

UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI

Cu titlu de manuscris

CZU: 664.8.022.7(043.2)

CRISTEA ELENA

**REGIMURI TEHNOLOGICE PENTRU ASIGURAREA
POTENȚIALULUI ANTIOXIDANT AL UNOR PRODUSE
HORTICOLE LA PĂSTRARE ȘI PRELUCRARE**

**253.01 TEHNOLOGIA PRODUSELOR ALIMENTARE DE ORIGINE
VEGETALĂ**

Teză de doctor

Conducător științific

Sturza Rodica, dr.hab., prof.univ.

Autorul:

CHIȘINĂU, 2018

© Cristea Elena, 2018

CUPRINS

ADNOTĂRI	6
LISTA ABREVIERILOR.....	9
INTRODUCERE	11
1. RELAȚIILE, TRANSFORMĂRILE ȘI FUNCȚIILE ANTIOXIDANȚILOR ȘI COLORANȚILOR NATURALI ÎN PROCESAREA ALIMENTELOR	18
1.1. Mecanismele activității antioxidante	18
1.2. Influența antioxidantilor asupra sănătății.....	23
1.3. Relația dintre activitatea antioxidantă, conținutul de polifenoli și culoare.....	25
1.4. Materii prime horticoale cu un conținut înalt de antioxidanți cu proprietăți colorante	26
1.5. Influența regimurilor tehnologice asupra antioxidantilor și coloranților de origine naturală	29
1.6. Metode de stabilizare a antioxidantilor și coloranților naturali	33
1.6.1. Copigmentarea ca metodă de stabilizare a compușilor coloranți naturali	35
1.6.2. Stabilizarea polifenolilor prin încapsulare înainte de folosirea în produsele alimentare.....	36
1.6.3. Separarea polifenolilor utilizând microspuma coloidală (CGA – colloidal gas aphrons)	37
1.7. Utilizarea extractelor vegetale horticoale în rol de aditivi tehnologici.....	39
1.8. Concluzii la capitolul 1	40
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	43
2.1. Materii prime	43
2.2. Obținerea extractelor.....	43
2.3. Alte materiale folosite pentru experimente.....	44
2.4. Metode de studiu a influenței temperaturii, pH-ului și forței ionice asupra activității antioxidante și parametrilor de culoare.....	45
2.4.1. Schema experimentului privind efectul procedeelor tehnologice	45
2.4.2. Studiul influenței forței ionice	46
2.4.3. Studiul influenței pH-ului	46
2.4.4. Studiul influenței temperaturii	46
2.5. Stabilizarea extractelor horticoale prin copigmentare, încapsulare și separare	46
2.5.1. Copigmentarea	46
2.5.2. Încapsularea.....	47
2.5.3. Separarea polifenolilor folosind microspuma coloidală	50
2.6. Metode analitice folosite la determinarea compoziției polifenolice, activității antioxidante și parametrilor de culoare (CIELab)	52

2.6.1. Activitatea antioxidantă prin reacția cu radicalul-cation ABTS	52
2.6.2. Activitatea antioxidantă prin reacția cu radicalul DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	52
2.6.3. Determinarea conținutului total de polifenoli prin metoda Folin-Ciocalteu.....	53
2.6.4. Determinarea conținutului total de flavonoide	54
2.6.5. Determinarea conținutului total de polifenoli prin măsurarea absorbanței la 280 nm	54
2.6.6. Conținutul de antocieni prin metoda diferenței de pH.....	55
2.6.7. Conținutul total de derivați ai acizilor hidroxicinamici	56
2.6.8. Conținutul total de flavonoli	56
2.6.9. Determinarea conținutului total de carotenoide în extractele de scoruș, păducel, măceș și cătină albă	57
2.6.9. Determinarea polifenolilor individuali prin cromatografie lichidă de înaltă performanță.....	57
2.6.10. Parametrii de culoare (CIELab).....	58
2.7. Analiza statistică	61
2.8. Concluzii la capitolul 2	62
3. REZULTATE ȘI DISCUȚII: INFLUENȚA PROCEDEELOR TEHNOLOGICE ASUPRA ACTIVITĂȚII ANTIOXIDANTE ȘI PARAMETRILOR DE CULOARE A EXTRACTELOR VEGETALE HORTICOLE	63
3.1. Compoziția materiei prime utilizate.....	63
3.2. Influența diferitor regimuri termice asupra activității antioxidante și parametrilor de culoare.....	73
3.3. Influența condițiilor de păstrare asupra activității antioxidante și parametrilor de culoare.....	83
3.5. Influența pH-ului asupra activității antioxidante și culorii	90
3.6. Efectul adaosului sărurilor NaCl, KNO ₃ și CaCl ₂ asupra activității antioxidante și culorii.....	99
3.9. Influența pH-ului și temperaturii asupra activității antioxidante și culorii extractelor vegetale. Tendințe comune.	108
3.10. Concluzii la capitolul 3	114
4. REZULTATE ȘI DISCUȚII: STABILIZAREA EXTRACTELOR VEGETALE HORTICOLE PRIN COPIGMENTARE, ÎNCAPSULARE ȘI SEPARARE	115
4.1. Influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra activității antioxidante.....	115
4.2. Influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare	120
4.3. Efectul încapsulării asupra activității antioxidante a extractului de tescovină	131
4.3.1. Evoluția activității antioxidante la păstrarea extractelor încapsulate	136
4.4. Separarea polifenolilor din extractul de aronie (<i>Aronia melanocarpa</i>) cu utilizarea microspumei coloidale (CGA colloidal gas aphrons).....	137
4.5. Utilizarea extractelor vegetale naturale la fabricarea produselor de cofetărie.....	141

4.6. Concluzii la capitolul 4	148
CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI	149
BIBLIOGRAFIE	152
LISTA ANEXELOR	166
ANEXA 1. Brevet de invenție	167
ANEXA 2. Atestare privind obținerea bursei „Eugen Ionescu” și completarea stagiului	168
ANEXA 3. Atestare privind efectuarea stagiului la Universitatea din Reading	170
ANEXA 4. Raport privind rezultatele experiențelor pentru încapsularea polifenolilor	171
ANEXA 5. Rezultatele experiențelor privind separarea polifenolilor din aronie utilizând microspuma coloidală	185
ANEXA 6. Exemple de determinare a parametrilor CIELab	192
ANEXA 7. Descrierea metodei HPLC	195
ANEXA 8. Cromatogramele și timpii de retenție HPLC	197
ANEXA 9. Corelația Pearson Polifenoli - Activitate antioxidantă	221
ANEXA 10. Corelația Pearson Activitate antioxidantă - Culoare	222
Declarația asumării răspunderii	223
CV	224

ADNOTARE

Cristea Elena: „Regimuri tehnologice pentru asigurarea potențialului antioxidant al unor produse horticole la păstrare și prelucrare”, teză de doctor în tehnică, Chișinău, 2018.

Structura tezei: introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie din 184 titluri, 10 anexe, 151 pagini text de bază, 62 figuri, 64 tabele, rezultatele obținute sunt publicate în 8 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: potențial antioxidant, culoare, extracte vegetale, CIELab, polifenoli.

Domeniul de studiu: 253.01 – Tehnologia produselor alimentare de origine vegetală.

Scopul lucrării: identificarea regimurilor tehnologice operaționale pentru menținerea potențialului antioxidant și a culorii extractelor hidroalcoolice din tescovină de struguri și fructe de pădure.

Obiectivele lucrării prevăd determinarea concentrației diferitor clase de compuși biologic activi în extractele horticole și caracterizarea instrumentală a culorii; cercetarea evoluției activității antioxidante și a parametrilor de culoare pe parcursul tratamentelor termice și păstrării extractelor la diferite temperaturi și în diferite medii (pH, forță ionică); cercetarea copigmentării cu acizii galic și tanic; cercetarea influenței nanoencapsulării în β -lactoglobulină asupra activității antioxidante a extractului de tescovină; cercetarea separării fracțiilor de compuși antioxidanți, utilizând microspuma coloidală.

Noutatea și originalitatea științifică constă în stabilirea relației activitatea antioxidantă-culoare și a relației activitatea antioxidantă-conținut de polifenoli în diferite extracte horticole; identificarea tratamentelor termice optime și condițiilor optime de mediu (pH, forță ionică) pentru menținerea activității antioxidante și a culorii extractelor vegetale; testarea stabilității extractelor în prezența unor săruri minerale utilizate în sistemele alimentare: CaCl_2 ; NaCl și KNO_3 , ce a rezultat în intensificarea culorii în extractul de tescovină; cercetarea copigmentării cu acizii galic și tanic a extractelor vegetale; încapsularea extractului de tescovină în β -lactoglobulină; pentru prima dată a fost testată separarea polifenolilor din extractele de aronie, folosind microspuma coloidală.

Problema științifică soluționată constă în identificarea condițiilor tehnologice optime pentru asigurarea stabilității proprietăților antioxidante și colorante ale extractelor vegetale de origine horticolă în vederea utilizării lor în industria alimentară.

Semnificația teoretică. Rezultatele cercetărilor efectuate prezintă date exacte despre conținutul unor compuși polifenolici cu proprietăți antioxidante în extractele vegetale horticole originare din Republica Moldova; au fost cercetați parametrii instrumentali de culoare și activitatea antioxidantă a extractelor în funcție de mediu, regim termic, durată de păstrare. Au fost obținute cunoștințe noi privind relația activitate antioxidantă-culoare și activitate antioxidantă-conținut de polifenoli. Au fost lansate noi deducții ipotetice cu privire la interacțiunea dintre antocienii din tescovină și ionii Ca^{2+} .

Valoarea aplicativă. În baza rezultatelor experimentale obținute au fost identificate și argumentate științific condițiile optime de păstrare și regimurile termice de utilizare în sistemele alimentare a extractelor hidroalcoolice din tescovină de struguri și fructe de pădure cu menținerea proprietăților antioxidante și a culorii.

Implementarea rezultatelor științifice a fost efectuată prin aplicarea lor și continuarea cercetărilor în proiectul bilateral **Substituirea aditivilor alimentari sintetici cu compuși bioactivi extrași din resurse naturale regenerabile** și în cadrul proiectului AUF „L’*utilisation de techniques innovantes dans l’obtention des molecules biologiquement actives*”.

ANNOTATION

Cristea Elena: „Technological regimes to ensure the antioxidant potential of some horticultural products during storage and processing”, doctorate thesis in technical sciences, Chisinau, 2018.

Thesis structure: introduction, four chapters, general conclusions and recommendations, bibliography of 184 references, 10 annexes, 151 pages of text, 62 figures, 64 tables, the results have been published in 8 scientific papers.

Keywords: antioxidant potential, colour, plant extracts, CIELab, polyphenols.

Research area: 253.01 – Plant Based Food Technology.

The aim of the study: identifying the technological operational regimes to maintain the antioxidant potential and the colour of the hydroalcoholic extracts from grape marc and berries.

The study objectives include the determination of the concentration of various classes of biologically active compounds in horticultural extracts and the instrumental characterization of their colour; the research of the evolution of the antioxidant activity and colour parameters during heat treatments and storage at different temperatures and in different environments (pH, ionic strength); the research of the copigmentation with gallic and tannic acids; the research of the influence of the nanoincapsulation in β -lactoglobulin on the antioxidant activity of the grape marc extract; the research of the separation of different fractions of antioxidant compounds using colloidal microfoam.

The scientific novelty and originality include establishing the correlations antioxidant activity-colour and antioxidant activity-polyphenol content in various horticultural extracts; identifying optimal thermal treatments and optimal environmental conditions (pH, ionic strength) to maintain the antioxidant activity and colour of different plant extracts; testing the stability of the extracts in the presence of mineral salts used in food systems i.e. CaCl_2 ; NaCl and KNO_3 , which showed colour enhancement in the grape marc extract; researching the copigmentation with gallic and tannic acids in different plant extracts. New results on the encapsulation of grape marc extract in β -lactoglobulin were obtained and the separation of polyphenols from aronia extracts using colloidal microfoam was tested for the first time.

The main scientific problem solved in the study consists of the identification of the optimal technological conditions to ensure the stability of the antioxidant properties and colour of the horticultural plant extracts for their use in food industry.

Theoretical importance. The research results present data on the content of polyphenolic compounds with antioxidant properties in horticultural plant extracts from Moldova; the instrumental colour parameters and the antioxidant activity of the extracts were investigated depending on the environment, temperature, storage time. New data on correlations antioxidant activity-colour and antioxidant activity-polyphenol content was obtained. New hypothetical deductions on the interaction between grape marc anthocyanins and Ca^{2+} ions were formulated.

Practical importance. The optimal storage conditions and thermal regimes for the use of the grape marc and berry hydroalcoholic extracts in food systems maintaining their antioxidant properties and colour characteristics were identified and scientifically proven based on the experimental results.

The implementation of the scientific results was carried out by their application and further research within the bilateral project „The substitution of synthetic food additives with bioactive components extracted from natural renewable resources” and the AUF project „L’*utilisation de techniques innovantes dans l’obtention des molecules biologiquement actives*”.

АННОТАЦИЯ

Кристя Елена: "Технологические режимы для обеспечения антиоксидантного потенциала некоторых продуктов садоводства во время хранения и переработки", диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук, Кишинев, 2018.

Структура диссертации: введение, четыре главы, общие выводы и рекомендации, 184 библиографических ссылок, 10 приложений, 151 страниц текста, 62 фигур, 64 таблиц, результаты были опубликованы в 8 научных работах.

Ключевые слова: антиоксидантный потенциал, цвет, растительные экстракты, CIELAB, полифенолы.

Область исследования: 253.01 – Технология пищевых продуктов растительного происхождения

Цель исследования: определение технологических режимов для поддержания антиоксидантного потенциала и цвета спиртовых экстрактов из выжимок винограда и ягод.

Задачи работы включают: определение концентрации различных классов биологически активных соединений в растительных экстрактах и инструментальной характеристики их цвета; исследование эволюции антиоксидантной активности и цветовых параметров во время термической обработки и хранения при различных температурах и в различных средах (рН, ионной силы); исследование копигментации с галловой и таниновой кислотами; влияние нанокапсулирования в бета-лактоглобулине на антиоксидантную активность экстракта виноградных выжимок; разделение различных фракций антиоксидантных соединений с использованием коллоидной микропены.

Научная новизна и оригинальность. Были установлены корреляции между интенсивностью цвета и содержанием полифенолов в растительных экстрактах. Были определены оптимальные условия тепловых обработок, сред (рН, ионной силы) для поддержания антиоксидантной активности и цвета экстрактов. Была выявлена стабильность экстрактов из виноградных выжимок в присутствии минеральных солей, CaCl_2 ; NaCl и KNO_3 , которые способствовали усилению цвета. Было проведено исследование копигментации с галловой и таниновой кислотами в различных растительных экстрактах и нанокапсулирования экстракта выжимок винограда в бета-лактоглобулине. Впервые было проведено разделение полифенолов из экстракта из фруктов черноплодной рябины с применением коллоидной микропены.

Научная проблема, решенная в исследовании состоит в определении оптимальных технологических условий для обеспечения стабильности антиоксидантных свойств и цвета растительных экстрактов для их использования в пищевой промышленности.

Теоретическая значимость работы состоит в представлении данных о содержании полифенольных соединений с антиоксидантными свойствами в экстрактах из местного растительного сырья, выращенного в Республике Молдова. Инструментальные параметры цвета и антиоксидантная активность экстрактов были исследованы в зависимости от среды, температуры, времени хранения. Были получены новые данные о корреляции между цветом и содержанием полифенолов, а также были сформулированы новые гипотетические выводы о взаимодействии между антоцианами и ионами Ca^{2+} .

Практическая значимость: на основе экспериментальных результатов были определены и научно доказаны оптимальные условия хранения и тепловые режимы для использования спиртовых экстрактов из выжимок винограда и ягод в пищевых системах, поддерживающие их антиоксидантные свойства и цветовые характеристики.

Внедрение научных результатов. Результаты проведенных исследований были внедрены в исследования в рамках двустороннего проекта "Замещение синтетических пищевых добавок с биоактивными компонентами, выделенных из природных возобновляемых ресурсов» и проекта AUF „L'utilisation de techniques innovantes dans l'obtention des molecules biologiquement actives”.

LISTA ABREVIERILOR

- ABTS – acid 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzotiazolin-6-sulfonic
- ADN – acid dezoxiribonucleic
- ANOVA – analiza de varianță (eng. Analysis of Variance)
- BHT – butilat de hidroxitoluen
- CAE – echivalenți de acid cafeic (eng. caffeic acid equivalents)
- CGA – microspumă coloidală (eng. colloidal gas aphrons)
- CIE – Comisia Internațională de Iluminat (fr. Commission Internationale d'Éclairage)
- CIELab – spațiu tridimensional de reprezentare a culorilor
- CHFU – ultrasunete continue de înaltă frecvență (eng. continuous high frequency ultrasounds)
- CMYK – sistem colorimetric bazat pe culorile turcoaz-magenta-galben (eng. cyan-magenta-yellow)
- CTAB – bromid de cetil-trimetilamoniu
- DLS – difuzia dinamică a luminii (eng. Dynamic Light Scattering)
- FRAP – capacitatea de reducere a potențialului ionului feric (eng. ferric reducing antioxidant power)
- GA100 – acid galic 100 mg/L
- GA200 – acid galic 200 mg/L
- GA400 – acid galic 400 mg/L
- GAE – echivalenți de acid galic (eng. gallic acids equivalents)
- HI – fier hemic (eng. Hemic Iron)
- HTST – tratament termic de durată scurtă la temperatură înaltă (eng. High Temperature Short Time)
- LC-DAD-MS – cromatografie lichidă cuplată cu detecție cu matrice de diode și spectrometrie de masă (eng. Liquid Chromatography-Diode Array Detection-Mass Spectrometry)
- LRTP – pastă de tomate bogată în lycopină (eng. Lycopene Rich Tomato Paste)
- mtNOS – NO (oxid de azot) sintetază
- ORAC – capacitatea de absorbție a radicalilor de oxigen (eng. Oxygen Radical Absorbance Capacity)
- QE – echivalenți de quercetină (eng. quercetine equivalents)

RGB – sistem colorimetric bazat pe culorile roșu, verde, albastru (eng. red-green-blue)

RH – umiditate relativă (eng. relative humidity)

ROS – specii reactive de oxigen (eng. Reactive Oxygen Species)

RNS – specii reactive de azot (eng. Reactive Nitrogen Species)

RTE – gata de consum (eng. ready-to-eat)

NHI – fier non hemic (eng. Non-Hemic Iron)

SD – abatere standard (eng. standard deviation)

SF – factor de separare (eng. separation factor)

TA100 – acid tanic 100 mg/L

TA200 – acid tanic 200 mg/L

TA400 – acid tanic 400 mg/L

TBARS – substanțe reactive cu acidul tiobarbituric (eng. Thiobarbituric acid reactive substances)

TE – echivalenți trolox (eng. trolox equivalents)

TEAC – capacitatea antioxidantă exprimată în echivalenți trolox (trolox equivalent antioxidant capacity)

VAP – volumul fazei spumă (eng. volume of the aphaon phase)

VLP – volumul fazei lichide (eng. volume of the liquid phase)

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei abordate

În prezent, consumatorii din întreaga lume sunt din ce în ce mai conștienți de relația dintre alimentație și sănătate. Mai mult ca atât, există o teamă tot mai mare de ingredientele sintetice și de mai mulți ani deja industria alimentară a început să se adapteze la cererea consumatorilor. Publicațiile specializate în analiza tendințelor în industria alimentară raportează că în prezent Europa este piața cu cea mai mare creștere a vânzărilor de coloranți alimentari de origine naturală. Chiar dacă coloranții sintetici încă sunt vânduți în cantități mai mari decât cei naturali, Europa este cea mai mare piață regională și, prin urmare ea dictează tendințele. Creșterea cererii de consum pentru ingredientele naturale va mări cererea pentru coloranții alimentari naturali în următorii șase ani. În plus, extractele obținute din alimente bine-cunoscute sunt răspândite printre producători, deoarece acestea sunt considerate ingrediente și nu aditivi, astfel nu necesită un număr E care pun în gardă anumiți consumatori [1]. Impuse de cererea consumatorilor, companiile din SUA încep, de asemenea, să ia în considerare coloranții naturali. Aceștia sunt necesari la fabricarea produselor lactate, băuturilor carbogazoase, dulciurilor etc., iar producătorii sunt permanent în căutare de culori stabile și intense [2]. În plus, în prezent în industria alimentară sunt folosiți diferiți antioxidanți sintetici, iar acești compuși, la fel ca și unii coloranți artificiali, pot provoca dereglări ale sănătății umane. Utilizarea substanțelor cum ar fi butilatul hidroxianisol, butilatul de hidroxitoluenă și terț-butilhidrochinona este descurajată din cauza efectelor negative asupra sănătății [3]. Astfel, interesul crescând de a înlocui ingredientele alimentare sintetice îi determină pe cercetători să exploreze surse naturale regenerabile, bogate în compuși bioactivi cu proprietăți similare.

Deși unii aditivii sintetici precum galben auriu FCF (E110), galben de chinolină (E104), carmoizină (E122), roșu allura (E129), tartrazină (E102), ponceau 4R (E124) nu au fost interziși, unele companii multinaționale au specificat deja în politica privind siguranța alimentelor că nu vor contracta întreprinderi ce utilizează aceste substanțe. Țări precum Marea Britanie deja au emis documente pentru a ghida producătorii și a le da sfaturi în privința înlocuirii coloranților sintetici.

În Republica Moldova însă, încă sunt folosite pe scară largă ingredientele sintetice. Astfel, mulți consumatori aleg pur și simplu să evite unele produse alimentare, iar exportul produselor cu astfel de ingrediente devine imposibil.

În prezent, sunt utilizate diferite surse pentru obținerea coloranților și antioxidanților alimentari. O direcție de cercetare este utilizarea extractelor vegetale din pomușoare sau deșeuri

provenite în urma procesării fructelor și legumelor. Fructele de pădure reprezintă o potențială sursă de astfel de substanțe biologice active care au atât valoare tehnologică, cât și proprietăți funcționale. Extractele din aceste surse ar putea substitui coloranții și antioxidanții sintetici din produsele alimentare și cosmetice [4].

Polifenolii prezenți în extractele vegetale sunt o sursă de compuși bioactivi valoroși care pot fi utilizați în diferite formulări farmaceutice, nutraceutice și alimentare. Tradițional, extractele antioxidante naturale sunt destinate pentru uz medical, însă din cauza numeroaselor incertitudini legate de biodisponibilitatea și metabolismul acestora, aplicarea lor în sistemele alimentare este mai promițătoare [5], unde acestea pot fi utilizate ca antioxidanți, compuși de culoare și agenți antimicrobieni [6].

Cu toate acestea, substanțele biologice active cum ar fi antocienii degradează rapid și formează compuși incolori sau își pierd activitatea antioxidantă. Din această cauză, este important a identifica și a lua în considerare condițiile tehnologice optime și alte ingrediente din matricea alimentară care ar putea afecta potențialul antioxidant și culoarea – o proprietate senzorială importantă. Produsele alimentare sunt supuse diferitor tratamente tehnologice care pot implica temperaturi ridicate, presiune înaltă, microunde etc., or, proprietățile antioxidante, precum și culoarea se pot schimba după astfel de tratamente. Această ipoteză este cercetată deja de mai mulți ani pentru diferite procese tehnologice și diferite produse alimentare, în special, produse de origine horticolă.

Scopul prezentei lucrări constă în identificarea regimurilor tehnologice operaționale (tratamente termice, temperaturi de păstrare, factori de compoziție a sistemelor alimentare) pentru menținerea potențialului antioxidant și culorii extractelor hidroalcoolice de compuși biologici activi din tescovină de struguri și fructe de pădure.

Obiectivele operaționale ale tezei sunt:

- **Determinarea concentrației diferitor clase de compuși biologici activi în extractele de tescovină, aronie, păducel, scoruș, cătină albă, măceș și caracterizarea instrumentală a culorii.** A fost demonstrat că materiile prime utilizate prezintă o sursă considerabilă de antioxidanți, iar culoarea lor trezește interes pentru procesatorii de alimente și consumatori. În plus, datele despre compoziția extractelor pot fi folosite la explicația proprietăților tehnologice și funcționale ale acestora.
- **Determinarea evoluției activității antioxidante și a parametrilor de culoare pe parcursul diferitor tratamente termice și temperaturi de păstrare.** Astfel, au fost

întreprinși primii pași spre identificarea proceselor de fabricare în cadrul cărora ar putea avea loc degradarea compușilor bioactivi.

- **Cercetarea evoluției activității antioxidante și a parametrilor de culoare în diferite medii (pH, forță ionică).** pH-ul și prezența diferitor ioni pot afecta proprietățile funcționale ale compușilor antioxidanți și coloranți. Așadar, este necesară cercetarea stabilității activității antioxidante și culorii la diferite valori ale pH-ului și în prezența unor săruri, în diferite concentrații utilizate frecvent la procesarea alimentelor.
- **Cercetarea copigmentării cu acizii galic și tanic,** în scopul determinării dacă acest proces poate fi utilizat pentru stabilizarea proprietăților colorante ale extractelor vegetale horticole.
- **Cercetarea procesului de nanoîncapsulare în β -lactoglobulină asupra activității antioxidante a extractului de tescovină și stabilității acesteia la păstrare.** Acest proces are potențialul de a extinde în timp activitatea antioxidantă a unor compuși, atenuând în același timp și unele caracteristici senzoriale indezirabile (gustul amar și astringent) ale unor compuși antioxidanți, precum polifenolii.
- **Cercetarea procesului de separare a fracțiilor de compuși antioxidanți, utilizând microspuma coloidală.** Acest proces permite a separa compușii cu activitate antioxidantă sporită, măbind astfel activitatea extractului înainte de utilizare în produsele alimentare.

Noutatea și originalitatea științifică constă în următoarele:

- Stabilirea relației dintre activitatea antioxidantă și culoarea extractelor hidroalcoolice de tescovină de struguri, scoruș, păducel, aronie, măceș, cătină albă și a relației dintre activitatea antioxidantă și conținutul de polifenoli.
- Identificarea tratamentelor termice optime pentru menținerea activității antioxidante și a culorii extractelor vegetale de tescovină, scoruș, păducel, aronie, măceș, cătină albă.
- Identificarea condițiilor optime de păstrare (pH, forță ionică) pentru menținerea activității antioxidante și a culorii extractelor vegetale menționate.
- Testarea stabilității extractelor în prezența unor săruri minerale în sisteme alimentare: clorură de sodiu, nitrat de potasiu și clorură de calciu, ceea ce a demonstrat unele efecte optice neobișnuite în extractul de tescovină.
- Cercetarea copigmentării cu acizii galic și tanic a extractelor vegetale.
- Încapsularea extractului de tescovină în β -lactoglobulină.
- Pentru prima dată a fost testată separarea polifenolilor din extracte de aronie, folosind microspuma coloidală.

Problema științifică soluționată constă în identificarea condițiilor tehnologice optime pentru asigurarea stabilității proprietăților antioxidante și colorante ale extractelor vegetale de origine horticolă în vederea utilizării lor în industria alimentară.

Valoarea științifică a lucrării. Rezultatele cercetărilor efectuate reprezintă date exacte privind conținutul unor compuși polifenolici cu proprietăți antioxidante în extractele vegetale horticole originare din Republica Moldova; au fost cercetați parametrii instrumentali de culoare și activitatea antioxidantă a extractelor în funcție de mediu, regim termic, durată de păstrare. Au fost obținute date experimentale ce permit înțelegerea procesului de copigmentare a antocienilor; au fost obținute cunoștințe noi privind relația activitate antioxidantă-culoare și activitate antioxidantă-conținut de polifenoli. Au fost lansate noi deducții ipotetice cu privire la interacțiunea dintre antocienii din tescovină și ionii Ca^{2+} .

Au fost identificate următoarele noi direcții de cercetare: interacțiunea dintre antocieni și ionii metalelor în sistemele-model; compoziția carotenoidelor din extractele de scoruș, măceș, cătină albă și păducel și corelațiile activitate antioxidantă-polifenoli și activitate antioxidantă-carotenoide; cercetarea evoluției activității antioxidante a compușilor fenolici majoritari din extracte în soluțiile-model.

Valoarea aplicativă a lucrării. În baza rezultatelor experimentale obținute au fost identificate și argumentate științific condițiile optime de păstrare și regimurile termice de utilizare în sistemele alimentare a extractelor hidroalcoolice din tescovină de struguri și fructe de pădure cu menținerea proprietăților antioxidante și a caracteristicilor de culoare:

1. Păstrarea extractelor la diferite temperaturi (-2°C , 4°C și $25-30^{\circ}\text{C}$) nu atestă diferențe majore între valorile activității antioxidante și parametrii de culoare, ceea ce denotă posibilitatea folosirii lor în regim industrial.
2. Tratamentele termice testate (-2°C ... 100°C) nu au afectat semnificativ activitatea antioxidantă în cazul extractelor de măceș, aronie și păducel, iar în cazul extractelor de cătină albă, tratamentul de 100°C timp de 2 minute a mărit semnificativ activitatea antioxidantă totală de la 7,64 mmol TE/L la 11,35 mmol TE/L. Parametrii de culoare ai extractelor de aronie și tescovină, bogate în antocieni, au fost considerabil afectați de tratamentul de 2 minute la 100°C și păstrarea la $25-30^{\circ}\text{C}$, fapt ce reduce intervalul termic de aplicare a acestora.
3. Au fost stabilite intervalele optime de pH care asigură o capacitate antioxidantă și parametrii de culoare optimi pentru extractele cercetate, de asemenea, a fost evaluat impactul diferitor săruri prezente în sistemele alimentare (clorură de sodiu, nitrat de potasiu și clorură de calciu). Clorura de calciu a îmbunătățit semnificativ culoarea extractului de tescovină, efect care ar putea fi exploatat pentru crearea unui colorant natural cu potențial antioxidant. Influența altor săruri asupra culorii a fost minoră.

4. S-a demonstrat că acidul tanic poate fi aplicat drept copigment cu efect stabilizator pentru extractul de tescovină, fără a afecta activitatea antioxidantă a acestui extract.
5. Microspuma coloidală obținută din surfactantul Tween 20 poate fi folosită cu succes la separarea și concentrarea concomitentă a compușilor cu activitate antioxidantă din extractele vegetale, ceea ce permite a obține extracte cu activitate funcțională sporită.
6. Încapsularea extractelor de compuși biologic activi în β -lactoglobulină permite stabilizarea activității antioxidante a acestora și creează noi oportunități pentru procesatorii de alimente privind elaborarea noilor produse.

Suportul metodologic. Drept suport metodologic au servit cercetările efectuate și experiența acumulată la realizarea următoarelor proiecte de cercetare:

- **Substituirea aditivilor alimentari sintetici cu componenți bioactivi extrași din resurse naturale regenerabile** din cadrul Programului de cooperare științifică și tehnologică, semnat la București, la 14 octombrie 2015 între Academia de Științe a Moldovei și Autoritatea Națională pentru Cercetare Științifică și Inovare din România (ANCSI), înscris în Registrul de stat al proiectelor din sfera științei și inovării cu cifrul **16.80013.5107.22/Ro**;
- **Proiectul AUF** «L'utilisation de techniques innovantes dans l'obtention des molecules biologiquement actives»;
- **Proiectul Eugen Ionesco** «L'extraction de polyphénols de raisin à partir de déchets viti-vinicoles et leur utilisation dans la production de boissons non alcoolisées».

Implementarea rezultatelor științifice

Rezultatele științifice vor fi implementate prin aplicarea lor și continuarea cercetărilor în proiectul bilateral **Substituirea aditivilor alimentari sintetici cu componenți bioactivi extrași din resurse naturale regenerabile** din cadrul Programului de cooperare științifică și tehnologică, semnat la București, la 14 octombrie 2015 între Academia de Științe a Moldovei și Autoritatea Națională pentru Cercetare Științifică și Inovare din România (ANCSI), înscris în Registrul de stat al proiectelor din sfera științei și inovării cu cifrul **16.80013.5107.22/Ro; a. 2016-2018** și în cadrul proiectului AUF „**L'utilisation de techniques innovantes dans l'obtention des molecules biologiquement actives**”, a. 2016-2017.

Aprobarea rezultatelor

Rezultatele tezei au fost discutate și aprobate la următoarele seminare și conferințe naționale și internaționale: International Conference Modern Technologies in Food Industry-2016, MTFI-2016 (20-22 octombrie 2016, Chișinău, Republica Moldova); International Conference of Applied Sciences - CISA 2016. Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology and Food Engineering. 10th edition (2-4 iunie 2016, Bacău, România); seminarul doctoral „L’utilisation de techniques innovantes dans l’obtention de molécules biologiquement actives” (31 mai-2 iunie 2016. Bacău, România); 8th Congress - Pigments in Food (28 iunie – 1 iulie 2016 Cluj Napoca, România); . The 7TH International Symposium. Faculty of Food Science and Engineering. Dunarea de Jos University of Galati (24-26 septembrie 2015, Galați, România); seminarul „L’extraction des composés phénoliques à partir de produits horticoles” (28 mai 2015, Iași, România); „Достижения, проблемы и перспективы развития отечественной виноградо-винодельческой отрасли на современном этапе” (Achievements, challenges and prospects of development of the domestic viticulture and winemaking industry today), (20 iulie-15 august, 2013, Novocheerkassk, Federația Rusă).

Publicații

Rezultatele investigațiilor au fost publicate în 8 lucrări științifice dintre care 2 articole de un singur autor publicate în reviste cu impact factor, indexate SCOPUS și o cerere de brevet de invenție. Un alt articol este în curs de recenzare, iar alte 8 sunt la diferite etape de redactare.

Lista de referințe cuprinde 184 surse bibliografice.

Structura tezei: teza conține 151 pagini. Rezultatele studiului bibliografic sunt prezentate în primul capitol ce conține 25 pagini. Partea experimentală cuprinde 109 pagini (62 figuri și 64 tabele).

Sumarul compartimentelor tezei

Teza conține patru capitole. **Primul capitol** rezumă analiza situației în domeniul de studiu și descrie principalele clase de antioxidanți, structura acestora și influența acestora asupra activității antioxidante. Este elucidat de asemenea rolul antioxidanților pentru sănătatea umană și sunt sumarizate rezultatele ultimelor cercetări științifice la acest subiect. În același capitol este descrisă relația dintre culoarea produselor și potențialul lor antioxidant, sunt introduse unele tehnologii și procese inovative cum ar fi copigmentarea, încapsularea și separarea folosind microspuma coloidală, sunt rezumate rezultatele cercetărilor privind stabilitatea activității antioxidante și a culorii, precum și rezultatele publicațiilor recente privind utilizarea unor

extracte de origine naturală în calitate de aditivi tehnologici. **Capitolul 2** descrie materiile prime utilizate și metodele cercetare și analiză aplicate. În **capitolul 3** sunt incluse rezultatele și discuțiile cercetărilor privind stabilitatea activității antioxidante și culorii extractelor după aplicarea unor procedee termice operaționale, diferitor medii - valori ale pH-ului și forței ionice, păstrarea la diferite temperaturi. **Capitolul 4** inserează rezultatele cercetării copigmentării ca metodă de stabilizare a culorii și rezultatele cercetărilor vizând stabilizarea activității antioxidante a extractelor cu scop de utilizare industrială prin procedeul de încapsulare în β -lactoglobulină și fracționării extractelor cu ajutorul microspumei coloidale. La sfârșitul tezei au fost formulate concluzii și recomandări privind efectuarea cercetărilor pentru viitor.

1. RELAȚIILE, TRANSFORMĂRILE ȘI FUNCȚIILE ANTIOXIDANȚILOR ȘI COLORANȚILOR NATURALI ÎN PROCESAREA ALIMENTELOR

1.1. Mecanismele activității antioxidante

Un antioxidant este orice compus prezent în concentrații mici comparativ cu substratul oxidabil care poate inhiba sau încetini semnificativ oxidarea substratului respectiv, deci, antioxidantul protejează de reacțiile oxidative dăunătoare [7]. Antioxidanții ideali nu au efecte dăunătoare, sunt efectivi în concentrații mici și nu dăunează caracteristicilor senzoriale ale produselor alimentare. Conform legislației Republicii Moldova, antioxidanții sunt „substanțe care prelungesc durata de stabilitate la depozitare a produselor alimentare prin protejarea acestora de deteriorări cauzate de oxidare, precum rănecizarea grăsimii și schimbarea culorii” [8].

Mecanismele prin care antioxidanții pot oferi protecție sunt:

- prevenirea formării radicalilor liberi;
- interceptarea radicalilor liberi;
- facilitarea reparației daunelor provocate de radicalii liberi;
- asigurarea unui mediu favorabil [9].

În organismele vii sănătoase există un echilibru între mecanismele prooxidante și cele antioxidante, dar anumite afecțiuni pot deplasa acest echilibru în favoarea primelor. Un radical liber este orice compus capabil de a exista în mod independent și care conține unul sau mai mulți electroni neîmperecheați. Radicalii liberi sunt foarte instabili, reactivi și toxici, deoarece interacționează cu ADN-ul și membrana celulară. Radicalii liberi și alte specii reactive de oxigen (ROS – Reactive Oxygen Species) se formează permanent în organismul uman. Mecanismele ce implică radicali liberi au fost asociate cu mai multe patologii umane printre care cancerul, ateroscleroza, malaria, artrita reumatoidă și maladiile neurodegenerative [10, pag. 20].

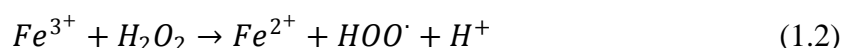
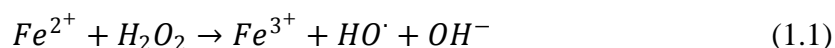
Radicalii liberi și alte specii reactive de oxigen (ROS) includ:

- radicali de oxigen (radicalul hidroxil (OH^\bullet), radicali peroxil (ROO^\bullet), radicalul anionul superoxid (O_2^\bullet));
- non radicali (peroxidul de hidrogen (H_2O_2) sau oxigenul singlet (O_2)) [11].

Mai mult decât atât, pe lângă formarea de ROS în organismele aerobe, există alți radicali liberi numiți specii reactive de azot (RNS), de exemplu, oxidul nitric (NO^\bullet), produs de NO sintetază (mtNOS) [7, 12].

În momentul când sunt produse în exces, speciile reactive de oxigen pot provoca daune țesuturilor, dar în același timp daunele provocate țesuturilor produc la rândul lor specii reactive de oxigen, de exemplu prin activarea fagocitelor sau prin eliberarea ionilor metalelor de tranziție din celule [13]. Speciile reactive de oxigen generate în prezența oxigenului de către mitocondrii, celule fagocitare, peroxizomi și enzimele citocromului P450, în condiții fiziologice, pot avea o funcție dublă în organismul uman. Pe de o parte, ele participă la activarea unor factori responsabili de transcripție și ca urmare participă la reglarea expresiei genelor relevante pentru creșterea și diferențierea celulară. Pe de altă parte, provoacă daune oxidative ADN-ului celular, proteinelor și lipidelor ceea ce rezultă în inițierea sau dezvoltarea a numeroase boli cum ar fi cancerul, bolile cardiovasculare, diabetul zaharat de tip 2, cataracta, artrita reumatoidă sau diferite boli neurodegenerative. Există atât compuși endogeni (glutacion, ubiquinol, urați, bilirubină), cât și enzime (superoxid dismutază, catalază, glutacion peroxidază) care participă la eliminarea ROS din organism [10, pag. 20].

Organismul uman a dezvoltat propriile mecanisme protective împotriva reacțiilor radicalice. Astfel enzima superoxid dismutaza îndepărtează radicalul $\text{O}_2^{\bullet-}$, accelerând conversia acestuia în H_2O_2 . Mitocondriile sunt organitul principal unde sunt generați radicalii, formând cca 2-3 nmol de anion superoxid $\text{O}_2^{\bullet-}$ /min. per mg de proteină, plus peroxid de hidrogen care la rândul său este transformat în peroxid de hidrogen și oxigen molecular de către superoxid dismutază. Alte enzime antioxidante importante sunt glutacion peroxidazele. Catalaza, enzima aflată în peroxizomi catalizează transformarea peroxidului de hidrogen în apă și oxigen molecular, în timp ce glutacion peroxidaza captează peroxidul de hidrogen. Pe de altă parte, este cunoscut deja că H_2O_2 , împreună cu anumiți ioni metalici de tranziție cum ar fi Fe^{2+} sau Cu^+ , pot participa în reacția Fenton (ecuațiile 1.1; 1.2), producând un radical hidroxil care este foarte reactiv și are timpul de înjumătățire de aproximativ 10^{-9} s *in vivo* [12, 13].



În plus, numeroase componente prezente în dieta umană cum ar fi vitamina C, vitamina E, carotenoidele și polifenolii sunt considerate a fi implicate în sistemul de protecție contra stresului oxidativ [12]. Prin sinteza informației expuse mai sus determinăm alte două tipuri de

antioxidanți: endogeni și exogeni. După modul lor de acțiune, antioxidanții se mai împart în alte două clase principale: principali și secundari [14].

Există foarte mulți antioxidanți exogeni ce provin din diferite clase de compuși chimici. Mai jos este prezentată o schemă generală a antioxidanților exogeni și sunt descriși doar acei compuși, care sunt relevanți pentru prezenta lucrare (figura 1.1). Plantele produc o varietate de compuși ca răspuns la stresul de mediu, mulți dintre care funcționează ca antioxidanți atunci când sunt consumați [15, 16].

