carotenoidelor pentru pudra P2, de unde se observă că matricile utilizate au expus noi situsuri de legare hidrofobe pentru carotenoide, asigurând o încapsulare mai eficientă a compușilor biologic activi ai cătinii.

### 6.8.4 Analiza culorii pudrelor de cătină

Parametrii de culoare ai pudrelor sunt prezentați în Tabelul 6.1. S-au observat diferențe semnificative între pulberi pentru toți parametrii colorimetrici analizați ( $p < 0,05$ ). Aceste constatări sugerează că matricea de încapsulare a avut o influență notabilă asupra culorii pulberilor ( $p < 0,05$ ).

Valorile  $L^*$  și  $b^*$  sugerează că ambele pulberi au o luminozitate și un galben mai intens specifice culorii compușilor carotenoidici. Se poate afirma faptul că utilizarea combinației de polizaharide precum alginat, agar și chitosan, în calitate de material pentru încapsulare a conferit o nuanță de galben semnificativ mai mare în comparație cu izolatul proteic din zer și carboximetilceluloza ( $p < 0,05$ ).



**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată**

**Tabel 6.1.** Parametrii colorimetrici pentru cele două pudre testate

Probă	Parametrii colorimetrici		
	L*	a*	b*
P1	73,58 ± 0,04 <sup>b</sup>	8,99 ± 0,02 <sup>a</sup>	52,41 ± 0,59 <sup>b</sup>
P2	92,09 ± 0,64 <sup>a</sup>	4,28 ± 0,05 <sup>b</sup>	62,45 ± 1,47 <sup>a</sup>

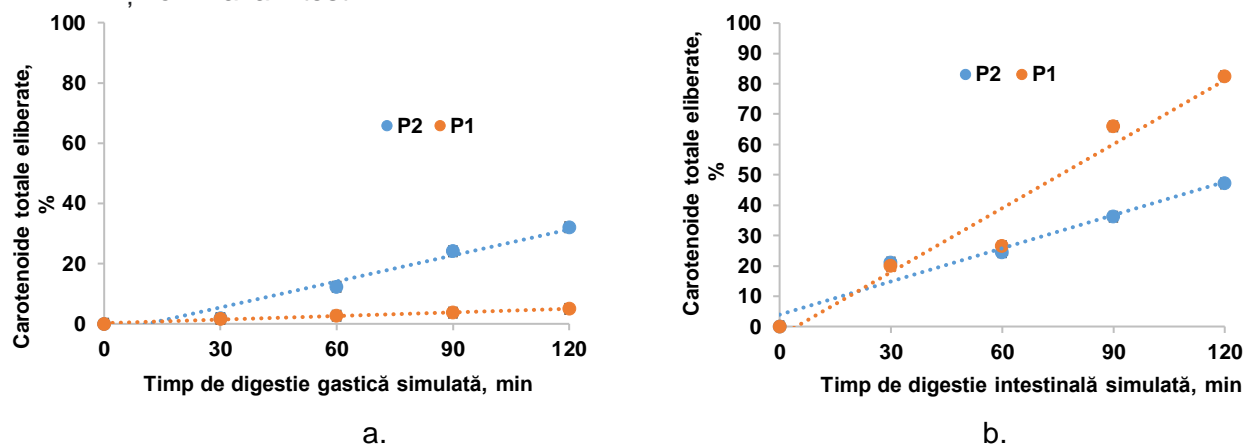
L\* -luminozitate, a\* - roșu, b\*-galben; Mediile de pe fiecare coloană care nu au în comun o literă la exponent sunt semnificativ diferite conform testului Tukey, p < 0,05.

Astfel, P2 reprezintă cea mai deschisă și cea mai galbenă probă dintre cele două obținute, deși parametrul a\*(culoarea roșie) are o valoare de numai 4,28 ± 0,05. În plus, valoarea parametrului b\*(galben) a pulberii P2 în comparație cu pudra P1 poate fi corelată cu concentrația mai mare de carotenoide (p < 0,05). Valoarea pozitivă a parametrului b\* poate fi asociată cu conținutul de caroteni care imprimă fructelor de cătină o colorație galben-portocalie, nuanță imprimată de extractul de cătină și în pudra de fructe de cătină și mai apoi și în sosul de maioneză.

**Digestibilitatea simulată *in vitro* a carotenoidelor totale din pudre**

Procentul de carotenoide eliberate în timpul digestiei gastrointestinale simulată *in vitro* timp de două ore este prezentat în figura 6.6. O eliberare semnificativă a carotenoidelor din matrice a fost observată în faza gastrică pentru pudra P2, cu un maxim de 32,07 ± 0,05 % după 60 de minute de digestie (Figura 6.6a). Pudra P1 a prezentat cea mai mare stabilitate în faza gastrică simulată, având o eliberare maximă de carotenoide de 4,94 ± 0,07 % după 120 min de digestie (Figura 6.6.b). Se observă că, deși pudra P2 a prezentat cea mai mare eficiență de încapsulare, are o stabilitate puțin mai mică în SGS (suc gastric simulat) în comparație cu pudra P1.

Carotenoidele din ambele pulberi au fost eliberate treptat în mediul intestinal (Figura 6.6.b). Pudra P1 a prezentat o eliberare maximă de 82,47 ± 0,22 %, în timp ce P2 a prezentat o eliberare de numai 47,14 ± 0,44 % după 2 ore de digestie. Prin urmare, microîncapsularea carotenoidelor într-un amestec de proteine și polizaharide a întârziat eliberarea compușilor în faza gastrică și a îmbunătățit-o în faza intestinală.



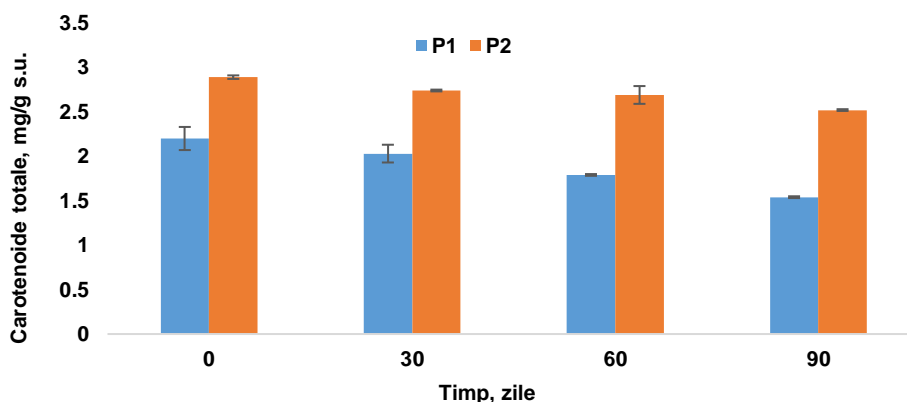
**Figura 6.6.** Eliberarea totală de compuși carotenoidici din pudre în timpul digestiei gastrice (a) și intestinale(b) simulate *in vitro*

### 6.8.5 Stabilitatea compușilor fitochimici și a culorii pudrelor de cătină

Pentru evaluarea stabilității carotenoidelor microîncapsulate din cătină, pudrele au fost păstrate la întuneric, la temperatura de 4 °C timp de 90 de zile. La fiecare 30 de zile, s-au măsurat conținutul total de carotenoide, activitatea antioxidantă și parametrii de culoare. În Figurile 6.8. și 6.9 sunt prezentate datele obținute la caracterizarea fitochimică a pulberilor depozitate timp de 90 de zile la întuneric și la temperatura de 4 °C.