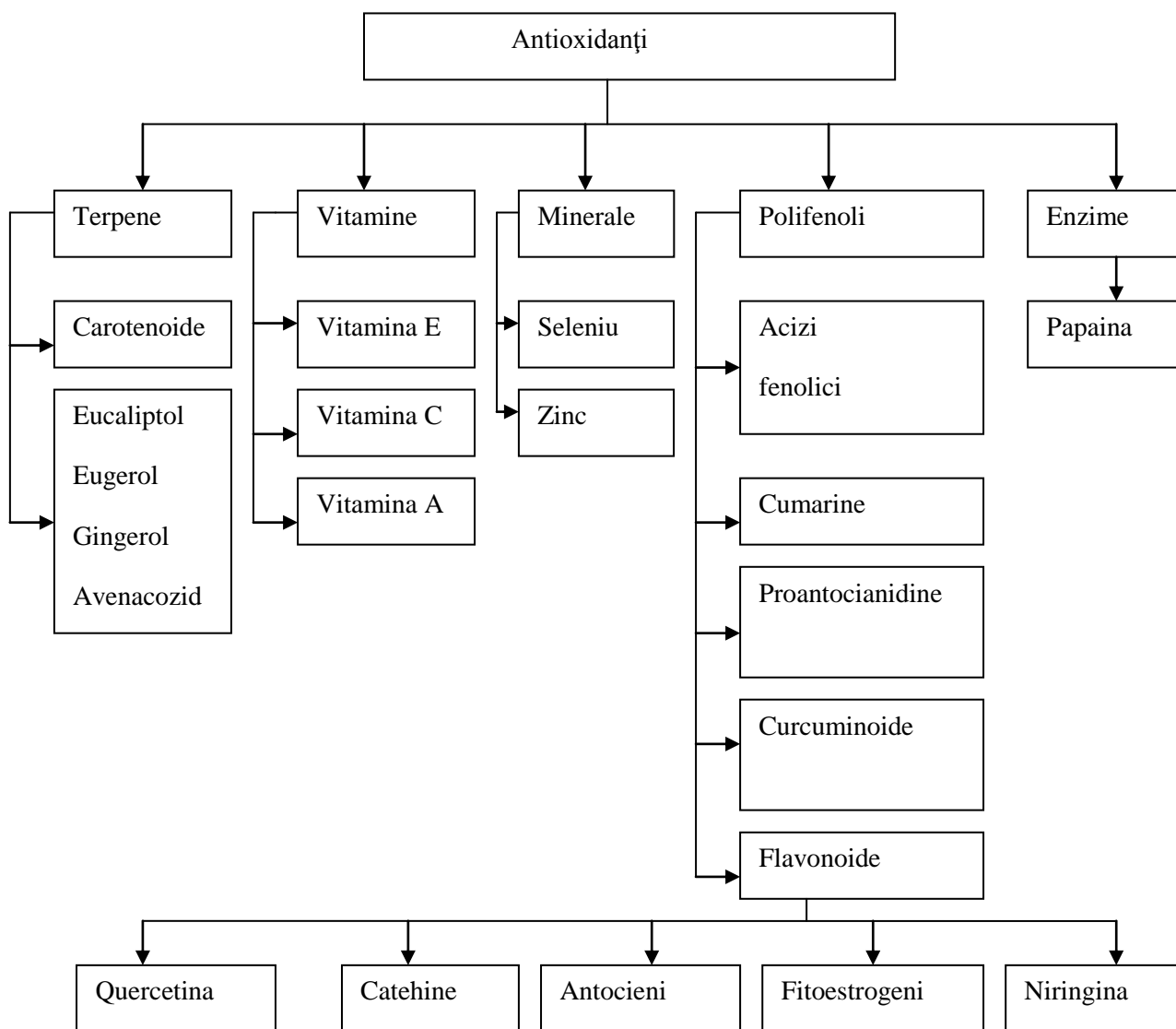


Fig. 1.1. Clasificarea antioxidanților exogeni [17]

Polifenolii

În prezent, cei mai utilizați antioxidanți sunt polifenolii [18]. Polifenolii sunt un grup mare și eterogen de compuși împărțiți în zece clase diferite, în funcție de structura lor chimică. Fiind cei mai abundenți antioxidanți din dietă, acești compuși au devenit esențiali pentru sănătate, în special în procesele anticancerigene și antiinflamatoare [12, 19]. Deoarece polifenolii sunt un grup complex de nutrienți și există un număr foarte mare de publicații în domeniul studiului polifenolilor, ei nu vor fi descriși complet în acest capitol.

Fructele, legumele și băuturile sunt principalele surse de compuși fenolici în alimentația umană. Industria procesatoare de alimente și produse agricole generează cantități semnificative de deșeuri bogate în compuși fenolici care pot deveni surse eficiente de antioxidanți [11, 20]. Activitatea antioxidantă a acestor compuși se datorează capacității de a capta radicalii liberi, de a dona atomi de hidrogen sau electroni și de a forma compuși complecși cu cationii de metale [20]. Aceasta depinde atât de structura lor, cât și de numărul și poziția grupelor hidroxilice și natura substituției lor în inelele aromatice. De exemplu, în cazul acizilor fenolici, activitatea antioxidantă depinde de numărul și poziția grupelor hidroxilice în relație cu grupa carboxilică funcțională [20]. Acizii monohidroxibenzoici cu grupa –OH în poziția *ortho*- și *para*- față de grupa hidroxilică nu manifestă activitate antioxidantă, pe când acidul meta-hidroxibenzoic posedă proprietatea respectivă (figura 1.2).

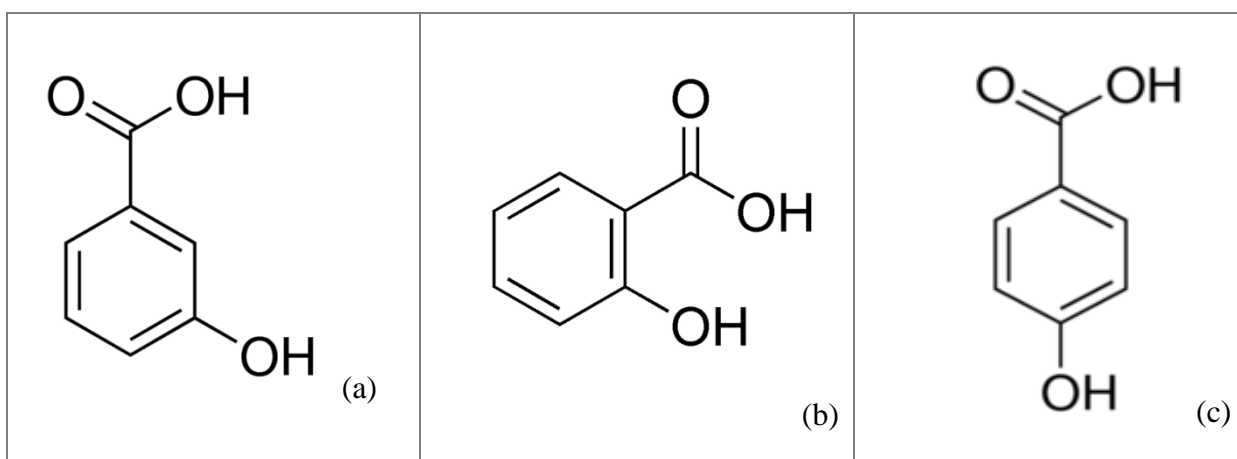


Fig. 1.2. Acidul *meta*-hidroxibenzoic (a), *ortho*-hidroxibenzoic (b), *para*-hidroxibenzoic (c) [21]

În plus, capacitatea antioxidantă a acizilor fenolici crește cu mărirea gradului de hidroxilare ca și în cazul compusului trihidroxilic – acid galic (figura 1.3a) care posedă activitate antioxidantă înaltă.

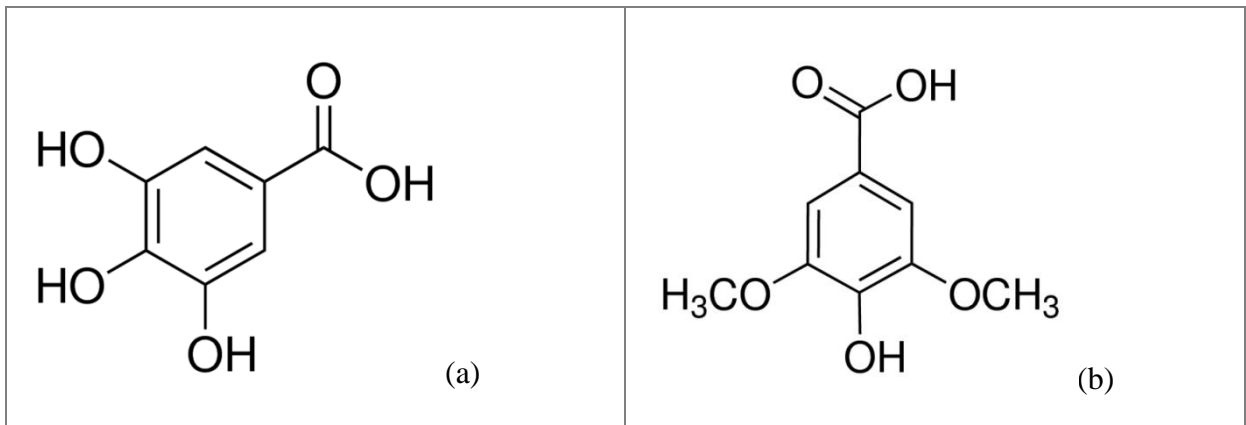


Fig. 1.3. Acid galic (a), acid siringic (b) [21]

Cu toate acestea, substituția grupelor hidroxilice în pozițiile 3- și 5- cu grupe metoxil (acid siringic) reduce această activitate (figura 1.3b) [22].

Acizii hidroxicinamici (C6-C3) apar mai ales sub formă de esteri ai acizilor ferulic, p-cumaric, sinapic și cafeic [12]. Acizii hidroxicinamici manifestă activitate antioxidantă mai mare în comparație cu acizii hidroxi benzoici corespunzători [23]. Acest fenomen ar putea fi atribuit grupei $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ (figura 1.4) care asigură abilitate superioară de donare a ionului de hidrogen și de stabilizare a radicalilor în comparație cu acizii hidroxi benzoici [22].

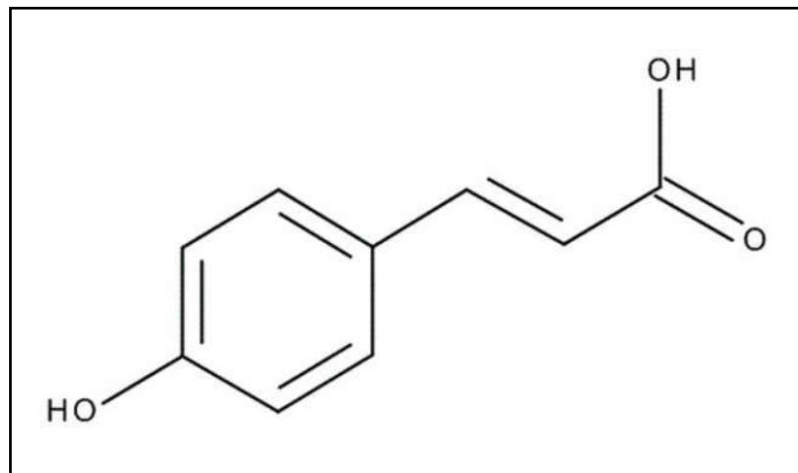


Fig. 1.4. Structura acidului 4-hidroxicinamic (schelet C6-C3) [24]

Relația activitate antioxidantă-structură este în general mai complicată în cazul flavonoidelor din cauza complexității moleculelor acestora. Mai jos, sunt enumerate unele aspecte structurale și de substituție în inelele B și C (figura 1.5) care determină activitatea antioxidantă:

1. Gradul de hidroxilare și poziția grupelor $-\text{OH}$ în inelul B, în mod particular structura *ortho*-dihidroxil a inelului B rezultă în activitate antioxidantă înaltă, conferind stabilitate radicalului aroxil sau fiind loc de legare pentru metale.

2. Prezența de grupe hidroxil în pozițiile 3'-, 4'- și 5'- ale inelului B mărește activitatea antioxidantă a flavonoidelor în comparație cu cele care au o singură grupă hidroxil. Cu toate acestea, în anumite condiții acești compuși pot acționa ca prooxidanți [25].
3. Legătura dublă dintre C-2 și C-3 conjugată cu grupa 4-oxo în inelul C mărește capacitatea de captare a radicalilor liberi în cazul flavonoidelor [20].
4. Legătura dublă dintre C-2 și C-3 combinată cu 3-OH în inelul C de asemenea mărește capacitatea antiradicalică a flavonoidelor cum ar fi în cazul kaepferolului [25]. Substituția 3-OH rezultă în mărirea unghiului de rotire și reducere a coplanarității, ceea ce conduce la scăderea activității antioxidante [26].
5. Substituția grupei hidroxil în inelul B de către grupa metoxil alterează potențialul redox, ceea ce conduce la scăderea activității antioxidante a flavonoidelor [20].

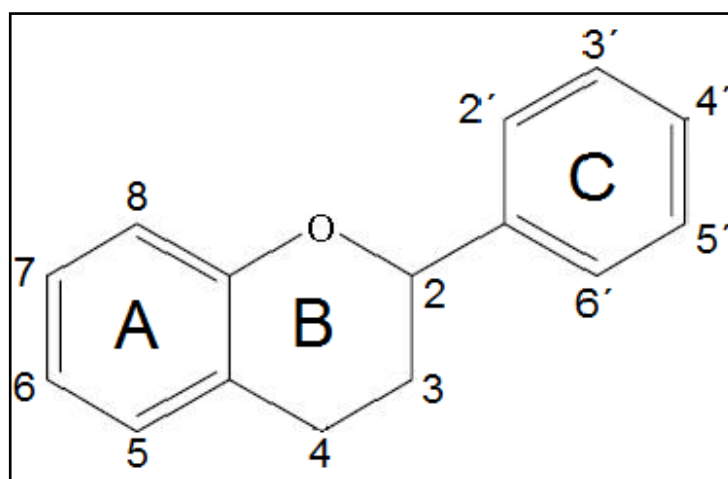


Fig. 1.5. Structura de bază a flavonoidelor (schelet C6-C3-C6) [27]

Carotenoidele

Grupul carotenoidelor conține peste 600 de pigmenți liposolubili care sunt prezenți în multe fructe și legume [28]. Astfel, α -carotenul se găsește în morcovi, varză, dovleac, porumb, ardei galben, mur pitic; β -carotenul - în morcovi, caise, mango, ardei roșu, varză, spanac, broccoli; lycopina - în tomate, pepene verde, grepfrut roz, papaya, guava. Dintre acestea β -carotenul, precursorul major al vitaminei A, a fost cel mai intens investigat până în prezent [12].

1.2. Influența antioxidantilor asupra sănătății

Supraproducția de ROS sau RNS în sistemele biologice conduce la un dezechilibru între formarea acestora și mecanismele de apărare antioxidante, având ca rezultat modificări chimice ale ADN-ului celular, proteinelor sau lipidelor. Acest fenomen este cunoscut sub numele de stres oxidativ sau stres nitrozativ. A fost stabilit că stresul oxidativ indus de ROS este asociat cu procesul de îmbătrânire, precum și inițierea sau dezvoltarea unui număr mare de boli umane,

cum ar fi cancerul, bolile cardiovasculare (ateroscleroza, boala cardiacă ischemică, hipertensiunea arterială, cardiomiopatiile, hipertrofia cardiacă, insuficiența cardiacă congestivă), diabetul zaharat de tip 2, cataracta, artrita reumatoidă sau bolile neurodegenerative (Alzheimer și bolile Parkinson), deși mecanismul precis al rolului ROS în patogenează este neclar [10, pag. 20, 12].

Studiile epidemiologice efectuate indică o legătură clară între dietă și afecțiuni precum cancerul sau bolile cardiovasculare. Principalii agenți protectori sunt considerați vitaminele A, C și β -carotenul, datorită capacităților antioxidante și antiradicalice. Polifenolii, de asemenea, captează foarte eficient radicalii liberi datorită structurii lor ce include un inel aromatic și grupe hidroxilice ce conțin atomi mobili de hidrogen. Mai mult ca atât, acțiunea polifenolilor poate fi atribuită și capacității de reducători și chelatori ai ionilor ferici care catalizează peroxidarea lipidelor [29]. O preocupare majoră în ceea ce privește polifenolii constă în faptul că aceștia sunt considerați „antinutrimente”, în mod particular din cauza abilității lor de a reduce digestibilitatea proteinelor fie prin precipitare directă, fie prin inhibarea enzimelor responsabile de digestie [20]. De exemplu taninurile formează complecși atât cu proteinele și carbohidrații, cât și cu enzimele. În plus, a fost demonstrat că ele diminuează absorbția unor minerale precum fierul și cuprul. Cu toate acestea, interacțiunea cu aceste metale poate fi benefică, acesta fiind unul dintre mecanismele prin care acești compuși își manifestă activitatea antioxidantă. Totuși, câteva studii sugerează că ingestia de compuși fenolici în cantități excesive ar putea avea un rol pozitiv în procesele de cancerogenează, genotoxicitate, toxicitate tiroidă, interacțiune cu anumite medicamente și activitate estrogenă (pentru izoflavone) [20].

Antocienii din pomușoare îmbunătățesc funcțiile neuronale și cognitive ale creierului, au acțiune benefică asupra vederii și protejează integritatea ADN-ului [30]. Extractele din diferite combinații de pomușoare cum ar fi afinele, zmeura, căpșunile, boabele de soc, merișoarele au activități antiangiogenice și antisclerotice și manifestă acțiune citotoxică împotriva *Helicobacter pylori* [30].

Unii autori sugerează că există multe dovezi precum că ROS exercită funcții metabolice esențiale, iar înlăturarea lor ar putea conduce la creșterea riscului bolilor cronice din cauza alterării căilor de semnalizare în celule [31]. În plus, speciile reactive de oxigen generate de către macrofagi și neutrofile sunt esențiale pentru distrugerea agenților infecțioși, participând la reglarea răspunsului sistemului imunitar [12]. Studiile asupra oamenilor sunt contradictorii și mai mulți autori susțin că suplimentarea cu vitamine antioxidante nu ar avea efect benefic [12]. Mai mult ca atât, cercetările indică că suplimentarea cu carotenoide ar mări riscul apariției cancerului în cazul consumatorilor de alcool și fumătorilor împătimiți [12]. Din aceste considerente, mulți cercetători nu aprobă utilizarea suplimentelor ce conțin antioxidanți în scop

medicinal și farmaceutic, dar optează pentru utilizarea acestora în procesarea produselor alimentare, unde aceștia vor îndeplini funcții tehnologice.

1.3. Relația dintre activitatea antioxidantă, conținutul de polifenoli și culoare

Susan Bowerman, lector la Departamentul de știință despre alimente și nutriție Cal Poly San Luis Obispo și coautoarea cărții „Ce culoare are dieta ta?” (What color is your diet) afirmă că dieta pur bej, care la moment îi „umple” pe americani, i-ar putea costa mai târziu. "Producătorii de alimente au făcut un lucru excelent, creând mai multe alimente care sunt ușor de mâncat, ieftine și bogate în zahăr, grăsimi și sare, astfel încât au un gust bun. Amidonul, grăsimile și dulciurile sunt cele mai ieftine alimente din dietă, astfel încât este ușor să observăm de ce am da preferință acestor alimente „maro / bej”. Ele creează senzație de sătul la un preț foarte mic, însă există costuri semnificative de sănătate din cauza unui regim alimentar bogat în glucide rafinate și lipsit de vitamine, minerale, fibre și fitochimicale care sunt atât de abundente în alimentele vegetale " afirmă autoarea [32].

Culoarea produselor naturale ar putea fi un indiciu despre conținutul în fitochimicale și antioxidanți al produselor alimentare [32]. Interesant lucru, dar se pare că oamenii au înțeles necesitatea de a consuma alimente cât mai colorate, astfel încât producătorii de alimente demult au sesizat utilitatea coloranților alimentari. Această necesitate a condus la apariția multor coloranți artificiali care nu doar că nu sunt benefici pentru sănătate, dar pot aduce daune semnificative [32, 33]. Susan Bowerman indică un grup de substanțe foarte importante pentru sănătatea umană, și anume, substanțe biologic active ca fitochimicalele – substanțe ce se găsesc în mod natural în plante și care pot aduce beneficii importante pentru sănătate. Mai mult ca atât, nutriționiștii afirmă că fitochimicalele acționează în mod sinergistic cu alte nutrimente [34].

Din toată gama cromatică, spectrul violet-albastru-roșu oranj relevă majoritatea fructelor și legumelor bogate în antioxidanți. Următoarele șapte culori pot fi indicatori ai anumitor clase de substanțe biologic active, conform clasificării elaborate de Bowerman. Astfel, culorile **albastru/violet** indică prezența antocienilor. Cu cât mai închisă este culoarea, cu atât mai mare e conținutul de acești pigmenți. Culoarea **verde** indică prezența clorofilei și a izotiocianților – potențiali anticancerigeni. Culorile **galben** și **verde** indică prezența luteinei. **Roșu** indică prezența lycopinei – un antioxidant foarte puternic care a fost asociat cu reducerea riscului anumitor tipuri de cancer, în mod special a cancerului de prostată. În plus, acest compus posedă proprietăți cardioprotectoare, iar culorile **galben/oranj** reprezintă β -criptoxantina, α -carotenul și β -carotenul, care, de asemenea, sunt antioxidanți eficienți [28, 32].

Așadar, culoarea fructelor denotă conținutul și cantitatea-record de antioxidanți. Astfel, merișoarele, afinele, murele, zmeura, căpșunile, prunele, cireșile și strugurii roșii abundă de vitamine (A și C) și polifenoli [32]. În baza acestei teorii, autorii cărții au elaborat o întreagă dietă, bazându-se doar pe conceptul includerii tuturor culorilor în alimentația zilnică. Prin această strategie nu se încearcă doar mărirea consumului de fitonutrimente, dar în general creșterea porțiilor de fructe și legume ingerate deoarece consumatorul trebuie să includă cât mai multe culori în alimentație.

1.4. Materii prime horticoale cu un conținut înalt de antioxidanți cu proprietăți colorante

Speciile descrise mai jos sunt surse de produse horticoale valoroase și prezintă un interes deosebit din punct de vedere tehnologic. Aceste specii cresc pe teritoriul Republicii Moldova

Aronia (Aronia melanocarpa)



Imagine: *onlyfoods.net*

Fructele de aronie conțin un nivel ridicat de flavonoide, majoritatea dintre care sunt proantocianidine și antocieni [35]. Studiile *in vivo* și *in vitro* arată că fructele ar putea avea beneficii potențiale pentru sănătate, cum ar fi efectele hepatoprotectoare, cardioprotectoare și antidiabetice [36]. Într-un studiu pe șoareci, extractele dietetice de aronie au redus nivelul colesterolului total și au îmbunătățit capacitățile antioxidante plasmatică și hepatică atunci când au fost consumate în doze relevante din punct de vedere nutrițional [37]. Rezultatele publicate de Kardum și colab. (2014) sugerează un impact pozitiv al consumului de suc de aronie asupra daunelor oxidative celulare și un efect protector de stres oxidativ [38]. Cu toate acestea, studiul lui Martin și colab. (2014) a arătat că capacitatea extractelor de aronie de a modula splenocitele IL-6 și IL-10 stimulate cu LPS *in vitro* nu se datorează polifenolilor principali conținuți de aceste fructe [39]. Polifenolii prezenți în sucul de aronie au rol de reglementare semnificativ asupra proliferării celulare, în special în primele stadii de dezvoltare a cancerului [40]. Valoarea biologică a acestor fructe rezultă din compoziția lor, anume substanțe precum vitaminele, provitaminele și compușii înrudiți, minerale, fitosteroli și compuși fenolici [35]. Astfel, extractele de aronie utilizate la producerea alimentelor nu vor acționa numai ca un ajutor tehnologic, dar vor îmbunătăți, de asemenea, funcționalitatea produsului în ceea ce privește efectul său asupra sănătății umane.

Tescovina de struguri (*Vitis vinifera*)



Imagine: g3enterprises.com

Studiile sugerează că 70% din polifenolii prezenți în struguri rămân în deșeuri după prelucrare [41]. Acești polifenoli reprezintă o sursă de compuși bioactivi valoroși care pot fi utilizați în diferite formulări farmaceutice, nutraceutice și alimentare. Pigmenții găsiți în pielețele de struguri, cum ar fi antocienii, degradează rapid și formează compuși incolori sau bruni [42], motiv pentru care este important să se ia în considerare condițiile tehnologice optime și alte ingrediente din produsele alimentare care pot influența capacitatea lor antioxidantă și biodisponibilitatea, precum și proprietățile lor tehnologice și senzoriale.

Grație culorii lor intense și efectelor pozitive probabile asupra sănătății, polifenolii din deșeurile de vinificație ar putea înlocui coloranții sintetici în băuturi și alimente. Multe studii sugerează că extractele de tescovină ar putea fi folosite ca instrumente pentru a îmbunătăți culoarea diferitor alimente [43-45]. Pedroza și colab. (2013) au utilizat amestecuri de pielețe de struguri din deșeuri deshidratate, folosindu-le ca un instrument util pentru corectarea pierderilor de culoare înainte de îmbuteliere [46]. În plus, alte clase de polifenoli naturali pot fi utilizați ca agenți antimicrobieni și antioxidanți. Rezultatele Delgado Adamez et al. (2012) sugerează, de asemenea, că extractul de semințe de struguri este o alternativă fezabilă pentru aditivii sintetici utilizați în calitate de agenți antibacterieni și antioxidanți [47].

Măceșul (*Rosa Canina*)



Imagine: davisla.wordpress.com

Măceșul (*Rosa canina L.*) este un arbust nativ din Europa și Asia de Vest. De secole, acesta a fost folosit în scopuri medicinale și nutriționale [48]. Fructele de măceș au fost folosite de ani de zile în multe alimente și băuturi, cum ar fi ceaiurile, jeleurile, gemurile și băuturile alcoolice. Planta este, de asemenea, utilizată ca medicament tradițional pentru boli cum ar fi răcelile, gripa, inflamațiile, durerile cronice și ulcerele [49]. Conținutul de vitamină C al acestor fructe este mai mare decât al altor specii, iar polifenolii, de asemenea, prezenți în cantități mari, stabilizează conținutul de vitamine în produsele alimentare [49]. Mai mult ca atât, datele obținute de Lattanzio și colab. (2011) sugerează că proprietățile antiinflamatoare ale extractelor de măceș fac din această plantă un adjuvant potențial care poate servi ca un instrument terapeutic pentru profilaxia bolilor inflamatorii asociate [50].



Cătina albă (*Hippophae rhamnoides*)

Cătina albă este un arbust din familia *Elaeagnaceae*. Acesta a fost folosit în scopuri medicinale și nutriționale în Europa și Asia o lungă perioadă de timp [51, 52]. Fructele, semințele, frunzele și scoarța cătinii conțin mulți compuși bioactivi. Mai mult decât atât, fructele de cătină par a fi o sursă bună de vitamine (A, C, E, K), carotenoide, flavonoide și acizi organici [51, 53]. Studiul lui Lee și colab. (2011) a demonstrat că suplimentarea cu ceai din frunze de cătină are proprietăți antiviscerale potențiale și că acestea sunt o sursă de antioxidanți pentru persoanele suferinde de obezitatea provocată de o dietă bogată în grăsimi [51]. Xu și colab. (2011) au sintetizat informațiile cu privire la efectele asupra sănătății legate de consumul de cătină și au sugerat că aceste fructe ar putea servi în calitate de remediu natural pentru reducerea riscului de boli cardiovasculare și a altor probleme legate de sănătate, cum ar fi diabetul, bolile inflamatorii, tromboza și cancerul [54].



Scorușul-de-munte (*Sorbus aucuparia*)

Sorbus aucuparia face parte din aceeași specie ca *Sorbus domestica*, fructele acestei plante, având un conținut semnificativ de polifenoli, posedă activitate antioxidantă înaltă. S-a mai demonstrat că aceste pomușoare sunt surse de flavonoide, în special flavonoli – compuși antioxidanți importanți [55]. Scorușul crește în Europa și America de Nord, iar fructele sunt folosite la prepararea sucurilor [55]. Gil-Izquierdo și Mellethin (2001) recomandă consumul de suc de scoruș-de-munte pentru a mări ingestia de substanțe antioxidante [55]. Chiar dacă această specie nu este foarte răspândită, fructul arborelui de scoruș-de-casă (*Sorbus domestica*) este popular în comunitatea Xanthi (Rodopi, Grecia) și este considerat o componentă importantă a dietei lor de zi cu zi. S-a demonstrat că gradul de maturare al fructelor, dar mai ales solventul de extracție folosit, influențează conținutul total de polifenoli și activitatea antioxidantă a extractelor de scoruș [56, 57].



Păducelul (*Crataegus monogyna*)

În Europa, extractele de frunze și flori de *Crataegus oxyacantha* sau *Crataegus monogyna* au fost folosite pentru tratarea ușoară și moderată a insuficienței cardiace congestive (NYHA I-III), iar multe teste clinice au arătat că aceste

preparate sunt benefice, ameliorând activitatea inimii cu mai puține efecte secundare toxice. În general, flavonoidele și procianidinele sunt considerate a fi cele două grupe principale de constituenți activi din extractele de păducel, iar în multe farmacopei de stat, aceste două grupuri sunt utilizate pentru standardizarea și controlul calității preparatelor din păducel. Unele rapoarte au arătat că extractele din păducel au efecte vasorelaxante dependente de endotelium și acțiune inhibitoare asupra endotelinei-1 [58]. Este interesant faptul că fracția de procianidine izolată dintr-un extract de păducel a prezentat efecte vasorelaxante remarcabile, pe când fracțiunea de flavonoide nu a prezentat astfel de efecte observabile [58].

1.5. Influența regimurilor tehnologice asupra antioxidanților și coloranților de origine naturală

Atât creșterea gradului de conștientizare a beneficiilor fructelor și legumelor pentru sănătate, precum și necesitatea comodității datorită unui stil de viață accelerat au sporit cererea de produse gata de consum (RTE-ready-to-eat). În ultimii ani, producătorii au elaborat diverse alimente ale căror scop este de a aduce comoditate consumatorilor. Produsele alimentare sunt supuse diferitor tratamente tehnologice care pot implica temperaturi ridicate, presiune înaltă, microunde etc., iar activitatea biologică, precum și caracteristicile senzoriale cum ar fi culoarea se pot schimba după astfel de tratamente [59]. Compoziția alimentului și pH-ul ce poate varia semnificativ (tabelul 1.1) sunt, de asemenea, factori importanți pentru stabilitatea compușilor bioactivi și proprietăților senzoriale.

Tabelul 1.1. Exemple de produse cu diferite valori testate ale pH-ului [60]

pH	Produse alimentare
2,5±0,2	Sirop grenadine, suc de lămâie, lămâie verde, oțet etc.
3,6±0,2	Mere proaspete, mere coapte, caise conservate, caise uscate, nectar de caise, piure de caise, cireșe (congelate, conservate), gem, ketchup, piersice, varză murată etc.
5,5±0,2	Anghinare gătite, fasole în sos de tomate sau conservate, pâine de seară, nectar de guava, piure de cartofi, diferite sosuri.
7,4±0,2	Diferite supe, brânză Camembert, homar gătit, tofu, ceai etc.

În plus, în timpul procesării, sunt utilizate diferite procedee tehnologice de conservare, multe dintre care implică scăderea sau creșterea temperaturii în produs. În tabelul 1.2 sunt prezentate câteva exemple.

Tabelul 1.2. Exemple de procese și procedee ce implică diferite temperaturi [61]

Temperaturi	Exemple de procese și procedee
<-2°C	Temperatura în congelator etc.
4°C	Refrigerarea etc.
40°C	Intensificarea activității enzimelor, termostatarea iaurturilor, afumarea etc.
60°C	63°C – temperatura minimă necesară pentru siguranța microbiologică a alimentelor etc.
80°C	Pasteurizarea, HTST, PATS (Pressure Assisted Thermal Sterilisation) etc.
100°C	Fierberea, sterilizarea etc.

Astfel, se consideră că unele produse, îndeosebi fructele și legumele prelucrate, au valoare nutritivă mai mică decât cele în stare proaspătă din cauza pierderii conținutului de compuși bioactivi în timpul prelucrării [59]. Anume din cauza lipsei stabilității unor compuși bioactivi de origine naturală, mulți cercetători se concentrează pe studiul influenței procesării asupra compușilor respectivi.

Klimczak și colab. (2007) au urmărit evoluția conținutului de polifenoli, vitaminei C și a activității antioxidante în timpul păstrării sucului de portocale la 18°C, 28°C și 38°C timp de 2, 4 și 6 luni. Autorii au determinat că cei mai afectați compuși sunt vitamina C și acizii hidroxicinamici (liberi și conjugați), ceea ce a condus și la diminuarea activității antioxidante. Timpul și temperatura au afectat în mod semnificativ conținutul de polifenoli determinat prin metoda Folin-Ciocalteu. Autorii au semnalat, de asemenea, o scădere semnificativă a conținutului acestor compuși pe parcursul a 4 luni de stocare. Temperatura de păstrare s-a dovedit a fi un factor important, astfel încât concentrația polifenolilor a scăzut cu 7%, 11% și 20% în cazul temperaturilor 18, 28 și 38, respectiv [59].

Carotenii sunt susceptibili la oxidare, mai ales în prezența luminii, și ca rezultat, pentru a-i proteja, de regulă, alți antioxidanți sunt incluși în formulările ce îi conțin. Utilizarea β -carotenului în emulsiile de colorare a băuturilor portocalii a avut uneori ca rezultat formarea unui inel inestetic uleios la gâtul sticlei în timpul depozitării [33]. La fel, și unii ioni din apa folosită

în procesul de producere pot destabiliza substanțele naturale folosite în produsele alimentare ca antioxidanți și coloranți [33].

Autorii Stojanovic și Silva (2007) au studiat procesul de concentrare osmotică a afinelor Rabbiteye. Fructele au fost concentrate într-o soluție de zaharoză timp de 12 ore și 3 ore, cu și fără utilizarea ultrasunetelor de înaltă frecvență (CHFU). Probele tratate și netratate au fost uscate cu aer deshidratat (70°C, 10 ore). Concentrarea osmotică a scăzut aciditatea titrabilă și a provocat o pierdere mare de antocieni și polifenoli. În timpul procesului de 12 ore, aproximativ 60% din antocieni și polifenoli s-au pierdut. Deshidratarea cu aer a scăzut și mai mult cantitatea de antocieni și polifenoli, cu o influență negativă mai mare asupra antocienilor. Deshidratarea, după concentrarea osmotică, a produs cele mai mari diferențe de culoare în comparație cu proba-martor. Tratarea cu ultrasunete de înaltă frecvență a avut o influență negativă asupra antocienilor și polifenolilor. Cele mai mici valori ale activității antioxidante au fost obținute în fructele concentrate și deshidratate. Astfel, autorii au conchis că temperatura înaltă în combinație cu concentrația ridicată de zahăr și disponibilitatea de oxigen a avut cea mai mare influență negativă asupra culorii și a proprietăților antioxidante (antocieni și polifenoli) în afinele deshidratate [62].

Gazzani și colab. (1998) au studiat efectul temperaturii în sucurile de morcovi, conopidă, țelină, vinete, usturoi, ciuperci, ceapă, tomate, cartofi, ardei gras galben și dovlecel (zucchini). Diferite tratamente tehnologice au influențat în mod diferit activitatea antioxidantă, în funcție de tratamentul aplicat și produs. Astfel, fierberea timp de 30 min a scăzut într-o anumită măsură valorile activității antioxidante în toate sucurile, dar în cazul tomatelor și țelinei scăderea a fost de mai mult de 50%. Congelarea a scăzut puțin (5-10%) activitatea antioxidantă în sucurile de conopidă, ciuperci, ceapă, cartof alb, ardei gras galben și dovlecel. A fost înregistrată o scădere de 17% pentru roșii. O creștere minoră (5%) a fost observată în cazul sucului de țelină și usturoi, pe când în cazul vinetelor și morcovilor, creșterea a fost de 20% și 400%, respectiv. Liofilizarea a determinat creșterea activității antioxidante în toate sucurile. Astfel, autorii au concluzionat că tratamentele ale căror scop este păstrarea pe durate lungi nu influențează în mod major activitatea antioxidantă, pe când tratamentele termice drastice duc cel mai des la scăderea acestui parametru [29].

Cilla și colab. (2011) au analizat capacitatea antioxidantă, conținutul de acid ascorbic și conținutul total de polifenoli, utilizând metodele ORAC și TEAC în opt băuturi din fructe care conțin struguri, portocale și caise, cu/fără fier și/sau zinc și cu/fără lapte adăugat. Autorii au studiat, de asemenea, influența depozitării la rece (2-4°C) asupra produsului pe durata termenului de valabilitate (135 de zile) și influența digestiei gastrointestinale *in vitro* asupra capacității antioxidante. Capacitatea antioxidantă a crescut semnificativ ($p < 0,05$) la sfârșitul depozitării

(16,4% și 12,8% pentru ORAC și TEAC, respectiv) în toate băuturile, în timp ce conținutul de acid ascorbic a rămas stabil. Digestia *in vitro* a majorat valorile activității antioxidante, dar a scăzut concentrațiile de polifenoli și acid ascorbic. Concluzia autorilor a constat în faptul că suplimentarea băuturilor din fructe cu lapte și/sau Fe/Zn nu a modificat capacitatea totală antioxidantă a probelor în timpul depozitării la rece sau a digestiei *in vitro* [63].

În studiul lui Pataro și colab. (2011) a fost investigat efectul prelucrării ohmice asupra calității și termenului de valabilitate a siropului de caise. Autorii au determinat că conținutul de acid ascorbic a fost ușor redus de tratamentul electrotermic [64].

Un alt studiu a fost realizat pentru a investiga efectul procesării de înaltă presiune (HPP) la presiuni diferite (200, 400 și 600 MPa) și durata tratamentului (10 și 20 min.) asupra populației microbiene, parametrilor fizico-chimici, compușilor bioactivi, activității antioxidante totale și compușilor volatili în sucul de sparanghel verde, în comparație cu tratamentul termic (121°C/3 min.) și proba-martor (fără tratament). În toate tratamentele HPP s-au păstrat mai mult acid ascorbic și rutin. Activitatea antioxidantă și conținutul total de polifenoli au fost, de asemenea, mai mari în cazul procesării HPP decât în cazul tratamentului termic [65].

Laurari și colab. (1997) au studiat influența temperaturii de uscare asupra stabilității polifenolilor și activității antioxidante în piețele de tescovină roșie. Autorii au determinat că temperaturile mai mari de 100°C au redus în mod semnificativ atât cantitățile de polifenoli extractibili, cât și activitatea antioxidantă. În plus, au fost semnalate și modificări de culoare [66]. Studiul efectuat de Spigno și colab. (2007) a arătat că activitatea antioxidantă este corelată cu concentrația totală a polifenolilor în cazul tescovinei, iar procesul de liofilizare nu afectează compoziția și activitatea antioxidantă a extractelor din această materie primă [44].

Choi și colab. (2006) au studiat influența tratamentului termic asupra activității antioxidante totale și asupra diferitor compuși fenolici din extractul de ciuperci Shiitake. Autorii au utilizat testele ABTS și DPPH pentru a evalua activitatea antioxidantă. Conținutul de polifenoli și activitatea antioxidantă din extracte au crescut odată cu majorarea temperaturii de încălzire și a timpului. Rezultatele au arătat că tratamentul termic a îmbunătățit în mod semnificativ activitatea antioxidantă totală în cazul extractului de ciuperci Shiitake [67]. Alți autori au mai publicat rezultate privind creșterea activității antioxidante pe parcursul tratamentelor termice ale tomatelor. În cazul acestui produs, autorii explică creșterea prin mărirea disponibilității lycopinei [68].

Majoritatea studiilor existente se concentrează pe evaluarea modificării activității antioxidante în fructele proaspete. Astfel, mai mulți autori au studiat influența duratei și temperaturii de păstrare asupra conținutului de polifenoli și activității antioxidante în fructele proaspete. De exemplu, Connor și colab. (2002) au demonstrat că o creștere a activității

antioxidante, conținutului total de polifenoli și antocieni pot să apară în timpul depozitării la rece a afinelor, aceste modificări fiind dependente de soi [69].

Studiul lui Cordenunsi și colab. (2005) asupra influenței temperaturii în timpul păstrării căpșunilor a arătat că temperaturile joase diminuează conținuturile de antocieni și vitamină C și nu au influență majoră asupra concentrațiilor de polifenoli totali, flavonoli și acid elagic [70].

Shin și colab. (2007) au studiat calitățile fizice și componentele antioxidante ale căpșunilor "Jewel" stocate în condiții de 75%, 85% sau 95% umiditate relativă (RH), la 0,5; 10 și 20°C, timp de 4 zile. Concentrația totală de polifenoli s-a păstrat cel mai bine în cazul stocării la 20°C. În cazul tuturor temperaturilor studiate, conținutul total de flavonoide din fructe nu s-a schimbat în timp. Valorile maxime pentru activitatea antioxidantă au fost determinate în ziua a treia, de asemenea, pentru toate temperaturile. Umiditatea relativă nu a avut nici un efect asupra activității antioxidante [71].

Tipul antioxidantului, structura sa, cât și matricea produsului alimentar în care acesta există vor influența stabilitatea în timpul tratamentelor tehnologice. În plus, digestia ce are loc în tractul gastrointestinal poate îmbunătăți, de asemenea, proprietățile antioxidante *in vivo* ale extractelor, după cum a demonstrat studiul lui Liyana-Pathirana și Shahidi [72].

Amestecarea și umplerea produsului poate afecta stabilitatea compușilor naturali care sunt predispuși la modificări datorate nivelurilor crescute de oxigen. Oxigenul poate fi captat fie în produs și/sau în spațiul superior al ambalajului. Lumina, de asemenea, este un factor important. Carotenoidele, de exemplu, sunt foarte sensibile la acțiunea ei. În cazul luminii, trebuie studiată atât acțiunea razelor solare, cât și cea a luminii din depozite sau spații comerciale, care poate fi diferită ca spectru și intensitate [33].

Creșterea activității antioxidante simultan cu descreșterea conținutului de polifenoli poate fi atribuită mai multor factori cum ar fi schimbarea stării de oxidare a polifenolilor ce conduce la creșterea activității lor, formarea compușilor Maillard cu proprietăți antioxidante [73, 74].

1.6. Metode de stabilizare a antioxidantilor și coloranților naturali

În ultimii ani, produsele alimentare care conțin aditivi sintetici sunt din ce în ce mai evitate de către consumatori, parțial din cauza unei tendințe crescânde de a evita produsele alimentare care conțin compuși artificiali [33]. În plus, costul ridicat al sintezei și producerii aditivilor sintetici, cât și dezvoltarea rapidă a metodelor de obținere a unor alternative naturale fac improbabilă dezvoltarea ulterioară a industriei aditivilor sintetici [75].

În anul 2011, „Agenția pentru Standarde Alimentare” (Food Standards Agency) a Regatului Marii Britanii și Irlandei de Nord a elaborat un ghid ce oferă informații cu privire la opțiunile alternative pentru colorarea produselor alimentare și băuturilor care conțin în prezent una sau mai multe dintre așa-numitele șase culori Southampton, și anume, galben auriu FCF (E110), galben de chinolină (E104), carmoizină (E122), roșu allura (E129), tartrazină (E102), ponceau 4R (E124). Acești aditivi au devenit un subiect controversat după publicarea rezultatelor unui studiu ce afirmă că acești compuși provoacă hiperactivitate la copii. Astfel, procesatorii de produse alimentare deja evită utilizarea lor [75]. Există o selecție de culori derivate din produse naturale și alimente de colorat la dispoziția producătorilor care ar produce culori în același interval de roșu, portocaliu și galben. Din păcate, culorile derivate din surse naturale sunt mai puțin stabile decât culorile sintetice pe care le înlocuiesc și, prin urmare, o înțelegere a proprietăților și stabilității acestor culori este crucială pentru înlocuirea cu succes a acestora [33].

În unele produse alimentare este foarte dificil a obține culoarea dorită, în special dacă acestea au o durată de depozitare lungă, sunt încălzite și/sau expuse la lumină și oxigen. Este, de asemenea, dificil a obține o culoare atunci când este necesară o potrivire exactă pentru culoarea existentă. În ultimii ani, cercetătorii au studiat diferite metode de stabilizare a pigmentilor naturali – clorofile, betaină, carotenoide, antocieni etc. [33]. Copigmentarea, complexarea cu metale, stabilizare în diferite soluții, la diferite valori ale pH-ului sunt doar câteva dintre metodele de stabilizare care au fost studiate în ultimii ani [76-81]. Studiile sugerează că antocienii pot forma complecși stabili copigment-metal-antocian cu ionii metalici, cum ar fi nichelul, magneziul și calciul [82] și pot avea un efect sinergic cu alți antioxidanți prezenți în mediu [83].

Este cunoscută metoda descrisă de Guillotin și colab. (2009) de stabilizare a antocienilor și a extractului de coacăză neagră prin adăugarea unor fitocomponente extrase din mere [84]. Dezavantajul acestei metode constă în costul înalt de obținere a fitocomponentelor din mere, care pot conține glicozidaze ce provoacă pierderea stabilității culorii extractului.

Brevetul USA US4481226 A descrie un procedeu de stabilizare a extractului de tescovină prin obținerea unui extract cu soluție apoasă de etanol 25...75%, la temperatura sub 30°C. Metoda include adăugarea acidului tanic sub formă de galotanin hidrolizabil în raport 5...25% din masa substanței uscate conținută în extractul obținut, apoi recuperarea extractului prin uscare-pulverizare pe dextrină în două etape [85].

Klemchuk și Horng (1991) au studiat procesul de stabilizare utilizând antioxidanți și co-aditivi de fosfor trivalent. Autorii au determinat că dezvoltarea culorii în timpul utilizării articolelor polimerice care conțin antioxidanți fenolici este atribuită formării produselor chinoidale conjugate ca urmare a prinderii radicalilor de către polifenoli [86].

1.6.1. Copigmentarea ca metodă de stabilizare a compușilor coloranți naturali

Copigmentarea este îndeosebi cunoscută datorită importanței sale la descrierea culorii vinurilor roșii. Anume acest fenomen este responsabil pentru nuanțele bordo caracteristice vinurilor roșii, nuanțe ce sunt diferite de culoarea antocienilor când aceștia sunt prezenți singuri într-o soluție-model de vin. Copigmentarea se manifestă prin ameliorarea culorii vizibile datorită formării complexelor dintre antocieni și cofactorii incolori [87]. Autorii descriu două mecanisme de copigmentare:

- interacțiuni intramoleculare în care pigmentul (antocian) este legat covalent la copigment, de obicei, prin reacții de acilare;
- interacțiuni intermoleculare în care pigmentul și copigmentul interacționează prin intermediul interacțiunilor slabe p-p [78, 88, 89].

Aceste interacțiuni stau la originea stabilizării ionului flaviliu, modificând astfel nuanța și intensitatea culorii care sunt însoțite de creșteri ale absorbanței în domeniul vizibil (deplasare hipercrom) și o schimbare a lungimii de undă la care are loc absorbția maximă (deplasare batocrom) [88]. Autorii sugerează că aceste reacții sunt primul pas spre legarea covalentă mai stabilă [90]. Complexele pigment-copigment adoptă o configurație de tip sandwich, care protejează cromoforul flaviliu de atacul nucleofil al apei, reducând apariția formelor incolore hemicetal și chalcone [78, 91]. Procesul de copigmentare este dependent de structura chimică a copigmentului, concentrația acestuia, pH-ul și temperatura mediului. În general, se consideră că ionul flaviliu este principala specie colorată care participă în procesul de copigmentare. Cu toate acestea, unii autori sugerează că baza chinoidală este specia implicată [78]. Compușii non-fenolici, cum ar fi anumiți aminoacizi, vor avea un efect similar mai mic. Totuși majoritatea copigmenților studiați sunt compușii fenolici [89, 92].

În cercetările lui Malaj și colab. (2013) acidul siringic a arătat cea mai mare contribuție la schimbările hipercrom și batocrom, urmat de acidul vanilic cu o ușoară contribuție mai mică și de acidul p-cumaric care s-a dovedit a fi cel mai slab copigment studiat [88]. Noii pigmenți formați vor avea culori diferite: pigmenți polimerici roșii (asocierea dintre antocieni și flavone), piranoantocieni portocalii (antocieni și alte componente cum ar fi acidul piruvic, vinilfenolii sau vinilflavanolii) și portizinele albastre (formate în urma reacțiilor dintre aducții antocieni-acid piruvic și flavonoli sau acizi hidroxicinamici) [89, 93].

Antocienii pot reacționa, de asemenea, cu molecule mici, care provin din metabolismul drojdiei cum ar fi acetaldehida, acidul piruvic, acidul acetoacetic, fenolii vinilici și acizii fenolici (acizii cumaric și cafeic), având ca rezultat formarea de compuși care aparțin familiei

piranoantocienilor. Acești compuși sunt considerați parțial responsabili pentru nuanțele portocalii observate în timpul maturării și îmbătrânirii vinului [6]. În ultimii ani, mai multe familii de compuși derivați ai piranoantocienilor, cu caracteristici cromatice neobișnuite, au fost identificate în vinurile de Porto roșii, cum ar fi portizinele A și B, formate prin reacția carboxipiranoantocienilor cu flavonele, mediată de acetaldehidă și acizi fenolici (acizii cafeic, cumaric, ferulic și sinapic). Portizinele A (vinilpiranoantocian-catechină) și B (vinilpiranoantocian-fenol) au caracteristici spectroscopice interesante, rezultând într-o culoare albăstruie în condiții acide [6]. Cu toate acestea, recent, cercetarea lui Lambert și colab. (2011) a arătat că autoasocierea malvidin-3-glicozidei este mai importantă decât copigmentarea pentru vinurile roșii tinere. În cadrul studiului respectiv, cel mai eficient copigment a fost quercetina, în timp ce acidul cafeic și catechina s-au dovedit a fi copigmenți slabi [89]. Recent, cercetătorii din cadrul unor companii de producere a coloranților alimentari au lansat ideea că pe lângă copigmentarea intramoleculară, copigmentarea intermoleculară cu acizi fenolici ar putea să contribuie la stabilizarea culorii [94].

1.6.2. Stabilizarea polifenolilor prin încapsulare înainte de folosirea în produsele alimentare

Unii antioxidanți precum anumite clase de polifenoli sunt sensibili la acțiunea temperaturii și luminii. În plus, în cazul în care acești compuși ce urmează a fi utilizați în calitate de antioxidanți sau coloranți nu au fost extrași selectiv, ei vor exista în amestec cu alte substanțe ce ar putea avea o aromă diferită. Această aromă va fi transferată în produs în momentul când este adăugat extractul [33]. Biodisponibilitatea lor redusă este o altă problemă, iar majoritatea au gust astringent și amar [95]. În același timp, administrarea simultană a câtorva compuși bioactivi poate rezulta în efecte sinergistice benefice pentru sănătate [96]. În acest caz, încapsularea este o opțiune viabilă. Până în prezent, în literatura de specialitate au fost descrise mai multe metode de încapsulare, iar unele dintre ele au fost aplicate cu succes asupra polifenolilor din plante [95]. Microîncapsularea oferă și mai multe avantaje, protejând polifenolii de oxidare sau condiții acide [33]. Munin și Edwards-Levy (2011) au sintetizat informația despre metodele de încapsulare, clasificându-le în metode fizice, metode fizico-chimice, metode chimice și alte metode conexe stabilizării. Astfel, au fost descrise uscarea prin pulverizare, coacervarea, complexarea prin incluziune, cocrystalizarea, nanoîncapsularea, liofilizarea și emulsificarea etc. [95, 97].

Proteinele pot avea un rol crucial în procesul de încapsulare, protecție și introducere a compușilor bioactivi în alimentele funcționale. Acestea au proprietatea de a forma complexe proteine-ligand, protejând compusul complexat de oxidare și degradare. β -lactoglobulina este o proteină ce manifestă afinitate pentru mulți compuși bioactivi cum ar fi acizii grași, vitaminele și polifenolii [96]. Gelatina, o altă proteină utilizată în industria alimentară, are proprietăți

interesante de gelificare și un cost scăzut, iar testele privind încapsularea au demonstrat o retenție excelentă a activității antioxidante [98]. La încapsularea polifenolilor din rodie (*Punica granatum*), înainte de adăugarea acestora în iaurt, au fost folosite maltodextrina și izolatele proteice din soia [99]. Au fost studiați și alți compuși. De exemplu, Trifkovic și colab. (2014) au utilizat chitosanul la încapsularea polifenolilor din cimbru (*Thymus serpyllum L.*) [100].

1.6.3. Separarea polifenolilor utilizând microspuma coloidală (CGA – colloidal gas aphrons)

Microspuma coloidală sau CGA (colloidal gas aphrons) reprezintă microbule (10-120 μm) de gaz care formează un sistem dinamic ce trece prin schimbări continue ce rezultă din spargerea bulelor, coalescență, disproporționare etc. Aceste sisteme dinamice sunt generate prin agitarea intensă a unei soluții de surfactant la viteze înalte ($>8000 \text{ min}^{-1}$) [101]. Microbulele microspumei coloidale se deosebesc de cele ale spumelor convenționale prin faptul că sunt încapsulate în mai multe învelișuri (figura 1.6). Termenul „coloidal” a fost folosit datorită dimensiunii mici a bulelor, cu toate că aceasta nu este în domeniul coloizilor (diametru: 10-100 μm) [102].

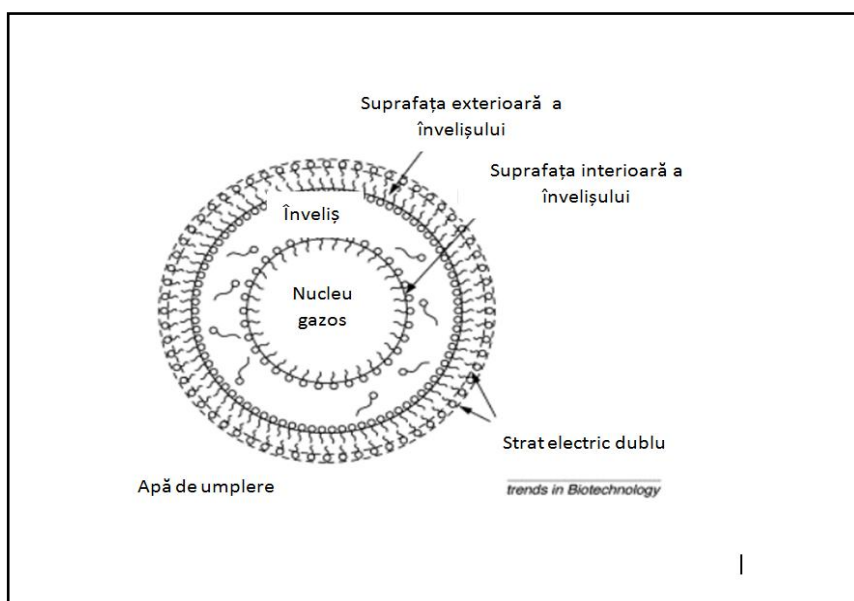


Fig. 1.6. Structura propusă pentru microspuma coloidală [102]

Datorită structurii sale, microspuma coloidală se caracterizează prin suprafață de interfață mare, stabilitate înaltă, fluiditate semnificativă, se separă ușor de faza lichidă. Structura explică, de asemenea, stabilitatea mărită în comparație cu spumele convenționale [103]. În ultimii ani, au fost descrise proprietățile fizice ale mai multor tipuri de microspume coloidale (în funcție de surfactantul utilizat). Aceasta permite identificarea mai multor aplicații, cele mai multe reprezentând procese de separare și purificare [102].

Domenii de aplicare ale microspumei coloidale includ flotația pentru recuperarea produselor biologice și non biologice cum ar fi:

- flotația celulelor microbiene;
- separarea proteinelor;
- sporirea transferului de oxigen;
- bioremedierea [103].

În tabelul 1.3 sunt prezentate mai multe domenii de aplicare ale microspumei coloidale, cât și surfactanții utilizați pentru producerea acesteia.

Tabelul 1.3. Domenii de aplicare a microspumei coloidale (abrevieri: c - cationic, a - anionic, ni – non ionic) [102]

Proces	Surfactant
Extracția în două faze a enzimelor în mediul apos	CTAB (c), LAEO (ni), SDBS (a)
Limpezirea suspensiilor	AOT (a), BDHA (c), Lux@flakes (ni)
Limpezirea suspensiilor de levuri	SDBS (a), BDHA (c), CPC (c), CTAC (c), DTAC (c), SDBS (a), SDS (a)
Sporirea transferului de masă în bioreactoare	Tween 20 (ni), CPC (c), Triton X-100 (ni), SDBS (a)
Îmbunătățirea transportului de bacterii prin matricea de sol	SDBS (a)
Flotația algelor monocelulare	Arquad C-50 (c)
Separarea lizozimului	AOT (a)
Separarea proteinelor, antioxidanților, polifenolilor	AOT (a), CTAB (c), Triton X-100 (ni)

În ceea ce privește utilizarea în biotehnologiile din industria alimentară, microspuma coloidală poate fi aplicată la separarea, respectiv purificarea sau concentrarea diferitor nutrimente și/sau compuși bioactivi cum ar fi proteinele, antioxidanții etc. [102]. Cu toate acestea, până în prezent a fost caracterizat un număr mic de surfactanți, dar tipul surfactantului, structura moleculei de separat, cât și alți factori cum ar fi concentrația molară a surfactantului, forța ionică și pH-ul sunt importanți pentru optimizarea domeniilor de aplicare [101, 102, 104]. O altă problemă a utilizării microspumei coloidale este separarea surfactantului utilizat pentru

generarea spumei după proces. O soluție posibilă este eliminarea necesității de separare prin utilizarea unor surfactanți care constituie ei înșiși ingrediente alimentare [101].

O serie de studii privind separarea antioxidanților au arătat că microspuma coloidală are potențial imens. Astfel, aceste sisteme au fost utilizate pentru separarea acidului galic, astaxantinei, carotenoidelor și polifenolilor din tescovină [101, 104, 105].

1.7. Utilizarea extractelor vegetale horticole în rol de aditivi tehnologici

Utilizarea ingredientelor naturale în calitate de aditivi alimentari devine tot mai populară în întreaga industrie alimentară, simultan cu dorința de a reduce costurile de fabricație. Datorită acestei tendințe, producătorii de coloranți își extind în mod continuu portofoliul de produse [106]. Necesitatea de coloranți și antioxidanți alimentari de origine naturală pentru industria alimentară sporește cererea de extracte naturale. Această necesitate este dictată atât de cererea consumatorilor pentru produsele fără aditivi sintetici, dar și din cauza efectelor toxicologice și potențialului cancerigen al unor antioxidanți (BHT, BHA) și coloranți sintetici [44].

Mai multe studii au demonstrat că diferite pomușoare și unele deșeurii vegetale sunt o sursă de coloranți naturali, în același timp, fiind candidați pentru intervenții dietetice atunci când vine vorba de atenuarea inflamației cronice. Ele ar putea înlocui, de asemenea, antioxidanții sintetici în alimente și cosmetice [107]. Polifenolii din aceste surse reprezintă o sursă valoroasă de compuși bioactivi care pot fi utilizați în diferite formulări farmaceutice, nutraceutice și alimentare. Tradițional, extractele antioxidante naturale sunt destinate pentru uz medical, însă din cauza numeroaselor incertitudini legate de biodisponibilitatea acestora, utilizarea lor în alimente este mai promițătoare [5], unde pot fi utilizați ca antioxidanți, coloranți și agenți antimicrobieni [6].

În procesul de vinificație, în jur de 25% din masa strugurilor devin deșeurii care ulterior sunt compostate și reintroduse în vii [108], iar polifenolii prezenți în struguri rămân în deșeurile respective după prelucrare și pot fi utilizați în noi produse alimentare [41].

Estevez și colab. (2006) au evaluat efectul antioxidant al două uleiuri vegetale esențiale – de salvie și de rozmarin și cel al unui antioxidant sintetic (BHT) în timpul stocării paté-ului de porc în condiții de refrigerare (4°C/90 zile). Produsele fără adaos de antioxidanți au fost folosite în calitate de probe-martor. Oxidarea proteinelor, modificarea hemului (HI) și concentrațiile de fier non hemic (NHI) au fost determinate în toate paté-urile. În plus, au fost analizate culoarea și caracteristicile de textură în zilele 0, 30, 60 și 90 de depozitare refrigerată. Cantitatea de carbonili proveniți din oxidarea proteinelor a crescut semnificativ ($p < 0,05$) în timpul depozitării refrigerate, iar această creștere a fost semnificativ mai mare în probele-martor comparativ cu

probele tratate. Antioxidanții au protejat cu succes moleculele hem de degradare și au inhibat semnificativ creșterea cantităților de fier non hemic. Adăosul de ulei esențial de rozmarin a redus semnificativ duritatea paté-urilor de ficat. Autorii au ajuns la concluzia că uleiurile de salvie și rozmarin manifesta proprietăți antioxidante similare cu cele ale BHT care denotă caracterul adecvat al acestora ca alternative pentru antioxidanții sintetici [109].

A fost efectuat un studiu pe chiftelele de carne de vită cu adaos de antioxidanți naturali - boia de ardei iute, ardei gras roșu, pastă de tomate bogată în lycopină (LRTP) și extract de tomate bogat în lycopină (Lyc-O-Mato™). Produsele au fost ambalate în atmosferă modificată, iar stabilitatea acestora a fost evaluată în timpul depozitării la $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Autorii au evaluat parametrii CIEa*, metmioglobina la suprafață, TBARS, numărul de bacterii psihrotrofe, modificările senzoriale de miros și culoare. Rezultatele au demonstrat că adăugarea de ardei (dulce și iute) în chiftelele din carne de vită a întârziat și a inhibat semnificativ ($p < 0,05$) atât oxidarea mioglobinei și lipidelor, cât și creșterea bacteriilor psihrotrofe. Potrivit rezultatelor instrumentale și senzoriale pentru culoarea și aroma cărnii, perioada de valabilitate a chiftelelor a fost extinsă de la cca 4 până la cca 16 zile. Adăugarea produselor de tomate îmbogățite cu lycopină nu a fost la fel de eficace ca adaosul de ardei, deși a exercitat acțiune antioxidantă, în funcție de concentrația de lycopină. Aceste adaosuri au prelungit termenul de păstrare a chiftelelor cu 8-12 zile [110].

Ladron de Guevara și colab. (2002) au analizat efectul adăugării extractelor de rozmarin și tocoferol, doi antioxidanți naturali, asupra stabilității culorii boielei depozitate la diferite temperaturi și valori ale umidității relative. Antioxidanții au demonstrat un efect protector clar asupra stabilității culorii în toate condițiile testate. A fost constatat un efect sinergistic al ambilor antioxidanți la temperaturi cuprinse între 25°C și 40°C [111].

Într-un alt studiu, uleiul de rapiță a fost suplimentat cu extracte fenolice din scoruș (*Sorbus aucuparia*) și măr-pădureț siberian (*Malus baccata*). Rezultatele activității antiradicalice și a celei antioxidante au demonstrat că extractele naturale sunt mai eficiente decât antioxidantul sintetic butilat de hidroxitoluen (BHT) și pot constitui o alternativă a antioxidanților sintetici în timpul prăjirii și depozitării uleiurilor vegetale [112].

1.8. Concluzii la capitolul 1

Termenul „antioxidant” desemnează simultan aditivi tehnologici și substanțe cu rol funcțional pentru organismul uman. În sursele naturale sunt prezenți mulți compuși precum polifenolii, carotenoidele etc., iar cercetătorii încearcă să înlocuiască aditivii sintetici cu aceste substanțe datorită creșterii cerințelor consumatorilor față de produsele alimentare. În plus, multe dintre aceste substanțe pot juca un rol tehnologic dublu: coloranți și antioxidanți. Totuși, compușii din surse naturale au stabilitate limitată, de aceea în timpul utilizării ultimelor în

formulările alimentare trebuie luate în considerare condițiile tehnologice optime. Prezența oxigenului și a luminii, temperatura și durata de expunere, pH-ul și unii ioni sunt factori-cheie de conservare a potențialului antioxidant și culorii. Alte limitări ale utilizării compușilor de origine naturală sunt prezența altor compuși în amestec cu aceștia, capabili să influențeze proprietățile lor senzoriale. Soluții potențiale pentru aceste probleme sunt tehnologiile inovative precum încapsularea și separarea, folosind microspuma coloidală. Astfel, o caracterizare completă a compoziției extractului poate oferi explicații privind modificarea activității antioxidante după diferite tratamente și în diferite condiții. Înlocuirea aditivilor sintetici cu extracte naturale nu este întotdeauna un proces simplu, reprezentând o problemă de cercetare actuală. Acest proces necesită elaborarea unor procedee în care s-ar ține cont de substanțele bioactive prezente în extract, de matricea alimentară în care acestea urmează a fi introduse, pH și de procedeele tehnologice ulterioare.

Scopul prezentei lucrări constă în identificarea regimurilor tehnologice operaționale (tratamente termice, temperaturi de păstrare, factori de compoziție a sistemelor alimentare) pentru menținerea potențialului antioxidant și culorii extractelor hidroalcoolice de compuși biologic activi din tescovina de struguri și fructele de pădure.

Obiectivele operaționale ale tezei sunt:

- **Determinarea concentrației diferitor clase de compuși antioxidanți în extractele de tescovină, aronie, păducel, scoruș, cătină albă și măceș și caracterizarea instrumentală a culorii.** Este necesar a demonstra că materiile prime utilizate sunt într-adevăr o sursă de antioxidanți, iar culoarea lor prezintă interes pentru procesatorii de alimente și consumatori. În plus, datele despre compoziția extractelor pot fi folosite la explicația proprietăților tehnologice și funcționale ale acestora.
- **Determinarea evoluției activității antioxidante și a parametrilor de culoare pe parcursul diferitor tratamente termice și temperaturi de păstrare.** Astfel, vor fi făcuți primii pași spre identificarea proceselor de fabricare în cadrul cărora ar putea avea loc degradarea compușilor bioactivi.
- **Cercetarea evoluției activității antioxidante și a parametrilor de culoare în diferite medii (pH, forță ionică).** După cum a fost menționat mai sus, pH-ul și prezența altor ioni pot afecta proprietățile funcționale ale compușilor antioxidanți și coloranți. Astfel, este necesară cercetarea stabilității activității antioxidante și culorii la diferite valori ale pH-ului și în prezența unor săruri, în diferite concentrații utilizate cel mai des la procesarea alimentelor.

- **Cercetarea copigmentării cu acizii galic și tanic în scopul determinării dacă acest proces poate fi utilizat pentru stabilizarea proprietăților colorante ale extractelor vegetale horticole.**
- **Cercetarea procesului de nanoîncapsulare în β -lactoglobulină asupra activității antioxidante a extractului de tescovină și stabilității acesteia la păstrare.** Acest proces ar putea extinde în timp activitatea antioxidantă, atenuând în același timp unele caracteristici senzoriale indezirabile (gustul amar și astringent) ale unor compuși antioxidanți cum ar fi polifenolii.
- **Cercetarea procesului de separare a fracțiilor de compuși antioxidanți, utilizând microspuma coloidală.** Acest proces are potențialul de a separa compușii cu activitate antioxidantă sporită, mărinđ astfel activitatea extractului înainte de utilizare în produsele alimentare.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

2.1. Materii prime

Au fost selectate materii prime cu un conținut înalt de polifenoli, deci care manifestă și o activitate antioxidantă considerabilă. Astfel, în urma analizei expuse în capitolul 1, au fost utilizate aronia (*Aronia melanocarpa*), măceșul (*Rosa canina*), cătina albă (*Hippophae rhamnoides*), scorușul (*Sorbus aucuparia*), păducelul (*Crataegus monogyna*) și tescovina (*Vitis vinifera*) din soiuri roșii obținute de pe plantațiile din sudul țării. Toate materiile prime provin din Republica Moldova. Antioxidanții acestor materii prime sunt totalizați în tabelul 2.1.

Tabelul 2.1. Date privind conținutul de antioxidanți în materiile prime horticoale utilizate pentru obținerea extractelor

Materia primă	Antioxidanții prezenți	Referința
Aronie	Polifenoli	[113]
Măceș	Polifenoli, vitamina C, carotenoide	[114]
Cătina albă	Vitamina E, vitamina C, carotenoide, polifenoli	[51, 53]
Scoruș	Polifenoli totali, carotenoide	[56, 57]
Păducel	Polifenoli totali, carotenoide	[58]
Tescovină	Polifenoli totali	[43]

2.2. Obținerea extractelor

Tescovina și pomușoarele folosite pentru a obține extractele au fost uscate la temperatura de până la 65°C, mărunțite până la starea de pulbere și cernute. Extracția a fost efectuată în soluție etanolică 50% vol. în raport (1g:10 mL solvent), cu agitare continuă timp de 30 minute la temperatura camerei. Pentru selectarea procedurii de extracție și a hidromodulului, au fost utilizate rezultatele cercetărilor din proiectul „Substituirea aditivilor alimentari sintetici cu componenți bioactivi extrași din resurse naturale regenerabile”.

2.3. Alte materiale folosite pentru experimente

Tabelul 2.2. Reactivii utilizați pentru efectuarea experiențelor

Reactivul	Producătorul	Țara de origine
ABTS	Alfa Aesar	Germania
Reactivul Folin-Ciocalteu	Merck	Germania
(+) - catechina 98%	Sigma	Germania
Morin hidratul	Sigma	Germania
Acidul elagic ($\geq 95\%$)	Sigma	Germania
Acidul meta-hidroxibenzoic	Sigma	Germania
Quercetina	Sigma	Germania
Acidul cafeic	Sigma	Germania
(+) - trihidrat rutinul	Sigma	Germania
Acidul siringic	Sigma	Germania
Acidul ferulic	Sigma	Germania
Acidul galic (98%)	Sigma	Germania
Acidul protocatehic	Sigma	Germania
Acidul gentisic	Sigma	Germania
Acidul p-hidroxibenzoic	Sigma	Germania
Acidul salicilic (99.9%)	Sigma	Germania
Acidul para-cumaric	Sigma	Germania
Acidul D (-) - chinic 98%	Alfa Aesar	Germania
Acidul sinapic (98%)	Alfa Aesar	Germania
Metil 4-hidroxi-3-Metoxicinamatul (99%)	Alfa Aesar	Germania
Procianidina B1	Extrasynthese	Franța
Procianidina B2	Extrasynthese	Franța
Polidatina	Extrasynthese	Franța
Hiperozida	Extrasynthese	Franța
Trans-resveratrolul	TCI Europa	Belgia
Acetonitrilul	Merck	Germania
Quercetina ($> 95\%$)	Sigma-Aldrich	India
Tween 20	Sigma Aldrich	SUA
β -lactoglobulina	Sigma Aldrich	SUA

Toate determinările spectrofotometrice au fost realizate, utilizând spectrofotometrul Specord 200 Plus Analytic Jena (Germania).

2.4. Metode de studiu a influenței temperaturii, pH-ului și forței ionice asupra activității antioxidante și parametrilor de culoare

2.4.1. Schema experimentului privind efectul procedeeilor tehnologice

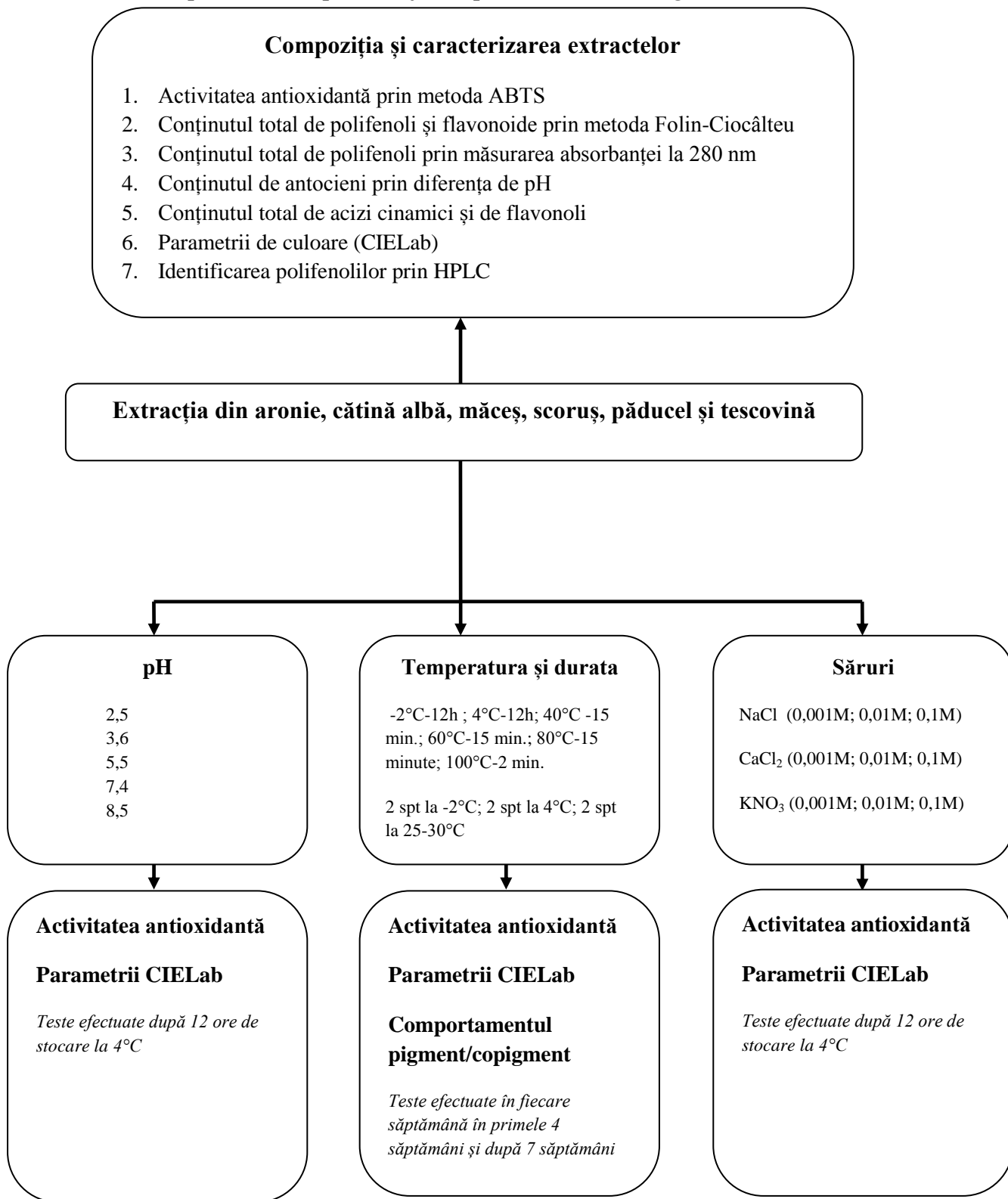


Fig. 2.1. Schema experimentului privind efectul procedeeilor tehnologice

2.4.2. Studiul influenței forței ionice

Au fost adăugate trei săruri diferite, și anume, NaCl, CaCl₂ și KNO₃ în următoarele concentrații: 0,001 M; 0,01 M și 0,1 M la extractele proaspăt pregătite. Extractele au fost apoi depozitate la t=4°C timp de 12 ore, după care au fost măsurate activitatea antioxidantă și parametrii de culoare (CIELab). Parametrul (A-A₀)/A₀ a fost de asemenea calculat.

2.4.3. Studiul influenței pH-ului

Extractele proaspăt pregătite au fost aduse la următoarele valori ale pH-ului: 2,5±0,2; 3,6±0,2; 5,5±0,2; 7,4±0,2, și 8,5±0,2, utilizând pH-metrul, iar apoi depozitate la t=4°C timp de 12 ore. Ulterior, au fost determinate activitatea antioxidantă și parametrii de culoare (CIELab).

2.4.4. Studiul influenței temperaturii

Pentru a studia influența temperaturii asupra activității antioxidante și parametrilor de culoare, extractele au fost supuse următoarelor regimuri termice: -2°C timp de 12 ore; 4°C timp de 12 ore; 40°C timp de 15 minute, 60°C timp de 15 minute, 80°C timp de 15 minute și 100°C timp de 2 minute, după care au fost determinate activitatea antioxidantă și parametrii de culoare (CIELab). Trei seturi de extracte au fost păstrate timp de 2 săptămâni la -2°C; 4°C și 25-30°C, după care parametrii menționați mai sus au fost mășurați din nou.

2.5. Stabilizarea extractelor hortice prin copigmentare, încapsulare și separare

2.5.1. Copigmentarea

În 2 loturi ale extractului au fost adăugați acid galic și acid tanic în concentrații diferite, și anume: 100 mg/L; 200 mg/L; 400 mg/L desemnate ca GA100, TA100, GA200, TA200, și GA400, TA400, respectiv, pentru a cerceta capacitățile de copigmenți ale acestor acizi. Extractele au fost stocate timp de 7 săptămâni la t=4°C, în întuneric. Tabelul 2.3 prezintă concentrațiile molare pentru fiecare copigment.

Tabelul 2.3. Concentrațiile masică și molară ale copigmenților adăugați

Copigment	Concentrație, mg/L	Concentrație molară, mol/L
Acid galic	100	5,88 * 10 ⁻⁴
Acid galic	200	1,17 * 10 ⁻³
Acid galic	400	2,40 * 10 ⁻³
Acid tanic	100	5,88 * 10 ⁻⁵
Acid tanic	200	1,18 * 10 ⁻⁴
Acid tanic	400	2,35 * 10 ⁻⁴

Spectrele tuturor amestecurilor au fost colectate pentru determinarea parametrilor de culoare (CIELab). În plus, a fost măsurată și activitatea antioxidantă. Soluțiile au fost depozitate la temperatura de $4\pm 1^\circ\text{C}$ și testate în fiecare săptămână în primele 4 săptămâni și la sfârșitul săptămânii a 7-a. Comportamentul fiecărui cuplu pigment/copigment a fost examinat la $\lambda = 520$ nm, conform recomandărilor lui Malaj și colab. (2013) și Gonzalez-Manzano și colab. (2009) [78, 88]. Spectrele de absorbție au fost colectate în intervalul 380-780 ca în cazul CIELab parametri determinare. Parametrul $(A-A_0)/A_0$ a fost calculat conform ecuației:

$$\frac{A-A_0}{A_0} \times 100 \quad (2.1)$$

și exprimat ca procent în scopul de a evalua copigmentarea, unde: A-absorbția după adăugarea copigmentului, A_0 - absorbția extractului în absența copigmentului, ambele la $\lambda = 520$.

2.5.2. Încapsularea

2.5.2.1. Prepararea soluției de β -lactoglobulină

Pentru a prepara soluția-stoc de 0,2% m/m, pulberea de β -lactoglobulină se dispersează în apă deionizată într-un balon cotat de 50 mL. Apoi soluția se amestecă cu ajutorul agitatorului magnetic timp de aproximativ două ore, la temperatura camerei. Această soluție-stoc este depozitată într-o eprubetă Falcon (VWR International, 525-0403, SUA) de 50 mL în frigider la aproximativ 4°C timp de o noapte întreagă pentru a finaliza hidratarea. Se adaugă 200 ppm azidă de sodiu pentru a preveni dezvoltarea bacteriilor. Se adaugă 5 mL de soluție de β -lactoglobulină într-o eprubetă Falcon (VWR International, 5250401, SUA) de 15 mL și pH-ul inițial al probei este măsurat atunci când temperatura atinge temperatura camerei. Apoi pH-ul probei este ajustat la 6,0 cu ajutorul unui pH-metru (Mettler Toledo, Elveția), utilizând soluțiile de HCl 0,1 M și NaOH 0,1 M. Ulterior, 5 mL de soluție se țin într-o baie de apă la 65°C timp de 10 minute, ca etapă de preîncălzire. Temperatura soluției de probă se măsoară și se înregistrează la sfârșitul etapei de preîncălzire. Baia de apă este încălzită până la 75°C , înregistrându-se timpul necesar pentru atingerea temperaturii respective. Apoi proba este incubată la 75°C timp de 15 minute, iar temperatura soluției este înregistrată la sfârșitul incubării. După aceasta, proba este plasată într-o baie de gheață timp de 10 minute pentru a termina incubarea.

2.5.2.2. Încapsularea polifenolilor din extractele de tescovină

Extractul de tescovină cu diferite concentrații (masă/volum) se adaugă la soluția de β -lactoglobulină. După adăugarea extractului și ajustarea pH-ului, soluția se tratează cum a fost descris în punctul 2.5.2.1 cu scopul de a obține microparticule.

2.5.2.3. Schema experimentului privind încapsularea

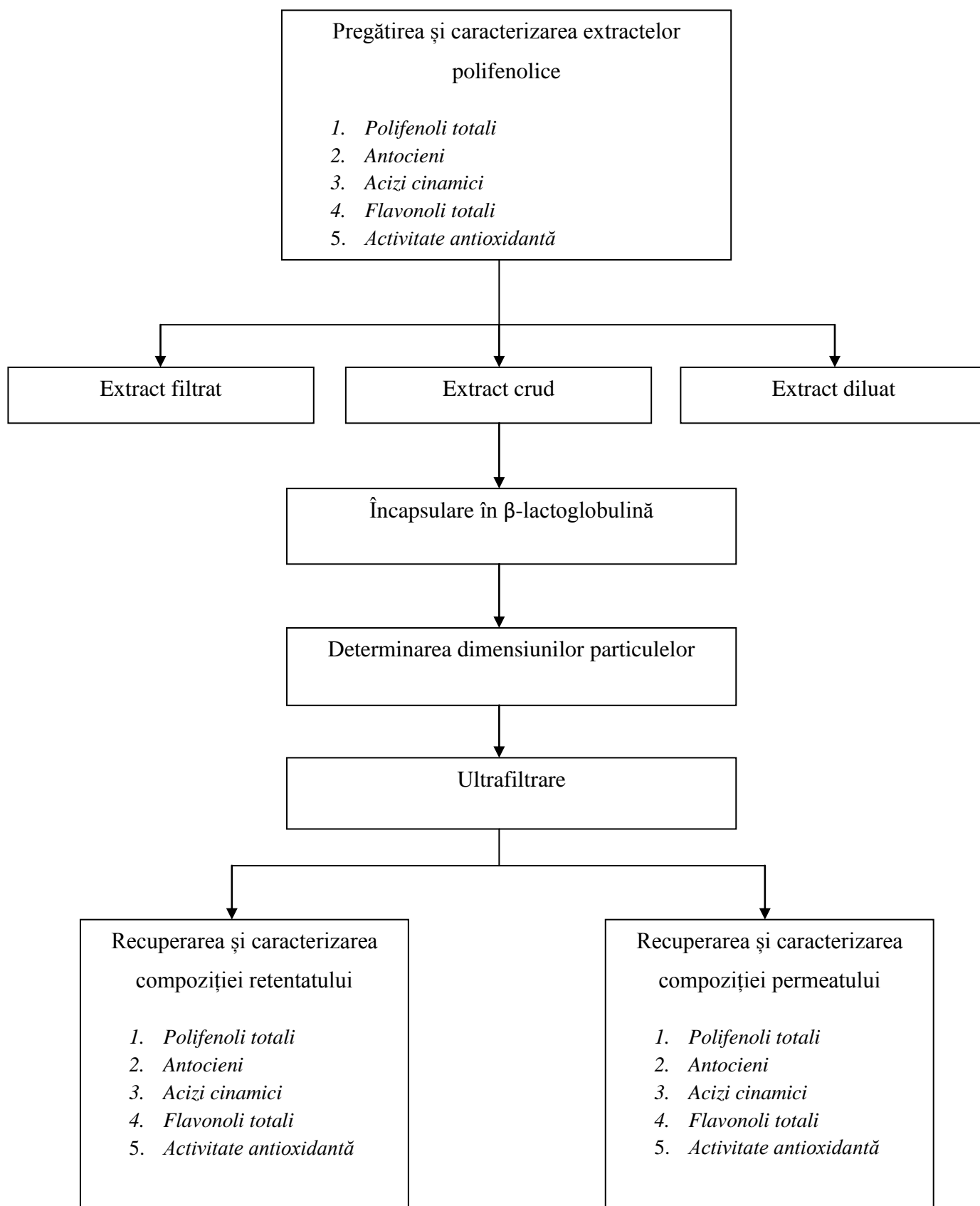


Fig. 2.2. Schema experimentului privind încapsularea polifenolilor din extractul de tescovină

2.5.2.4. Măsurarea dimensiunii particulelor prin metoda difuziei dinamice a luminii (Dynamic Light Scattering)

Dimensiunea nanoparticulelor poate fi măsurată prin determinarea diametrului Z-mediu hidrodynamic, utilizând diferite tehnici dinamice de dispersie a luminii cu ajutorul aparatului Zetasizer Nano Z (Malvern Instruments Inc., Malvern, Marea Britanie) la $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (5 măsurători pentru fiecare probă). Metoda DLS (cunoscută ca și PCS – Photon Correlation Spectroscopy) măsoară mișcarea browniană și o asociază cu dimensiunea particulelor. Presupunând că toate particulele sunt sferice, ecuația Stokes-Einstein este folosită pentru a calcula intensitatea luminii dispersate de nanoparticulă pentru a obține Z mediu. Indicele de refracție al β -lactoglobulinei este considerat 1,45 cu dispersant mediu, 1,33. Probele sunt filtrate prin unitatea de filtrare cu pori de $0,45 \mu\text{m}$ (Sartorius Stedim Biotech, Germania) înainte de fiecare măsurare pentru a preveni interferențele accidentale provocate de particulele de praf care vor afecta rezultatul determinării.