Analizând datele din Figura 6.7. și cele din Figura 6.8. se observă că există o variație a conținutului total de carotenoide și a valorii activității antioxidante pe parcursul celor 90 de zile de depozitare.

În ambele probe a avut loc o degradare semnificativă a carotenoidelor ( $p < 0,05$ ) (Figura 6.8.). Astfel, la pudra P1 s-a observat o scădere a conținutului de CT de 30% și de 13% a activității antioxidante, probabil din cauza procesului de oxidare. O scădere semnificativă a conținutului de CT și a activității antioxidante a fost de asemenea observată și în cazul pudrei P2 de aproximativ 13% pentru conținutul de CT, respectiv 11 % pentru activitatea antioxidantă ( $p < 0,05$ ).



**Figura 6.7.** Stabilitatea la depozitare a conținutului de carotenoide totale din pudrele analizate (P1 = pulbere cu 2 % WPI și 2 % CMC; P2 = pulbere cu 4 % alginat, 1% agar și 4% chitosan)

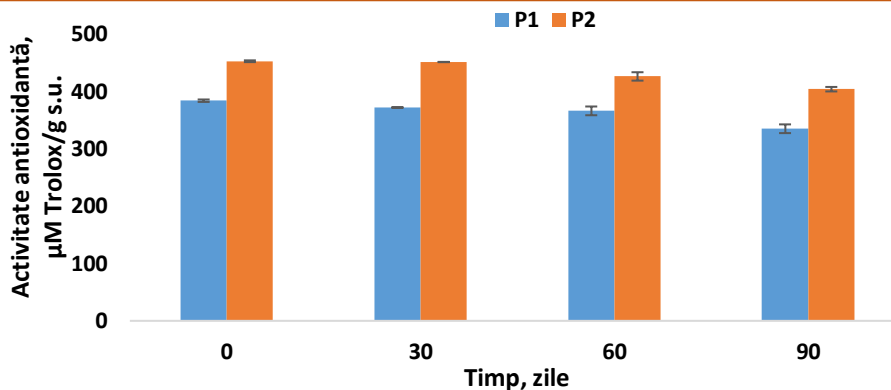
Din datele prezentate în Figura 6.8. se poate observa, de asemenea, că amestecul de poliglucide din matricea de încapsulare a pudrei P2 a avut o stabilitate mai bună în comparație cu amestecul format din proteine și polizaharide a pudrei P1. Rezultatele obținute sunt conforme cu alte studii care au raportat degradarea carotenoidelor după depozitarea extractelor de plante microîncapsulate.

Stabilitatea la depozitare a pudrelor este în concordanță cu degradarea colorimetrică a parametrului  $b^*$  și scăderea activității antioxidante.

Din Figura 6.7. și Figura 6.8. se poate observa că după 90 de zile de depozitare, pudra P2 rămâne pudra cu cea mai mare activitate antioxidantă și conținut total de carotenoide.



**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată**



**Figura 6.8.** Evoluția activității antioxidante a pudrelor analizate (P1 = pulbere cu 2 % WPI și 2 % CMC; P2 = pulbere cu 4 % alginat, 1% agar și 4% chitosan) în timpul depozitării

Evaluând activitatea antioxidantă a pudrelor P1 și P2 în perioada de depozitare (90 zile) la 4°C la întuneric, s-a observat o reducere a AA pentru pudra P1 de 13% și respectiv 11% pentru pudra P2.

Au fost măsurate și modificările parametrilor de culoare în timpul depozitării pudrelor P1 și P2, acestea fiind prezentate în Tabelul 6.2. Datele prezentate în Tabelul 6.2. sugerează faptul că atât perioada de depozitare cât și natura agentului de încapsulare au influențat semnificativ modificarea parametrilor de culoare în ambele pulberi analizate. De asemenea s-a observat și vizual o degradare treptată a culorii galbene în ambele pudre pe parcursul a 90 de zile de depozitare, evidențiată prin scăderea semnificativă a valorilor parametrului b\* (p < 0,05).

**Tabel 6.2.** Stabilitatea culorii pudrelor testate după 90 de zile de depozitare

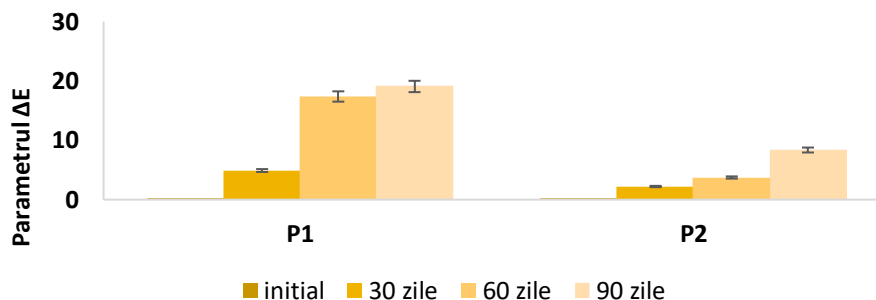
Pudra	Perioada de depozitare, zile	Parametri colorimetrici		
		L*	a*	b*
P1	0	73,58 ± 0,04 <sup>c</sup>	8,99 ± 0,02 <sup>b</sup>	52,41 ± 0,59 <sup>a</sup>
	30	78,02 ± 0,14 <sup>b</sup>	9,35 ± 0,36 <sup>a</sup>	50,37 ± 0,51 <sup>ab</sup>
	60	90,53 ± 0,05 <sup>a</sup>	9,43 ± 0,35 <sup>b</sup>	48,61 ± 0,55 <sup>b</sup>
	90	91,30 ± 0,52 <sup>a</sup>	10,93 ± 0,89 <sup>a</sup>	45,64 ± 0,47 <sup>c</sup>
P2	0	92,09 ± 0,64 <sup>b</sup>	4,28 ± 0,05 <sup>d</sup>	62,45 ± 1,47 <sup>a</sup>
	30	92,88 ± 1,08 <sup>b</sup>	5,32 ± 0,31 <sup>c</sup>	60,67 ± 0,38 <sup>ab</sup>
	60	92,40 ± 0,55 <sup>b</sup>	6,43 ± 0,19 <sup>b</sup>	59,42 ± 0,31 <sup>ab</sup>
	90	98,82 ± 1,01 <sup>a</sup>	6,94 ± 0,04 <sup>a</sup>	58,26 ± 0,50 <sup>b</sup>

L\* -luminositate, a\* - parametru responsabil de culoarea roșie, b\*- parametru responsabil de culoarea galbenă; Mediile de pe fiecare coloană care nu au în comun o literă la exponent sunt semnificativ diferite conform testului Tukey, p < 0,05.

Cu toate acestea, luminositatea L\* și parametrul a\* specific ambelor pudre au crescut semnificativ în timpul perioadei de depozitare (p < 0,05).

În prezentul studiu pentru pudra P1, valoarea parametrului b\* (galben) a scăzut cu 13%, în timp ce la pudra P2 reducerea a fost de numai 7%. Degradarea parametrului b\* (galben) este corelată direct cu degradarea compușilor carotenoidici din pudre și cu activitatea antioxidantă. În schimb, luminositatea și parametrul a\* (roșu) au prezentat valori mai ridicate cu 20% și 18% în cazul pudrei P1 și cu aproximativ 9% și 38% în cadrul pudrei P2.

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată



**Figura 6.9.** Evoluția modificării totale a culorii ( $\Delta E$ ) a pudrelor analizate în timpul depozitării

Modificarea totală a culorii ( $\Delta E$ ) în timpul depozitării pudrelor este prezentată în figura 6.9. din care se poate concluziona că ambele pudre au suferit o transformare de culoare pe durata păstrării probelor. Aceasta poate fi corelată cu procesul de oxidarea a carotenoidelor din pudre și eficiența de încapsulare a substanțelor bioactive.

Pudra P2 încapsulată cu alginat, agar și chitosan a fost mult mai stabilă din punct de vedere colorimetric la depozitare.

### 6.8.6 Caracterizarea fizico-chimică a maionezei cu valoare adăugată

Maioneza este cu siguranță unul dintre cele mai cunoscute, apreciate și consumate sosuri la nivel mondial. În studiul nostru, sosul de maioneza a fost obținut prin adăugarea în rețeta clasică a diferitelor procente de extract de cătină microîncapsulat. Pulberea selectată pentru introducerea în produsul inovativ a fost pudra P2. Astfel, au fost obținute trei variante de sosuri de maioneză cu pudre: 0%, 2,5% și 5 %, codificate astfel: M – 0 % pulbere; M1 – 2,5 % pulbere; M2 – 5 % pudră.

Toate probele au fost analizate din punct de vedere al caracteristicilor fizico-chimice și fitochimice, rezultatele fiind prezentate în Tabelul 6.3. și respectiv în Tabelul 6.4.

Rezultatele prezentate în Tabelul 6.3. indică faptul că sosurile de maioneză obținute cu adaos de pudră de cătină se caracterizează printr-un conținut de proteine semnificativ mai mic în comparație cu sosul de maioneză obținut convențional ( $p < 0,05$ ). În schimb, nu se înregistrează modificări ale conținutului de carbohidrați și de lipide ale sosurilor cu valoare adăugată, fiind similare cu conținutul de carbohidrați și de lipide ale probei martor. În ceea ce privește valoarea energetică a probelor analizate, se constată o scădere de numai 1,53 % la probele cu concentrații mai mari de pulbere. Cu toate acestea, valorile energetice ale tuturor variantelor sunt destul de apropiate.

**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată**

**Tabel 6.3.** Caracteristicile fizico-chimice ale maionezei cu valoare adăugată

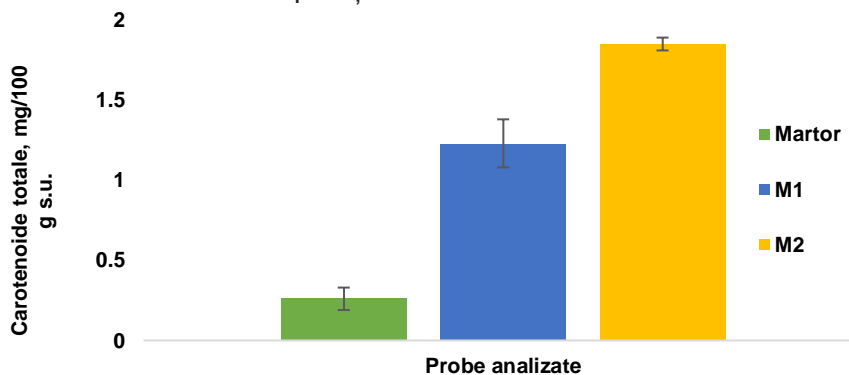
Caracteristici fizico-chimice	Martor (M)	M 1 (2,5%)	M 2 (5%)
Proteine, g/100 g	8,06 ± 0,07 <sup>c</sup>	6,94 ± 0,02 <sup>c</sup>	6,93 ± 0,04 <sup>c</sup>
Lipide, g/100 g	72,02 ± 0,20 <sup>a</sup>	72,72 ± 0,32 <sup>a</sup>	71,30 ± 0,24 <sup>a</sup>
Carbohidrați, g/100 g	2,45 ± 0,21 <sup>d</sup>	2,09 ± 0,21 <sup>d</sup>	2,61 ± 0,05 <sup>d</sup>
Umiditatea, g/100 g	15,58 ± 0,04 <sup>b</sup>	16,28 ± 0,10 <sup>b</sup>	16,98 ± 0,12 <sup>b</sup>
Cenușa, g/100 g	1,84 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,96 ± 0,04 <sup>d</sup>	2,16 ± 0,21 <sup>d</sup>
Valoarea energetică, %			
Kcal	713,24 ± 0,74 <sup>b</sup>	713,34 ± 2,30 <sup>b</sup>	702,29 ± 2,71 <sup>b</sup>
Kj	2984,20 ± 3,13 <sup>a</sup>	2984,61 ± 9,62 <sup>a</sup>	2938,38 ± 11,33 <sup>a</sup>

Mediile de pe fiecare linie care nu au în comun o literă la exponent sunt semnificativ diferite conform testului Tukey,  $p < 0,05$ .

Umiditatea este un factor important care trebuie determinat în analiza alimentelor, deoarece afectează rezultatul final și performanța emulsiei maionezei. În plus, umiditatea reprezintă o mare valoare economică pentru producători, deoarece este un factor de calitate în conservarea unor produse care afectează stabilitatea acestora, fiind un parametru esențial pentru determinarea valorii nutritive a alimentelor (Nielsen și colab., 1998). Conform literaturii de specialitate, valoarea maximă a umidității în maioneză este de 30%. După cum se poate observa din tabelul 6.3 aceste valori sunt mai mici și au crescut odată cu creșterea concentrației de pudră adăugată la probele de maioneză M1 și M2 față de proba martor M, în timp ce valoarea energetică a scăzut cu aproximativ 60 kJ pentru 100g produs, datorită scăderii cantității de lipide și proteine în probele de maioneză.

### 6.8.7 Caracterizarea fitochimică a maionezei cu valoare adăugată

Caracteristicile fitochimice ale sosurilor de maioneză atât pentru proba martor cât și pentru probele cu valoare adăugată sunt prezentate în Figura 6.10 și în Figura 6.11. Astfel, se observă faptul că adaosul de pudră de cătină în sosurile de maioneză obținute a condus la creșterea conținutului de carotenoide totale în comparație cu sosul de maioneză martor.

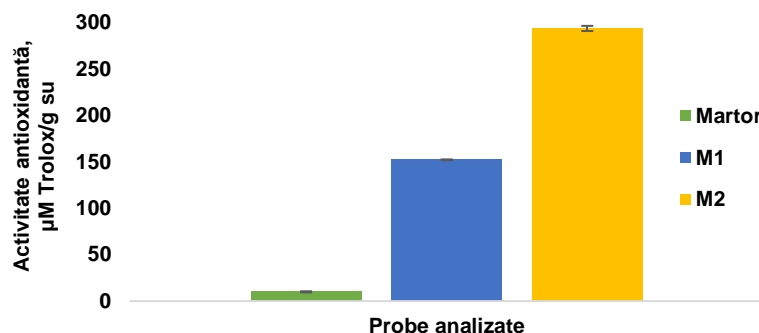


**Figura 6.10.** Conținutul de carotenoide totale pentru probele de sosuri de maioneză analizate

După cum era de așteptat, există o creștere semnificativă a concentrației de carotenoide și a valorii activității antioxidante pe măsură ce crește cantitatea de pudră adăugată ( $p < 0,05$ ).