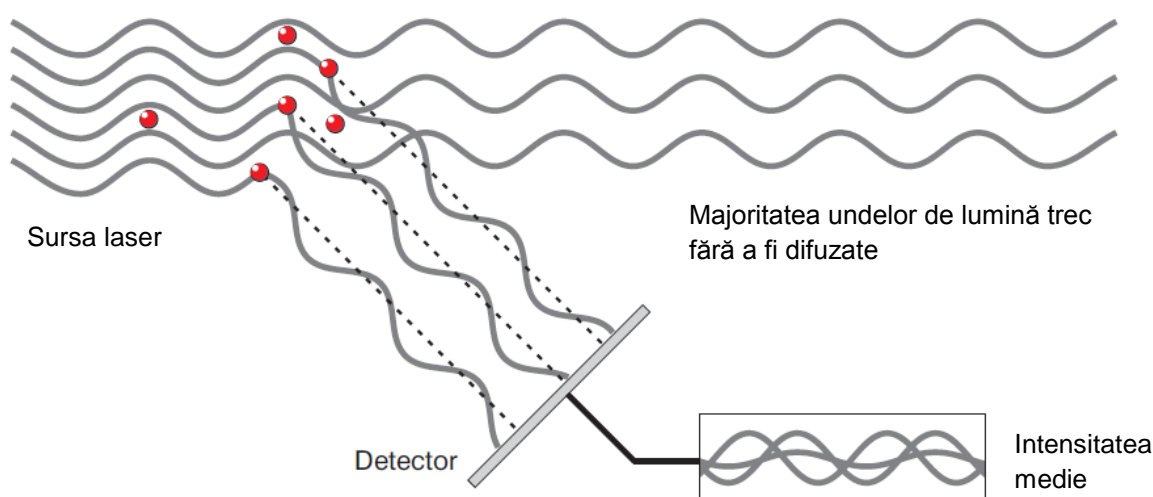


Fig. 2.3. Schema determinării dimensiunilor nanoparticulelor prin metoda difuziei dinamice a luminii [115]

2.5.2.5. Eficiența încapsulării

Polifenolii încapsulați au fost separați de polifenolii liberi prin membrane de ultrafiltrare 50 kDa MWCO, Vivaspin® 20 (Sartorius Stedim201 Biotech, Germania), folosind simultan centrifugarea. Au fost centrifugați 5 mL de probă la 3000 min^{-1} până când a fost posibilă recuperarea a 1 mL de retentat. Atât retentatul, cât și permeatul au fost recuperați și utilizați pentru determinarea ulterioară a conținutului total de polifenol, flavonoli, acizi cinamici, conținut de antocieni și activitatea antioxidantă. A fost aplicat bilanțul de masă pentru

a determina cantitatea de polifenoli captați în nanoparticula de β -lactoglobulină. Eficiența încapsulării (R%, din eng. Retention) compusului a fost calculată în baza următoarei ecuații:

$$R\% = (\text{masa de compus captată}) / (\text{masa inițială de compus}) \times 100\% \quad (2.2)$$

2.5.3. Separarea polifenolilor folosind microspuma coloidală

Pentru experimente a fost utilizat extractul etanolic de aronie (*Aronia melanocarpa*). Extractul a fost obținut prin extracția din 10 g de pulbere de aronie (*Aronia melanocarpa*) uscată pulbere în 100 mL soluție de etanol 50% vol. Extractul obținut a fost depozitat la 4°C timp de o zi înainte de separare și de efectuare a determinărilor. Microspuma coloidală a fost generată prin agitarea unei soluții de surfactant la 8000 min⁻¹ cu mixerul Silverson (Marea Britanie) timp de 5 min. Soluția de Tween 20, 10 mmol/L a fost utilizată ca surfactant. Separarea a fost efectuată într-o coloană de flotație (diametrul interior - 0,25 m, înălțimea totală - 0,4 m). 60 mL din proba de extract și microspuma generată din 400 mL din soluția inițială de surfactant sunt pompate în coloană cu ajutorul unei pompe peristaltice. Debitul volumetric este reglat astfel încât timpul de amestecare să fie 3,5-4 min. După ce coloana este umplută, amestecul este lăsat să stea timp de 4 min. înainte de pomparea fazelor lichidă și spumă. Au fost evaluate volumele fazei lichide separate (VLP) și fazei spumă colapsate (VAP). Recuperarea în % a unui anumit compus y în faza-spumă (R_{ey}) se calculează pe baza diferenței dintre valoarea totală y în extractul inițial ($M_{y/\text{extract}}$) și cantitatea de compus y măsurată în faza lichidă separată ($M_{y/\text{lichid}}$):

$$R_{ey} = \frac{M_{y/\text{spumă}}}{M_{y/\text{extract}}} = \frac{M_{y/\text{extract}} - M_{y/\text{lichid}}}{M_{y/\text{lichid}}} \quad (2.3)$$

unde: $M_{y/\text{extract}}$ – cantitatea de compus y în extractul inițial;

$M_{y/\text{lichid}}$ – cantitatea de compus y în faza lichidă separată;

$M_{y/\text{spumă}}$ – cantitatea de compus y în faza-spumă.

Factorul de separare (SF) se calculează pentru a determina afinitatea aproximativă a unui compus în faza-spumă comparativ cu afinitatea pentru faza lichidă, bazată pe concentrațiile compusului y în spumă și în faza lichidă (CAP_y și CLP_y) dată de ecuația:

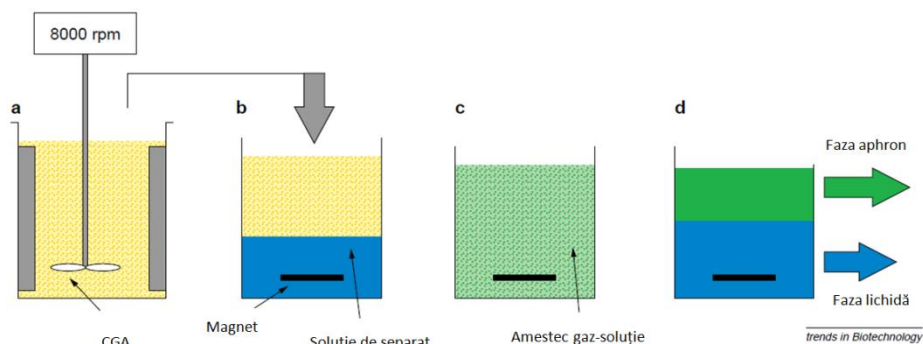
$$SF = CAP_y / CLP_y \quad (2.4)$$

unde: SF – factor de separare;

CAP_y – concentrația compusului y în faza-spumă;

CLP_y – concentrația compusului în faza lichidă.

După separare și colapsul fazei-spumă, au fost determinate activitatea antioxidantă, conținutul de polifenoli totali, antocieni, acizi cinamici și flavonoli în extractul inițial, faza lichidă și faza-spumă.



a - formarea spumei folosind agitatorul Silverson; b – transferul microspumei create în soluția de separat; c-formarea amestecului gaz-soluție; d – separarea fazelor spumă (aphron) și lichidă

Fig. 2.4. Diagrama procesului de formare a microspumei coloidale și separare a proteinelor [102]



Fig. 2.5. Instalația utilizată pentru separarea polifenolilor folosind microspuma coloidală în laboratorul Universității din Reading (Imagine: arhiva personală)

2.6. Metode analitice folosite la determinarea compoziției polifenolice, activității antioxidante și parametrilor de culoare (CIELab)

2.6.1. Activitatea antioxidantă prin reacția cu radicalul-cation ABTS

Activitatea antioxidantă a extractelor a fost evaluată prin testul cu radicalul-cation ABTS. Metoda se bazează pe capacitatea antioxidantilor de a scădea absorbanta sa la $\lambda=734$ nm [116]. ABTS se dizolvă în apă în concentrația de 7 mM. Ulterior, radicalul-cation ABTS se obține prin reacția soluției-stoc de ABTS cu persulfat de potasiu de 2,45 mM și lăsarea amestecului să stea în întuneric la temperatura camerei timp de 12-16 ore înainte de utilizare. Înainte de efectuarea analizelor soluția de radicali ABTS se diluează până la absorbanta de 0,70 ($\pm 0,02$) la 734 nm și se echilibrează la 30°C. Soluțiile probelor sunt diluate astfel încât să producă o inhibiție a radicalului cuprinsă între 20% -80% din absorbanta probei-martor, după introducerea unui alicot de 20 μ L. După adăugarea a 2,0 mL de soluție diluată de radical ABTS la 20 μ L de compuși antioxidanți, absorbanta este măsurată la 30°C exact între minutele 1-6 amestecarea inițială, folosind etanolul ca referință [116]. Rezultatele au fost exprimate ca mmol trolox echivalent (mmol TE/L), fiind calculate utilizând curba de etalonare cu trolox (0-2000 μ L; $R^2=0,9974$; $y=0,000306x+0,001$, pentru calculul în mmol $y=0,306x+0,001$).

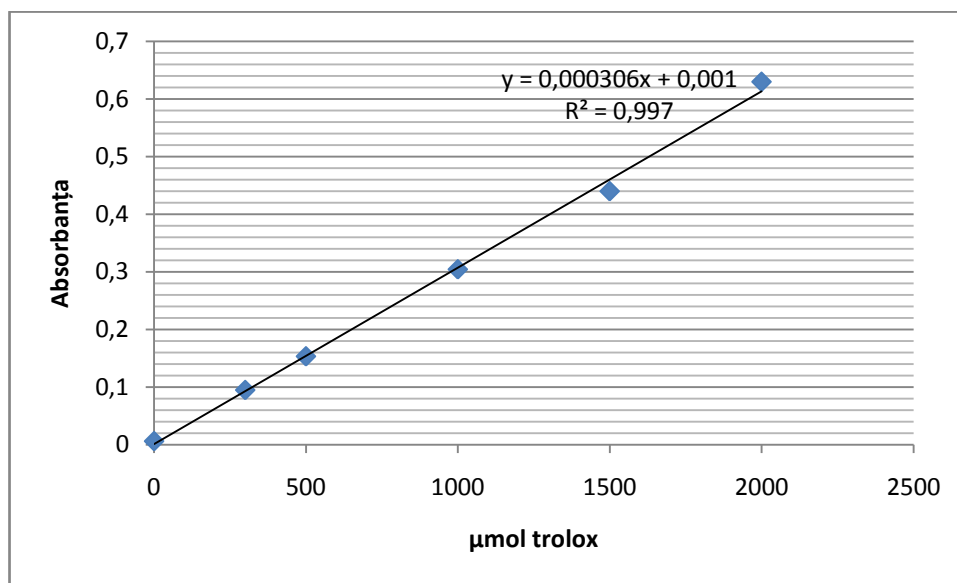


Fig. 2.6. Curba de etalonare cu trolox pentru determinarea activității antioxidante prin interacțiunea cu radicalul-cation ABTS

2.6.2. Activitatea antioxidantă prin reacția cu radicalul DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

Potrivit lui Alam și colab. (2013), în prezent, cel mai des este utilizată metoda DPPH [117]. Ea oferă avantaje importante deoarece, folosindu-se un radical stabil anume DPPH, nu sunt necesare etape prealabile pentru pregătirea și stabilizarea radicalului, ca în cazul metodei cu radicalul-cation ABTS.

Soluția-stoc de DPPH a fost pregătită diluând 0,0237 g de DPPH în etanol 96% volum. Soluția-stoc a fost păstrată la $t=4^{\circ}\text{C}$. Pentru pregătirea soluției de lucru, soluția-stoc a fost diluată cu etanol (96% vol.) până la absorbanta 0,6-0,7. Pentru determinarea activității antioxidante, 3900 μL de soluție etanolică de DPPH au fost prelevate într-o fiolă acoperită cu staniol pentru minimizarea contactului cu lumina, au fost adăugați 100 μL de probă. Întregul amestec a fost agitat intens și lăsat la întuneric timp de 30 min. După aceasta absorbanta a fost măsurată la lungimea de undă 517 nm, folosind drept referință 3900 μL de etanol la care au fost adăugați 100 μL de probă. Pentru pregătirea controlului, la 3900 μL de soluție DPPH au au fost adăugați 100 μL de etanol (96% vol.), folosind drept referință etanolul (96% vol) [118]. Rezultatele activității antioxidante au fost exprimate în μmol echivalenți trolox (TE)/L folosind curba etalon cu trolox (0-1500 $\mu\text{mol/L}$; $R^2=0,9670$; $y=0,425x+0,042$).

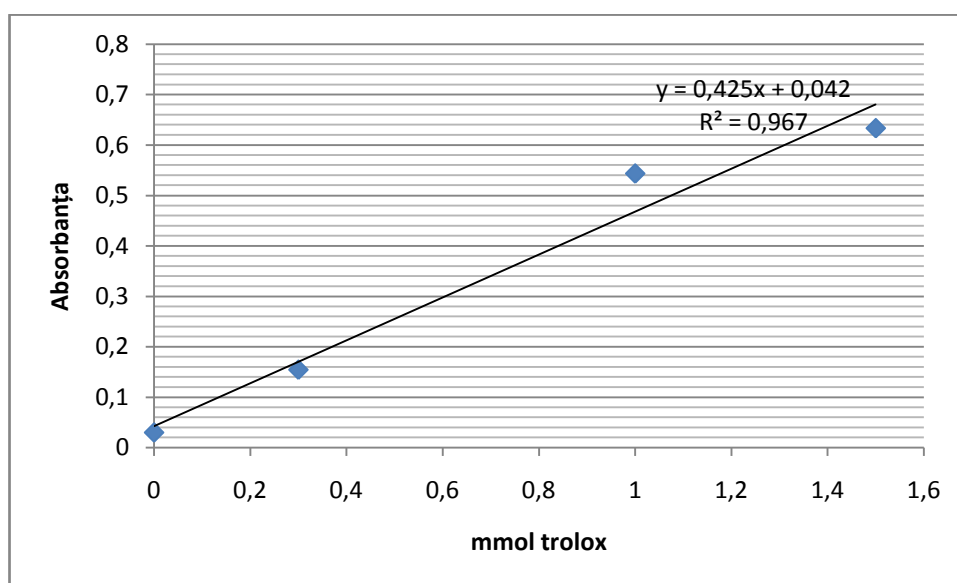


Fig. 2.7. Curba de etalonare pentru activitatea antioxidantă DPPH folosind standardul trolox

2.6.3. Determinarea conținutului total de polifenoli prin metoda Folin-Ciocalteu

Determinarea polifenolilor totali a fost efectuată prin introducerea următoarelor soluții într-o eprubetă în strictă ordine: 0,2 mL de probă, diluată în prealabil; 6 mL de apă distilată; 0,5 mL de reactiv Folin-Ciocalteu. Amestecul a fost amestecat intens, iar după 1 min., au fost adăugați 1,5 mL de carbonat de sodiu apos (20%). Amestecul a fost amestecat din nou și lăsat la întuneric la temperatura camerei timp de 120 min. Ulterior, absorbanta a fost determinată la 750 nm în cuva de 1 cm față de un martor preparat cu apă distilată în locul probei [119]. Rezultatele pentru polifenolii totali au fost calculate, folosind o curbă de etalonare cu acid galic drept standard (0-500 mg/L; $R^2=0,9988$; $y=0,0261+0,0029x$), rezultatul fiind exprimat în mg echivalenți de acid galic/L (mg GAE/L).

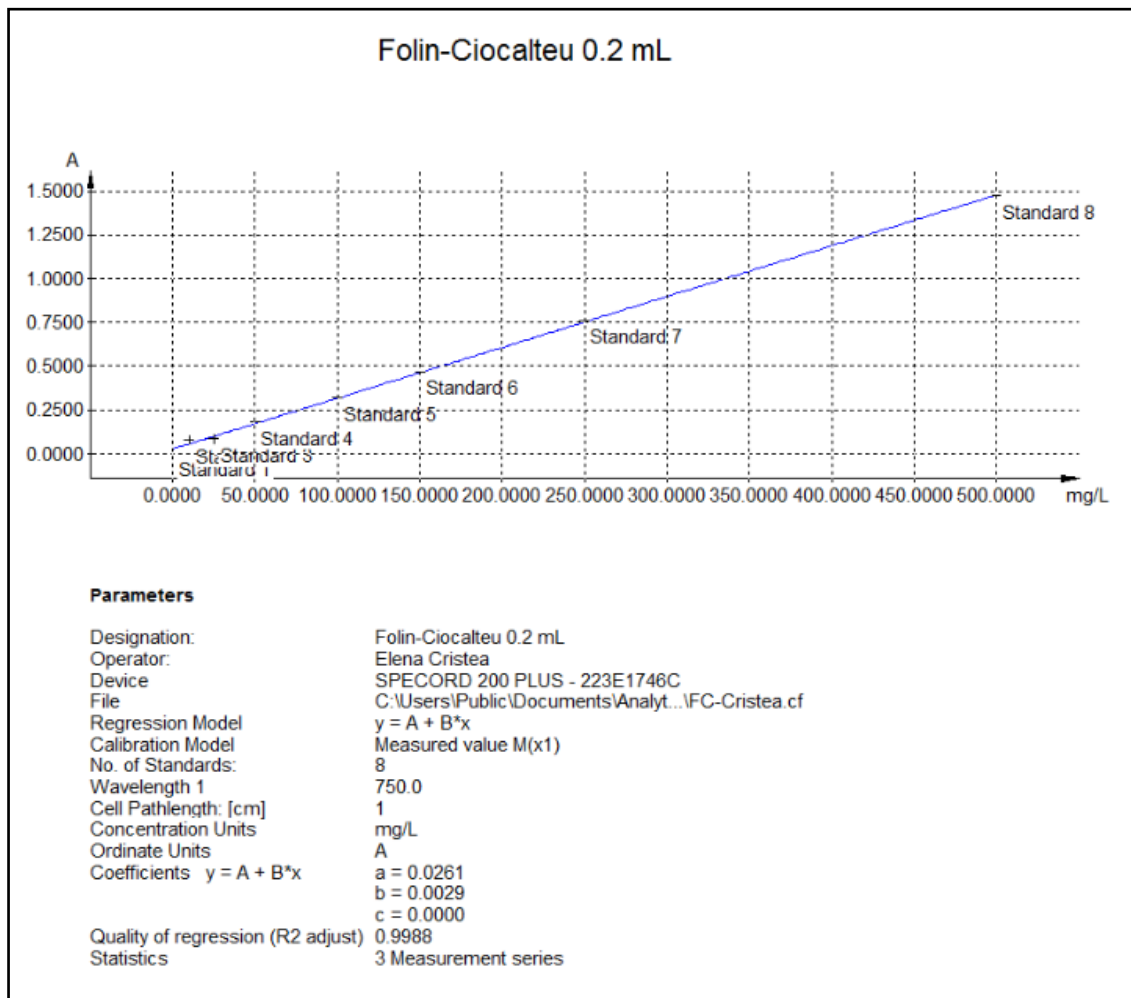


Fig. 2.8. Curba de etalonare cu acid galic pentru determinarea conținutului total de polifenoli prin metoda Folin-Ciocalteu

2.6.4. Determinarea conținutului total de flavonoide

Conținutul total de flavonoide a fost determinat folosind precipitarea cu formaldehidă după metoda descrisă de Spranger și colab. (2008) [120]. Astfel, 2,5 mL de extract au fost plasați într-o fiolă de culoare brună. Au fost adăugați 1,25 mL de HCl diluat cu apă distilată (50:50 după volum) și 1,25 mL de aldehydă formică. Amestecul a fost lăsat în repaus timp de 24 ore la $t=4^{\circ}\text{C}$. După 24 ore, amestecul a fost filtrat, iar conținutul de polifenoli a fost determinat prin metoda descrisă în p. 2.6.3. Conținutul total de flavonoide a fost calculat prin diferența dintre conținutul total de polifenoli determinat anterior și conținutul de polifenoli obținut după precipitarea cu aldehydă formică [120].

2.6.5. Determinarea conținutului total de polifenoli prin măsurarea absorbantei la 280 nm

Conținutul total de polifenoli a fost determinat prin măsurarea absorbantei la 280 nm și este exprimat ca mg echivalenți de acid galic (mg GAE/L) prin construirea unei curbe de etalonare, urmând metoda descrisă de către Ribereau-Gayón și colab. (2006). După pregătirea extractului acesta a fost diluat de 100 sau 200 de ori, în funcție de conținutul total de polifenoli

din produsul inițial, astfel încât valoarea absorbantei măsurate să nu depășească 1 [121]. Absorbanta soluției a fost determinată la lungimea de undă 280 nm, folosind apă distilată drept referință. Concentrația polifenolilor a fost calculată folosind curba de etalonare construită cu acid galic (0-50 mg/L; $R^2=0,9958$; $y=-0,0563+0,0393x$).

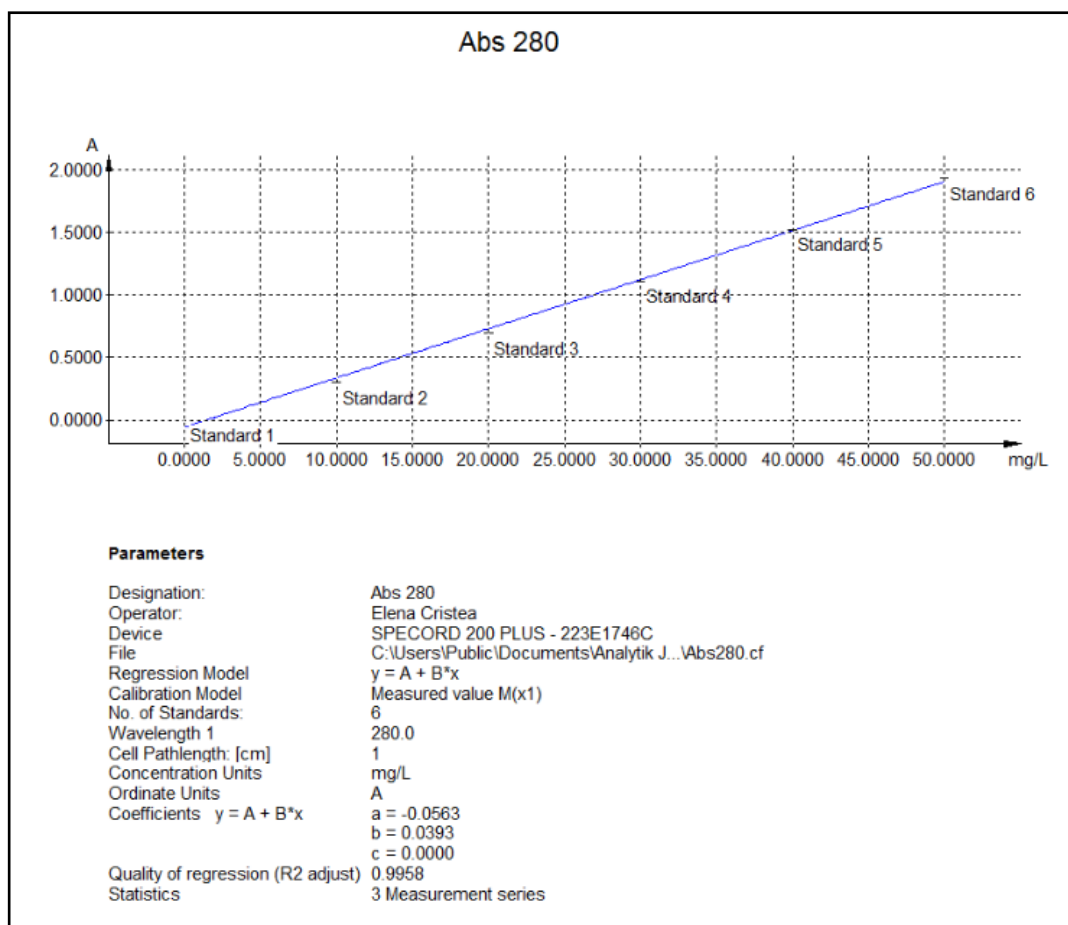


Fig. 2.9. Curba de etalonare cu acid galic pentru determinarea conținutului total de polifenoli prin măsurarea absorbantei la 280 nm

2.6.6. Conținutul de antocieni prin metoda diferenței de pH

Conținutul total de antocieni și cel de antocieni monomerici a fost determinat prin citirea absorbantei la 520 nm și 700 nm după diluarea și adăugarea a 4 mL de soluții cu pH=1,0 și pH=4,5 la 1 mL de probă. Înainte de citirea absorbantei, soluțiile au fost lăsate în repaus timp de 20 minute [122, 123]. Rezultatele au fost calculate utilizând ecuațiile prezentate mai jos și exprimate în echivalenți de glicozidă de malvidină (mg ME/L).

$$\text{Antocieni totali, mg/L} = \frac{A_T \times MW \times d \times 1000}{\epsilon \times 1} \quad (2.5)$$

$$\text{Antocieni monomerici, mg/L} = \frac{A_M \times MW \times d \times 1000}{\epsilon \times 1} \quad (2.6)$$

$$A_T = (Abs_{520} - Abs_{700})_{pH1,0} \quad (2.7)$$

$$A_M = (Abs_{520} - Abs_{700})pH1,0 - (Abs_{520} - Abs_{700})pH4,5 \quad (2.8)$$

unde: MW – masa moleculară a glicozidei de malvidină (493,4 g/mol);

d - coeficient de diluție;

ϵ - coeficientul molar de extincție al glicozidei de malvidină (37700);

l – drumul optic (1 cm).

2.6.7. Conținutul total de derivați ai acizilor hidroxicinamici

Conținutul total de acizi hidroxicinamici a fost determinat prin citirea absorbantei la 320 nm și exprimarea rezultatelor ca mg echivalenți de acid cafeic (mg CAE/L), în baza unei curbe de etalonare (0-50 mg/L; $R^2=0,9994$; $y=0,004x+0,002$) construită, folosind standard de acid cafeic [114, 124]. Un alicot de 0,25 mL de probă a fost diluat în raport 1:10 după volum cu solventul ce a fost utilizat la obținerea extractelor, au fost adăugați 0,25 mL de etanol acidifiat (0,1% vol HCl în etanol 95% vol) și 4,55 mL HCl 2%. Amestecul a fost agitat intens, iar citirea absorbantei a fost efectuată după 15 minute la $\lambda=320$ nm.

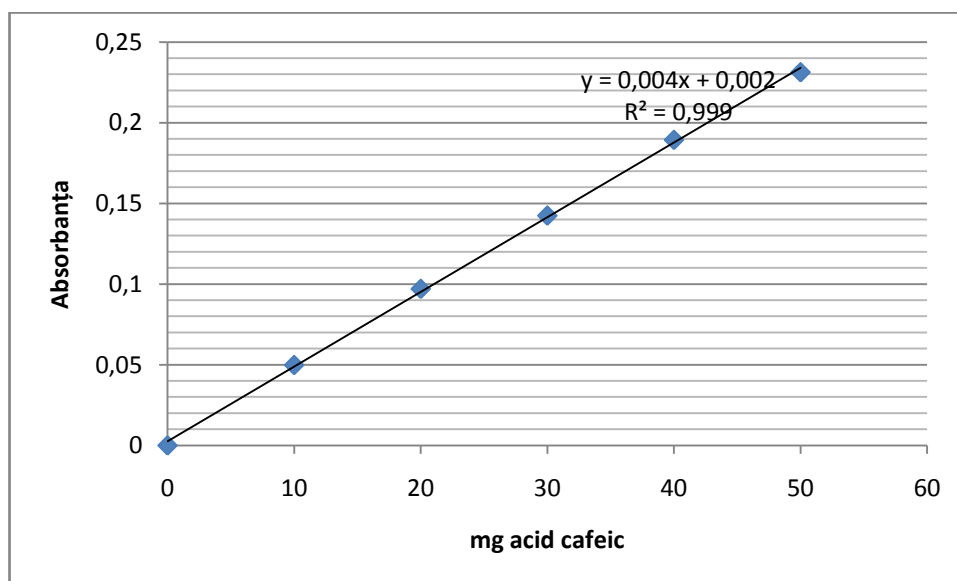


Fig. 2.10. Curba de etalonare cu acid cafeic pentru determinarea conținutului total de acizi hidroxicinamici

2.6.8. Conținutul total de flavonoli

Conținutul total flavonoli fost determinat prin citirea absorbantei la 360 nm după acidifierea prealabilă cu acid clorhidric. Rezultatele au fost exprimate ca mg echivalenți de quercetină (mg QE/L), în baza unei curbe de etalonare (0-50 mg/L; $R^2=0,9967$; $y=0,002x+0,001$), folosind quercetină ca standard [114, 124]. Înainte de citirea absorbantei, au fost efectuați pașii descriși în p. 2.6.7.

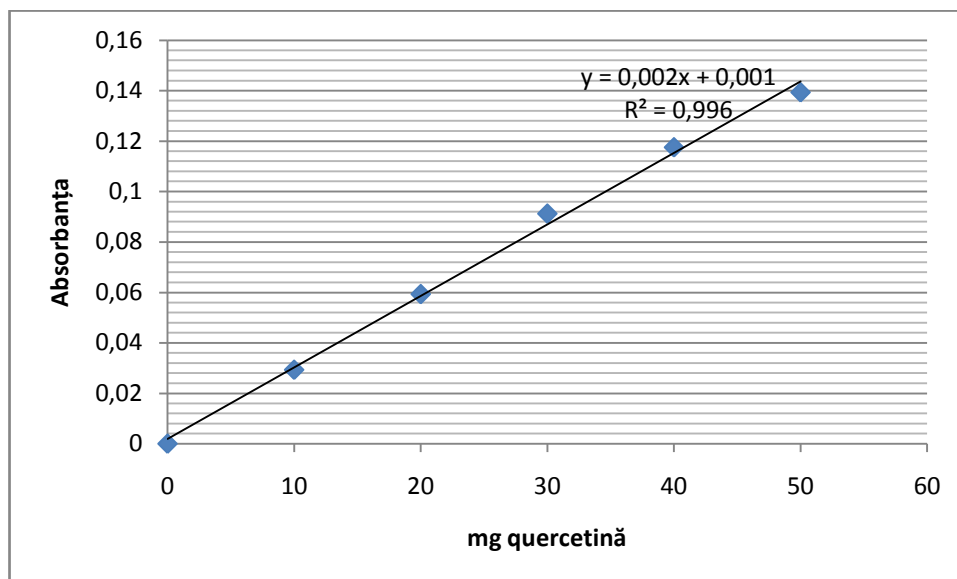


Fig. 2.11. Curba de etalonare cu quercetină pentru determinarea conținutului total de flavonoli

2.6.9. Determinarea conținutului total de carotenoide în extractele de scoruș, păducel, măceș și cătină albă

Conținutul total de carotenoide a fost determinat folosind metoda spectrofotometrică descrisă de Biehler și colab. (2009). La 1 g de materie primă măcinată au fost adăugați 10 mL de acetonă. Amestecul a fost lăsat timp de 30 minute la temperatura camerei ca să aibă loc extracția. Apoi extractul obținut a fost filtrat, iar absorbanta a fost măsurată la 450 nm, folosind o cuvă de unică folosință cu lungimea drumului optic de 1 cm [125]. Concentrația medie a carotenoidelor a fost evaluată folosind absorbția molară medie și calculată prin formula:

$$C \left(\frac{\text{mol}}{\text{L}} \right) = \frac{A_{450} \times F_d}{\varepsilon} \quad (2.9)$$

unde: A_{450} – absorbanta la 450 nm;

F_d – factorul de diluție;

ε - coeficientul molar de extincție carotenoide (135310).

Pentru a determina concentrația carotenoidelor exprimată în g/g de materie primă, a fost utilizată masa molară medie a carotenoidelor, adică 543 [126].

2.6.9. Determinarea polifenolilor individuali prin cromatografie lichidă de înaltă performanță

Compoziția polifenolilor a fost analizată cu ajutorul cromatografului Agilent seria 1100 HPLC. Eluentul a fost optimizat folosind acid trifluoracetic (TFA) pentru acidifierea metanolului, la concentrația 1% (canal A). Pentru canalul B, în calitate de eluent, s-a folosit metanol 50% acidulat la pH 2,15 cu TFA. Sistemul de coloană a fost compus dintr-o precoloană SecurityGuard ULTRA Cartușe HPLC C18 4,6 mm cuplet ID la Kinetex 5 pm C18 100A

coloane 250 x 4,6 mm, fabricate de Fenomenex la 35°C. Volumul de injecție a fost de 20 μL, iar timpul de rulare de 90 min. Fazele au fost A: H₂O: metanol (99: 1) și B: H₂O: metanol (50:50), cu un debit de 1,5 mL/min. Detectia a fost realizată la 256 nm, 280 nm, 324 nm și 365 nm. Gradientul de eluție a fost de 100% (A): timp de 10 min.; 82% (A): 18% (B) pentru următoarele 10 min.; 70% (A): 30% (B) timp de 10 min.; 65% (A): 35% (B) timp de 6 min.; 40% (A): 60% (B) timp de 15 min.; 20% (A): 80% (B) timp de 5 min.; 100% (B) timp de 15 min. și 100% (A), timp de 10 min. (Detalii despre metodele HPLC în Anexa 7).

2.6.10. Parametrii de culoare (CIELab)

Parametrii CIELab au fost determinați utilizând spectrofotometrul Specord 200 Plus Analytic Jena (Germania). Calculele au fost făcute cu ajutorul software-ului WinASPECT PLUS furnizat de aceeași companie. Transmitanța tuturor probelor a fost măsurată între 380 nm și 780 nm, la fiecare nm, în cuvă de sticlă optică cu lungimea traseului de 1 mm, folosind apă distilată ca referință. Iluminantul selectat a fost D65 cu unghiul de observare plasat la 10°.

Domeniul de aplicare a acestei metode spectrofotometrice permite a măsura și a calcula caracteristicile cromatice ale produselor derivate din componentele tricromatice X, Y, Z stabilite de Comisia Internațională de Iluminat (CIE, 1976) cu scopul de a imita percepția culorilor din punctul de vedere al unui observator uman. Culoarea poate fi descrisă utilizând 3 atribute sau calități specifice ale senzației vizuale [127] cum ar fi:

- tonalitatea;
- luminozitatea;
- cromaticitatea.

Tonalitatea este culoarea propriu-zisă, fiind este cea mai caracteristică calitate: roșu, galben, verde sau albastru. Luminozitatea este proprietatea senzației vizuale conform căreia un obiect apare mai mult sau mai puțin închis. Cromaticitatea descrie intensitatea unei culori. Combinarea acestor trei concepte permite definirea diferitor nuanțe ale culorii unui produs. Caracteristicile cromatice ale unui produs sunt definite de coordonatele cromatice sau colorimetrice (figura 2.12): Luminozitatea sau claritatea (L^*), componenta roșu/verde (a^*), componenta galben/albastru (b^*) și de magnitudinile derivate: chroma (C^*) și nuanța (H^*) [127].

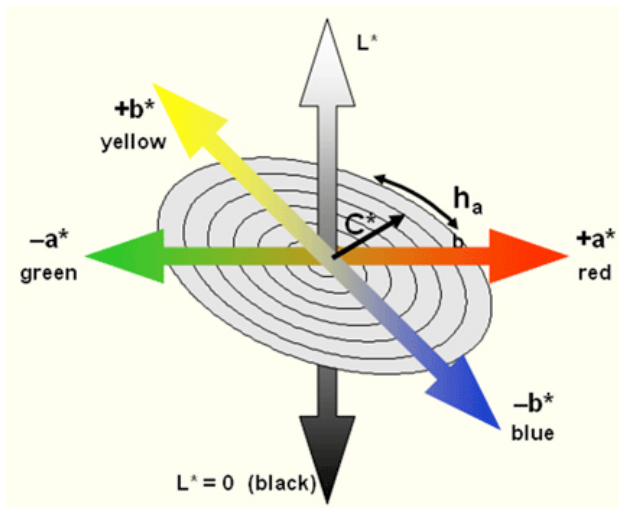


Fig. 2.12. Parametrii CIELab [128]

Luminozitatea (claritatea)

Este în relație directă cu senzația vizuală de luminozitate. Simbolul L^* și este definită de următoarea funcție matematică:

$$L^* = 116(Y/Y_n)^{1/3} - 16 \tag{2.10}$$

Componenta cromatică roșu/verde

Simbolul a^* și este definită de următoarea funcție matematică:

$$a^* = 500[(X/X_n) - (Y/Y_n)] \tag{2.11}$$

Componenta cromatică albastru/galben

Simbolul b^* și este definită de de următoarea funcție matematică:

$$b^* = 200 - [(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}] \tag{2.12}$$

unde:

$$X = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} X_{m(\lambda)} \Delta_{(\lambda)} \tag{2.13}$$

$$Y = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} Y_{m(\lambda)} \Delta_{(\lambda)} \tag{2.14}$$

$$Z = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} Z_{m(\lambda)} \Delta_{(\lambda)} \tag{2.15}$$

$$K = 100 / \sum_{(\lambda)} S_{(\lambda)} Y_{m(\lambda)} \Delta_{(\lambda)} \tag{2.16}$$

$T_{(\lambda)}$ – valoarea transmitanței unui produs măsurat la lungimea de undă și exprimat la 1 cm de drum optic;

$\Delta_{(\lambda)}$ – intervalul dintre valorile λ la care $T_{(\lambda)}$ este măsurată;

$S_{(\lambda)}$ - coeficienții care sunt în funcție de λ și de iluminant;

$X_{m(\lambda)}, Y_{m(\lambda)}, Z_{m(\lambda)}$ - coeficienți ce depind de λ și de observator:

$$X_n=94,825; Y_n=100; Z_n=107,381.$$

Valorile lui X_n, Y_n și Z_n reprezintă valorile unui difuzor perfect sub un iluminant și un observator de referință.

Cromaticitatea (Chroma)

Simbolul Chromei C^* și este definită de următoarea funcție matematică:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (2.17)$$

Nuanța (tonul)

Simbolul nuanței este H^* , unitatea sa este gradul sexagesimal ($^\circ$) și este definită de următoarea funcție matematică:

$$H^* = \text{tg}^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (2.18)$$

Tabelul 2.4. Exprimarea și interpretarea rezultatelor parametrilor CIELab [127]

Coordonate cromatice	Simbol	Unitate	Interval
Luminozitatea	L^*	-	0-100 0 negru 100 transparent
Componenta roșu/verde	a^*	-	>0 roșu <0 verde
Componenta galben/albastru	b^*	-	>0 galben <0 albastru
Cromaticitatea	C^*	-	-
Nuanța	H^*	Grade	0-360

Diferența de nuanță dintre două produse

Simbolul acestui parametru este ΔH^* , fiind definit de următoarea funcție matematică:

$$\Delta H^* = \sqrt{(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2} \quad (2.19)$$

Diferența globală a culorii

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (2.20)$$

Spațiul CIELab a fost dezvoltat ca soluție la problemele sistemului XYZ. Una dintre aceste probleme rezidă în faptul că distanțele colorimetrice dintre culorile individuale nu

corespund diferențelor de culoare percepute de ochiul uman [129]. Alte spații de culoare cunoscute sunt sistemele RGB și CMYK. Nu există formule simple de conversie între sistemele RGB și CMYK și $L^*a^*b^*$, deoarece primele sunt dependente de instrumentele de măsurare și implică transformări ale parametrilor $L^*a^*b^*$ în parametri XYZ (ecuații prezentate mai sus) și ulterior XYZ în RGB [130].

2.7. Analiza statistică

Precizia a fost evaluată folosind metode experimentale ale statisticii matematice. Valorile medii și abaterile standard au fost calculate de la 3 sau 2 (pentru experimentul copigmentarea) experimente paralele. ANOVA (analiza de varianță) unifactorială (one-way) și bifactorială (two-way), iar testul post-hoc Tukey au fost utilizate pentru a face distincție între rezultate și pentru a le evalua.

ANOVA, adică analiza varianței sau analiza dispersională permite compararea a două sau mai multe populații statistice prin compararea variației valorilor medii a acestora între grupuri și intragrupuri [131].

Ca urmare a testului ANOVA, ipoteza de egalitate a mediilor poate fi respinsă fără a preciza însă care grupuri au mediile diferite. Aceasta conduce la respingerea ipotezei nule. Pentru a identifica grupurile de probe cu medii diferite, sunt utilizate testele post-hoc. Astfel, a fost selectată o metodă bazată pe statistica q (Tukey), preferată atunci când se dorește efectuarea comparațiilor de grupuri două câte două, chiar și atunci când grupurile sunt inegale. ANOVA bifactorială reprezintă studiul asocierii dintre o variabilă continuă (dependentă) și două variabile discrete (factori) și se bazează pe descompunerea variației totale în variație explicată și variație reziduală [132].

Nivelul de semnificație considerat a fost $p \leq 0,05$. Toate calculele ANOVA au fost realizate utilizând programul IBM SPSS Statistics 23. Modelele matematice au fost create utilizând programele WinAspect Plus (Analytic Jena, Germania) și Microsoft Excel 2007.

2.8. Concluzii la capitolul 2

În capitolul 2 sunt expuse materiile prime, reactivii, materialele și metodele utilizate pentru cercetare. Astfel, în primul capitol s-a argumentat că materiile prime cercetate, și anume tescovina, măceșul, aronia, scorușul-de-munte, cătina albă și păducelul sunt cunoscute prin conținutul semnificativ de polifenoli și alte substanțe biologice active, prin potențialul antioxidant semnificativ și culoarea intensă. Aceste materii prime pot fi folosite cu succes pentru obținerea unor extracte valoroase din punct de vedere tehnologic.

Au fost, de asemenea, determinate etapele de cercetare:

- cercetarea compoziției materiile prime pentru obținerea extractelor vegetale horticoale și argumentarea experimentală a alegerii acestor materii;
- cercetarea influenței parametrilor tehnologici (temperatură, pH, săruri) asupra activității antioxidante și culorii extractelor vegetale horticoale;
- cercetarea unor metode de stabilizare a extractelor vegetale horticoale cum ar fi copigmentarea, încapsularea și separarea folosind microspuma coloidală.

Studiind literatura de specialitate, au fost selectate metode moderne de cercetare care au mai fost folosite cu succes la studierea compoziției de antioxidanți (polifenoli, carotenoide), activității antioxidante totale și a culorii produselor alimentare, cum ar fi analiza HPLC pentru determinarea polifenolilor, interacțiunea cu radicalii ABTS și DPPH pentru determinarea activității antioxidante, determinarea parametrilor CIELab pentru cercetarea culorii ș.a.