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

Astfel, variantele de maioneză au prezentat un conținut de CT cu valori cuprinse între  $0,26 \pm 0,07$  mg CT/100 g s.u. și  $1,85 \pm 0,04$  mgCT/100 g s.u. În ceea ce privește activitatea antioxidantă, aceasta a crescut de la  $9,99 \pm 0,60$   $\mu$ M Trolox/g s.u. la  $293,38 \pm 2,77$   $\mu$ M Trolox/g s.u.



**Figura 6.11.** Activitatea antioxidantă a probelor de sosuri de maioneză analizate

Conținutul de compuși fitochimici (carotenoide totale) și activitatea antioxidantă determinată prin metoda de captare a radicalului liber ABTS ale probelor de sos de maioneză cu valoare adăugată sunt prezentate în Tabelul 6.4.

**Tabel 6.4.** Caracteristicile fitochimice ale probelor de maioneză cu valoare adăugată

Caracteristici fitochimice	Martor (M)	M1 (2,5%)	M2 (5%)
CT, mg /100 g s.u.	$0,26 \pm 0,07^b$	$1,23 \pm 0,15^b$	$1,85 \pm 0,04^b$
Activitate antioxidantă, $\mu$ M Trolox/g s.u.	$9,99 \pm 0,60^a$	$152,05 \pm 0,41^a$	$293,38 \pm 2,77^a$

Mediile de pe fiecare linie care nu au în comun o literă la exponent sunt semnificativ diferite conform testului Tukey,  $p < 0,05$ .

Rezultatele prezentate în Tabelul 6.4. confirmă valoarea adăugată a sosurilor de maioneză cu pudră de cătină prin creșterea conținutului de carotenei totali și, respectiv, a activității antioxidante.

### 6.8.8 Analiza culorii maionezei cu valoare adăugată

Sosurile au fost analizate și din punct de vedere al parametrilor colorimetrici CIELab. Rezultatele au fost exprimate ca parametrii  $L^*$  (luminozitate),  $a^*$  (tendință spre roșu sau verde) și  $b^*$  (tendință spre galben sau albastru). Tabelul 6.5. prezintă valorile parametrului CIELab pentru sosurile de maioneză analizate.

**Tabel 6.5** Caracteristicile de culoare ale probelor de maioneză cu valoare adăugată

Probă	$L^*$	$a^*$	$b^*$
M	$65,67 \pm 0,62^a$	$-1,01 \pm 0,13^a$	$30,23 \pm 1,25^c$
M1 (2,5%)	$61,08 \pm 1,07^a$	$-0,53 \pm 0,02^b$	$42,93 \pm 0,81^b$
M2 (5%)	$54,34 \pm 1,23^b$	$-0,34 \pm 0,02^c$	$57,36 \pm 1,50^a$

$L^*$  -luminozitate,  $a^*$  - roșu,  $b^*$ -galben; Mediile de pe fiecare coloană care nu au în comun o literă la exponent sunt semnificativ diferite conform testului Tukey,  $p < 0,05$ .

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

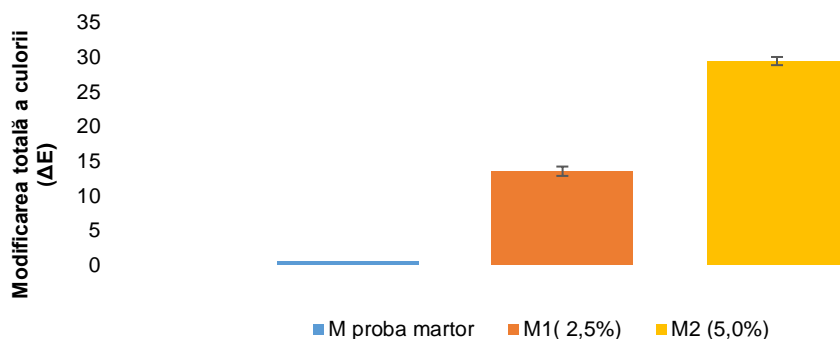
Creșterea semnificativă a valorii  $b^*$  odată cu cantitatea de pulbere adăugată sugerează o tendință spre galben oferită de compușii biologic activi din pudrele utilizate ca ingredient funcțional ( $p < 0,05$ ). Cu toate acestea, se observă o scădere semnificativă a luminozității odată cu creșterea concentrației de pulbere și o tendință de înverzire (Tabel 6.5). De asemenea luminozitatea  $L^*$  a avut o ușoară descreștere.

Creșterea intensității culorii galben odată cu creșterea concentrației de pudră poate fi observată și în Figura 6.12.



**Figura 6.12.** Probele de sos tip maioneză: M - sos fără adaos de pudră, M1 și M2 - sos tip maioneză cu adaos de 2,5 și 5% (g/g) pudră din extract de cătină

Reprezentarea grafică a modificării totale de culoare ( $\Delta E$ ) este reprezentată în Figura 6.13.



**Figura 6.13** Modificarea totală a culorii ( $\Delta E$ ) a probelor de sosuri de maioneză analizate

Atunci când  $\Delta E > 1$  înseamnă că diferența de culoare este perceptibilă pentru ochiul uman (Droźłowska și colab.,2020). Valoarea diferenței de culoare ( $\Delta E$ ) în probele de maioneză obținute a crescut odată cu concentrația de pudră adăugată, astfel  $\Delta E$  a fost mai mare pentru maioneza cu adaos de 5% de pudră de cătină. Constatările noastre au arătat că adaosul de pudră de cătină în probele M1 și M2 a cauzat schimbarea perceptibilă a culorii în probele de maioneză. În plus, aceste rezultate au fost confirmate odată cu evaluarea senzorială, deoarece proba M2 a avut cel mai mare punctaj din partea degustătorilor în ceea ce privește culoarea.

### 6.8.9 Analiza texturii maionezei cu valoare adăugată

Pentru a estima impactul pulberilor asupra texturii sosului de maioneza, fermitatea, aderența, coeziunea și masticabilitatea au fost testate folosind metoda TPA. Rezultatele acestor parametri sunt prezentate în Tabelul 6.6.

Adăugarea de pulbere a determinat valori mai mari ale fermității în sosul de maioneză comparativ cu proba martor (Tabelul 6.6.), din cauza compușilor stabilizatori din matricea de încapsulare. Proba martor a arătat o porozitate mai mare în comparație cu celelalte variante, ceea ce a condus la o rezistență semnificativ mai mică în timpul compresiei ( $p < 0,05$ ). Coezivitatea care exprimă rezistența legăturilor interne care dau consistență produsului, a fost într-o ușoară scădere față de proba martor și se datorează creșterii concentrației de pudră înglobată în sosul de maioneză.

**Tabel 6.6.** Caracteristicile texturale ale maionezei cu valoare adăugată

Parametrii texturali	M	M 1 (2,5%)	M 2 (5%)
Fermitate, N	0,22 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,23 ± 0,03 <sup>d</sup>	0,34 ± 0,03 <sup>d</sup>
Aderență, mJ	1,63 ± 0,15 <sup>b</sup>	2,32 ± 0,12 <sup>b</sup>	3,41 ± 0,38 <sup>b</sup>
Coezivitate	0,68 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,65 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,62 ± 0,05 <sup>c</sup>
Elasticitate, mm	11,13 ± 0,21 <sup>a</sup>	10,67 ± 0,74 <sup>a</sup>	10,98 ± 0,32 <sup>a</sup>

Mediile de pe fiecare linie care nu au în comun o literă la exponent sunt semnificativ diferite conform testului Tukey,  $p < 0,05$ .

În studiul nostru, s-a remarcat, de asemenea, că adăugarea de pulbere a condus la o aderență îmbunătățită. Din punct de vedere al coeziunii și elasticității, nu s-au observat diferențe semnificative odată cu adăugarea de pulbere ( $p > 0,05$ ).

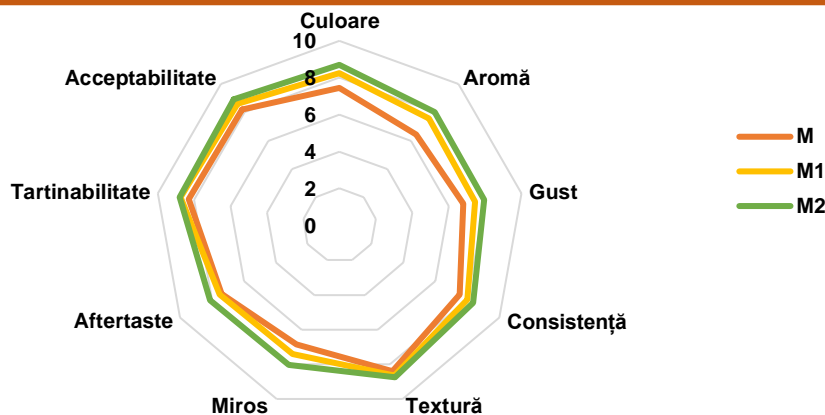
Aderența este importantă pentru un sos în condițiile în care sosul să se lipească mai puțin de cuțit și să poată fi întins cu ușurință, sau pentru salate în calitate de ornament.

### 6.8.10 Analiza senzorială a maionezei cu valoare adăugată

Din punct de vedere senzorial, sosurile au fost analizate folosind o scară hedonică cu 10 puncte bazată pe o numerotare a unităților. Atributele urmărite au fost: culoare, aromă, gust, consistență, textură, miros, aftertaste, tartinabilitate și acceptabilitate. Analiza senzorială a fost efectuată la 20 °C și 45-47 % umiditate relativă. Scorurile medii obținute în urma analizei senzoriale sunt prezentate în Figura 6.14.

Paneliștii au raportat diferențe de culoare între sosuri, sosul M2 fiind cel mai intens colorat în galben. Sosurile de maioneză cu adaos de pudră de cătină au fost evaluate ca având un gust, miros și culoare echilibrate. De asemenea, a fost apreciată consistența fină, cremoasă și pufoasă a sosurilor de maioneză. Toate probele de maioneză obținute au fost evaluate pozitiv de echipa de paneliștii, nefiind percepută aromă de cătină.

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată



**Figura 6.14.** Diagrama comparativă a atributelor senzoriale specifice sosurilor: M - maioneza fără adaos de pudră, M 1 și M 2 - maioneza cu 2,5 și 5 % adaos de pudră de cătină

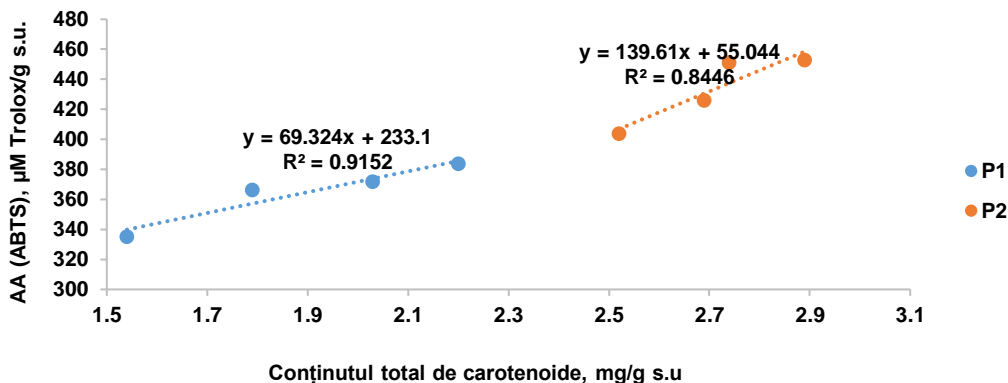
Acceptabilitatea poate fi corelată cu textura, tartinabilitatea, culoarea sosurilor și parametrii reologici a sosurilor.

Nu au existat variații semnificative în ceea ce privește acceptabilitatea generală între cele trei probe de maioneză analizate. Aftertasteul sau postgustul reprezintă intensitatea gustului unui aliment care este percepută imediat după ce alimentele sunt îndepărtate din cavitatea bucală. Valorile postgustului pot fi corelate cu aroma, mirosul și gustul produsului. Utilizând o scală hedonică de 10 puncte pentru măsurarea preferințelor alimentare, toate atributele evaluate pentru probele de maioneză îmbogățite cu pulbere cu extract de cătină au fost clasificate ca fiind plăcute foarte mult "Îmi place foarte mult" (Wichchukit și colab., 2014).

### 6.9 Corelarea rezultatelor

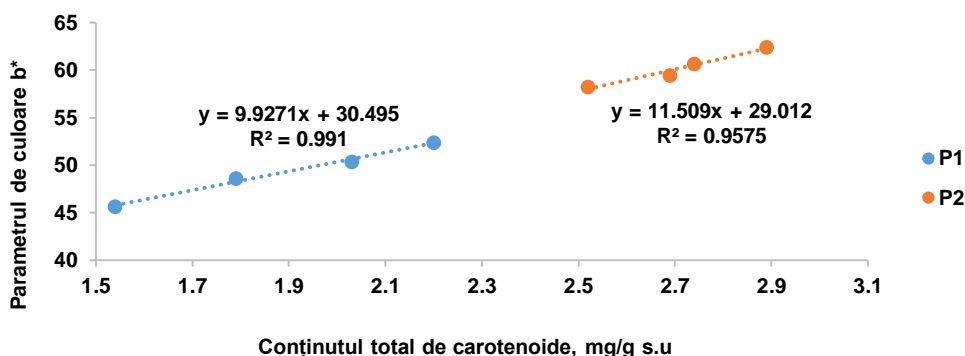
Stabilitatea pudrelor este un indice a duratei de depozitare a bioingredientelor. Din rezultatele obținute se poate face o corelare între stabilitatea colorimetrică și stabilitatea fitochimică a pudrelor de cătină, ceea ce ne poate oferi un indice senzorial cu privire la degradarea pudrelor. Din figurile 6.15, 6,16 și 6,17 se poate observa că există o strânsă corelare între rezultatele stabilității pudrelor pe parcursul a 90 de zile de depozitare pentru indicii: conținutul total de carotenoide, activitatea antioxidantă determinată prin metoda de captare a radicalului liber ABTS și parametrul de culoare  $b^*$ (galben). Ceea ce înseamnă că pe parcursul a 90 de zile de depozitare toți indicii și parametrii de mai sus s-au deteriorat ușor.