3. REZULTATE ȘI DISCUȚII: INFLUENȚA PROCEDEELOR TEHNOLOGICE ASUPRA ACTIVITĂȚII ANTIOXIDANTE ȘI PARAMETRILOR DE CULOARE A EXTRACTELOR VEGETALE HORTICOLE

În acest capitol sunt incluse rezultatele determinărilor concentrațiilor diferitor compuși antioxidanți: polifenoli, carotenoide, activității antioxidante totale, parametrilor de culoare în extractele vegetale horticole. Sunt prezentate rezultatele cercetărilor privind influența regimurilor termice operaționale (tratamente termice, temperaturi de păstrare, factori de compoziție: pH și forță ionică) asupra potențialului antioxidant și culorii. În acest capitol este expus răspunsul la problema științifică principală identificată în capitolul 1.

3.1. Compoziția materiei prime utilizate

Pentru a evalua potențialul antioxidant al materiilor testate, este necesar a determina nu doar activitatea antioxidantă totală, dar și conținutul diferitor compuși a căror capacitate antioxidantă a fost documentată anterior de către alți autori. În tabelul 3.1 este dat conținutul de polifenoli determinat prin două metode, flavonoide totale, acizi hidroxicinamici și flavonoli din extractele de tescovină, aronie, cătină albă, scoruș și măceș. Cele mai mari concentrații de polifenoli totali au fost determinate în extractele de tescovină, aronie și măceș, valorile găsite în aceste extracte fiind cuprinse între 4814 mg GAE/L extract și 5484 mg GAE/L extract. Aceste valori sunt de 2-3 ori mai mari decât cantitățile identificate în extractele de scoruș, cătină și păducel. De altfel, păducelul este materia primă în care a fost determinată cea mai mică cantitate de polifenoli totali (1146 mg GAE/L). Concentrațiile totale de polifenoli identificate prin două metode au valori comparabile, deși cifrele obținute prin metoda Folin-Ciocalteu sunt mai mari. Astfel, cea mai mare diferență a fost obținută în cazul extractului de măceș: 5484 mg GAE/L prin metoda Folin-Ciocalteu și 3166 mg GAE/L prin măsurarea absorbantei la 280 nm. Este documentat faptul că există multe substanțe ce prezintă interferențe în cazul conținutului de polifenoli totali prin metoda Folin-Ciocalteu. Orice substanță cu proprietăți reducătoare cum ar fi glucidele reducătoare, acidul ascorbic, unele proteine interacționează cu reactivul Folin-Ciocalteu [133]. Așadar, acest reactiv determină nu numai conținutul de polifenoli, dar întregul potențial reducător al unei soluții [134]. În ceea ce privește conținutul de flavonoide, cele mai mari concentrații au fost determinate în extractele de tescovină și aronie. În aceleași extracte au fost identificați și antocieni, pe când concentrațiile de acizi hidroxicinamici au avut valori similare cuprinse între 383 mg CAE/L (scoruș) și 580 mg CAE/L (măceș). Flavonolii au fost, de asemenea, identificați în toate extractele, conținutul acestora variind între 194 mg QE/L (măceș) și 668 mg QE/L (cătină albă).

Tabelul 3.1. Concentrația principalelor grupe de polifenoli în extractele etanolice utilizate pentru studiu (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard obținute după trei sau mai multe determinări)

Extract	Polifenoli totali (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L extract	Polifenoli totali (Abs280),mgGAE/L extract	Conținut total de flavonoide, mgGAE/L	Conținut total de antocieni, mg ME/L extract	Antocieni monomerici, mg/L extract	Conținut total de acizi hidroxicinamici, mg CAE/L extract	Conținut total de flavonoli, mg QE/L extract
Tescovină	5879±294 (04.2015)* 3749±128 (06.2015)* 4814±1506 (media)	4074±114 (04.2015)* 2791±70 (06.2015)*	3699±70	138±2	116±2	446±21	358±15
Aronie	5553±201 (04.2015)* 4441±243 (06.2015)* 4997±786 (media)	3912±104 (04.2015)* 3470±21 (06.2015)*	4293±209	102±2	61±2	580±21	501±15
Cătină	1800±55(04.2015)* 1134±55 (06.2015)* 1467±471 (media)	1385±13 (04.2015)* 1237±10 (06.2015)*	555±61	-	-	425±34	668±33
Scoruș	1497±54(04.2015)* 1438±75(06.2015)* 1468±42 (media)	1467±44 (04.2015)* 1218±28 (06.2015)*	525±20	-	-	383±18	242±23
Păducel	1308±55 (04.2015)* 983±63 (06.2015)* 1146±230 (media)	1007±5 (04.2015)* 907±5 (06.2015)*	625±40	-	-	388±24	488±23
Măceș	6192±214 (04.2015)* 4776±43 (06.2015)* 5484±1001 (media)	2968±21	1199±22	-	-	224±12	308±1

*Parametrii conținutul de polifenoli totali și activitatea antioxidantă (ABTS) au fost determinați atât în cadrul stagiului efectuat la Universitatea din Reading, cât și în cadrul stagiului efectuat la Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Iași.

Activitatea antioxidantă totală a extractului și conținutul total de carotenoide din materia primă sunt prezentate, de asemenea, în tabelele 3.2 și 3.3.

Tabelul 3.2. Activitatea antioxidantă determinată în extracte prin două metode (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard din 3 determinări)

Extract	Activitate antioxidantă determinată cu radicalul-cation ABTS^{•+}, mmol TE/L	Activitate antioxidantă determinată cu radicalul DPPH[•], μmol TE/L
Tescovină	29,59±0,00 (06.2015) [*] 37,10±0,09 (04.2015) [*] 33,35±5,31 (valoarea medie)	-
Aronie	31,61±1,02 (06.2015) [*] 29,00±0,25 (04.2015) [*] 30,31±1,85 (valoarea medie)	-
Măceș	41,54±0,33 (06.2015) [*] 33,20±0,21 (04.2015) [*] 37,37±5,90 (valoarea medie)	-
Cătină	7,64±0,41 (06.2015) [*] 7,80±0,07 (04.2015) [*] 7,72±0,11 (valoarea medie)	2074±350
Scoruș	6,08±0,16 (06.2015) [*] 5,60±0,01 (04.2015) [*] 5,84±0,34 (valoarea medie)	1084±16
Păducel	7,54±1,45 (06.2015) [*] 6,00±0,03 (04.2015) [*] 6,77±1,09 (valoarea medie)	2025±1

**Parametrii conținutul de polifenoli totali și activitatea antioxidantă (ABTS) au fost determinați atât în cadrul stagiului efectuat la Universitatea din Reading, cât și în cadrul stagiului efectuat la Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Iași.*

Alți autori au obținut rezultate similare în ceea ce privește conținutul de polifenoli în tescovină. Cu toate acestea, mai mulți factori pot afecta concentrația acestor substanțe în extracte, factori cum ar fi soiul de struguri, volumul de solvent, tipul de solvent, metoda de extracție etc. Negro și colab. (2003) au obținut valorile 4,19 g/100g pentru polifenolii totali, 3,94 g/100g pentru flavonoide și 0,98 g/100g pentru antocieni, toate rezultatele fiind exprimate în g/100 g de tescovină uscată. Rezultatele pentru polifenoli și flavonoide ale autorilor respectivi sunt similare cu cele obținute în prezenta lucrare, atunci când valorile sunt recalulate și exprimate în aceleași unități [43]. Sant'Anna și colab. (2012) au obținut extracția maximă a polifenolilor totali din tescovină la raportul de solid:lichid 1 g tescovină uscată: 50 mL de etanol 50% vol., randamentele de extracție variind între 11 și 22 mg GAE/g [124]. În ceea ce privește efectul condițiilor de uscare, Lurrari și colab. (1997) au demonstrat că uscarea la 60°C a tescovinei de struguri nu afectează semnificativ activitatea antioxidantă și parametrii de culoare ai strugurilor și numai temperaturile de 100°C și 140°C au avut un impact semnificativ atât asupra conținutului de polifenoli, cât și asupra activității antioxidante [66]. Prin urmare, putem

presupune că condițiile de uscare nu au avut un impact mare asupra conținutului de polifenoli și activității antioxidante ale tescovinei originale.

A fost determinat că și extractul de măceș conține o cantitate mare de polifenoli, adică 4776 mg GAE/L care contribuie, cel mai probabil, la activitatea antioxidantă destul de mare, și anume, 40,26 mg TE/L și la formarea culorii oranj-închis. Dintre cele șase specii de *Rosa*, și anume, *Rosa canina*, *Rosa dumalis ssp. boissieri*, *Rosa dumalis ssp. antalyensis*, *Rosa villosa*, *Rosa pulverulenta* și *Rosa pisiformis* analizate de Ercisli (2007), *Rosa canina* (măceș) a avut cel mai mare conținut polifenolic total (96 mg GAE/g substanță uscată). Valorile determinate de Ercisli (2007) sunt comparabile cu rezultatele acestui studiu, atunci când acesta din urmă se recalculează la masa de substanță uscată. Același autor a concluzionat, de asemenea, că conținutul total de polifenoli poate varia în funcție de specie și de condițiile de creștere [135]. Extracția și tehnicile de preparare sunt alți factori care pot afecta concentrația finală a extractului [48]. Czyzowska și colab. (2015) au analizat vinul de măceșe și au constatat că nivelurile compușilor fenolici variază între 2786 și 3990 mg/L, în timp ce activitatea antioxidantă determinată cu ajutorul radicalului DPPH variază între 8 și 13,5 mM/L [49].

Demir și colab. (2014) au analizat 5 specii diferite de măceș (*Rosa L.*) din Turcia: *Rosa canina*, *Rosa dumalis*, *Rosa Gallica*, *Rosa dumalis* subsp. *boisieri* și *Rosa hirtissima*. Autorii au stabilit că conținutul total de polifenoli al fructelor de măceș este influențat de specie, cel mai înalt conținut fiind identificat în *Rosa brossieri* (52,94 mg/g), iar cel mai mic în *Rosa canina* (31,08 mg/g), în timp ce concentrațiile de flavonoide au fost aproape identice în toate probele. Activitatea antioxidantă și cea antiradicalică s-au dovedit a fi înalte în toate speciile, cu cea mai mică valoare FRAP în *Rosa canina*. Cu toate acestea, diferențele dintre valorile activității antioxidante determinate cu ajutorul cationului-radical ABTS^{•+} nu au fost diferite între toate cele cinci specii studiate. Au fost găsite diferențe semnificative în conținutul de acid ascorbic, acesta variind între 65,75 mg/g substanță uscată și 160,3 mg/100 g substanță uscată. Aceste valori sunt mai mici decât cele constatate de Ercisli (2007), care a determinat valori cuprinse între 727 și 943 mg/100 g în cinci specii diferite de măceș. Autorii au explicat aceste diferențe prin variațiile de nivel de coacere/maturitate și utilizarea unor metode diferite [114]. Concentrațiile de polifenoli măsurate în mustul de fructe *Rosa canina* au fost 9007±345 mg GAE/L [49]. Autorii explică diferența dintre rezultatele obținute prin condițiile climatice diferite în care au fost cultivate fructele [49]. Un alt extract cu cantități foarte mari de polifenoli este extractul de aronie. Alți autori au constatat, de asemenea, cantități mari de polifenoli în fructele proaspete de *Aronia melanocarpa*. De exemplu, Wangesteen și colab. (2014) au determinat valori cuprinse între 1079 și 1921 (în funcție de soi) mg/100g produs proaspăt în fructele de *Aronia melanocarpa* din Norvegia, dintre care 275-447 mg/100g antocieni [136]. Rezultatele obținute de

către autorii menționați mai sus sunt diferite de cele obținute în studiul de față, însă trebuie să fie luat în considerare faptul că autorii respectivi au evaluat produse proaspete. Tolic și colab. (2015) au analizat diferite produse fabricate din aronia din Croația în ceea ce privește conținutul de polifenoli și activitatea antioxidantă. Autorii au constatat că produsele de aronie (sucuri, pulberi, ceaiuri etc.) conțin cantități mari de polifenoli (între 3002-6639 mg/L și 1494-5292 mg/100 g substanță uscată) și capacități antioxidante ridicate (2,09-40,19 mmol/L sau 58,49-191,31 mmol/100 g substanță uscată). Autorii sugerează că aceste rezultate plasează aronia printre fructele cu cel mai mare conținut de polifenoli [137]. Rezultatele lor sunt similare cu cele obținute în acest studiu. Gradul de mărunțire al materiei prime are, de asemenea, o influență foarte mare asupra extracției compușilor din materia primă. Vaher și Koel (2003) au obținut randamente de cca șase ori mai mari când au studiat extracția supercritică a polifenolilor [138]. Condițiile climatice și regiunea geografică la fel sunt factori importanți [139].

Cele mai mari valori ale activității antioxidante au fost identificate în extractele de măceș, aronie și tescovină, acestea fiind de câteva ori mai mari decât valorile medii identificate în extractele de scoruș, păducel și cătină albă. Aceste diferențe se datorează cel mai probabil concentrațiilor diferite de polifenoli și carotenoide între diferitele specii. Radicalul DPPH nu este potrivit pentru determinarea valorilor activității antioxidante în cazul extractelor de tescovină și aronie din cauza interferențelor de culoare ale acestor extracte. În plus, la determinarea acestui parametru în extractul de măceș, a fost observată formarea unor flocoane de culoare albă. Acest fenomen ar putea fi explicat prin precipitarea polizaharidelor în urma interacțiunii acestora cu reactivul DPPH diluat în etanol 96%.

În tabelul 3.3 sunt date concentrațiile de carotenoide determinate în materiile prime măceș, păducel, scoruș și cătină albă. Cea mai mare cantitate de carotenoide a fost identificată în măceș, urmat de cătină albă, scoruș și păducel.

Tabelul 3.3. Conținutul total de carotenoide în șroturile de scoruș, cătină albă, măceș și păducel

Materia primă	Carotenoide, mol/g	Carotenoide, mg/g
Măceș	0,567±0,002	308±1
Păducel	0,077±0,003	42±2
Cătină albă	0,360±0,010	196±5
Scoruș	0,163±0,001	89±1

Carotenoidele sunt un grup de antioxidanți importanți, de aceea este necesar un studiu privind compoziția compușilor din această clasă. În plus, aceste substanțe sunt caracteristici-

cheie pentru produsele de cătină albă. Rezultate similare au fost raportate și de alți autori, însă conținutul de carotenoide, la fel ca și conținutul de polifenoli variază în funcție de condițiile de creștere, soiul studiat, gradul de coacere, metoda de extracție etc. [140].

În tabelul 3.4 sunt date rezultatele analizei HPLC a extractelor. În ceea ce privește compușii fenolici specifici, în extractul de tescovină au fost identificate cantități semnificative de acid galic, protocatehic, procianidine B1 și B2, catehină, epicatehină, polidatină, ester metilic al acidului ferulic, hiperozidă, acid ferulic, acid clorogenic și acid salicilic. Tournmour și colab. (2015) au analizat tescovina de soiuri portugheze de struguri. Autorii au obținut extracte în amestec de etanol și apă și suspensii apoase. Valorile obținute pentru activitatea antioxidantă au fost cuprinse între 906 și 2337 pmol TE/g (ORAC), iar cele pentru polifenoli 142,4±1,1 mg GAE/g de reziduu uscat, care sunt mai mari decât cele obținute în acest studiu. Rezultatele analizei HPLC au relevat prezența acidului galic, acidului cafeic, (+)catehinei, acidului siringic și (-)catehinei, ultimii doi fiind compușii majoritari [141]. Rezultatele diferite obținute în cazul activității antioxidante și conținutului total de polifenoli totali pot fi explicate prin faptul că tescovina a fost obținută din soiuri diferite sau a rezultat din tehnici de vinificație diferite [142]. Ramirez-Lopez și DeWitt (2014) au analizat tescovina uscată din soiuri comerciale de struguri, utilizând cromatografia lichidă de înaltă performanță cuplată cu spectrometria de masă. Autorii au determinat un număr total de 16 de compuși fenolici, printre care galatul de epicatehină, hidratul de catehină, quercetina, acidul cafeic, acidul ferulic, acidul galic și acidul protocatehic [143]. Acizii galic, ferulic, clorogenic, salicilic protocatehic și p-hidroxibenzoic, procianidina B1, catehina, epicatehina, polidatina sunt principalii compuși fenolici identificați în extractul de măceș, în cadrul acestui studiu. Demir și colab. (2014) au găsit cantități comparabile de acid galic, acid ferulic, clorogenic și catehine, dar și cantități mai mari de procianidină B2, în măceșul originar din Turcia [114]. Mai mult ca atât, acidul protocatehic nu a fost unul dintre principalii polifenoli identificați în fructele respective. 45 de compuși fenolici diferiți au fost identificați de Cunja și colab. (2015) în măceșul (*Rosa canina*) originar din Slovenia. Autorii menționați anterior au utilizat metoda HPLC cuplată cu MS pentru studiul lor privind schimbarea compoziției măceșului în timpul maturării. Ei au ajuns la concluzia că prezența și conținutul de polifenoli individuali se pot schimba drastic în funcție de momentul recoltării [48]. Catehina a fost, de asemenea, principalul polifenol identificat de Türkben și colab. (2010), în timp ce Demir și colab. (2014) au identificat, de asemenea, acidul sinapic în studiul lor privind evoluția compușilor fenolici și a activității antioxidante în fructele de măceș [114, 144].

Tabelul 3.4. Polifenolii individuali identificați în extracte (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Polifenoli	Tescovină, mg/100mL	Aronie mg/100mL	Măceș mg/100mL	Cătină mg/100mL	Scoruș mg/100mL	Păducel mg/100mL
Acid galic	1,84±0,11	0,36±0,05	0,51±0,02	0,22±0,05	0,39±0,01	0,09±0,02
Acid protocatehic	0,10±0,04	1,50±0,07	0,21±0,02	0,70±0,09	0,18±0,02	0,04±0,01
Acid para- hidroxibenzoic	0,03±0,02	0,23±0,04	0,21±0,08	0,08±0,02	1,07±0,10	0,09±0,02
Acid gentisic	Urme	0,01±0,00	0,29±0,04	-	Urme	-
Procianidină B1	0,95±0,09	0,09±0,05	2,91±0,17	0,16±0,02	0,85±0,08	0,22±0,03
Acid meta- hidroxibenzoic	0,03±0,01	0,11±0,01	Urme	0,05±0,01	-	Urme
Catehină	9,59±0,00	7,8±0,0	0,46±0,04	4,03±5,78	13,0±1,0	0,42±0,11
Acid vanilic	0,25±0,13	0,08±0,01	0,02±0,01	0,05±0,02	0,04±0,03	0,05±0,03
Procianidină B2	0,34±0,29	0,17±0,06	0,52±0,11	0,43±0,17	Urme	0,10±0,02
Acid siringic	Urme	0,04±0,01	-	0,07±0,03	0,37±0,18	0,04±0,01
Epicatehină	1,32±0,68	3,95±0,32	0,57±0,12	0,25±0,18	0,74±0,18	0,81±0,33
Acid para-cumaric	Urme	0,04±0,01	0,02±0,01	0,03±0,02	0,04±0,01	0,03±0,01
Acid ferulic	1,01±0,50	3,71±2,57	0,33±0,13	1,03±0,16	0,25±0,37	0,11±0,02
Acid sinapic	0,03±0,01	0,10±0,01	0,03±0,01	-	0,07±0,01	0,02±0,01
Trans-resveratrol	0,003±0,001	0,008±0,003	-	1,04±0,04	0,01±0,01	-
Hiperozidă	0,85±0,38	0,10±0,01	-	2,36±1,21	-	Urme
Cis-resveratrol	0,004±0,001	0,01±0,00	0,01±0,00	1,08±0,75	0,002±0,01	Urme
Esterul metilic al acidului ferulic	8,26±4,06	1,32±0,54	-	-	1,38±0,08	0,67±0,17
Quercetină	0,07±0,06	0,21±0,11	Urme	0,09±0,08	0,12±0,02	Urme
Acid cafeic	0,01±0,00	-	Urme	0,02±0,00	0,21±0,24	0,02±0,01
Acid clorogenic	0,28±0,00	0,08±0,06	1,05±0,02	1,11±0,63	0,28±0,17	-
Polidatină	0,95±0,09	-	0,16±0,12	-	0,37±0,01	-
Acid salicilic	22,50±6,79	Urme	0,50±0,00	-	-	-

Principalii polifenoli identificați în extractul de scoruș au fost acizii galic, protocatehic, para-hidroxi benzoic, siringic, cafeic, ferulic și clorogenic, precum și procianidina B1, catehina, epicatehina, polidatina și esterul metilic al acidului ferulic. Trementzi și colab. (2008) au analizat compoziția de polifenoli în 24 extracte și fracțiuni diferite obținute din fructele de scoruș aflate la cinci etape de maturitate diferite. Autorii au identificat 62 de polifenoli diferiți folosind metoda LC-DAD-MS (ESI+) și au determinat că toate categoriile de maturitate au fost bogate în acizi benzoic, fenilpropanoic și cinnamoylquinic, precum și derivații acestora. Fructele mature au avut un conținut mai scăzut de flavonoide decât fructele necoapte. Toate fracțiunile obținute în acetat de etil, butanol și apă au conținut acid clorogenic, iar cele mai multe dintre flavonoidele detectate au fost flavonoli (în principal quercetină), glicozide și dimeri. Trebuie menționat că tipurile de flavonoli determinați și activitatea antioxidantă au corelat cu stadiul de maturitate și solventul de extracție [57].

În cazul păducelului a fost documentat că aceste pomușoare conțin epicatehină, procianidină B2, procianidină B5, procianidină C1, hiperozidă, izoquercetină și acid clorogenic [20]. În cadrul experimentelor au mai fost identificate catehina (0,42 mg/100mL extract), acidul galic (0,09 mg/100mL extract), procianidina B1 (0,22 mg/100mL extract), acidul ferulic (0,11 mg/100 mL extract) și esterul său metilic (0,67 mg/100 mL extract).

Mai mulți autori au documentat faptul că substanțele identificate în extracte au acțiune antioxidantă și terapeutică. Astfel:

- acidul galic este un agent antimutagenic, anticancerigen cu proprietăți antiinflamatorii [146];
- catehina și epicatehina manifestă proprietăți antioxidante demonstrate prin teste *in vitro* [147];
- procianidinele B1 și B2 au proprietăți antioxidante și estrogenice;
- acidul ferulic are proprietăți antiinflamatorii, hepatoprotectoare, nefroprotectoare, antimutagenice, anticancerigene și neuroprotectoare [148];
- acidul sinapic: proprietăți antioxidante, antiinflamatorii, anticancerigene, antimutagene, antiglicemice, neuroprotectoare și antibacteriene [149];
- trans- și cis - resveratrolul oferă protecție cardiovasculară, proprietăți antioxidante, hipoglicemice, anticancerigene și antiinflamatorii [150];
- acizii clorogenic și cafeic: proprietăți antioxidante și antiinflamatorii [151].

După cum a fost arătat în primul capitol, enzimele antioxidante pot avea o contribuție semnificativă la valoarea activității antioxidante globale, deși activitatea acestora scade drastic după recoltare și uscare. Astfel, se recomandă efectuarea unui studiu la această temă, îndeosebi în cazul modificării regimurilor de temperatură. O altă clasă de compuși ce pot afecta activitatea

antioxidantă și culoarea sunt metalele de tranziție, deoarece acestea catalizează reacțiile cu mecanism radicalic. Prin urmare, se recomandă studierea influenței unor metale ca fierul, cuprul ș.a. asupra activității antioxidante a materiilor prime horticoale, precum și determinarea conținutului acestor elemente.

În tabelul 3.5 sunt date rezultatele pentru parametrii de culoare ai extractelor studiate.

Tabelul 3.5. Parametrii CIELab ai extractelor utilizate pentru studiu (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Extract	L* (luminozitate)	a* (componentă roșu/verde)	b*(componentă galben/albastru)	C* (cromaticitate)	H* (nuanță)
Aronie	42,36±0,13	41,79±0,07	24,90±0,04	48,65±0,07	1,47±0,01
Tescovină	65,60±0,10	30,00±0,18	-7,14±0,09	30,86±0,16	-4,12±0,08
Măceș	92,29±0,03	0,51 ±0,01	18,30±0,07	18,31±0,07	-0,07±0,11
Cătină albă	97,61±0,03	-1,19±0,02	8,00±0,02	8,10±0,02	-2,24±0,43
Scoruș	94,41±0,00	-0,59±0,00	15,07±0,00	15,08±0,00	-4,92±0,00
Păducel	92,25±0,93	-1,27±0,13	16,34±0,33	16,39±0,32	0,47±0,76

Rezultatele arată că cele mai mici valori ale luminozității au fost determinate în extractele de aronie și tescovină, pe când cele mai mari în cele de scoruș și cătină albă. Valorile componenteii a* indică prezența pigmentilor roșii în extractele de aronie, tescovină, mai puțin în extractul de măceș și a pigmentilor verzi în extractele de păducel, scoruș și cătină albă. Valorile componenteii b* relevă pigmenți de culoare albastră în extractul de tescovină și conținut dominant de pigmenți galbeni în toate celelalte extracte.

Conținutul ridicat de polifenoli, în special de antocieni contribuie la culoarea și activitatea antioxidantă a extractului de aronie. A fost determinată o luminozitate relativ scăzută (L*), anume 42,36. Pigmenții roșii și cei galbeni sunt principalii compuși care afectează calitatea culorii extractului de aronie. Rezultate similare pentru parametrii de culoare au fost raportate de Tolic și colab. (2015) [137].

Deși polifenolii contribuie la culoarea extractului de măceș, factorul principal de culoare sunt totuși carotenoidele [48]. Componenta roșu/verde sugerează o preponderență a tonurilor roșii în culoarea extractului, în timp ce componenta albastru/galben relevă prezența pigmentilor galbeni. Alți autori au raportat că fructele de măceș își pierd tonurile de galben în timpul coacerii [48], astfel momentul recoltării fiind important pentru un extract optim în ceea ce privește calitatea culorii sale.

A fost calculat coeficientul de corelație Pearson pentru perechile polifenoli totali (Folin-Ciocalteu) – activitate antioxidantă (ABTS) și cromaticitate – activitate antioxidantă (ABTS). În figura 3.1 este dată corelația dintre cantitatea totală de polifenoli și activitatea antioxidantă. Valoarea calculată a lui R este 0,9931. Această valoare indică o corelație pozitivă puternică, ceea ce înseamnă că valorile ridicate ale concentrației totale de polifenoli presupune valori mari ale activității antioxidante (și viceversa). Valoarea coeficientului de corelație R^2 este 0,9862. Detaliile calculelor sunt prezentate în anexa 10.

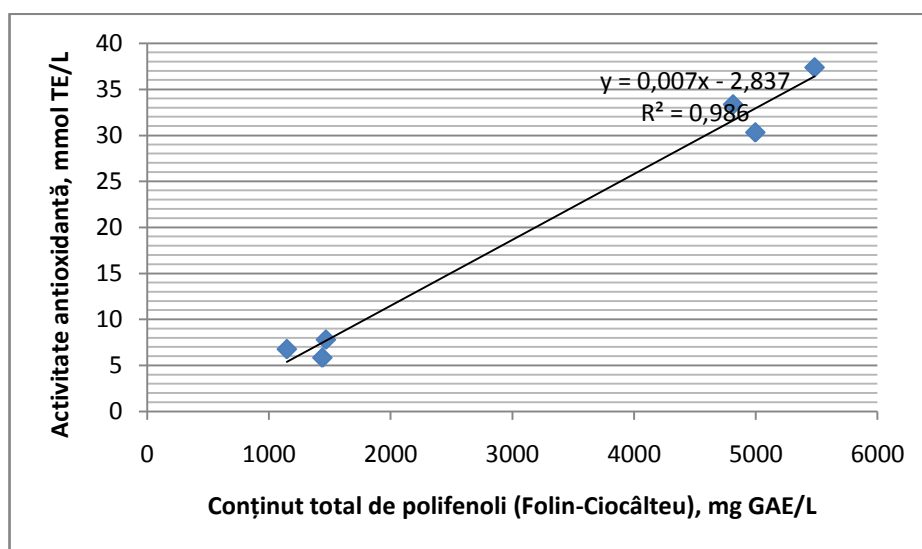


Fig. 3.1. Corelația dintre cantitatea totală de polifenoli determinată prin metoda Folin-Ciocalteu și activitatea antioxidantă ABTS

În figura 3.2 este dată corelația dintre cromaticitate și activitate antioxidantă. Detaliile calculelor sunt prezentate în anexa 10.

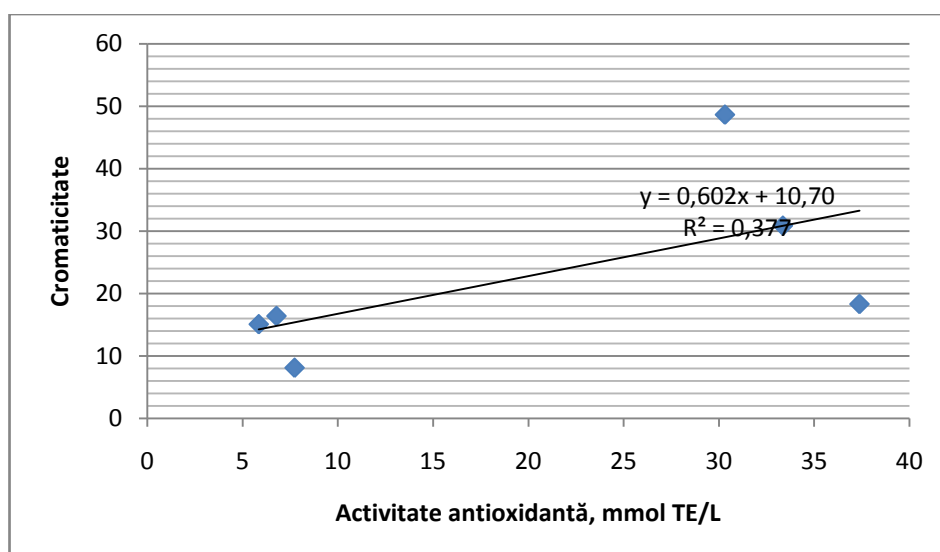


Fig. 3.2. Corelația între cromaticitate și activitatea antioxidantă ABTS

În acest caz, valoarea lui R este 0,6142. Aceasta este o corelație pozitivă moderată, ceea ce înseamnă că există o tendință de potrivire a valorilor mari ale activității antioxidante cu valori mari ale cromaticității (și viceversa). Valoarea coeficientului de corelație R^2 este 0,3772. Analizând graficul și calculele, putem observa că anume valorile înalte ale activității antioxidante ale măceșului nu presupun în mod imperativ o cromaticitate înaltă. De altfel, extractul de măceș conține substanțe incolore ce sunt antioxidanți puternici, substanțe cum ar fi vitamina C. Astfel, pentru calcule mai exacte, ar trebui determinată concentrația vitaminei C și activitatea antioxidantă corespunzătoare acestei concentrații. Această valoare va fi luată în calcul la determinarea corelațiilor dintre cromaticitate, polifenoli și activitatea antioxidantă.

3.2. Influența diferitor regimuri termice asupra activității antioxidante și parametrilor de culoare

În figura 3.3 este reprezentată modificarea activității antioxidante după expunerea extractului de măceș la diferite regimuri termice.

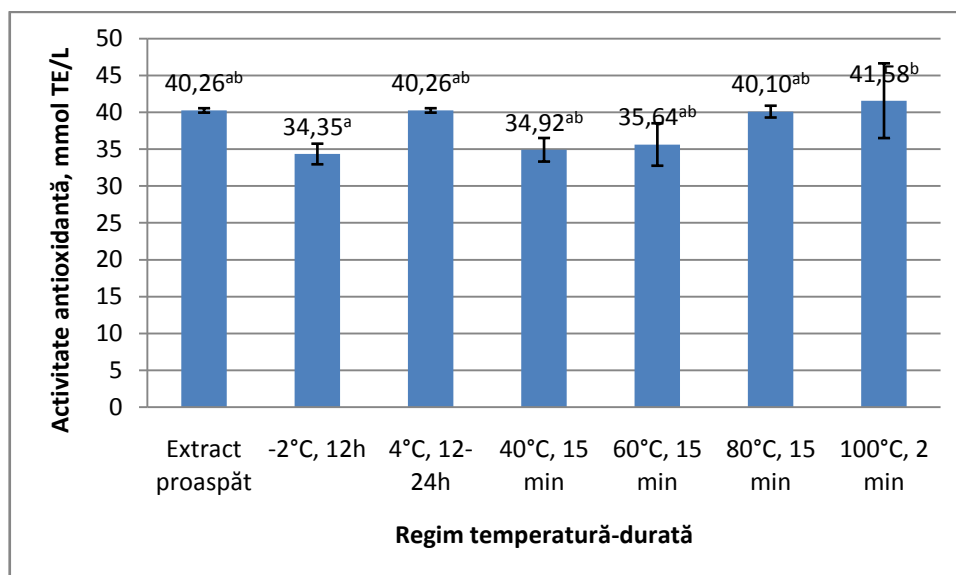


Fig. 3.3. Influența diferitor regimuri termice asupra activității antioxidante a extractului de măceș

Rezultatele prezentate arată că nici unul dintre tratamentele termice testate nu a afectat semnificativ activitatea antioxidantă totală. Cu toate acestea, există o diferență semnificativă între valoarea determinată în extractului expus la $t=-2^{\circ}\text{C}$ timp de 12 ore și cea determinată în extractul expus la $t=100^{\circ}\text{C}$ timp de 2 minute. Ar fi totuși interesant a cerceta dacă activitatea antioxidantă din extractul de măceș se datorează polifenolilor sau dacă aceasta este conferită de vitamina C, găsită în mod normal în măceșe. Rezultate similare au fost găsite în timpul cercetării influenței temperaturii asupra tescovinei de struguri și extractelor de aronie.

În tabelul 3.6 sunt date valorile parametrilor CIELab ai extractului de măceș și arată că temperatura sub 0°C și anume -2°C precum și tratamentul termic prelungit chiar și la temperaturi nu prea ridicate, mai exact 40°C timp de 15 minute și 60°C timp de 15 minute, au crescut luminozitatea extractului.

Tabelul 3.6. Influența diferitor regimuri termice asupra parametrilor de culoare ai extractului de măceș (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Regim temperatură-durată	L*	a*	b*	C*	H*
Extract proaspăt	92,29±0,03 ^a	0,51±0,01 ^b	18,30±0,07 ^b	18,31±0,08 ^a	-0,07±0,11 ^{ab}
-2°C, 12h	95,93±0,10 ^b	-0,17±0,08 ^a	14,60±0,06 ^a	14,60±0,06 ^b	11,54±17,45 ^b
4°C, 12-24h	92,29±0,05 ^a	0,51±0,01 ^b	18,30±0,07 ^b	18,31±0,07 ^a	0,17±0,08 ^{ab}
40°C, 15 min.	96,65±0,10 ^b	-0,32±0,09 ^a	14,10±0,07 ^a	14,10±0,07 ^b	1,36±1,40 ^{ab}
60°C, 15 min.	96,08±0,36 ^b	-0,28±0,06 ^a	15,05±0,24 ^a	15,05±0,24 ^b	-1,48±2,15 ^{ab}
80°C, 15 min.	90,96±1,82 ^a	0,71±0,32 ^c	18,72±0,86 ^b	18,74±0,87 ^a	0,06±1,20 ^{ab}
100°C, 2 min.	92,27±1,38 ^a	0,49±0,06 ^b	17,69±0,84 ^b	17,69±0,84 ^a	0,39±1,87 ^{ab}

Aceleași tratamente au condus la degradarea pigmentilor roșii și o evoluție a culorii spre tonuri verzui. Temperaturile mai joase 0°C, cât și expunerea timp de 15 minute la temperaturi cuprinse între 40°C și 60°C, au provocat degradarea nuanței galbene. Toate aceste modificări în extractele menționate mai sus au produs o scădere a calității cromatice reprezentate de parametrul C* - parametru care descrie calitatea culorii, vivacitatea sau monotonia acesteia. Printre specialiști este, de asemenea, cunoscut sub numele de saturație și arată cât de apropiată este culoarea de gri sau de nuanța pură [152]. Culorile care conțin pigmenți gri sunt descrise ca fiind mai puțin saturate sau spălăcite, valorile numerice ale Chroma pentru astfel de culori fiind mai mici decât cele ale nuanțelor pure. Rezultatele pentru Chroma arată clar că nuanțele probelor supuse la -2°C, timp de 12 ore, la 40°C timp de 15 minute și 60°C timp de 15 minute au devenit mai pale, deși perceptibilitatea acestui fenomen de către ochiul uman trebuie să fie evaluată ulterior. Interesant, dar valorile mari pentru Chroma corespund cu valori mai mari ale activității antioxidante.

În figura 3.4 este reprezentată modificarea activității antioxidante după expunerea extractului de aronie la diferite regimuri termice.

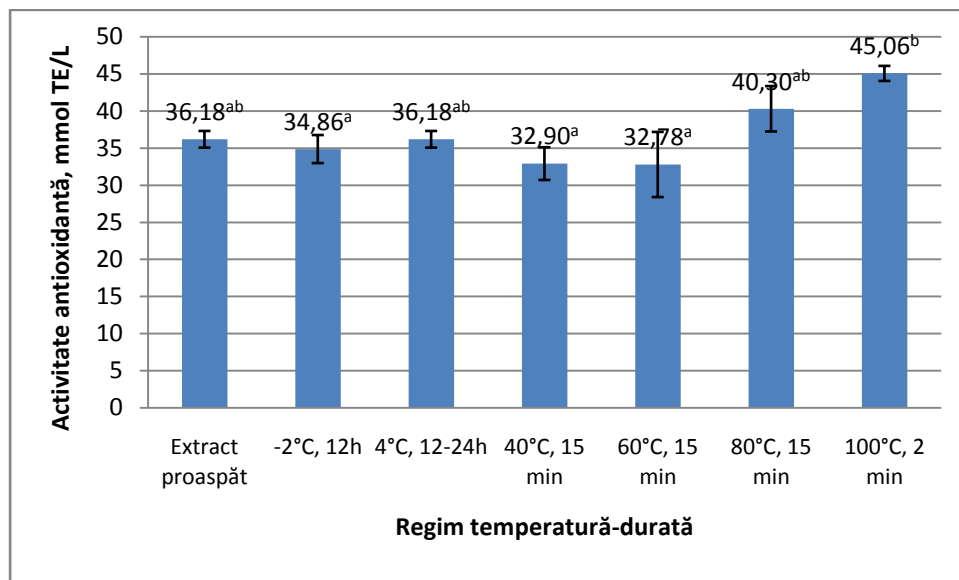


Fig. 3.4. Influența diferitor regimuri termice asupra activității antioxidante a extractului de aronie (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Rezultatele expuse mai sus arată modificarea activității antioxidante după tratamente termice la temperaturi diferite. Nu au fost observate variații semnificative statistice ale activității antioxidante dintre extractul proaspăt și cele supuse tuturor tratamentelor termice. Astfel extractul etanolic de *Aronia melanocarpa* este stabil atunci când este supus atât la temperaturi sub 0°C, cât și la temperaturi ridicate, utilizate la procesarea produselor alimentare. Cu toate acestea, au existat diferențe semnificative între tratamentul termic efectuat la 100°C timp de 2 minute și cele de la -2°C timp de 12 ore; 40°C timp de 15 minute și 60°C timp de 15 minute. O serie de alte studii au demonstrat că polifenolii sunt stabili la acțiunea temperaturii [153, 154]. Cu toate acestea, a fost raportat că pasteurizarea și depozitarea, în special atunci când oxigenul este disponibil, poate afecta activitatea antioxidantă în mod negativ [155].

În tabelul 3.7 sunt rezumate valorile obținute pentru L*, a*, b*, C* și H* pentru diverse regimuri termice. Temperaturile ridicate au demonstrat un efect semnificativ asupra tuturor parametrilor de culoare prin scăderea valorii luminozității, ce are drept rezultat un extract mai închis la culoare. Pe de altă parte, nuanțele de roșu și galben ale extractului au crescut. Cromaticitatea a crescut, de asemenea, odată cu temperatura. Cea mai mare valoare de 55,66 a fost găsit după ce extractul a fost supus tratamentului la 100°C timp de 2 minute.

Tabelul 3.7. Influența temperaturii asupra parametrilor de culoare ai extractelor de aronie
(rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Regim temperatură-durată	L*	a*	b*	C*	H*
Extract proaspăt	42,36±0,13 ^b	41,79±0,07 ^a	24,90±0,04 ^b	48,65±0,09 ^a	1,47±0,01 ^d
-2°C, 12h	44,66±0,03 ^d	42,36±0,03 ^a	22,87±0,06 ^a	48,13±0,06 ^a	1,67±0,01 ^f
4°C, 12-24h	42,33±0,12 ^b	41,81±0,07 ^{b,c}	24,90±0,05 ^c	48,66±0,08 ^a	1,48±0,01 ^d
40°C, 15 min.	43,90±0,04 ^c	42,47±0,36 ^c	22,93±0,07 ^a	48,26±0,35 ^a	1,67±0,01 ^f
60°C, 15 min.	44,48±0,39 ^{cd}	42,39±0,20 ^c	24,32±0,16 ^b	48,87±0,26 ^a	1,55±0,01 ^e
80°C, 15 min.	42,55±0,22 ^b	43,38±0,22 ^d	27,02±0,05 ^c	51,11±0,18 ^b	1,39±0,01 ^c
100°C, 2 min.	29,67±0,33 ^a	45,31±0,62 ^e	32,33±0,48 ^e	55,66±0,78 ^c	1,16±0,01 ^b

În figura 3.5 este arătată schimbarea activității antioxidante în extractul de tescovină după diferite tratamente termice.

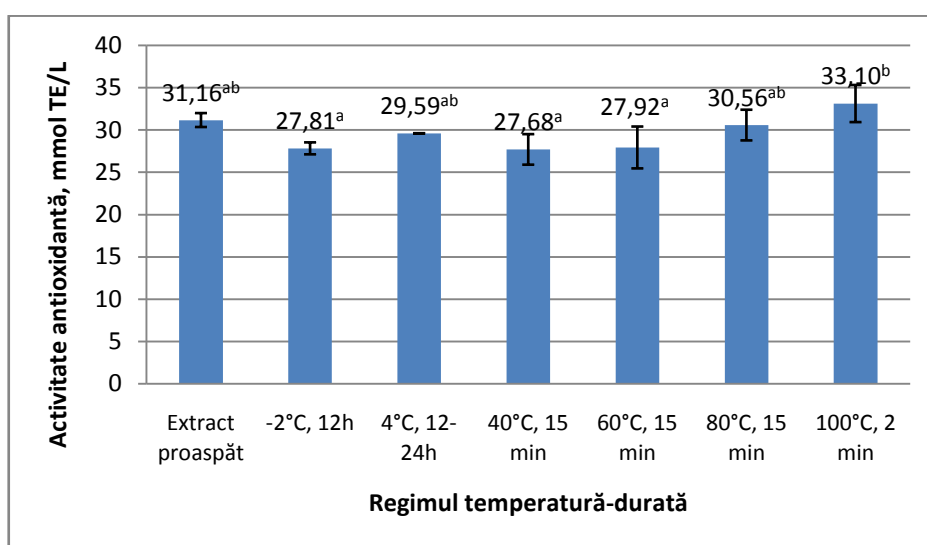


Fig. 3.5. Influența diferitor regimuri termice asupra activității antioxidante a extractului de tescovină (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Comparând activitatea antioxidantă a probelor supuse tratamentelor termice cu cea a probei-martor, observăm că nici unul dintre regimurile cercetate nu a afectat semnificativ acest parametru. Cu toate acestea, există diferențe statistice semnificative între rezultatele obținute pentru extractul menținut la $t=-2^{\circ}\text{C}$ timp de 12 ore și cel menținut la $t=60^{\circ}\text{C}$ timp de 15 minute, când acestea sunt comparate cu rezultatul obținut în extractul supus la $t=100^{\circ}\text{C}$ timp de 2 minute. De altfel, cea mai mare valoare ($33,10\pm 2,19$ mmol TE/L) a parametrului studiat a fost obținută

anume pentru acest extract. Studiul lui Kurzeja și colab. (2012) a arătat că la temperatură ridicată pe o durată scurtă de timp (HTST) a scăzut numărul de radicali din plantele testate utilizate în cercetări, în timp ce activitatea antioxidantă a crescut. Prin urmare, este posibil că acest parametru a fost îmbunătățit doar datorită efectului căldurii [153]. Și alți autori au sugerat că în timpul tratamentelor termice pot fi generați noi compuși antioxidanți [154]. Puterea anumitor antioxidanți este asociată cu puterea lor de reducere și, astfel, asociat cu prezența reductonelor [156]. În tabelul 3.8 sunt rezumate valorile obținute pentru L*, a*, b*, C* și H*.

Tabelul 3.8. Influența temperaturii asupra parametrilor de culoare ai extractelor de tescovină (rezultatele sunt exprimate ca medie±abatere standard)

Regim temperatură-dură	L*	a*	b*	C*	H*
Extract proaspăt	65,60±0,12 ^a	30,00±0,19 ^a	-7,14±0,09 ^a	30,85±0,16 ^a	-4,12±0,07 ^a
-2°C, 12h	67,85±0,58 ^a	28,91±0,16 ^a	-6,80±0,95 ^a	29,71±0,06 ^a	-4,23±0,69 ^a
4°C, 12-24h	65,58±0,12 ^a	30,03±0,17 ^a	-7,15±0,09 ^a	30,87±0,15 ^a	-4,12±0,08 ^b
40°C, 15 min.	67,76±0,40 ^a	29,32±0,20 ^a	-7,10±0,24 ^a	30,17±0,14 ^a	-4,05±0,18 ^b
60°C, 15 min.	68,50±0,16 ^a	28,28±0,02 ^a	-6,10±0,18 ^a	28,93±0,05 ^a	-4,57±0,14 ^b
80°C, 15 min.	66,73±1,53 ^a	29,58±0,97 ^a	-4,02±0,35 ^b	29,86±0,93 ^a	-7,35±0,86 ^a
100°C, 2 min.	62,52±2,33 ^b	33,27±2,45 ^b	-3,87±0,54 ^b	33,50±2,45 ^b	-8,66±1,15 ^a

Rezultatele CIELab relevă că valorile luminozității determinate în extractul de tescovină expus diferitor regimuri termice au fost cuprinse între 62 și 68, cea mai ridicată valoare fiind observată în extractele expuse la t=60°C timp de 15 minute. Această valoare este mai mare cu aproximativ 3 unități decât valoarea determinată în extractul proaspăt, însă analiza statistică nu a demonstrat diferențe semnificative între aceste două valori. Unii autori sugerează o corelație liniară între conținutul de antocieni și toți parametrii CIELab. De asemenea, valorile ridicate ale L* din extractele de struguri au fost asociate cu un conținut scăzut de antocieni [157].

Analiza statistică a mai arătat că numai rezultatele obținute pentru extractul supus la 100°C timp de 2 min. sunt semnificativ diferite de celelalte în ceea ce privește luminozitatea și componenta roșu/verde. Cu toate acestea, valoarea lui a* a crescut, ceea ce înseamnă că a existat o schimbare de culoare spre tonuri mai roșii, în timp ce Laurari și colab. (1997) a constatat o pierdere de culoare roșie în piețele de struguri expuse la t=140°C [66]. Având în vedere scăderea luminozității, este foarte probabil să fi avut loc o modificare a structurii moleculare sau generarea compușilor Maillard de culoare brună.

Rezultatele în coloanele a* și b* arată evoluția componentei roșu/verde și componentei albastru/galben, respectiv. Ambii parametri sunt relativ stabili și doar trecerea componentei

albastru/galben spre valori pozitive în extractele supuse la $t=100^{\circ}\text{C}$ timp de două minute sugerează degradarea pigmentilor albaștri și evoluția spre tonuri mai galbene. Acest lucru ar putea fi un semn al contribuției altor pigmenți care implică de regulă formarea de piranoantocieni, ceea ce rezultă în nuanțe roșu-portocalii [158]. Evoluția parametrului b^* este strict dependentă de temperatură și timpul de expunere. Cu cât temperatura este mai mare, cu atât mai mare este trecerea spre galben. Și alți autori au mai constatat că temperaturile ridicate ($> 100^{\circ}\text{C}$) măresc unghiul de nuanță și diferența de culoare în cazul tescovinei de struguri [66]. Valorile lui C^* ilustrează schimbarea cromaticității pe parcursul diferitelor regimuri de temperatură în timp. Chroma caracterizează calitatea culorii. În general, calitatea culorii nu este influențată de temperaturile ridicate sau foarte scăzute și rămâne relativ stabilă. Cea mai mare valoare a fost observată în extractul supus la temperatura de 100°C timp de 2 minute. Chiar dacă abaterea standard este mai mare decât în alte cazuri, creșterea saturației culorii ar putea fi explicată la fel prin schimbarea structurii moleculare a compușilor de culoare. În ceea ce privește alte rezultate documentate pentru parametrii CIELab, întunecarea și trecerea spre nuanțe de roșu și galben au fost observate și de către alți autori [153]. Autorii au constatat, de asemenea, o scădere a valorii lui L^* în comparație cu probele nesterilizate și au asociat acest efect cu pierderea de apă care a avut loc în timpul sterilizării.

În figura 3.6 este reprezentat efectul diferitor regimuri termice asupra activității antioxidante a extractului de cătină albă.

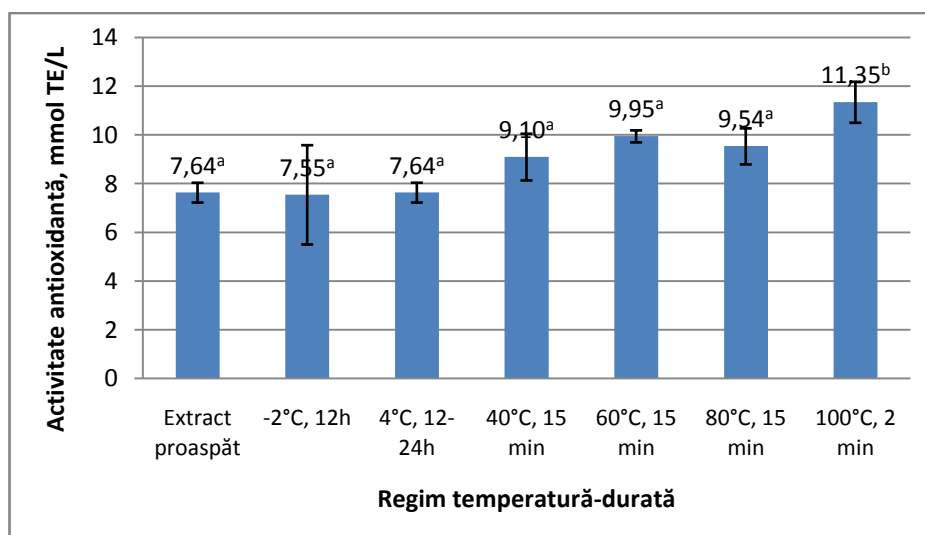


Fig. 3.6. Influența temperaturii asupra activității antioxidante a extractului de cătină albă (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

În general, activitatea antioxidantă a rămas neschimbată și numai în cazul tratamentului de 2 minute la 100°C a existat o creștere semnificativă din punct de vedere statistic, anume de la 7,64 mmol TE/L până la 11,35 mmol TE/L. Rezultatele obținute relevă o creștere graduală, însă

valorile determinate după tratamentele 40°C timp de 15 min.; 60°C timp de 15 min. și 80°C timp de 15 min. nu prezintă diferențe statistice semnificative. Această schimbare poate fi atribuită modificării structurii moleculare a polifenolilor și astfel modificării capacității lor antioxidante [67]. În cazul cătinii albe, trebuie luate în considerare carotenoidele și modificările lor în timpul tratamentelor termice.

În tabelul 3.9 sunt rezumate rezultatele pentru valorile parametrilor CIELab ai extractului de cătină albă expus la diferite temperaturi pentru diferite perioade de timp. În cazul parametrilor CIELab, rezultatele au arătat că doar extractul expus la 100°C timp de 2 minute a fost afectat semnificativ. În extractul menționat mai sus au fost observate o scădere a luminozității (L*), o creștere a parametrului roșu/verde (a*) și o creștere a parametrului galben/albastru (b*). În plus, toate aceste modificări au avut drept rezultat o valoare mai mare pentru cromaticitate. Astfel, extractul de cătină albă este stabil la acțiunea temperaturii atât din punct de vedere al activității antioxidante, cât și al calității culorii, dacă temperaturile $\geq 100^\circ\text{C}$ sunt evitate.

Tabelul 3.9. Influența temperaturii asupra parametrilor de culoare ai extractului de cătină albă (rezultatele sunt exprimate ca medie \pm abatere standard)

Regim temperatură-dură	L*	a*	b*	C*	H*
Extract proaspăt	97,61 \pm 0,03 ^a	-1,19 \pm 0,02 ^a	8,00 \pm 0,02 ^a	8,10 \pm 0,02 ^a	-2,24 \pm 0,43 ^a
-2°C, 12h	98,32 \pm 0,04 ^a	-1,24 \pm 0,04 ^a	7,77 \pm 0,08 ^a	7,87 \pm 0,07 ^a	-5,86 \pm 8,74 ^a
4°C, 12-24h	97,60 \pm 0,00 ^a	-1,19 \pm 0,00 ^a	8,00 \pm 0,03 ^a	8,09 \pm 0,03 ^a	-2,21 \pm 0,10 ^a
40°C, 15 min.	98,51 \pm 0,03 ^a	-1,25 \pm 0,00 ^a	7,77 \pm 0,08 ^a	7,87 \pm 0,07 ^a	-0,49 \pm 20,06 ^a
60°C, 15 min.	98,10 \pm 0,31 ^a	-0,90 \pm 0,40 ^a	7,84 \pm 0,19 ^a	7,90 \pm 0,23 ^a	-0,96 \pm 1,35 ^a
80°C, 15 min.	97,78 \pm 0,03 ^a	-1,14 \pm 0,02 ^a	8,75 \pm 0,07 ^a	8,83 \pm 0,07 ^a	-0,24 \pm 0,07 ^a
100°C, 2 min.	94,08 \pm 2,90 ^b	0,07 \pm 1,03 ^b	12,37 \pm 2,60 ^b	12,40 \pm 2,58 ^b	-0,08 \pm 1,54 ^a

În figura 3.7 sunt date rezultatele activității antioxidante a extractului de păducel după diferite tratamente termice.

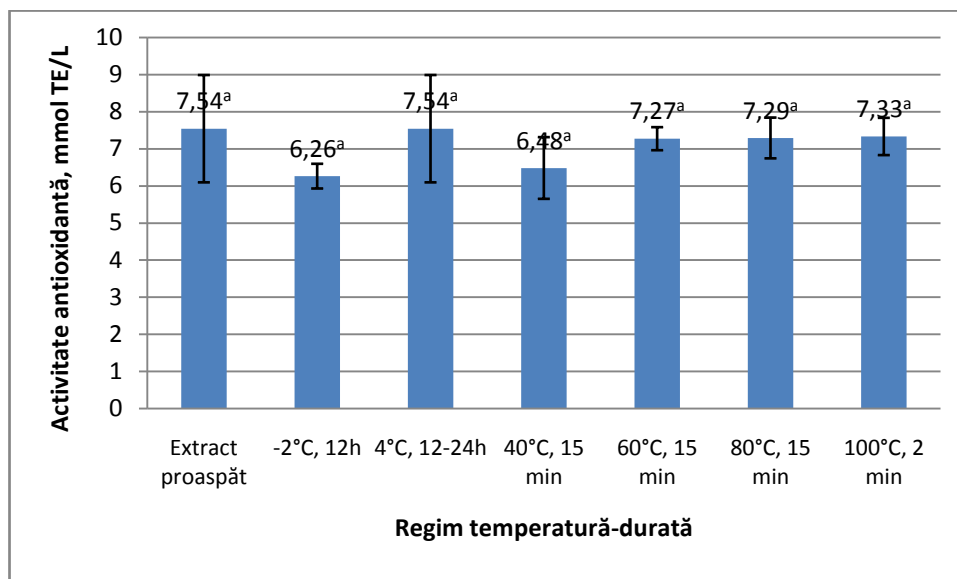


Fig. 3.7. Influența temperaturii asupra activității antioxidante a extractului de păducel (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Rezultatele pentru extractul de păducel arată că nici unul dintre tratamentele testate nu a afectat activitatea antioxidantă. Astfel, extractul de păducel este unul dintre cele mai stabile la acțiunea temperaturilor înalte, având în vedere că potențialul antioxidant al extractelor prezentate anterior a fost modificat de $t=100^{\circ}\text{C}$ timp de 2 minute.

În tabelul 3.10 sunt date rezultatele parametrilor de culoare pentru extractele de păducel supuse la diferite temperaturi pentru diferite perioade de timp.

Tabelul 3.10. Influența temperaturii asupra parametrilor de culoare ai extractului de păducel (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Regim temperatură-durăță	L*	a*	b*	C*	H*
Extract proaspăt	92,25 \pm 0,93 ^{ab}	-1,27 \pm 0,13 ^{ab}	16,34 \pm 0,33 ^{abc}	16,39 \pm 0,32 ^{ab}	0,47 \pm 0,76 ^a
-2°C, 12h	96,78 \pm 0,30 ^b	-1,35 \pm 0,02 ^a	14,46 \pm 0,12 ^a	14,52 \pm 0,12 ^a	-0,33 \pm 0,24 ^a
4°C, 12-24h	95,31 \pm 0,84 ^{ab}	-1,28 \pm 0,12 ^{ab}	16,31 \pm 0,28 ^{abc}	16,36 \pm 0,27 ^{ab}	0,33 \pm 0,98 ^a
40°C, 15 min.	96,81 \pm 0,05 ^b	-1,39 \pm 0,01 ^a	14,72 \pm 0,20 ^{ab}	14,78 \pm 0,20 ^a	-0,46 \pm 0,28 ^a
60°C, 15 min.	96,89 \pm 0,06 ^b	-1,41 \pm 0,01 ^a	15,06 \pm 0,12 ^{ab}	15,13 \pm 0,11 ^a	-0,31 \pm 0,15 ^a
80°C, 15 min.	94,32 \pm 0,24 ^{ab}	-1,05 \pm 0,03 ^{ab}	16,55 \pm 0,14 ^{abcd}	16,58 \pm 0,14 ^{ab}	2,54 \pm 3,36 ^a
100°C, 2 min.	92,91 \pm 3,01 ^a	-0,79 \pm 0,50 ^b	18,72 \pm 2,38 ^{cd}	18,74 \pm 2,36 ^{bc}	-0,63 \pm 2,77 ^a

Nici unul dintre tratamentele cercetate nu a produs vreo modificare semnificativă a luminozității în comparație cu proba de referință. Totuși, extractele supuse -2°C timp de 12 ore; 40°C timp de 15 minute; 60°C timp de 15 minute au avut o culoare semnificativ mai deschisă decât proba supusă la 100°C timp de 2 minute. Același lucru se aplică pentru componenta roșu/verde (a*), componenta albastru/galben (b*) și cromaticitate (C*) – valorile acestor parametri fiind mai mari în proba expusă la 100°C timp de 2 minute. Astfel, extractul respectiv este puțin mai închis la culoare, puțin mai roșiatic și mai galben.

În ultimii ani, determinarea parametrilor CIELab a devenit un instrument util pentru cercetători în ceea ce privește studiul culorii alimentelor – o proprietate senzorială importantă pentru consumatori și respectiv producători. Astfel, Patras și colab. (2009) au studiat influența tratamentelor de sterilizare și a stocării asupra culorii (parametrii Hunter L*a*b*) feliilor de morcov. Autorii au determinat că durata tratamentului și perioada de păstrare au afectat în mod semnificativ parametrii de culoare [159].

În figura 3.8 sunt date rezultatele pentru activitatea antioxidantă a extractelor de scoruș supuse diferitor regimuri termice.

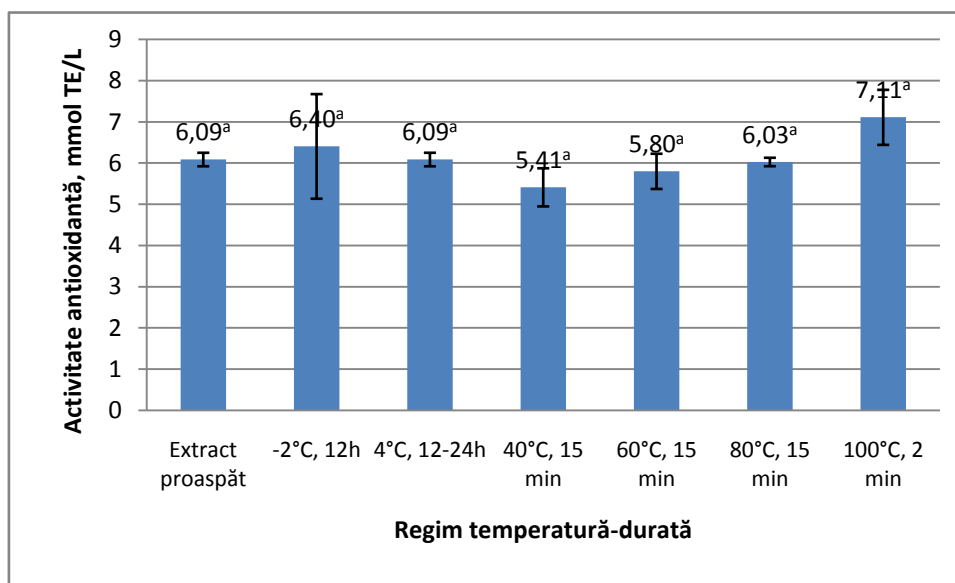


Fig. 3.8. Influența temperaturii asupra activității antioxidante a extractului de scoruș (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Ca și în cazul extractului de păducel, activitatea antioxidantă a extractului de scoruș este stabilă la acțiunea temperaturii. Astfel, analiza statistică a arătat că nu există diferențe semnificative între diferite valori.

În tabelul 3.11 sunt date rezultatele pentru parametrii de culoare ai extractelor expuse la diferite temperaturi pentru diferite perioade de timp.

Tabelul 3.11. Influența temperaturii asupra parametrilor de culoare ai extractului de scoruș
(rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Regim temperatură-durată	L*	a*	b*	C*	H*
Extract proaspăt	94,41±0,00 ^{bc}	-0,59±0,00 ^{ab}	15,07±0,00 ^{bc}	15,08±0,00 ^{bc}	-4,92±0,00 ^a
-2°C, 12h	97,26±0,10 ^c	-0,92±0,02 ^{ab}	11,38±0,19 ^a	11,42±0,18 ^a	-0,05±7,75 ^a
4°C, 12-24h	94,42±0,00 ^{bc}	-3,09±3,54 ^a	15,07±0,00 ^{bc}	15,58±0,70 ^c	-1,42±4,95 ^a
40°C, 15 min.	97,19±0,04 ^{cd}	-0,96±0,01 ^{ab}	12,32±0,16 ^{ab}	12,36±0,16 ^{ab}	1,62±6,41 ^a
60°C, 15 min.	96,83±0,06 ^{cd}	-0,84±0,06 ^{ab}	12,85±0,17 ^{ab}	12,88±0,17 ^{ab}	0,27±0,88 ^a
80°C, 15 min.	95,88±0,21 ^{bcd}	-0,74±0,03 ^{ab}	14,23±2,60 ^{bc}	14,25±0,19 ^{bc}	-0,22±0,94 ^a
100°C, 2 min.	90,23±2,54 ^a	0,11±0,44 ^b	19,04±2,60 ^c	19,04±2,60 ^d	0,35±2,42 ^a

Doar tratamentul la 100°C timp de 2 minute a produs o modificare semnificativă a luminozității în comparație cu proba de referință. Și extractele expuse la -2°C timp de 12 ore; 4°C, timp de 12-24 ore, 40°C timp de 15 minute; 60°C timp de 15 minute și 80°C timp de 15 minute sunt mai deschise la culoare decât proba expusă la 100°C timp de 2 minute. Parametrul albastru/galben a scăzut semnificativ în extractul expus la -2°C timp de 12 ore. La fel ca în cazul extractului de păducel, cromaticitatea este mai mari în extractul expus la 100°C timp de 2 minute. Astfel, extractul de scoruș expus la 100°C a devenit puțin mai deschis la culoare, iar saturația culorii sale a fost majorată, pe când în cel expus la -2°C a scăzut calitatea nuanței galbene.

Au fost publicate o serie de alte studii privind efectul temperaturii și timpului. Patras și colab. (2009) au studiat efectul tratamentului cu presiune înaltă și procesării termice convenționale asupra activității antioxidante, concentrațiilor diferitor clase de antioxidanți și culorii piureurilor de căpșuni și de mure și au constatat că tratamentul termic convențional reduce nivelurile de acid ascorbic, antocieni, activitatea antioxidantă și calitatea culorii, având un efect negativ asupra nuanței roșii în special [160]. Un alt studiu a relevat descoperiri similare în piureurile de morcov și de tomate. Numai nivelurile de polifenoli nu au fost afectate de tratamentul termic [159]. Aceste studii ar putea oferi o explicație pentru stabilitatea activității antioxidante în extractele preparate din fructe uscate, presupunând că valoarea ei se datorează polifenolilor și carotenoidelor – compuși în general mai stabili la acțiunea temperaturii, care nu au degradat în procesul de uscare.

3.3. Influența condițiilor de păstrare asupra activității antioxidante și parametrilor de culoare

Trei loturi din fiecare extract au fost depozitate timp de două săptămâni, fiind supravegheate activitățile lor antioxidante și parametrii de culoare. În figura 3.9 sunt reprezentate valorile activității antioxidante a extractelor de măceș păstrate la diferite temperaturi.

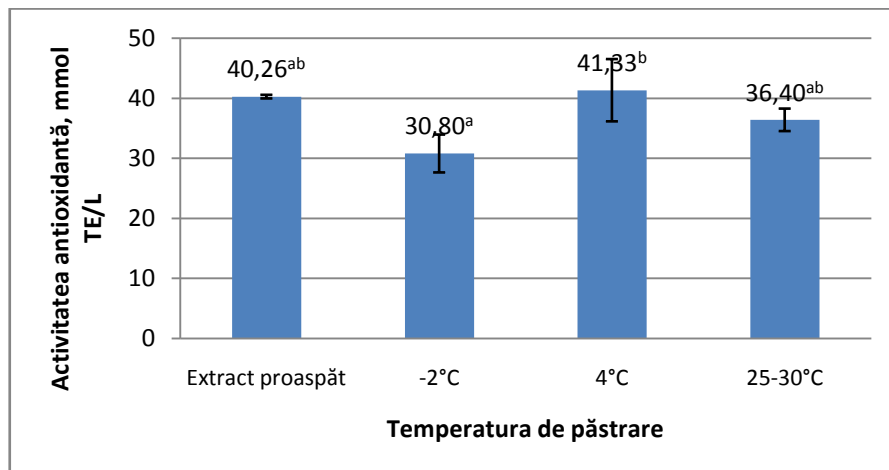


Fig. 3.9. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra activității antioxidante a extractului de măceș (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Rezultatele date în figura 3.9 relevă o diferență statistică doar între valorile determinate pentru extractul menținut la -2°C și cel păstrat la temperatura de 4°C . Cu toate acestea, ambele valori nu sunt semnificativ diferite de proba-martor în ceea ce privește activitatea antioxidantă. Mai mult ca atât, temperatura camerei la fel ca și temperatura sub 0°C nu a afectat acest parametru. Această stabilitate ar putea fi explicată prin stabilitatea diferitor polifenoli la acțiunea temperaturii. Totuși, scăderea cu 23% a activității antioxidante la $t=-2^{\circ}\text{C}$ indică o instabilitate a acestora la temperaturi negative, în pofida faptului că variația rezultatelor a condus la absența semnificației statistice. Casati și colab. (2012) au cercetat influența păstrării asupra conținutului de polifenoli și a parametrilor de culoare ai sucurilor de afine, soc și coacăze și au constatat că atât conținuturile de polifenoli, cât și calitatea culorii au scăzut odată cu trecerea timpului [161]. Desigur, când se compară rezultatele celor două studii, trebuie să fie luate în considerare durata mai lungă de păstrare și mediile diferite dependente de solvent. Mai mult, ar fi interesant de cercetat stabilitatea diferitelor extracte preparate din pomușoare uscate după adăugarea lor în produse, cum ar fi sucurile de fructe.

În tabelul 3.12 sunt date rezultatele pentru parametrii CIELab ai extractelor de măceș păstrate pe parcursul a două săptămâni.

Tabelul 3.12. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra parametrilor de culoare ai extractelor de măceș (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Temperatură și durată de păstrare	L*	a*	b*	C*	H*
Extract proaspăt	92,29±0,03 ^a	0,51±0,01 ^b	18,30±0,07 ^b	18,31±0,08 ^a	-0,07±0,11 ^a
-2°C, 2 spt	95,78±0,16 ^b	0,06±0,03 ^a	14,42±0,13 ^a	14,42±0,13 ^b	-0,07±0,11 ^a
4°C, 2 spt	90,53±0,43 ^a	0,88±0,08 ^c	19,08±0,02 ^b	18,31±0,07 ^a	-11,59±7,20 ^a
25-30°C, 2 spt	94,83±0,05 ^b	1,23±0,01 ^c	19,26±0,01 ^b	19,30±0,01 ^c	0,16±7,79 ^a

Rezultatele au arătat că temperaturile foarte scăzute, adică -2° C, precum și temperatura camerei, adică 25-30°C poate afecta în mod semnificativ extractul prin creșterea luminozității. Păstrarea extractului la 4°C și la temperatura camerei a determinat schimbarea culorii sale spre tonuri mai roșii, pe când temperatura -2°C a provocat micșorarea parametrului a* și deci intensificarea nuanței verzui. Depozitarea la -2°C a determinat, de asemenea, scăderea parametrului b* și deci a nuanței galbene. Cunja și colab. (2015) au analizat parametrii CIELab ai fructelor de măceș la diferite stadii de maturitate și au observat, de asemenea, că nuanțele roșii și galbene au scăzut la îngheț, iar luminozitatea, pe de altă parte, a crescut [48]. Se pare că temperaturile negative au într-adevăr, un efect negativ asupra pigmentilor măceșului.

În figura 3.10 sunt date rezultatele pentru activitatea antioxidantă după două săptămâni de depozitare la -2°C, 4°C și 25-30°C. Nu au fost găsite diferențe semnificative pentru acest parametru, ceea ce sugerează că pentru menținerea activității antioxidante, temperaturile de stocare pot varia de la sub 0°C până la temperatura camerei.

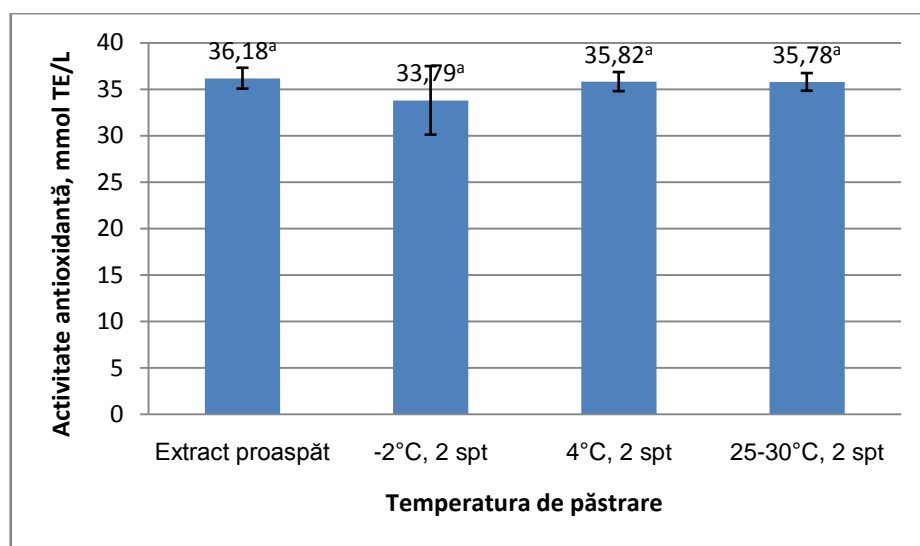


Fig. 3.10. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra activității antioxidante a extractului de aronie (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Rezultatele pentru parametrii de culoare, măsurate în extractele depozitate, sunt incluse în tabelul 3.13. Rezultatele parametrului L* arată că cel mai mare efect asupra luminozității extractului în timpul depozitării a fost exercitat de depozitarea la -2°C și la 25-30°C, prin creșterea valorii sale de la 42,36 la 43,13 și 50,22, respectiv, ceea ce a dus la modificarea culorii spre tonuri cărămizii. Mai mult decât atât, depozitare la 25-30°C a mărit parametrul b* ceea ce poate fi interpretat ca o modificare a culorii spre galben, a micșorat parametrul a*, ceea ce poate fi interpretat ca o descreștere a nuanței roșii și a micșorat unghiul de nuanță. Creșterea parametrului albastru/galben poate fi atribuită formării de piranoantocieni [158]. Cu toate acestea, modificările respective au produs o valoare mai mare pentru Chroma, interpretată ca o calitate sporită a culorii.

Tabelul 3.13. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra parametrilor de culoare ai extractelor de aronie (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Temperatură și durată de păstrare	L*	a*	b*	C*	H*
Extract proaspăt	42,36±0,13 ^a	41,79±0,07 ^c	24,90±0,04 ^a	48,65±0,09 ^a	1,47±0,01 ^c
-2°C, 2 spt	46,13±0,20 ^b	41,28±0,12 ^c	25,00±0,07 ^a	48,26±0,13 ^a	1,44±0,01 ^b
4°C, 2 spt	42,61±0,43 ^a	41,68±0,22 ^c	27,83±0,09 ^b	48,65±0,09 ^a	1,47±0,01 ^c
25-30°C, 2 spt	50,22±0,06 ^c	38,37±0,12 ^a	36,52±0,20 ^c	52,97±0,23 ^b	0,71±0,01 ^a

În figura 3.11 sunt date rezultatele activității antioxidante a extractelor de tescovină păstrate la diferite temperaturi.

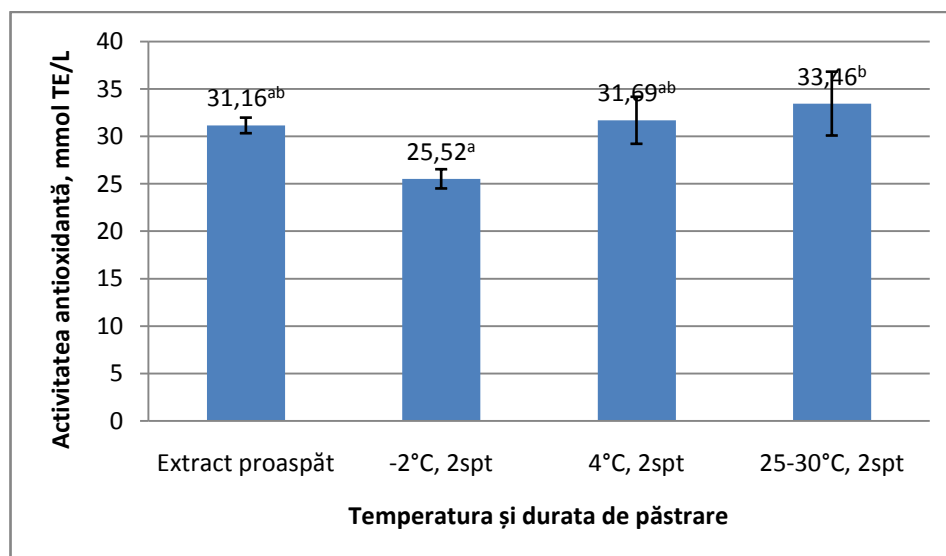


Fig. 3.11. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra activității antioxidante a extractului de tescovină (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Conform rezultatelor prezentate în figura 3.11, una dintre temperaturile cercetate a avut un efect semnificativ asupra potențialului antioxidant, determinând creșterea acestuia de la 31,16 mmol TE/L la 33,46 mmol TE/L. Astfel, depozitarea prelungită la temperatura camerei a crescut valorile activității antioxidante. Acest lucru ar putea fi atribuit modificării structurii moleculare a compușilor antioxidanți. Păstrarea la -2°C și 4°C nu a avut vreo influență asupra activității antioxidante.

Tabelul 3.14. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra parametrilor de culoare ai extractelor de tescovină (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Temperatură și durată de păstrare	L*	a*	b*	C*	H*
Extract proaspăt	65,60 \pm 0,12 ^a	30,00 \pm 0,19 ^a	-7,14 \pm 0,09 ^a	30,85 \pm 0,16 ^b	-4,12 \pm 0,07 ^a
-2°C, 2 spt	68,35 \pm 0,20 ^a	28,24 \pm 0,34 ^a	-6,50 \pm 0,20 ^a	28,99 \pm 0,37 ^{ab}	-4,27 \pm 0,09 ^b
4°C, 2 spt	66,52 \pm 0,15 ^a	29,61 \pm 0,11 ^a	-6,22 \pm 0,01 ^a	30,26 \pm 0,11 ^{ab}	-4,12 \pm 0,08 ^b
25-30°C, 2 spt	68,41 \pm 0,13 ^a	27,77 \pm 0,14 ^a	0,79 \pm 0,05 ^c	27,79 \pm 0,14 ^a	35,30 \pm 2,47 ^c

Cea mai ridicată valoare a luminozității a fost observată în extractul expus la -2°C timp de două săptămâni și 25-30°C timp de două săptămâni. Această valoare este mai mare cu aproximativ 3 unități decât valoarea determinată în extractul proaspăt. Prin urmare, expunerea prelungită la temperaturi foarte scăzute și temperatura camerei ar putea conduce la unele pierderi de pigmenți. Cu toate acestea, testul statistic nu a relevat diferențe semnificative între extractul proaspăt și cele menționate anterior. Pe de altă parte, doar o ușoară creștere a fost observată în extractul ținut la întuneric, la 4°C , ceea ce sugerează că aceste condiții de stocare ar fi optime pentru păstrarea calității pigmentilor.

Analiza statistică a datelor expuse în tabelul 3.14 a mai arătat că componenta galben/albastru (b^*) a fost modificată în mod semnificativ în cazul extractului menținut la temperatura camerei, în prezența luminii. Schimbarea indică modificarea nuanței albastre în galben. Această modificare a condus la scăderea valorii cromaticității și schimbarea unghiului de nuanță spre valori pozitive. Unghiul de nuanță (H^*) este influențat de expunerea prelungită la temperatura camerei și se manifestă prin evoluția culorii spre tonuri galbene și pierderea celor albastre.

În figura 3.12 sunt date rezultatele activității antioxidante în cazul păstrării extractului de cătină albă pe parcursul a două săptămâni.

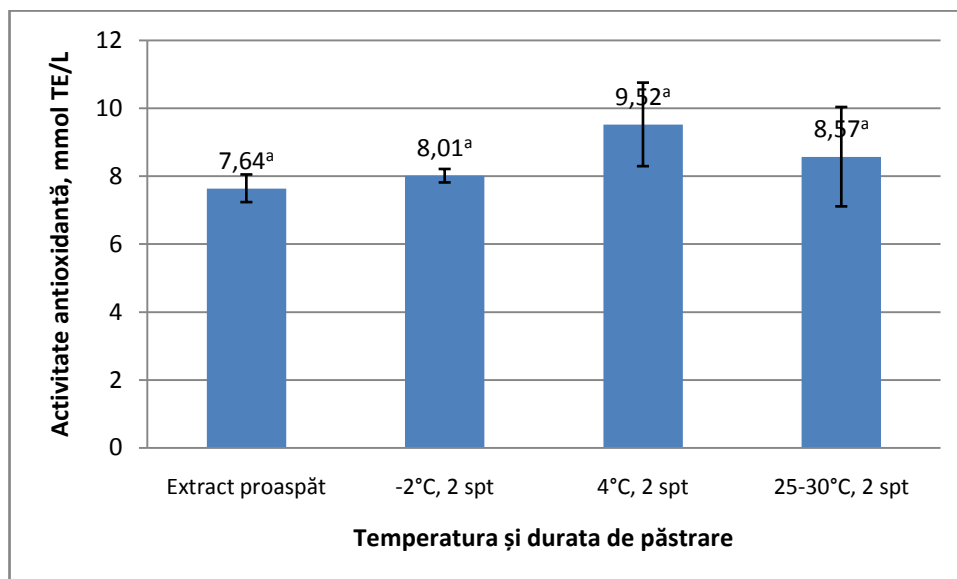


Fig. 3.12. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra activității antioxidante a extractului de cătină albă (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Valorile activității antioxidante demonstrează că acest parametru a fost stabil în timp. Nu există variații semnificative între extracte, chiar dacă culoarea extractului a crescut așa cum va fi arătat ulterior. Ar fi totuși interesant de cercetat cum s-ar modifica acest parametru în cazul modificării mediului de solvatare, deoarece alcoolul manifestă anumite proprietăți protectoare asupra unor compuși [76].

În tabelul 3.15 sunt date valorile parametrilor CIELab în cazul extractului de cătină albă.

Tabelul 3.15. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra parametrilor de culoare ai extractului de cătină albă (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Temperatură și durată de păstrare	L*	a*	b*	C*	H*
Extract proaspăt	97,61±0,03 ^a	-1,19±0,02 ^a	8,00±0,02 ^a	8,10±0,02 ^a	-2,24±0,43 ^a
-2°C, 2 spt	98,19±0,13 ^a	-1,28±0,03 ^a	8,11±0,01 ^a	8,21±0,01 ^a	-2,37±11,28 ^a
4°C, 2 spt	98,16±0,03 ^a	-1,27±0,01 ^a	7,95±0,01 ^a	8,10±0,02 ^a	-2,24±0,43 ^a
25-30°C, 2 spt	97,05±0,04 ^a	-1,04±0,51 ^a	11,38±0,09 ^b	11,43±0,09 ^b	-0,09±0,07 ^a

Rezultatele demonstrează că au existat modificări semnificative statistic numai în extractul păstrat la temperatura camerei, în prezența luminii. Astfel, componenta albastru/galben adică (b*) a crescut de la 8,00 la 11,38, iar cromaticitatea a crescut de la 8,10 la 11,43. Acest fenomen poate fi atribuit oxidării polifenolilor, fenomen însoțit de apariția nuanțelor gălbui-

roșiatică. În cazul dat, parametrul b^* descrie o culoare galbenă mai pronunțată, dar și parametrul C^* demonstrează o saturație mai mare a culorii.

În figura 3.13 sunt date rezultatele activității antioxidante a extractului de păducel după două săptămâni de păstrare la diferite temperaturi.

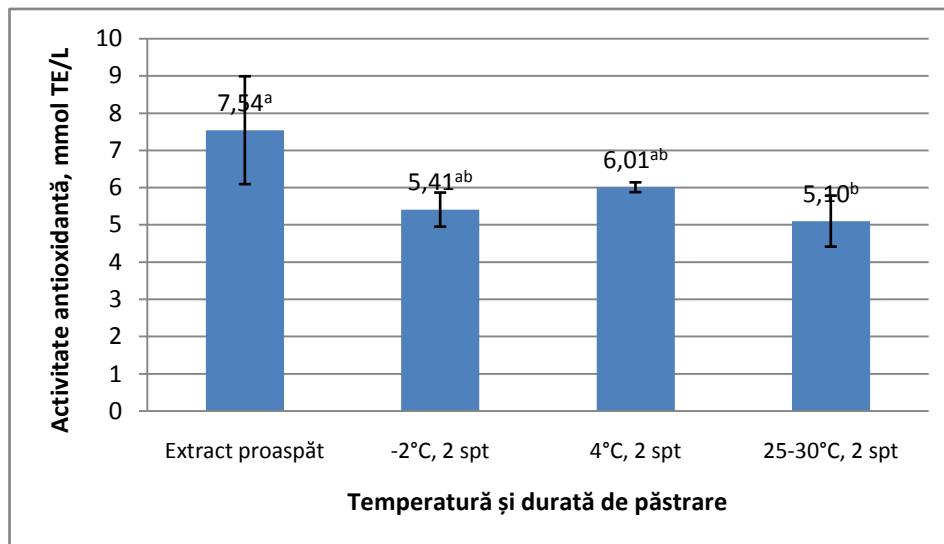


Fig. 3.13. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra activității antioxidante a extractului de păducel (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Valorile obținute arată că activitatea antioxidantă a scăzut în cazul tuturor temperaturilor cercetate, însă doar valoarea determinată în extractul stocat la $t=25-30^{\circ}\text{C}$ pe parcursul a două săptămâni s-a dovedit a fi diferită din punct de vedere statistic de proba de referință.