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată



**Figura 6.15** Corelarea activității antioxidante (ABTS) și a conținutului total de carotenoide pe parcursul a 90 de zile de depozitare a pudrelor de cătină

Din figurile 6.15, 6.16 și 6.17 se poate concluziona că există o strânsă corelație între cei trei parametri (conținutul de caroteni totali, activitatea antioxidantă și parametrul de culoare  $b^*$ (galben)).

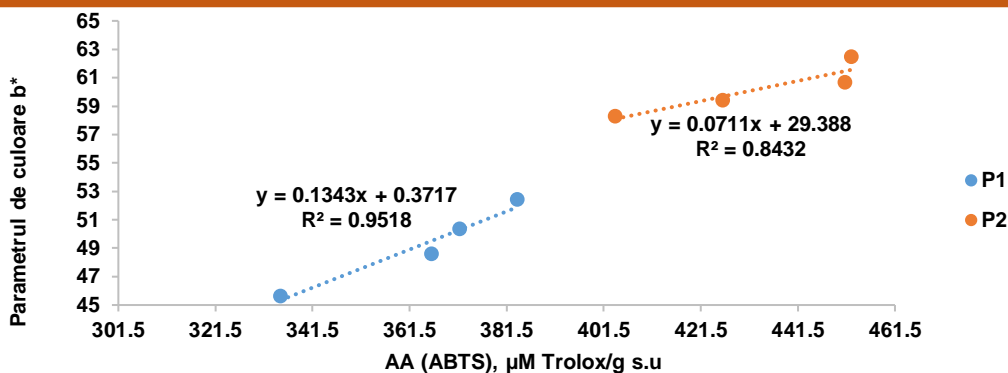


**Figura 6.16** Corelarea conținutului total de carotenoide și a parametrului de culoare  $b^*$  (galben) pe parcursul a 90 de zile de depozitare a pudrelor de cătină

Această corelație depinde de condițiile de depozitare (temperatură, umiditate, păstrare la întuneric/lumină), dar și de procesul de oxidare a compușilor liposolubili, mai exact oxidarea enzimatică. De asemenea, pe parcursul depozitării pudra P2 a fost mai puțin influențată de procesele de degradare în comparație cu pudra P1 (coeficientul Pearson indică o corelare mai mică față de P2).



**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu  
valoare adăugată**



**Figura 6.17** Corelarea activității antioxidante (ABTS) și parametrul de culoare b\*(galben) pe parcursul a 90 de zile de depozitare a pudrelor de cătină

Analiza componentelor principale (ACP) este o metodă statistică pentru a găsi relații între variabile (Barbu și colab., 2015). Este utilizată pentru a verifica relația dintre diferite variabile. ACP a fost utilizată pentru a găsi relația dintre variabilele pudrei microîncapsulate din cătină (ABTS, ΔE, L\*,CT, b\* ).

**Tabel 6.7** Matricea de corelare a componentele principale pentru pulberea de microcapsule pe durata păstrării timp de 90 de zile

	ΔE	L*	CT	b*	ABTS
ΔE					
L*	0,9967				
CT	0,8293	0,8937			
b*	0,7171	0,8353	0,991		
ABTS	0,4947	0,6567	0,9152	0,9537	

Scopul corelării rezultatelor obținute a fost acela de a găsi relațiile dintre următoarele variabile: activitatea antioxidantă asupra radicalul liber ABTS; parametrii colorimetrici L\*-luminozitate, b\*-culoarea galben, ΔE- modificarea totală a culorii timp de 90 de zile de păstrare și cantitatea de carotenoide totale prin analiza componentelor principale.

Din tabelul 6.7 se observă că toate componentele sunt bine corelate ceea ce ar sugera o cercetare mai minuțioasă privind interdependența acestor parametri pentru a explica procesele biochimice în procesul de depozitare a pudrelor din cătină.

Rezultatele obținute încurajează continuarea acestor studii privind biodisponibilitatea carotenoidelor încapsulate în matrici de alginat, agar și chitosan.

### 6.10 Concluzii parțiale

În acest studiu, carotenoidele din extractul de cătină au fost încapsulate cu succes folosind ca tehnici de încapsulare coacervarea complexă și liofilizarea.

Două combinații diferite de proteine din zer și polizaharide au fost utilizate ca agenți de încapsulare. Cea mai mare eficiență de încapsulare a carotenoidelor a fost obținută pentru pudra

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

---

P2, care a fost încapsulată doar cu biopolimeri de tip polizaharide precum agar, chitosan și alginat.

Ambele pulberi au prezentat un conținut fitochimic ridicat cu activitate antioxidantă remarcabilă. În timpul depozitării s-a observat o ușoară degradare a substanțelor fitochimice, cu creșterea luminozității pulberii și scăderea parametrului  $b^*$  care reflectă culoarea galben.

MCSL-ul a relevat prezența carotenoidelor ancorate în matricele de încapsulare, bine individualizate, dar cu tendința de a forma clustere. Ambele matrici de încapsulare utilizate au crescut biodisponibilitatea carotenoidelor din pulberea de cătină în sistemul digestiv *in vitro*. Pentru a demonstra funcționalitatea pudrelor de cătină, au fost evaluate și adăugate ca ingredient într-un sos tip maioneză diferite procente de pudră P2.

Sosurile de maioneză obținute au avut un conținut total de carotenoide satisfăcător precum și o activitate antioxidantă. Analiza texturii sosurilor de maioneză a sugerat că adăugarea de pulbere de cătină a determinat creșterea fermității și a aderenței. Analiza senzorială a sosurilor de maioneză a arătat că paneliștii au apreciat sosurile de maioneză obținute.

Prin urmare, microîncapsularea extractelor de cătină și încorporarea lor în maioneză a prezentat o metodă promițătoare de stabilizare a carotenoidelor în produsele cu valoare adăugată obținute. Astfel, extractele de cătină pot fi considerate ingrediente valoroase pentru dezvoltarea produselor alimentare cu valoare adăugată.

## CAPITOLUL 7. CONCLUZII FINALE

Cercetările actuale din literatura de specialitate fundamentează informațiile privind structura și funcționalitatea compușilor biologic activi din cătină, care variază din punct de vedere geografic, variabilității genetice, arealului de cultură, specie, etc. Aceste aspecte sunt importante și necesită studii aprofundate datorită diversității, compoziției diferite, care depind de factori exogeni de creștere și dezvoltare a plantei în general. Fructele studiate din soiuri de cătină sălbatică, sunt bogate în compuși biologic activi: polifenoli și carotenoide cu potențial funcțional deosebit. Este importantă evaluarea stabilității în timp a potențialului bioactiv a compușilor și a ingredientelor obținute din extractele acestor fructe, pentru a putea fi aplicate în elaborarea unor compozite pentru utilizare în diferite ramuri ale industriilor.

Teza de doctorat a vizat studiul compușilor bioactivi din cătină, din perspectiva extracției și caracterizării fitochimice, a încapsulării lor, a evaluării stabilității pudrelor obținute precum și integrarea lor în produse alimentare conferind valoare adăugată produselor obținute. Pe baza rezultatelor experimentale și a concluziilor parțiale prezentate la finalul fiecărui capitol din teza de doctorat intitulată *"Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată"*, au fost îndeplinite toate obiectivele propuse la începutul tezei, iar rezultatele acestora sunt evidențiate în partea de concluzii parțiale și concluzii finale după cum urmează:

- Extracția și evaluarea compușilor biologic activi din cătină au demonstrat încă o dată că este un fruct poli-compozițional, datorită faptului că este bogat atât în compuși lipofili - carotenoidele cât și compuși hidrofilii - polifenolii. Aceasta proprietate unică deja demonstrată face acest fruct competitiv pe piața produselor vegetale, astfel încât merită să fie promovat prin publicații de articole, brevete de invenție și produse comerciale derivate cu un impact major pe piață.
- Prin compararea celor trei tehnici de extracție s-a observat că EAU combinată cu diverși solvenți polari și nepolari oferă un randament mai ridicat de eliberare a compușilor bioactivi de interes. Pentru extracția compușilor lipofili (carotenoidele) varianta optimă a fost amestecul de acetat de etil cu n-hexan în raport (2:1), iar pentru compușii hidrofilii (polifenoli) a fost amestecul de etanol cu acetonă în raport (4:3). Extracția compușilor a fost efectuată timp de 45 minute la temperatura de 40°C și frecvența de 40 kHz.
- Pentru a observa selectivitatea extracțiilor din punct de vedere fitochimic a fost efectuată extracția separată și secvențială cu diferite amestecuri de solvenți utilizând aceeași matrice liofilizată ca sursă de compuși biologic activi. Cele mai bune rezultate pentru extracția compușilor polifenolici au fost obținute la extracția secvențială cu soluție acidulată de acid formic, acetonă și apă (0,35:20:80).
- A fost demonstrată corelarea conținutului de compușii hidrofilii, mai exact a polifenolilor cu activitatea antioxidantă măsurată prin capacitatea de neutralizare a radicalilor liberi ABTS și DPPH. Cea mai bună corelare dintre CTP a fost pentru activitatea antioxidantă măsurată prin capacitatea de neutralizare a radicalului liber de ABTS, iar

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

---

valoarea optimă a fost pentru extracția secvențială. De asemenea a fost confirmat faptul că activitatea antioxidantă nu depinde de metoda de extracție, dar depinde de solvenții de extracție și compușii fitochimici eliberați.

- Analiza cromatografică a carotenoidelor din extractele analizate a evidențiat prezența a cinci compuși carotenoidici principali: astaxantină, zeaxantină,  $\beta$ -criptoxantină, licopen și  $\beta$ -carotenu.
- Au fost dezvoltate o serie de variante de microîncapsulate a extractului din fructe de cătină, prin tehnici de încapsulare prin liofilizare și coacervare complexă, utilizând ca materiale de încapsulare polizaharide (CMC, agarul, chitosanul, alginatul) și proteine din zer (IPZ). Ce mai mare eficiență de încapsulare a fost obținută pentru varianta IPZ(2%):CMC (2%)1:1(v/v) și a avut o valoare de 87,23%.
- Pudrele cu cele mai bune caracteristici fitochimice, din punct de vedere al activității antioxidante și a eficienței de încapsulare au fost alese pentru analiza prin microscopia confocală cu laser și au prezentat valori de ordinul micrometrilor distribuții uniforme sub formă de sferozomi bine individualizați uneori formând clustere (dar bine fixați) în funcție de matricile folosite.
- Pudrele cu cel mai mare conținut de carotenoide și eficiență de încapsulare au fost selectate pentru evaluarea stabilității lor la depozitare. Astfel pe parcursul a 270 de zile de depozitare eficiența de încapsulare a pudrelor a scăzut în medie cu 10% față de eficiența de încapsulare inițială. A fost de asemenea testată degradarea culorii a variantelor de pudre din cătină pe parcursul a 270 de zile (9 luni) de depozitare, care a prezentat valori de 16% pentru parametrul  $b^*$ .
- Studiile de digestibilitate *in vitro* au arătat că matricile de polizaharide și proteine protejează substanțele biologic active încapsulate, față de alte variante analizate, iar în condițiile digestiei intestinale simulate, cantitatea maximă de compuși lipofili este eliberată după 120 minute de digestie intestinală simulată. Cantitatea de compuși eliberați în condițiile digestiei gastice simulate a fost mică, eliberarea acestora fiind mai mare în sucul intestinal simulat.
- Proprietățile funcționale ale pudrelor au fost testate în variantele de sos de tip maioneză cu adaos de cătină. S-a demonstrat că maionezele obținute cu adaos de pudre de cătină microîncapsulate au valoare adăugată în ceea ce privește activitatea antioxidantă, conținutul de carotenoide, culoarea îmbunătățită, valoarea nutrițională și proprietăți reologice asemănătoare cu proba martor ceea ce reprezintă un avantaj benefic pentru consumatorii care sunt obișnuiți cu maionezele clasice.
- Valorile energetice pentru toate variantele de maioneză cât și a probei de control au fost aproximativ egale, putem afirma că maionezele cu valoare adăugată sunt mai bogate în compuși carotenoidici, au o activitatea antioxidantă mai mare la aceleași valori energetice precum martorul.

## Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată

---

- Analiza texturii probelor a indicat faptul că adaosul de pudră a determinat valori mai mari ale fermității în variantele de maioneză cu valoare adăugată și o aderență îmbunătățită. Din punct de vedere al coeziunii și elasticității, nu s-au observat diferențe semnificative la adăugarea de pulbere comparativ cu proba martor. Aceste rezultate sunt în concordanță cu atributele analizei senzoriale precum: tartinabilitate și textura probelor analizate.
- Analiza colorimetrică a variantelor de sosuri de maioneză a relevat că sosul cu cea mai mare concentrație de pudră adăugată (5%) a avut cea mai mare valoarea a parametrului  $b^*$  care la fel este în concordanță cu atributul senzorial culoarea.
- Concentrația maximă de pudră adăugată în sosul de maioneză a fost de 5%, deoarece cantitățile mai mari conduc la deprecierea calităților texturale și senzoriale a produsului cu valoare adăugată.
- Rezultatele obținute în acest studiu relevă faptul că prin extragerea compușilor bioactivi din cătină se obțin extracte colorate, care au un potențial ridicat de compuși fitochimici cu activitate antioxidantă remarcabilă, iar încapsularea acestora permite obținerea unor produse alimentare cu valoare adăugată care pot înlocui coloranții și aditivii sintetici din unele produse alimentare.