În tabelul 3.16 sunt date valorile parametrilor CIELab în cazul extractului de păducel.

Tabelul 3.16. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra parametrilor de culoare ai extractului de păducel (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Temperatură și durată de păstrare	L^*	a^*	b^*	H^*	C^*
Extract proaspăt	92,25 \pm 0,93 ^a	-1,27 \pm 0,13 ^a	16,34 \pm 0,33 ^a	0,47 \pm 0,77 ^a	16,39 \pm 0,32 ^{ab}
-2°C, 2 spt	96,62 \pm 0,18 ^a	-1,38 \pm 0,04 ^a	15,23 \pm 0,21 ^a	0,09 \pm 0,47 ^a	15,29 \pm 0,20 ^a
4°C, 2 spt	96,50 \pm 0,01 ^a	-1,50 \pm 0,02 ^a	17,10 \pm 0,04 ^{ab}	0,47 \pm 0,76 ^a	16,39 \pm 0,32 ^{ab}
25-30°C, 2 spt	95,07 \pm 0,18 ^a	-1,05 \pm 0,02 ^a	18,89 \pm 0,10 ^b	0,95 \pm 0,74 ^a	18,92 \pm 1,69 ^c

Depozitarea la fiecare temperatură cercetată adică, -2°C ; 4°C și $25-30^{\circ}\text{C}$, a produs o creștere de luminozitate (L^*). Cu toate acestea, această modificare nu s-a dovedit a fi semnificativă. Mai mult decât atât, componenta roșu/verde (a^*) a rămas neschimbată, în timp ce componenta albastru/galben (b^*) a fost mărită spre tonuri mai galbene în cazul depozitării la $25-30^{\circ}\text{C}$. Această modificare a produs o ameliorare a saturației culorii arătată prin creșterea parametrului Chroma. În figura 3.14 sunt date rezultatele activității antioxidante a extractului de scoruș după două săptămâni de păstrare la diferite temperaturi.

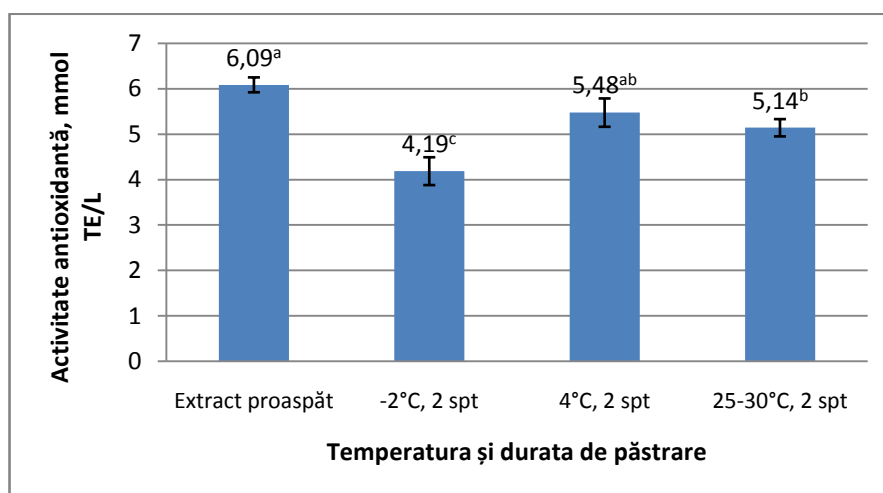


Fig. 3.14. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra activității antioxidante a extractului de scoruș (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Rezultatele arată o scădere a activității antioxidante în cazul păstrării la $t=-2^{\circ}\text{C}$ și $t=25-30^{\circ}\text{C}$. Astfel, valorile acestui parametru au fost micșorate de la 6,09 mmol TE/L până la 4,19 mmol TE/L și 5,14 mmol TE/L, respectiv. În cazul extractului de scoruș, temperatura de 4°C s-a dovedit optimă pentru păstrarea activității antioxidante. În tabelul 3.17 sunt date valorile parametrilor CIELab în cazul extractului de scoruș după păstrarea timp de două săptămâni la diferite temperaturi.

Tabelul 3.17. Influența temperaturii și duratei de păstrare asupra parametrilor de culoare ai extractului de scoruș (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Temperatură și durată de păstrare	L^*	a^*	b^*	H^*	C^*
Extract proaspăt	$94,41\pm 0,00^{ab}$	$-0,59\pm 0,00^a$	$15,07\pm 0,00^{bc}$	$-4,92\pm 0,00^a$	$15,08\pm 0,00^{bc}$
-2°C , 2 spt	$97,37\pm 0,10^b$	$-0,71\pm 0,03^a$	$10,75\pm 0,31^a$	$-7,36\pm 14,42^a$	$10,77\pm 0,31^a$
4°C , 2 spt	$93,68\pm 1,44^a$	$-0,51\pm 0,21^a$	$15,65\pm 0,81^c$	$-4,92\pm 0,00^a$	$15,66\pm 0,80^c$
$25-30^{\circ}\text{C}$, 2 spt	$96,98\pm 0,05^{ab}$	$-0,58\pm 0,03^a$	$12,74\pm 0,11^{ab}$	$0,50\pm 0,98^a$	$12,75\pm 0,11^{ab}$

Depozitarea la temperaturile -2°C și $25-30^{\circ}\text{C}$ a produs o creștere de luminozitate (L^*), pe când depozitarea la $t=4^{\circ}\text{C}$ a determinat scăderea acestui parametru. Totuși, aceste modificări nu s-au dovedit a fi semnificative din punct de vedere statistic. Mai mult decât atât, componenta roșu/verde, (a^*) a rămas neschimbată, iar componenta albastru/galben (b^*) a scăzut semnificativ în cazul extractului depozitat la -2°C și a crescut nesemnificativ în celelalte două cazuri.

3.5. Influența pH-ului asupra activității antioxidante și culorii

În figura 3.15 sunt reprezentate rezultatele activității antioxidante în extractele de măceș ale căror pH a fost modificat.

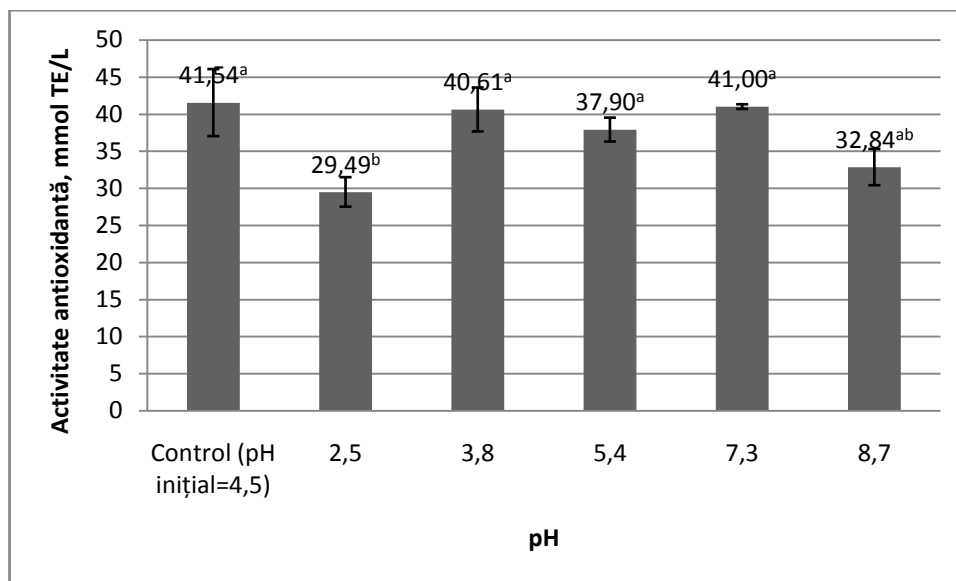


Fig. 3.15. Influența pH-ului asupra activității antioxidante a extractului de măceș (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

În cazul extractului de măceș, numai valoarea cea mai acidă testată, și anume $\text{pH}=2,5$, a produs un efect semnificativ asupra valorii activității antioxidante prin reducerea cu aproximativ 10 mmol/L. Valoarea acestui parametru nu s-a schimbat la valori apropiate de un pH neutru și nici chiar la $\text{pH}=8,7$.

În tabelul 3.18 sunt date rezultatele parametrilor CIELab ai extractului după ajustarea pH-ului.

Tabelul 3.18. Influența pH-ului asupra parametrilor CIELab ai extractului de măceș (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Parametrii CIELab	L*	a*	b*	C*	H*
Control 2,5	97,3±0,0 ^a	-0,1±0,0 ^a	6,0±0,0 ^a	6,0±0,0 ^a	1,68±2,44 ^a
pH=2,5	98,1±0,1 ^a	-0,3±0,0 ^a	6,2±0,1 ^a	6,3±0,1 ^a	0,63±0,66 ^a
Control for 3,8	96,0±0,1 ^a	-0,1±0,0 ^a	6,8±0,0 ^a	6,8±0,0 ^a	0,14±0,28 ^a
pH=3,8	94,0±3,5 ^a	0,1±0,3 ^a	7,9±0,9 ^a	7,9±0,9 ^a	0,43±0,3,59 ^a
Control 5,4	95,9±0,2 ^a	-0,2±0,1 ^a	9,1±0,0 ^a	9,1±0,0 ^a	-0,21±4,29 ^a
pH=5,4	79,6±0,1 ^b	0,1±0,0 ^a	9,2±0,2 ^a	9,2±0,2 ^a	0,33±0,80 ^a
Control 7,3	95,9±0,2 ^a	-0,2±0,1 ^a	9,1±0,0 ^a	9,1±0,0 ^a	-0,21±0,29 ^a
pH=7,3	95,7±0,5 ^a	1,1±0,0 ^a	10,3±0,1 ^b	10,3±0,1 ^a	-2,19±0,36 ^a
Control 8,7	96,9±0,1 ^a	-0,12±0,1 ^a	7,3±0,1 ^a	7,3±0,1 ^a	1,0±0,7 ^a
pH=8,7	92,7±1,2 ^a	2,4±0,2 ^a	14,2±0,6 ^b	14,4±0,6 ^a	-2,96±2,34 ^a

Culoarea extractului de măceș este relativ stabilă la acțiunea atât a mediului acid, cât și a celui bazic. Valoarea pH=3,8 nu a avut vreo influență semnificativă asupra tuturor parametrilor de culoare, pe când pH=5,4 au manifestat un efect semnificativ asupra valorii luminozității (L*). Această valoare a pH-ului a întunecat culoarea extractului, iar luminozitatea a scăzut de la aproximativ 96 la aproximativ 80. Nuanțele roșii și galbene ale extractului au au fost majorate în mediul alcalin. Aceste modificări ale pH-ului, și anume, trecerea la 8,7, au crescut valoarea cromatică a extractului.

În figura 3.16 sunt reprezentate rezultatele activității antioxidante în extractele de aronie ale căror pH a fost modificat.

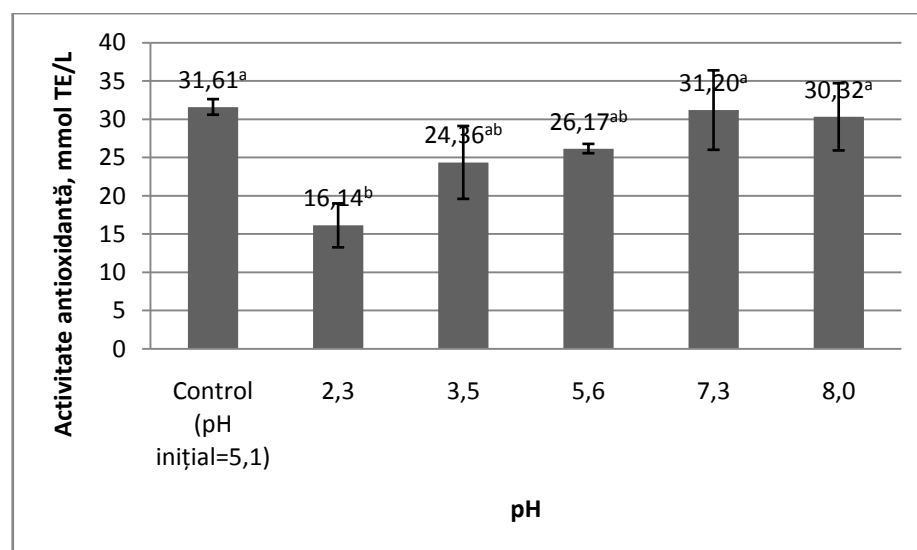


Fig. 3.16. Influența pH-ului asupra activității antioxidante a extractului de aronie (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Rezultatele obținute arată că activitatea antioxidantă a extractului de aronie (*Aronia melanocarpa*) scade semnificativ în mediul acid. Toate valorile pH-ului mai mici decât pH-ul probei de control au redus acest parametru într-o anumită măsură. Cu toate acestea, nu au fost identificate diferențe statistice între activitatea antioxidantă a extractului cu pH=3,5 și cea a probei de referință. Pe de altă parte, în mediul alcalin proprietățile antiradicalice ale extractului nu s-au schimbat. În tabelul 3.19 sunt date rezultatele parametrilor CIELab ai extractului de aronie după ajustarea pH-ului.

Tabelul 3.19. Influența pH-ului asupra parametrilor CIELab ai extractului de aronie (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Parametrii CIELab	L*	a*	b*	C*	H*
Control 2,3	75,7±0,1 ^a	19,1±0,1 ^a	8,1±0,1 ^a	20,8±0,1 ^a	2,23±0,04 ^a
pH=2,3	74,6±1,0 ^b	37,8±3,6 ^b	7,0±0,1 ^b	38,4±3,6 ^b	5,34±0,42 ^a
Control 3,5	65,5±0,1 ^a	19,1±0,1 ^a	11,3±0,2 ^a	22,2±0,2 ^a	1,49±0,02 ^a
pH=3,5	57,2±2,2 ^b	23,8±0,5 ^b	12,5±0,1 ^b	26,9±0,4 ^b	1,74±0,07 ^a
Control 5,6	54,4±0,2 ^a	35,5±0,1 ^a	16,4±0,3 ^a	39,1±0,2 ^a	2,01±0,01 ^a
pH=5,6	55,4±0,5 ^a	31,5±0,4 ^b	17,7±0,2 ^b	36,2±0,4 ^a	1,59±0,1 ^a
Control 7,3	54,4±0,2 ^a	35,5±0,1 ^a	16,4±0,3 ^a	39,1±0,2 ^a	2,01±0,01 ^a
pH=7,3	45,5±2,4 ^b	21,6±0,4 ^b	20,8±0,1 ^b	30,0±0,4 ^b	0,70±0,02 ^a
Control 8,0	67,4±0,3 ^a	24,5±0,5 ^a	11,5±0,2 ^a	27,1±0,5 ^a	1,96±0,01 ^a
pH=8,0	62,0±0,1 ^b	11,5±0,1 ^b	15,0±0,2 ^b	19,0±0,1 ^b	0,28±0,02 ^b

O scădere de luminozitate a fost observată pentru pH=3,5; dar și pentru valorile alcaline ale pH-ului, anume 7,4 și 8,9, astfel întunecându-se extractul. Mai mult decât atât, tonul roșu, cromaticitatea și nuanța au fost îmbunătățite în mod semnificativ în mediul acid testat (pH=2,5 și pH=3,6). Aceste modificări pot fi explicate prin stabilizarea cationului flaviliu în mediul acid. Mai mult decât atât, tonurile au evoluat spre nuanțe mai albastre în mediile acide. Pe de altă parte, la pH=5,5; pH=7,4 și pH=8,9, parametrul albastru/galben b* a crescut, ceea ce demonstrează o schimbare spre tonuri mai galbene. Rezultatele testului statistic arată că modificările parametrilor de culoare, cu excepția unghiului de nuanță și a cromaticității la pH=5,5, sunt semnificative din punct de vedere statistic.

În figura 3.17 sunt reprezentate rezultatele activității antioxidante în extractele de tescovină ale căror pH a fost modificat.

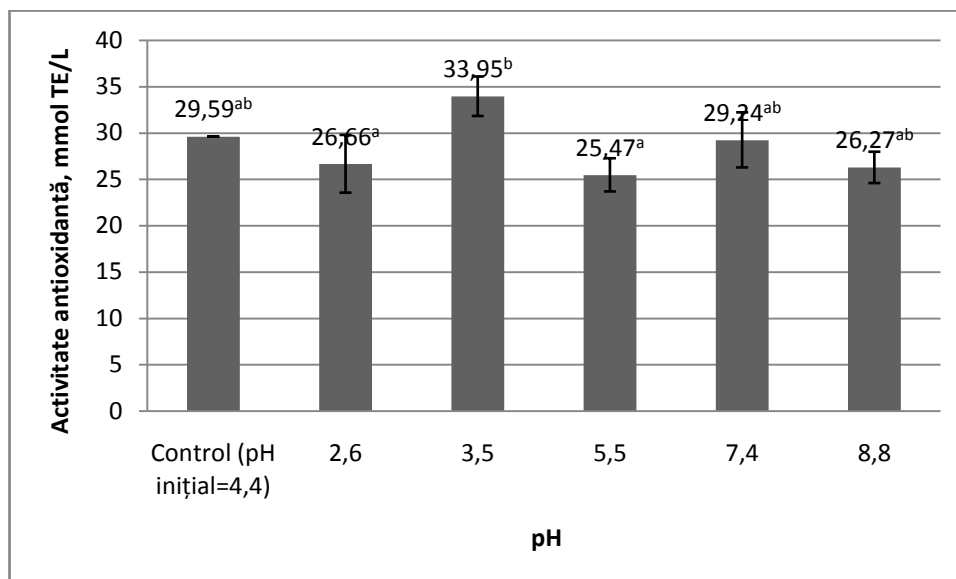


Fig. 3.17. Influența pH-ului asupra activității antioxidante a extractului de tescovină (barele de eroare reprezintă abatere standard)

Rezultatele obținute arată că valorile diferite ale pH-ului au o influență redusă asupra activității antioxidante a extractului etanolic de tescovină. Cea mai mare valoare a fost determinată pentru pH=3,5; deși această valoare nu este semnificativ diferită de cea a probei-martor care a avut pH-ul inițial de 4,4. Cu toate acestea, analiza dintre perechile de tratamente a arătat o diferență semnificativă între valorile găsite la pH=3,7 și pH=2,6; pH=3,6 și pH=5,5.

Altukaya și colab. (2016) a studiat influența pH-ului asupra activității antioxidante a extractului de salată verde cu adaos de quercetină, extract de ceai verde și extract de semințe de struguri. Autorii au constatat creșterea efectului antiradicalic odată cu creșterea valorii pH-ului și au explicat acest efect prin creșterea capacității de donator de electroni ca urmare a deprotonării și stabilizării în soluții alcaline [83]. Saeedeh și colab. (2007) au evaluat activitatea antioxidantă a frunzelor de *Moringa oleifera*, frunzelor de mentă și a extractelor de tuberculi de morcov, precum și stabilitatea acestora la diferite valori ale pH-ului, mai exact la pH=4 și pH=9. Activitatea antioxidantă a extractelor de mentă și morcov s-a dovedit a fi mai mare la pH=9 decât la pH=4, în timp ce valoarea acestora a rămas la fel în ambele condiții ale pH-ului în cazul extractului de frunze de *Moringa oleifera* [162].

Activitatea antioxidantă a fost corelată cu numărul de grupări hidroxil și abilitatea de donare de hidrogen [80, 163, 164]. Grupurile –OH suplimentare în poziția *ortho* cresc activitatea antiradicalică a polifenolilor în special la valori ale pH-ului mai mari decât 4 [83]. Prin urmare, structura fiecărui compus fenolic trebuie luată în considerare atunci când se explică schimbarea activității antioxidante a extractului.

În tabelul 3.20 sunt date rezultatele parametrilor CIELab ai extractului de tescovină după ajustarea pH-ului.

Tabelul 3.20. Influența pH-ului asupra parametrilor CIELab ai extractului de tescovină (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Parametrii CIELab	L*	a*	b*	C*	H*
Control 2,6	86,9±0,8 ^a	11,5±0,4 ^a	-2,7±0,2 ^a	11,8±0,3 ^a	-4,12±0,51 ^a
pH=2,6	72,1±2,2 ^b	48,1±3,1 ^b	-5,3±0,1 ^b	48,4±3,1 ^b	-9,07±0,50 ^b
Control 3,5	83,5±0,1 ^a	14,9±0,1 ^a	-4,7±0,1 ^a	15,6±0,1 ^a	-3,05±0,01 ^a
pH=3,5	81,4±4,5 ^a	22,2±3,2 ^b	-3,6±0,7 ^b	22,4±3,2 ^b	-6,19±0,42 ^b
Control 5,5	74,4±0,8 ^a	22,4±0,6 ^a	-5,5±0,3 ^a	23,0±0,6 ^a	-4,00±0,09 ^a
pH=5,5	79,6±0,1 ^b	11,7±0,1 ^b	-1,0±0,1 ^b	11,7±0,1 ^b	-11,8±1,6 ^b
Control 7,4	74,4±0,8 ^a	22,4±0,6 ^a	-5,5±0,3 ^a	23,0±0,6 ^a	-4,00±0,09 ^a
pH=7,4	77,2±0,1 ^a	-0,7±0,2 ^b	9,3±0,3 ^b	9,3±0,3 ^b	-0,46±1,02 ^b
Control 8,8	83,5±0,1 ^a	14,9±0,1 ^a	-4,7±0,1 ^a	15,6±0,1 ^a	-3,05±0,01 ^a
pH=8,8	81,3±0,2 ^a	-3,2±0,1 ^b	14,7±0,5 ^b	15,1±0,4 ^a	-0,16±0,26 ^b

Cea mai mare scădere a luminozității a fost observată pentru valorile pH-ului de 2,5. Mai mult decât atât, nuanța roșie, cât și cromaticitatea extractului au fost îmbunătățite în mod semnificativ atât la pH=2,5, cât și la pH=3,5. Aceste modificări se explică prin faptul că cationul flaviliu este stabilizat în prezența cationilor de H⁺. Tonurile albastrii au fost, de asemenea, îmbunătățite pentru pH=2,5 și pH=3,6; în timp ce pentru toate celelalte valori ale pH-ului, parametrul b* a fost deplasat spre valori galbene, cel mai probabil din cauza degradării pigmentilor albaștri. A fost observată o scădere semnificativă a cromaticității - parametru care exprimă calitatea culorii - pentru pH≥5,5. Acest fenomen este în mare parte cauzat de degradarea antocienilor. Prin urmare, extractul de tescovină ar trebui să fie utilizat cu mare grijă în produsele alimentare cu mediu alcalin. În ceea ce privește alte valori, modificările acestui parametru au fost ne semnificative din punct de vedere statistic.

În figura 3.18 sunt reprezentate rezultatele activității antioxidante în extractele de cătină albă ale căror pH a fost modificat.

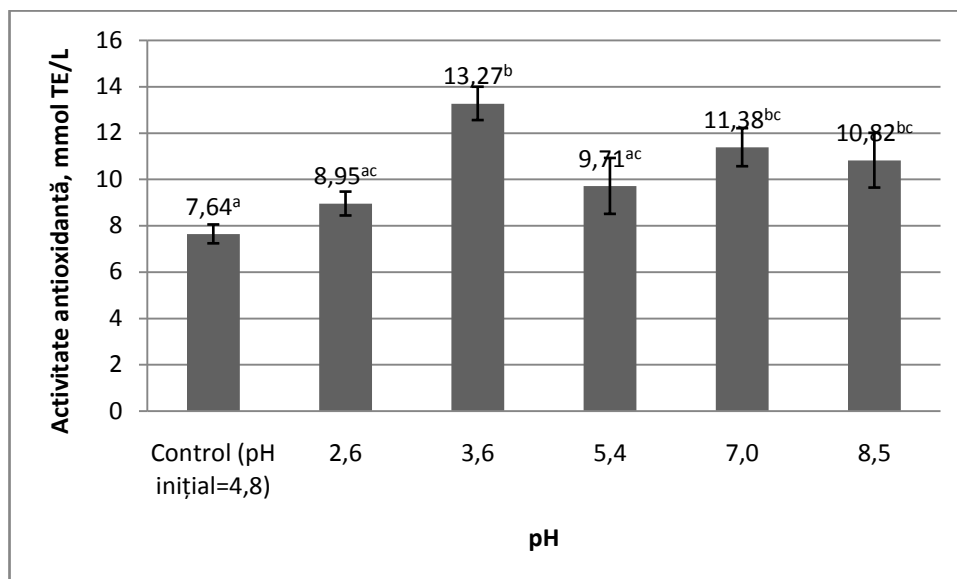


Fig. 3.18. Influența pH-ului asupra activității antioxidante a extractului de cătină albă (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Valorile 3,6; 7,0 și 8,5 au modificat activitatea antioxidantă a extractului de cătină albă și au provocat o ușoară creștere a acestui parametru. Valoarea maximă a fost determinată pentru pH=3,6 – mediu puțin mai acid decât cel al probei-martor.

În tabelul 3.21 sunt date rezultatele parametrilor CIELab ai extractului de cătină albă după ajustarea pH-ului.

Tabelul 3.21. Influența pH-ului asupra parametrilor CIELab ai extractului de cătină albă (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Parametrii CIELab	L*	a*	b*	C*	H*
Control 2,6	98,3±0,5 ^a	-0,4±0,1 ^a	3,2±0,0 ^a	3,3±0,0 ^a	-0,38±2,24 ^a
pH=2,6	98,7±0,6 ^a	-0,6±0,0 ^a	3,8±0,5 ^a	3,8±0,4 ^a	-1,01±1,43 ^a
Control 3,6	96,5±2,4 ^a	-0,4±0,3 ^a	5,6±0,0 ^a	5,6±0,0 ^a	7,73±0,49 ^a
pH=3,6	96,5±2,4 ^a	-0,4±0,3 ^a	6,2±1,6 ^a	6,2±1,6 ^a	1,89±0,83 ^b
Control for 5,4	98,3±0,5 ^a	-0,4±0,1 ^a	3,2±0,0 ^a	3,3±0,0 ^a	-0,38±2,24 ^a
pH=5,4	99,6±0,0 ^a	-0,5±0,0 ^a	2,3±0,1 ^a	2,3±0,1 ^a	-0,46±0,07 ^a
Control 7,0	99,3±0,0 ^a	-0,6±0,0 ^a	3,0±0,1 ^a	3,0±0,1 ^a	-0,30±0,07 ^a
pH=7,0	98,9±0,1 ^a	-2,4±0,0 ^b	7,8±0,1 ^b	8,1±0,1 ^b	-11,00±4,64 ^b
Control 8,5	96,5±2,4 ^a	-0,4±0,3 ^a	5,6±0,0 ^a	5,6±0,0 ^a	7,73±0,49 ^a
pH=8,5	96,2±1,9 ^a	-7,8±0,3 ^b	26,9±2,2 ^b	28,0±2,0 ^b	-7,45±5,64 ^a

Se poate observa că nici mediul alcalin, nici cel acid (pH = 2,6) nu au avut vreo influență asupra luminozității (L^*). Pe de altă parte, valorile alcaline, și anume pH=7,0 și pH=8,5, au produs o schimbare a componentei roșu/verde spre tonuri mai verzi și a componentei albastru/galben spre tonuri mai galbene. Aceste modificări determină o valoare mai mare a calității cromatice și o culoare mai portocalie.

În figura 3.19 sunt reprezentate rezultatele activității antioxidante în extractele de păducel ale căror pH a fost modificat.

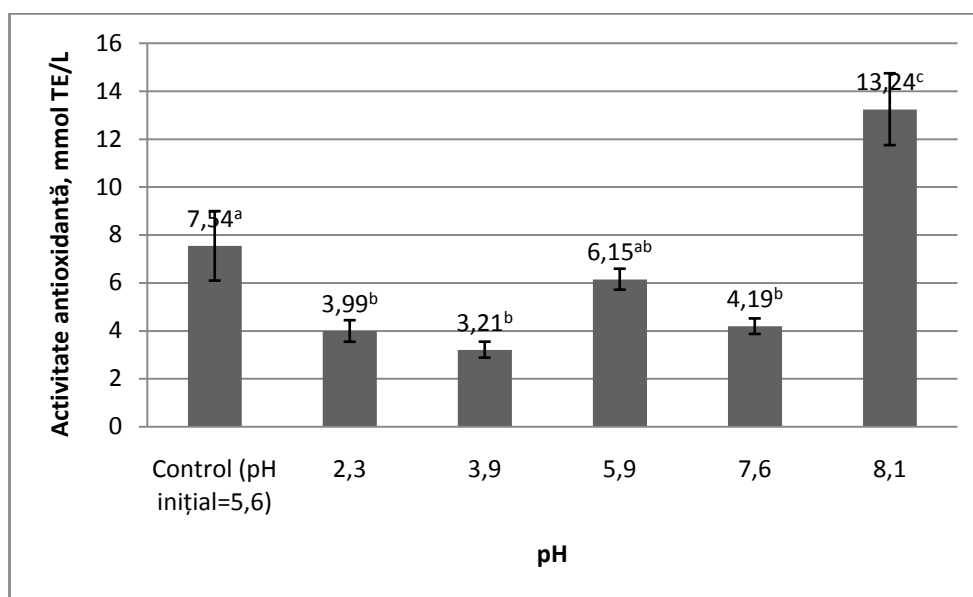


Fig. 3.19. Influența pH-ului asupra activității antioxidante a extractului de păducel (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

În cazul extractului de păducel, rezultatele arată că valorile mai acide decât pH-ul probei de referință, și anume pH=2,3 și pH=3,9, dar și pH=7,6, au scăzut semnificativ activitatea antioxidantă. Pe de altă parte, la cea mai alcalină, activitatea antioxidantă a crescut aproape de două ori, de la 7,54 mmol TE/L la 13,24 mmol TE/L.

În tabelul 3.22 sunt date rezultatele parametrilor CIELab ai extractului de păducel după ajustarea pH-ului. Rezultatele obținute pentru parametrii CIELab arată că doar valorile alcaline pH=7,6 și pH=8,1 au avut efect asupra luminozității, scăzând acest parametru și întunecând extractul. Parametrul roșu/verde a fost afectat în cazul tuturor valorilor de pH testate. Astfel, acest parametru a fost majorat în toate cazurile, în special la valorile alcaline ale pH-ului, ceea ce indică o deplasare a culorii spre tonuri mai roșii. Parametrul albastru/galben, la fel ca și luminozitatea, a fost afectat semnificativ doar la valorile 7,6 și 8,1. Astfel, culoarea extractului a fost deplasată spre nuanțe mult mai galbene. Aceste modificări au produs și o creștere a cromaticității.

Tabelul 3.22. Influența pH-ului asupra parametrilor CIELab ai extractului de păducel (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Parametrii CIELab	L*	a*	b*	C*	H*
Control 2,3	98,4±0,0 ^a	-0,6±0,0 ^a	5,6±0,1 ^a	5,6±0,1 ^a	6,20±9,18 ^a
pH=2,3	97,4±0,2 ^a	-0,3±0,0 ^b	6,5±0,6 ^a	6,5±0,6 ^a	-0,15±3,17 ^a
Control 3,9	99,1±0,0 ^a	-0,6±0,0 ^a	4,7±0,0 ^a	4,8±0,0 ^a	-0,33±0,04 ^a
pH=3,9	98,0±0,2 ^a	-0,5±0,0 ^b	5,5±0,2 ^a	5,5±0,2 ^a	0,44±0,73 ^b
Control 5,9	96,9±0,1 ^a	-1,3±0,0 ^a	12,5±0,2 ^a	12,6±0,2 ^a	5,78±12,81 ^a
pH=5,9	95,6±0,1 ^a	0,8±0,0 ^b	13,6±0,1 ^a	13,6±0,1 ^a	-3,18±4,00 ^a
Control 7,6	96,9±0,1 ^a	-1,3±0,0 ^a	12,5±0,2 ^a	12,6±0,2 ^a	5,78±12,81 ^a
pH=7,6	93,3±1,8 ^b	1,4±0,3 ^b	23,8±0,7 ^b	23,8±0,7 ^b	-0,46±1,02 ^a
Control 8,1	97,7±0,0 ^a	-0,9±0,0 ^a	8,4±0,0 ^a	8,4±0,0 ^a	5,0±0,6 ^a
pH=8,1	93,8±0,7 ^b	1,1±0,1 ^b	23,8±0,6 ^b	23,8±0,6 ^b	-0,61±0,63 ^a

În figura 3.20 sunt reprezentate rezultatele parametrilor CIELab ai extractului de scoruș după ajustarea pH-ului.

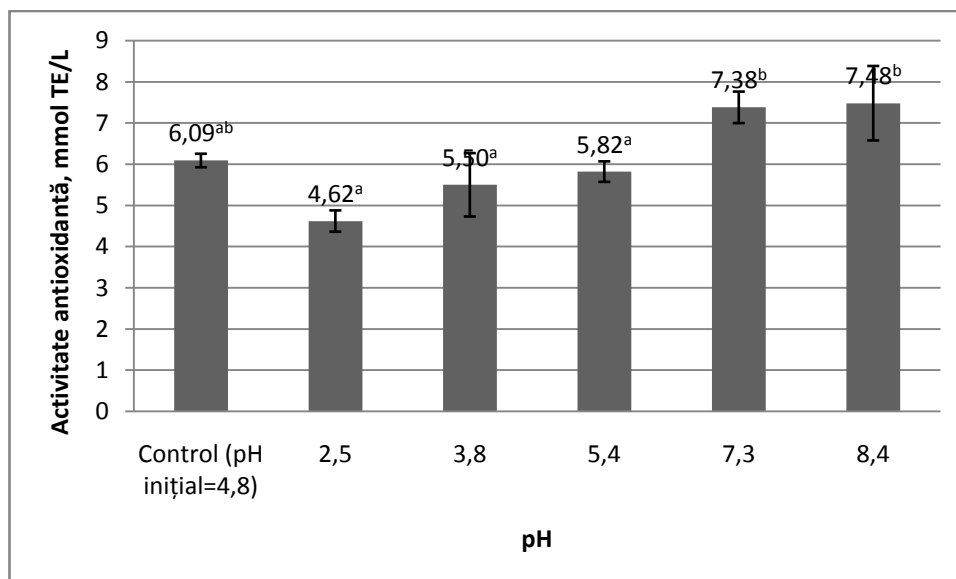


Fig. 3.20. Influența pH-ului asupra activității antioxidante a extractului de scoruș (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

În cazul extractului de scoruș, valoarea activității antioxidante nu a fost afectată semnificativ de schimbarea pH-ului. Astfel acest extract s-a dovedit a fi cel mai stabil în diferite medii.

În tabelul 3.23 prezintă parametrii de culoare ai extractului de scoruș la diferite valori ale pH-ului. În general, mediul acid nu a avut nici un efect semnificativ asupra culorii extractului. Numai în cazul pH=2,5, parametrul roșu/verde (a^*) a scăzut cu 0,2; schimbare care s-a dovedit a fi semnificativă din punct de vedere statistic. Pe de altă parte, mediile alcaline, și anume 7,3 și 8,4, au schimbat semnificativ parametrii de culoare. Aceste schimbări, totuși, au avut ca rezultat o valoare sporită a cromaticității (C^*).

Tabelul 3.23. Influența pH-ului asupra parametrilor CIELab ai extractului de scoruș (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Parametrii CIELab	L*	a*	b*	C*	H*
Control 2,5	98,9±0,0 ^a	-0,5±0,0 ^a	4,7±0,0 ^a	4,7±0,1 ^a	-0,7±1,7 ^a
pH=2,5	98,1±0,4 ^a	-0,3±0,0 ^b	5,1±0,5 ^b	5,1±0,5 ^a	5,0±4,6 ^a
Control 3,8	99,2±0,0 ^a	-0,5±0,3 ^a	4,1±0,0 ^a	4,2±0,0 ^a	0,6±0,0 ^a
pH=3,8	99,1±0,3 ^a	-0,4±0,0 ^a	4,2±0,3 ^a	4,2±0,3 ^a	34,6±60,7 ^a
Control 5,4	98,5±0,0 ^a	-0,8±0,0 ^a	6,7±0,2 ^a	6,7±0,2 ^a	0,7±0,2 ^a
pH=5,4	98,4±0,1 ^a	-0,7±0,0 ^a	6,4±0,2 ^a	6,5±0,2 ^a	5,0±6,8 ^a
Control 7,3	98,5±0,0 ^a	-0,8±0,0 ^a	6,7±0,2 ^a	6,7±0,2 ^a	0,7±0,2 ^a
pH=7,3	97,9±0,5 ^a	-0,7±0,0 ^a	7,7±0,6 ^b	7,8±0,6 ^b	-6,9±10,6 ^a
Control 8,4	99,2±0,0 ^a	-0,5±0,3 ^a	4,1±0,0 ^a	4,2±0,0 ^a	0,6±0,0 ^a
pH=8,4	97,4±0,3 ^b	-0,7±0,1 ^b	9,3±0,3 ^b	9,3±0,3 ^b	0,1±1,3 ^a

3.6. Efectul adaosului sărurilor NaCl, KNO₃ și CaCl₂ asupra activității antioxidante și culorii

În figura 3.21 este reprezentată modificarea activității antioxidante a extractului de măceș după adaosul sărurilor NaCl, KNO₃ și CaCl₂.

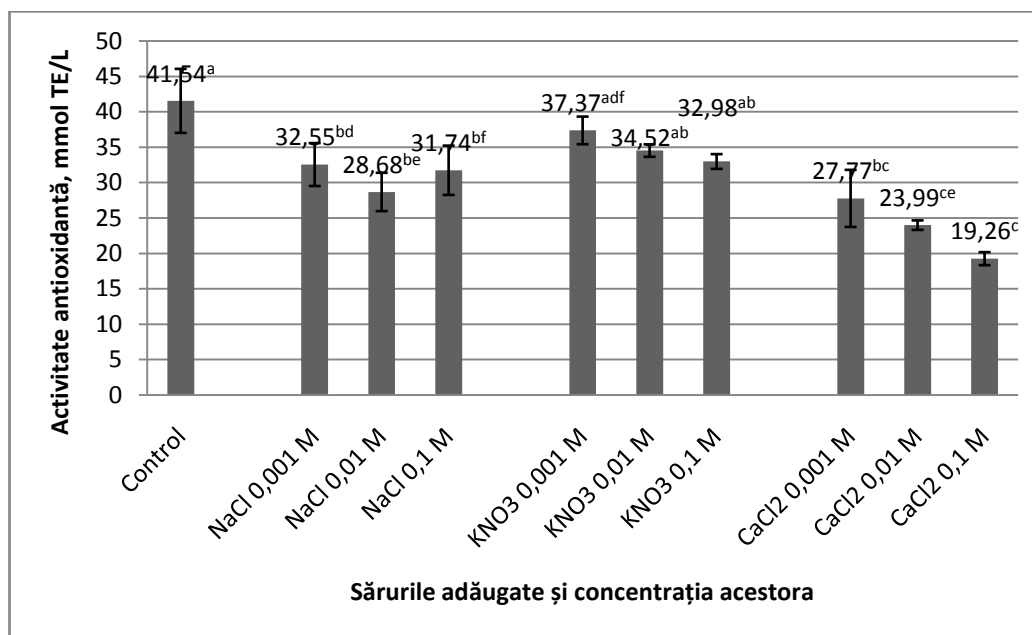


Fig. 3.21. Influența sărurilor studiate asupra activității antioxidante a extractului de măceș (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Adaosul de KNO₃ nu a produs modificări semnificative statistice ale valorii activității antioxidante, în timp ce celelalte două săruri, adică CaCl₂ și NaCl, au redus acest parametru. Scăderea cea mai drastică a fost observată în extractul care conține CaCl₂ în concentrația de 0,1 M. Făcând abstracție de rezultatele ANOVA și cele ale testului post-hoc, scăderea activității antioxidante coincide cu majorarea concentrației de clorură de calciu.

În tabelul 3.24 sunt dați parametrii CIELab ai extractului de măceș după adaosul sărurilor NaCl, KNO₃ și CaCl₂. Toate sărurile au produs modificări semnificative asupra parametrului roșu/verde, prin degradarea pigmentilor roșii și trecerea culorii spre tonuri mai verzi. Cea mai importantă modificare a fost produsă de NaCl și CaCl₂ la toate concentrațiile adăugate. Aceste săruri au redus nuanța gălbuie prin scăderea parametrului b*. Luminozitatea extractului a fost mărită cu 3 unități în mediu, în timp ce valorile cromatismului au scăzut cu 3 unități.

Tabelul 3.24. Efectul adaosului sărurilor NaCl, KNO₃ și CaCl₂ asupra parametrilor CIELab ai extractului de măceș (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Sare și concentrație	L*	a*	b*	C*	H*
Control	92,42±0,03 ^a	0,51±0,01 ^d	18,30±0,07 ^d	-4,12±0,08 ^a	18,30±0,07 ^a
NaCl 0,001 M	95,63±0,15 ^c	-0,25±0,02 ^b	14,78±0,26 ^{ab}	0,37±0,44 ^a	14,78±0,26 ^b
NaCl 0,01 M	95,95±0,24 ^c	-0,30±0,03 ^{ab}	14,86±0,30 ^b	-0,52±0,94 ^a	14,87±0,30 ^b
NaCl 0,1 M	96,23±0,10 ^c	-0,35±0,02 ^a	14,62±0,12 ^{ab}	-0,21±0,67 ^a	14,63±0,12 ^b
KNO ₃ 0,001 M	95,97±0,20 ^c	-0,04±0,01 ^c	15,47±0,03 ^c	0,12±0,84 ^{b,c}	15,47±0,03 ^b
KNO ₃ 0,01 M	95,04±0,13 ^c	-0,03±0,03 ^c	15,44±0,07 ^c	0,82±1,62 ^a	15,44±0,07 ^b
KNO ₃ 0,1 M	94,42±0,07 ^b	0,06±0,02 ^c	15,91±0,09 ^c	1,68±2,42 ^a	15,91±0,09 ^b
CaCl ₂ 0,001 M	95,97±0,20 ^c	-0,29±0,03 ^{ab}	14,32±0,06 ^a	-5,82±9,45 ^a	14,33±0,06 ^b
CaCl ₂ 0,01 M	95,70±0,34 ^c	-0,26±0,01 ^b	14,80±0,19 ^{ab}	-0,38±0,25 ^a	14,80±0,19 ^b
CaCl ₂ 0,1 M	96,02±0,08 ^c	-0,26±0,01 ^b	14,82±0,22 ^{ab}	-0,55±2,10 ^a	14,82±0,22 ^b

În figura 3.22 este reprezentată modificarea activității antioxidante a extractului de aronie după adaosul sărurilor NaCl, KNO₃ și CaCl₂.