## CAPITOLUL 8. CONTRIBUȚII PERSONALE ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A STUDIILOR

Cu ajutorul tehnicilor instrumentale aplicate și fundamentale în teza de doctorat intitulată *”Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată”* au fost stabilite etapele de recuperare, stabilizare și înglobare a compușilor bioactivi din cătină. Astfel, derivă următoarele **contribuții originale**:

- Evaluarea comparativă a diferitor tehnici și metode de extracție din perspectiva stabilirii parametrilor optimi pentru obținerea compușilor lipofili (carotenoide) și hidrofilii (polifenoli) din fructele de cătină liofilizate.
- Caracterizarea globală și avansată a profilului fitochimic al extractelor prin utilizarea tehnicilor de spectrofotometrie și cromatografie.
- Dezvoltarea variantelor de pudre de cătină prin coacervare complexă și liofilizare obținute din extractele de cătină și evaluarea profilului fitochimic, de culoare și a stabilității la depozitare a acestora, cu scopul utilizării în tehnologia de obținere a produselor alimentare cu valoarea adăugată.
- Valorificarea pudrelor din extract de cătină, pentru obținerea unor produse sustenabile economic și ecologic prin aplicarea conceptului de etichetă curată la raft.

În perspectiva unor cercetări viitoare se conturează următoarele:

- Determinarea activității antimicrobiene a extractelor de cătină obținute, a potențialului prebiotic și citotoxic al pudrelor din fructe de cătină;
- Utilizarea pudrelor de cătină obținute pentru obținerea altor produse alimentare: produse lactate fermentate, brânză Feta, umpluturi termostabile-datorită profilului colorimetric și fitochimic accentuat, paste făinoase - posibilitate de colorare fără adaos de coloranți și brevetarea produselor cu valoarea adăugată realizate.

## CAPITOLUL 9. VALORIFICAREA REZULTATELOR

### I. Articole publicate în reviste cotate ISI

1. Roman D., Condurache (Lazăr) N. N., Stănciuc N., Andronoiu G., Aprodu I., Enachi E., Barbu V., Bahrim G. E., Stanciu\* S., Râpeanu\* G. Advanced composites based on sea buckthorn carotenoids for mayonnaise enrichment, *Polymers* (2022), 14(3), 548. <https://doi.org/10.3390/polym14030548> , Q1, Impact Factor = 4,8 (2021)

### II. Articole publicate în reviste indexate WoS

1. Roman D., Constantin O. E., Stănciuc N., Râpeanu\* G. Bioactive compounds and antioxidant activity in different extracts of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L) berries. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI – Food Technology* (2020), 44(1), 178-192.
2. Roman D., Condurache (Lazăr) N.N., Aprodu I., Enachi E., Barbu V., Bahrim G.E., Stănciuc N., Râpeanu G. Insights of Sea Buckthorn Extract's Encapsulation Coacervation Technique. *Inventions* (2021), 6(3),59.<https://doi.org/10.3390/inventions6030059>

### III. Cereri de brevet

1. Roman D., Râpeanu G., Condurache (Lazăr) N.N., Stănciuc N., Andronoiu D.G., Aprodu I., Bahrim G.E. Universitatea Dunărea de Jos Galați, Sos pe bază de maioneză cu adaos de pudră din extract de cătină microîncapsulat - produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere- nr. de înregistrare OSIM (A00657/1.11.2021), Derwent accession number 2023-59087U.

### IV. Participări la conferințe naționale și internaționale

1. Roman D., Râpeanu G., Stănciuc N., Aprodu I., Bahrim, G.E. 2019 Extraction and characterisation of bioactive compounds from lyophilized sea buckthorn, poster, 7<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS – UDJG, „Dunarea de Jos” University of Galati.
2. Roman D., Râpeanu G., Stănciuc N., Aprodu I., Bahrim G.E., 2019 Extraction and characterisation of bioactive compounds from sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides*(L.) A. Nelson), poster, 9th International Symposium EuroAliment of Faculty of Food Science and Engineering, „ Dunarea de Jos” University of Galati.
3. Roman D., Râpeanu G., Stănciuc N., Aprodu I., Bahrim G.E., 2020 Phytochemical characterization of sea buckthorn hydrophilic and lipophilic extracts, poster, 8th edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS – UDJG, „Dunarea de Jos” University of Galati.
4. Roman D., Râpeanu G., Stănciuc N., Aprodu I., Bahrim G.E.,2020. Evaluation of biological active compounds found in sea buckthorn fruits. Poster, Scientific Symposium



**Valorificarea unor compuși biologic activi din cătină prin dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată**

---

- “Young people and multidisciplinary research in applied life sciences”, 7<sup>th</sup> edition, Section: Food Engineering, Banat USAMVB „King Michael I of Romania” Timișoara.
- Roman D., Râpeanu G., Stănciuc N., Aprodu I., Bahrim, G.E. 2021. Sea buckthorn berries as a wide source of bioactive compounds. Poster. 9<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS – UDJG, „Dunarea de Jos” University of Galati.
  - Roman D., Râpeanu G., Stănciuc N., Aprodu I., Bahrim, G.E. 2021. Encapsulation of oleoresins from sea buckthorn in different matrix, Poster. 9<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS – UDJG, „Dunarea de Jos” University of Galati.
  - Roman D., Horincar G., Stănciuc N., Aprodu I., Râpeanu G. 2021 Stability of encapsulated carotenoids extracted from sea buckthorn. Poster. 10<sup>th</sup> International Symposium EuroAliment, Faculty of Food Science and Engineering, „Dunarea de Jos” University of Galati.
  - Roman D., Aprodu I., Bahrim G., Stanciu N., Rapeanu G., 2022 Hippophae rhamnoides – potential application in food industry. Poster, 10<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS – UDJG, „Dunarea de Jos” University of Galati.
  - Roman D., Aprodu I., Bahrim G., Stanciu N., Rapeanu G., 2022 Carotenoids based sauce as a current trend on sea buckthorn valorization. Poster, 10<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS – UDJG, „Dunarea de Jos” University of Galati.
  - Roman D., Rapeanu G., Bahrim G., Aprodu I., Stanciu N., 2023 Designing a new healthy and functional mayonnaise sauce. Poster, 11<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS – UDJG, „Dunarea de Jos” University of Galati.

**V. Premii**

- Honorable Mention. Poster. Phytochemical characterization of sea buckthorn hydrophilic and lipophilic extracts. Roman D., Râpeanu G., Stănciuc N., Aprodu I., Bahrim G.E., 2020 7<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS – UDJG, „Dunarea de Jos” University of Galati 18-19 iunie 2020 Galați.
- Premiul III, Poster, Evaluation of biological active compounds found in sea buckthorn fruits. Roman D., Râpeanu G., Stănciuc N., Aprodu I., Bahrim G.E Scientific Symposium “Young people and multidisciplinary research in applied life sciences”, 7<sup>th</sup> edition, Banat University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine „King Michael I of Romania” 27 November 2020 Timișoara.
- Honorable Mention. Poster. Carotenoids based sauce as a current trend on sea buckthorn valorization. Roman D., Aprodu I., Bahrim G., Stanciu N., Rapeanu G., 10<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS – UDJG, „Dunarea de Jos” University of Galati 7-9 iunie 2022 Galați.
- Honorable Mention. Poster. Designing a new healthy and functional mayonnaise sauce. Roman D., Râpeanu G., Bahrim G., Aprodu I., Stanciu N., 11<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS – UDJG, „Dunarea de Jos” University of Galati 8-9 iunie 2023 Galați.