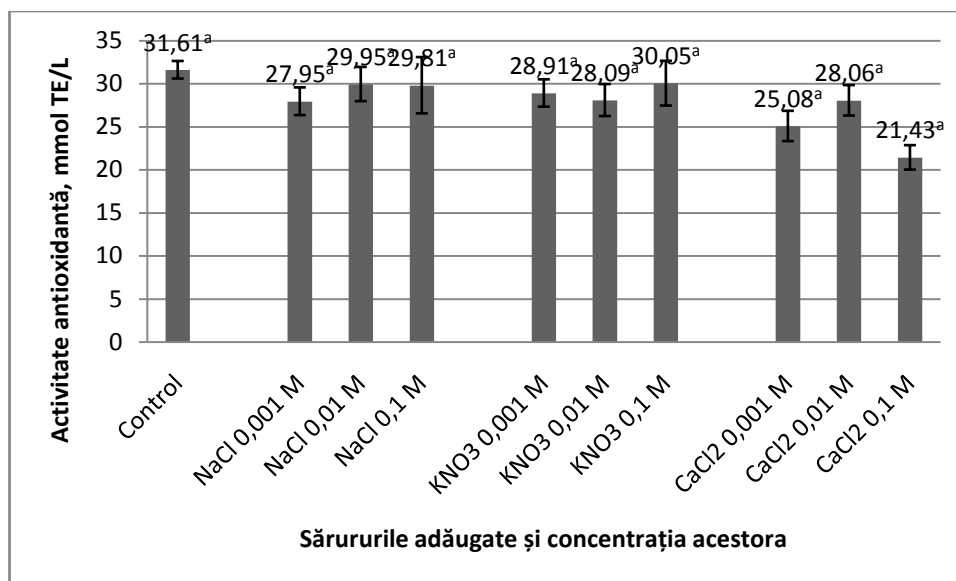


Fig. 3.22. Influența sărurilor studiate asupra activității antioxidante a extractului de aronie (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Concentrațiile mari de CaCl₂ au modificat activitatea antioxidantă prin scăderea valorii sale de la 36,18 mmol TE/L la 24,70 mmol TE/L, însă chiar și această scădere nu a fost determinată ca fiind semnificativă din punct de vedere statistic. Și alți autori au mai cercetat efectul anumitor metale asupra potențialului antioxidant. Jabari și colab. (2012) au constatat că ceriul (IV) poate forma compuși complecși cu flavonoidele și ca rezultat activitatea

antiradicalică a acestora va crește [80]. Nici o schimbare semnificativă a activității antioxidante nu au fost observată la adăugarea atât a clorurii de sodiu, cât și a nitratului de potasiu.

În tabelul 3.25 este dată modificarea parametrilor CIELab ai extractului de aronie după adaosul sărurilor clorură de sodiu, nitrat de potasiu și clorură de calciu.

Tabelul 3.25. Efectul adaosului sărurilor NaCl, KNO₃ și CaCl₂ asupra parametrilor CIELab ai extractului de aronie (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Sare și concentrație	L*	a*	b*	C*	H*
Control	42,36±0,13 ^a	41,79±0,74 ^b	24,90±1,29 ^d	48,65±2,08 ^c	1,47±0,01 ^a
NaCl 0,001 M	43,91±0,52 ^{ab}	41,00±0,34 ^b	22,78±0,21 ^b	46,90±0,30 ^b	1,61±0,02 ^b
NaCl 0,01 M	44,05±0,51 ^b	42,39±1,54 ^b	22,93±0,10 ^c	48,20±1,32 ^{b,c}	1,66±0,08 ^{b,c}
NaCl 0,1 M	43,95±0,54 ^{ab}	41,17±0,54 ^b	22,52±0,34 ^b	46,93±0,62 ^b	1,64±0,01 ^b
KNO ₃ 0,001 M	45,85±0,37 ^c	38,64±0,34 ^a	21,01±0,27 ^a	43,98±0,45 ^a	1,65±0,01 ^{b,c}
KNO ₃ 0,01 M	44,75±1,31 ^{b,c}	38,40±0,25 ^a	21,05±0,19 ^a	43,80±0,16 ^a	1,64±0,03 ^b
KNO ₃ 0,1 M	46,16±0,07 ^d	41,11±0,21 ^b	25,15±0,36 ^d	48,20±0,36 ^{b,c}	1,43±0,02 ^a
CaCl ₂ 0,001 M	44,41±0,40 ^{b,c}	40,71±0,20 ^b	22,73±0,04 ^b	46,62±0,19 ^b	1,60±0,01 ^b
CaCl ₂ 0,01 M	44,29±0,25 ^{b,c}	41,46±0,48 ^b	22,71±0,09 ^b	47,27±0,41 ^{b,c}	1,64±0,03 ^b
CaCl ₂ 0,1 M	42,35±0,15 ^a	45,01±0,23 ^c	23,48±0,04 ^c	50,77±0,21 ^d	1,74±0,01 ^c

În general, adăugarea acestor trei săruri a avut efect redus asupra culorii extractului. CaCl₂ adăugat în concentrația de 0,1 M a avut cel mai mare efect prin creșterea tonurilor roșii și galbene, cat și a cromaticității. Creșterea culorii poate fi explicată prin reacțiile de polimerizare și formare de compuși complecți între antocieni și ionii de calciu [42]. KNO₃ (0,1M) a mărit în schimb luminozitatea de la 42,36 la 46,16.

În figura 3.23 este reprezentată modificarea activității antioxidante a extractului de tescovină după adaosul sărurilor NaCl, KNO₃ și CaCl₂.

Rezultatele au arătat că acest parametru nu a fost afectat semnificativ de prezența altor ioni. Numai concentrația ridicată de CaCl₂ a scăzut valoarea sa de la 29,59 mmol TE/L până la 17,30 mmol TE/ L, modificare care s-a dovedit a fi semnificativă statistic. Mai multe studii au arătat că flavonoidele acționează și ca chelatori de metale, astfel interacțiunea dintre ionii metalici și flavonoide poate modifica activitatea antioxidantă [80]. După cum a fost menționat anterior, s-a stabilit că interacțiunea dintre ceriu (IV) și flavonoide intensifică activitatea antiradicalică a acestora. Aceste rezultate nu au fost confirmate pentru ionii cercetați în prezentul studiu.

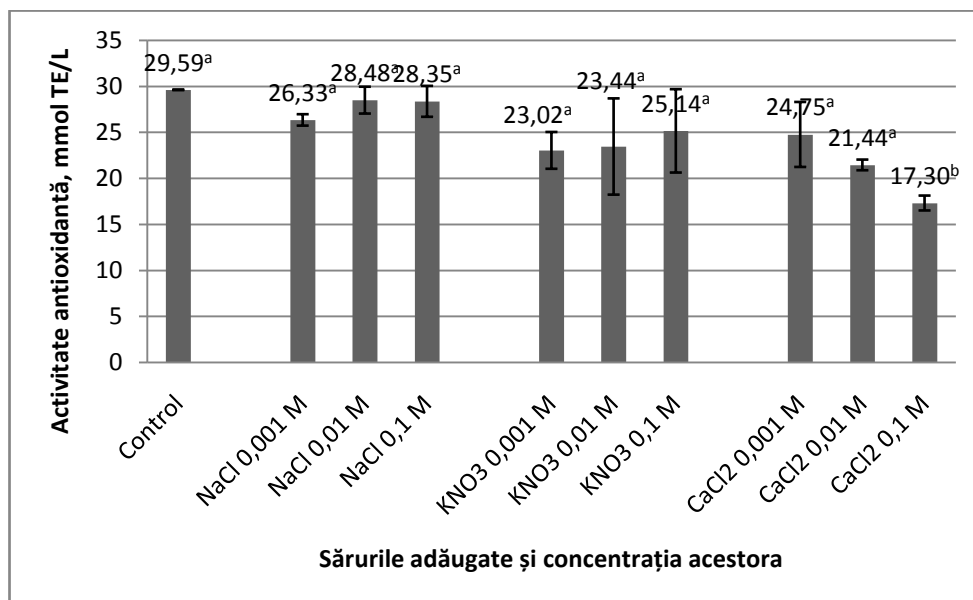


Fig. 3.23. Influența sărurilor studiate asupra activității antioxidante a extractului de tescovină (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

În tabelul 3.26 este dată modificarea parametrilor CIELab ai extractului de tescovină după adaosul sărurilor clorură de sodiu, nitrat de potasiu și clorură de calciu.

Tabelul 3.26. Efectul adaosului sărurilor NaCl, KNO₃ și CaCl₂ asupra parametrilor CIELab ai extractului de tescovină (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Sare și concentrație	L*	a*	b*	H*	C*
Control	65,60±0,12 ^{de}	30,00±0,19 ^{ab}	-7,14±0,09 ^{cd}	-4,12±0,08 ^c	30,84±0,16 ^{ab}
NaCl 0,001 M	65,76±0,14 ^{de}	31,61±0,33 ^{ab}	-7,66±0,18 ^{bcd}	-4,05±0,85 ^c	32,52±0,35 ^{ab}
NaCl 0,01 M	65,79±0,52 ^{de}	31,95±0,37 ^{ab}	-7,81±0,21 ^b	-4,01±0,07 ^c	32,89±0,40 ^{ab}
NaCl 0,1 M	65,88±0,10 ^d	35,99±0,28 ^b	-9,18±0,10 ^{ab}	-3,83±0,01 ^c	37,14±0,30 ^b
KNO ₃ 0,001 M	68,96±0,68 ^f	27,89±0,81 ^a	-5,75±0,50 ^a	-4,80±0,31 ^{bc}	28,48±0,88 ^a
KNO ₃ 0,01 M	68,52±0,15 ^{ef}	29,54±0,52 ^{ab}	-6,29±0,22 ^{cd}	-4,62±0,09 ^c	30,21±0,55 ^a
KNO ₃ 0,1 M	67,27±0,20 ^{ef}	32,44±0,47 ^b	-7,23±0,10 ^{cd}	-4,41±0,01 ^c	33,24±0,48 ^{ab}
CaCl ₂ 0,001 M*	59,82±2,68 ^c	45,55±6,70 ^c	-9,80±0,88 ^a	-4,56±0,29 ^b	46,60±6,74 ^c
CaCl ₂ 0,01 M**	51,59±0,72 ^b	64,65±1,15 ^c	-9,40±0,42 ^a	-6,84±0,42 ^b	65,33±1,08 ^d
CaCl ₂ 0,1 M***	47,46±0,94 ^a	69,00±0,19 ^c	-6,25±1,07 ^d	-11,24±2,10 ^a	69,29±0,16 ^d

* pH=4,1±0,1 determinat în extract după adaosul clorurii de calciu; ** pH=3,7±0,1 determinat în extract după adaosul clorurii de calciu; *** pH=3,2±0,1 determinat în extract după adaosul clorurii de calciu.

Efectul cel mai semnificativ asupra tuturor parametrilor de culoare a fost exercitat de CaCl₂. Cu cât concentrația de sare adăugată este mai mare, cu atât efectul asupra culorii extractului este mai semnificativ. Astfel, luminozitatea extractelor a scăzut de la 65,60 la 59,82 (0,001 M), 51,59 (0,01 M) și 47,46 (0,1 M). În același timp, nuanța roșie a crescut de la 30,00 la

45,55; 64,65 și 69,00 pentru concentrațiile 0,001 M; 0,01 M și 0,1 M, respectiv. Având în vedere faptul că anumite săruri ar putea modifica pH-ul unei soluții, acesta din urmă a fost măsurat după adăugarea clorurii de calciu (tabelul 3.25). Rezultatele arată o scădere treptată a pH-ului, cu o diferență de 1,2 între control și extractul ce conține 0,1 M CaCl_2 . Cu toate acestea, aceeași concentrație de sare a redus pH-ul apei distilate de la $7,8 \pm 0,2$ la $7,5 \pm 0,2$ când s-a adăugat 0,1 M clorură de calciu, în timp ce celelalte două concentrații testate, adică 0,001 M și 0,01, au avut un efect nesemnificativ asupra pH-ului apei. Această diferență de pH poate fi atribuită formării de compuși complecși parțial disociați între calciu și anionii acizilor carboxilici și altor acizi slabi. În consecință, sporirea culorii ar putea fi atribuită stabilizării ionului de flaviliu în mediul acid. Totuși, diferența generală de culoare în acest caz este mai mare decât în cazul modificării pH-ului, utilizând soluții tampon (tabelul 3.19). Îmbunătățirea culorii prin adăugarea de metale a fost documentată de către alți autori. Acest fenomen poate fi explicat și prin procesele de polimerizare și complexarea între antocieni și ionii metalici [43]. Creșterea semnificativă a calității culorii și intensității acesteia este interesantă și ar putea fi utilizată în crearea de noi coloranți alimentari de origine naturală. Ngo & Zhao (2009) au studiat stabilizarea antocienilor din perele roșii d'Anjou prelucrate termic, utilizând complexarea cu staniu, în prezența acidului clorhidric, formaldehidă și acid tanic. Tratamentul a condus la formarea pigmentilor roșii și, deși natura lor nu este cunoscută, toți cei patru reactivi au fost necesari pentru a asigura stabilizarea culorii. Polimerizarea a fost considerată de autori drept reacție responsabilă principală. În plus, autorii au observat schimbări atât batocrom, cât și hiperchrom când a fost adăugat doar staniul [42]. Parametrul $(A-A_0)/A_0$ a fost calculat pentru extractele la care au fost adăugate diferite săruri, rezultatele fiind reprezentate în figura 3.24.

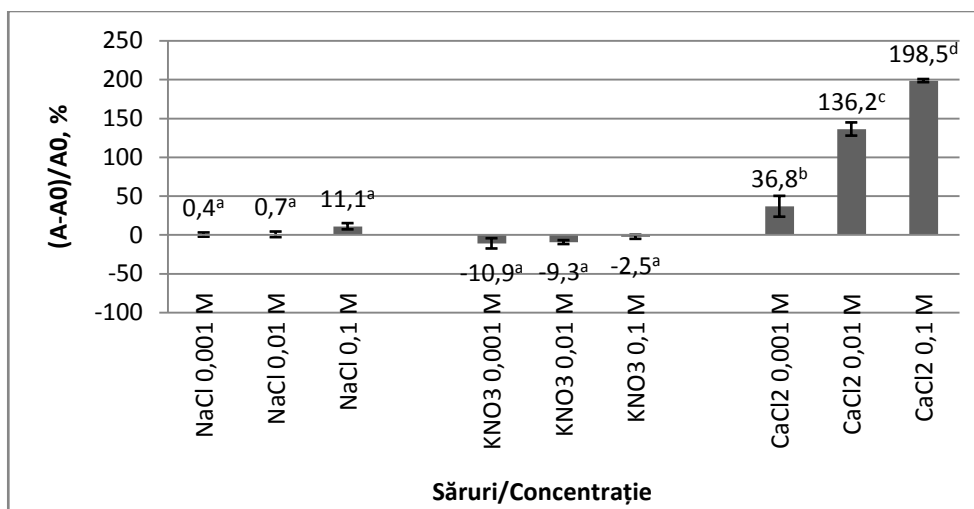


Fig. 3.24. Modificarea parametrului $(A-A_0)/A_0$ în extractele în care au fost adăugate sărurile studiate (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Un salt hipercrom drastic a fost observat după adăugarea clorurii de calciu, a cărei intensitate a crescut odată cu concentrația sării. Acest efect se datorează cel mai probabil reacțiilor de complexare dintre antocieni și ionii de calciu. Analiza rezultatelor a arătat că adăugarea sărurilor de Ca în concentrația de 0,01 M poate îmbunătăți semnificativ culoarea extractului fără a afecta capacitatea sa antiradicalică.

Trebuie remarcat faptul că procesul de copigmentare este diferit de formarea unor complecși colorați între metale, cum ar fi Al, Fe, Sn, Cu și antocieni. Capacitatea de a forma astfel de complecși este relaționată cu aranjamentul ortodihidroxi pe inelul B. În timp ce glucozidele cianidinei, delfinidinei și petunidinei pot forma astfel de complecși, cele ale malvidinei, pelargonidinei și peonidinei nu pot, prin urmare, este puțin probabil ca complecșii pigmentilor cu metale joacă un rol semnificativ în culoarea extractelor de tescovină, sugerează unii autori [76].

În figura 3.25 sunt reprezentate imagini cu extractul de tescovină și spațiul CIELab înainte și după adăosul clorurii de calciu. Astfel, intensificarea calității și saturației culorii este evidentă.

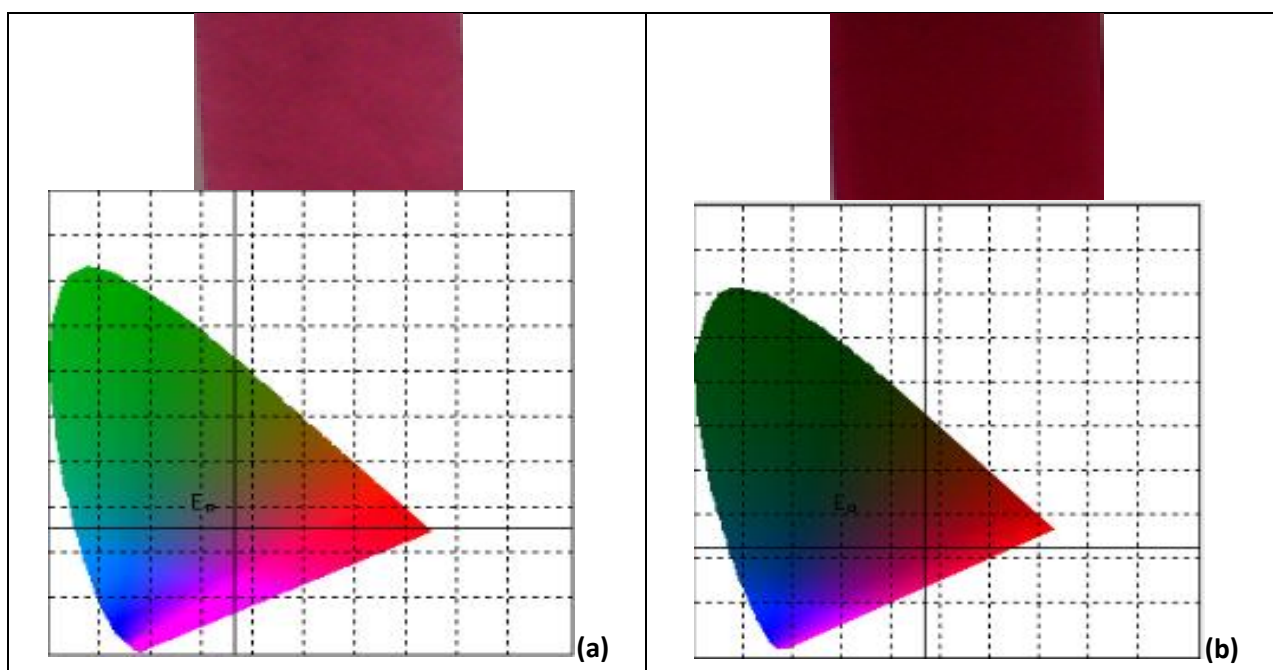


Fig. 3.25. Extractul de tescovină și spațiile CIELab respective înainte (a) și după adăosul clorurii de calciu în concentrația 0,1M (b)

În figura 3.26 sunt reprezentate rezultatele pentru schimbarea activității antioxidante după adăugarea de clorură de sodiu, nitrat de potasiu și clorură de calciu, în concentrații diferite la extractul de cătină albă.

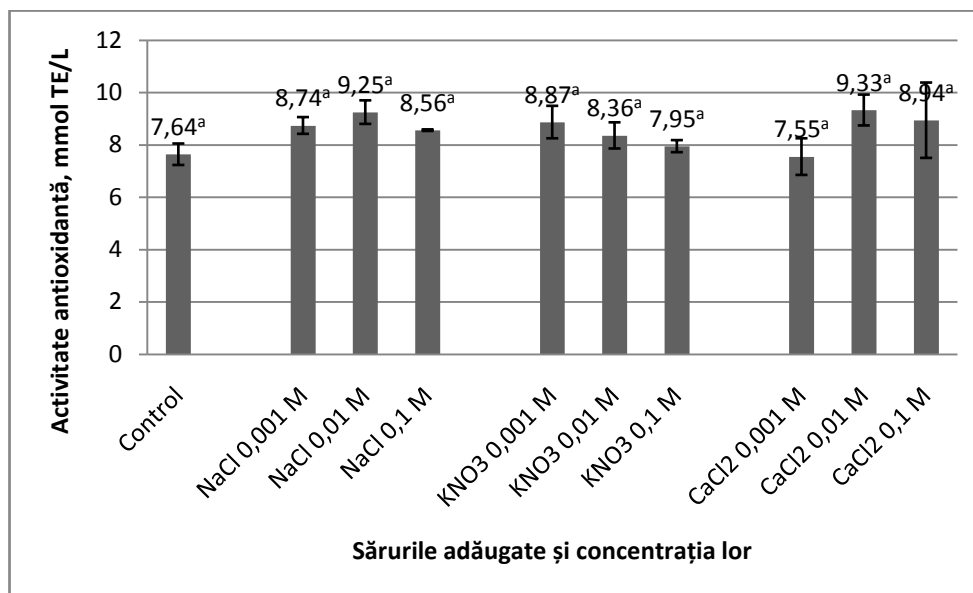


Fig. 3.26. Influența sărurilor studiate asupra activității antioxidante a extractului de cătină albă (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Adăugarea sărurilor menționate mai sus nu a produs modificări semnificative din punct de vedere statistic. Rezultatele pentru parametrii CIELab sunt date în tabelul 3.27. Acestea arată că luminozitatea extractului nu a fost afectată în vreun fel. Valorile lui a^* denotă că componenta roșu/verde a fost afectată semnificativ de adăugarea de KNO_3 (0,001M) și $CaCl_2$ (toate concentrațiile), deplasând culoarea spre tonuri puțin mai roșii. Parametrul b^* a fost afectat doar de clorura de sodiu (0,001 M) prin intensificarea tonurilor galbene.

Tabelul 3.27. Efectul adăugării sărurilor $NaCl$, KNO_3 și $CaCl_2$ asupra parametrilor CIELab ai extractului de cătină albă (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Sare și concentrație	L*	a*	b*	H*	C*
Control	97,61 \pm 0,03 ^a	-1,19 \pm 0,02 ^{ab}	8,01 \pm 0,02 ^a	-2,24 \pm 0,43 ^{ab}	8,10 \pm 0,02 ^a
NaCl 0,001 M	97,97 \pm 0,14 ^{ab}	-1,21 \pm 0,03 ^{ab}	8,37 \pm 0,18 ^b	-1,39 \pm 0,57 ^{abc}	8,50 \pm 0,18 ^{ab}
NaCl 0,01 M	98,17 \pm 0,05 ^b	-1,21 \pm 0,00 ^a	8,13 \pm 0,08 ^{ab}	-2,40 \pm 1,20 ^a	8,22 \pm 0,08 ^{ab}
NaCl 0,1 M	98,07 \pm 0,08 ^{ab}	-1,20 \pm 0,01 ^{ab}	8,15 \pm 0,05 ^{ab}	-1,73 \pm 0,31 ^{abc}	8,24 \pm 0,05 ^{ab}
KNO ₃ 0,001 M	97,75 \pm 0,27 ^{ab}	-1,14 \pm 0,03 ^c	8,28 \pm 0,19 ^{ab}	-0,70 \pm 0,47 ^{bc}	8,36 \pm 0,18 ^{ab}
KNO ₃ 0,01 M	97,88 \pm 0,06 ^{ab}	-1,17 \pm 0,02 ^{abc}	8,15 \pm 0,09 ^{ab}	-1,27 \pm 0,15 ^{abc}	8,23 \pm 0,09 ^{ab}
KNO ₃ 0,1 M	97,90 \pm 0,10 ^{ab}	-1,16 \pm 0,01 ^{abc}	8,15 \pm 0,09 ^{ab}	-1,06 \pm 0,10 ^{abc}	8,22 \pm 0,01 ^{ab}
CaCl ₂ 0,001 M	98,17 \pm 0,02 ^b	-1,20 \pm 0,00 ^{bc}	8,20 \pm 0,14 ^{ab}	-1,66 \pm 0,40 ^{abc}	8,29 \pm 0,14 ^{ab}
CaCl ₂ 0,01 M	98,10 \pm 0,21 ^{ab}	-1,16 \pm 0,01 ^{bc}	8,03 \pm 0,07 ^{ab}	-1,42 \pm 0,19 ^{abc}	8,12 \pm 0,07 ^a
CaCl ₂ 0,1 M	97,94 \pm 0,42 ^{ab}	-1,15 \pm 0,02 ^{bc}	8,28 \pm 0,12 ^{ab}	-0,84 \pm 0,41 ^{bc}	8,36 \pm 0,12 ^{ab}

În figura 3.27 sunt reprezentate rezultatele pentru schimbarea activității antioxidante după adăugarea de clorură de sodiu, nitrat de potasiu și clorură de calciu, în concentrații diferite, la extractul de păducel.

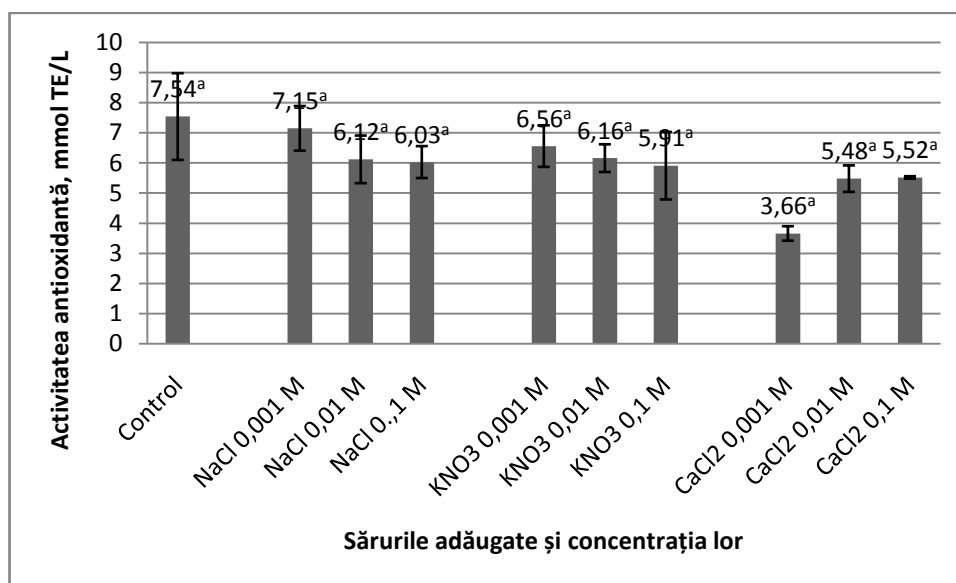


Fig. 3.27. Influența sărurilor studiate asupra activității antioxidante a extractului de păducel (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Analiza ANOVA a arătat că nu există vreo diferență semnificativă între ele și, prin urmare, adăugarea sărurilor respective nu ar afecta activitatea antioxidantă a produsului. În tabelul 3.28 sunt dați parametrii de culoare după adăugarea diferitor săruri în extractul de păducel.

Tabelul 3.28. Efectul adăosului sărurilor NaCl, KNO₃ și CaCl₂ asupra parametrilor CIELab ai extractului de păducel (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Sare și concentrație	L*	a*	b*	H*	C*
Control	95,25±0,93 ^a	-1,27±0,13 ^a	16,33±0,33 ^{bc}	0,47±0,76 ^a	16,38±0,32 ^{bc}
NaCl 0,001 M	96,50±0,05 ^a	-1,35±0,01 ^a	14,92±0,08 ^a	0,08±0,14 ^a	14,98±0,08 ^a
NaCl 0,01 M	96,49±0,13 ^a	-1,34±0,02 ^a	14,97±0,08 ^a	0,14±0,24 ^a	15,03±0,07 ^a
NaCl 0,1 M	96,51±0,12 ^a	-1,36±0,02 ^a	14,83±0,04 ^a	-0,09±0,15 ^a	14,89±0,04 ^a
KNO ₃ 0,001 M	95,35±0,17 ^a	-1,30±0,01 ^a	17,39±0,10 ^c	-0,95±0,07 ^a	17,44±0,10 ^c
KNO ₃ 0,01 M	95,40±0,28 ^a	-1,32±0,06 ^a	17,42±0,14 ^c	-2,83±3,55 ^a	17,47±0,14 ^c
KNO ₃ 0,1 M	94,95±0,37 ^a	-1,35±0,16 ^a	17,55±0,01 ^c	-0,63±0,32 ^a	17,60±0,01 ^c
CaCl ₂ 0,001 M	95,91±0,81 ^a	-1,30±0,11 ^a	15,21±0,92 ^b	1,03±0,55 ^b	15,27±0,93 ^{ab}
CaCl ₂ 0,01 M	94,96±1,52 ^a	-1,28±0,23 ^a	14,48±0,64 ^a	-0,79±1,94 ^a	14,53±0,62 ^a
CaCl ₂ 0,1 M	96,26±1,04 ^a	-1,35±0,16 ^a	14,47±0,33 ^a	-3,08±2,25 ^a	14,54±0,32 ^a

Nici una dintre sărurile studiate nu a afectat luminozitatea (L^*) și componenta roșu/verde (a^*). Pe de altă parte, componenta albastru/galben (b^*) a fost redusă cu aproximativ o unitate de NaCl (la toate concentrațiile) și CaCl_2 (0,01 M și 0,1 M). Această modificare a avut ca rezultat o schimbare de cromaticitate (C^*), în aceleași extracte.

În figura 3.28 sunt reprezentate rezultatele pentru schimbarea activității antioxidante după adăugarea de clorură de sodiu, nitrat de potasiu și clorură de calciu, în concentrații diferite la extractul de scoruș.

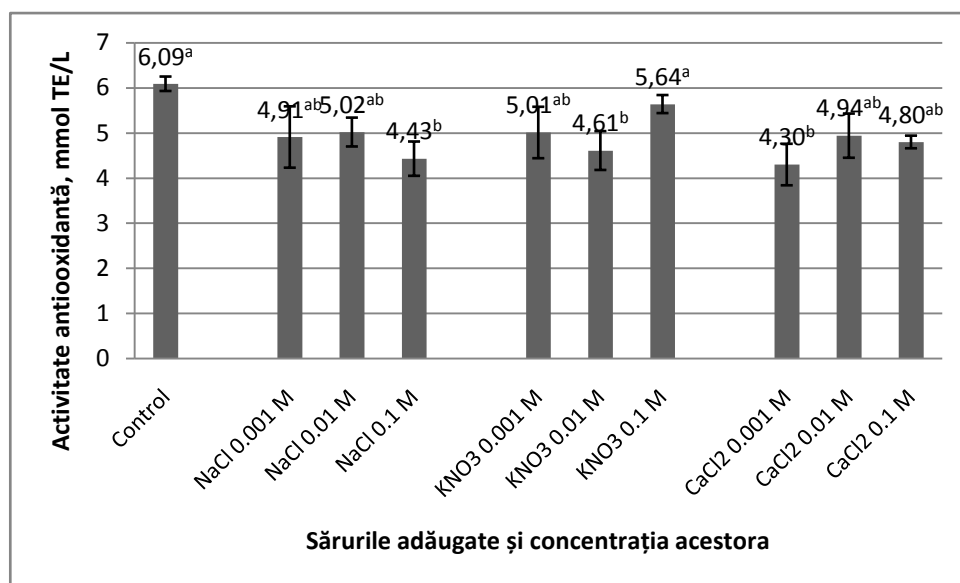


Fig. 3.28 Influența sărurilor studiate asupra activității antioxidante a extractului de scoruș (barele de eroare reprezintă abaterea standard)

Rezultatele arată că toate cele trei săruri au produs diferențe semnificative ale activității în cazul extractului de scoruș. Clorura de sodiu a provocat o scădere a parametrului cercetat când a fost adăugată în concentrația 0,1 M. Nitratul de potasiu a provocat o scădere la concentrația 0,01 M, deși valoarea nu este semnificativ diferită de valorile determinate pentru celelalte concentrații. Clorura de calciu a provocat scăderea activității antioxidante la concentrația 0,001 M cu toate că nu există diferențe semnificative între valoarea respectivă și cele determinate în cazul celorlalte două concentrații cercetate.

În tabelul 3.29 sunt dați parametrii de culoare după adăugarea diferitor săruri în extractul de scoruș. Toate sărurile au produs modificări semnificative ale parametrilor de culoare. Luminozitatea a fost majorată în mediu cu două unități, în cazul adăugării de KNO_3 și NaCl și cu trei unități în cazul adăugării de CaCl_2 , în timp ce valoarea componentei roșu/verde a scăzut cu cca 0,4 unități, ceea ce se manifestă printr-o schimbare a culorii spre nuanțe mai verzi. Componenta albastru/galben a fost modificată, de asemenea, ceea ce sugerează degradarea pigmentilor

galbeni. Toate aceste schimbări au condus la scăderea semnificativă a cromaticității sau coloritului extractului.

Tabelul 3.29. Efectul adaosului sărurilor NaCl, KNO₃ și CaCl₂ asupra parametrilor CIELab ai extractului de scoruș (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Sare și concentrație	L*	a*	b*	H*	C*
Control	94,41±0,00 ^a	-0,59±0,00 ^a	15,07±0,00 ^a	-4,92±0,00 ^a	15,08±0,00 ^a
NaCl 0,001 M	96,87±0,01 ^c	-0,95±0,01 ^b	12,81±0,04 ^b	-0,94±0,44 ^{ab}	12,84±0,04 ^b
NaCl 0,01 M	96,87±0,01 ^c	-0,96±0,00 ^b	12,90±0,02 ^b	-0,75±0,09 ^{ab}	12,93±0,02 ^b
NaCl 0,1 M	96,77±0,06 ^c	-0,93±0,01 ^b	12,83±0,06 ^b	-0,28±0,08 ^{ab}	12,86±0,06 ^b
KNO ₃ 0,001 M	96,05±0,01 ^b	-0,86±0,01 ^{cd}	13,32±0,01 ^c	0,12±0,84 ^{ab}	13,35±0,01 ^c
KNO ₃ 0,01 M	95,79±0,30 ^b	-0,81±0,03 ^{cd}	13,36±0,16 ^c	0,82±1,62 ^{ab}	13,39±0,16 ^c
KNO ₃ 0,1 M	96,08±0,20 ^b	-0,82±0,03 ^{cd}	13,24±0,12 ^c	1,68±2,42 ^{ab}	13,27±0,12 ^c
CaCl ₂ 0,001 M	97,02±0,04 ^c	-0,81±0,04 ^{cd}	12,19±0,14 ^d	6,40±9,91 ^b	12,21±0,14 ^d
CaCl ₂ 0,01 M	97,03±0,11 ^c	-0,80±0,00 ^d	12,29±0,04 ^d	2,44±0,10 ^{ab}	12,32±0,04 ^d
CaCl ₂ 0,1 M	97,06±0,03 ^c	-0,81±0,02 ^{cd}	12,21±0,08 ^d	1,93±1,35 ^{ab}	12,24±0,08 ^d

Potrivit lui Birse (2007), valorile L*, a* și b* oferă puține informații unui începător în ceea ce privește culoarea. Prin urmare, este destul de dificil a descrie o culoare care furnizează doar informația despre nuanțele ei roșii sau galbene. L* și C* sunt semnificative în definirea culorii în ceea ce privește saturația și cât de închisă este culoarea așa cum este ea percepută de ochiul uman. În concluzie, parametrii CIELab, în special L* și C* trebuie să fie monitorizați în timpul proceselor care influențează culoarea. Cu toate acestea, a* și b* ar putea fi cruciale anume la definirea nuanțelor [165].

3.9. Influența pH-ului și temperaturii asupra activității antioxidante și culorii extractelor vegetale. Tendințe comune.

În figura 3.29 este totalizată modificarea activității antioxidante a tuturor extractelor la diferite valori ale pH-ului. Rezultatele diferitor extracte denotă anumite tendințe similare. Astfel, cele mai mici valori ale activității antioxidante au fost determinate în cazul celor mai acide valori testate. Atât valorile similare ale pH-ului extractului original, cât și cele determinate în cazul pH-ului neutru fie nu provocat modificări ale activității antioxidante, fie că au mărit-o. Cele mai alcaline valori testate au scăzut potențialul doar în cazul extractului de măceș, pe când în cazul extractului de cătină albă acest parametru nu a scăzut.

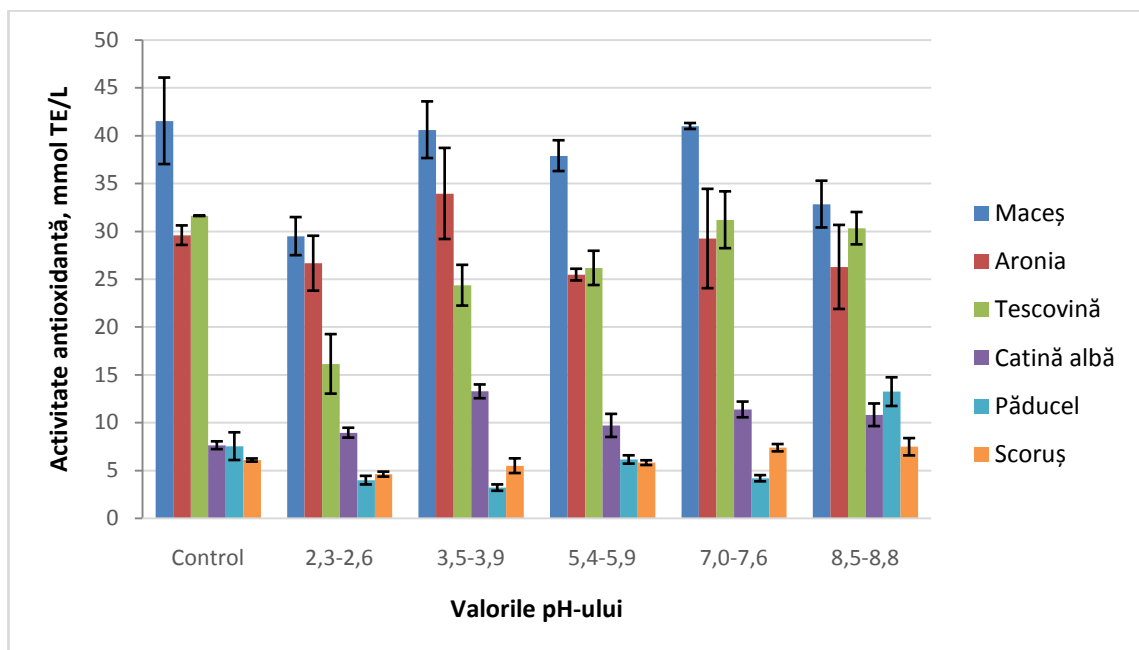


Fig. 3.29. Influența pH-ului asupra activității antioxidante a extractelor vegetale

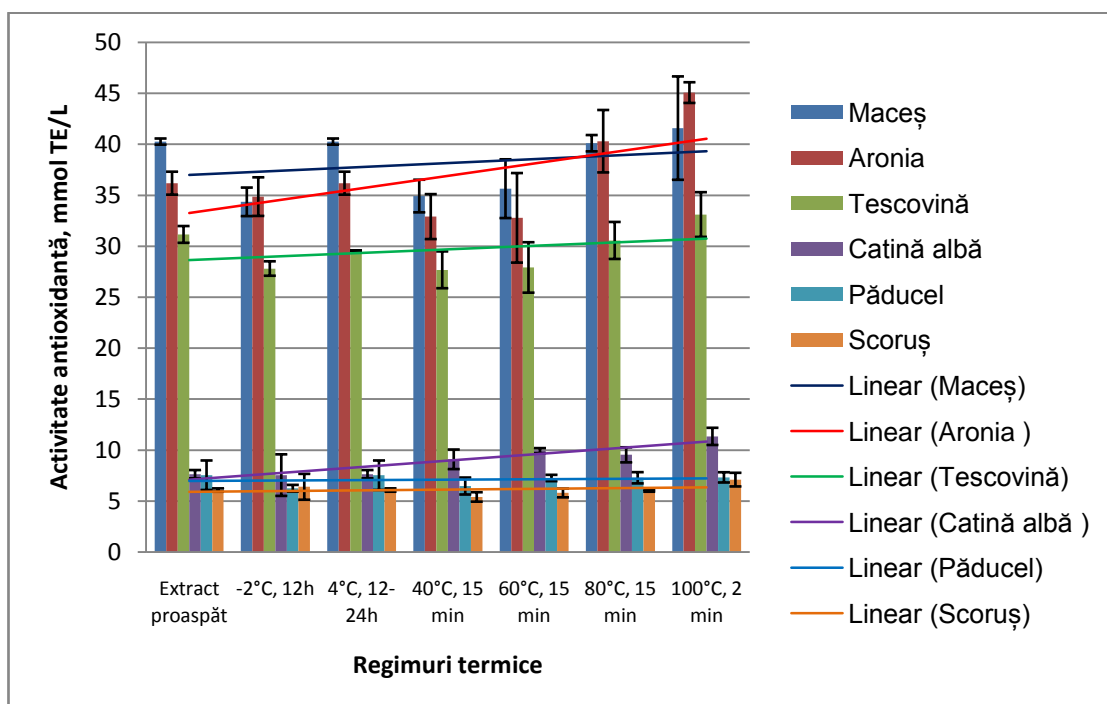


Fig. 3.30. Influența diferitor regimuri termice asupra activității antioxidante a extractelor vegetale

În figura 3.30 este reprezentată activitatea antioxidantă a extractelor vegetale după expunerea la diferite regimuri termice. La fel ca în cazul pH-ului, rezultatele relevă anumite tendințe comune. Au fost determinate, de asemenea, ecuațiile curbelor (tabelul 3.30) liniare pentru fiecare grup de rezultate.

Tabelul 3.30. Ecuțiile curbelor evoluției antioxidante după expunerea la diferite regimuri termice

Extract	Ecuție
Măceș	$y=1,218x+32,02$
Aronia	$y=0,387x+36,61$
Tescovină	$y=0,345x+28,30$
Cătină albă	$y=0,622x+6,478$
Păducel	$y=0,041x+6,935$
Scoruș	$y=0,072x+5,842$

Ecuțiile determinate relevă tendințe de creștere a activității antioxidante odată cu creșterea temperaturii.

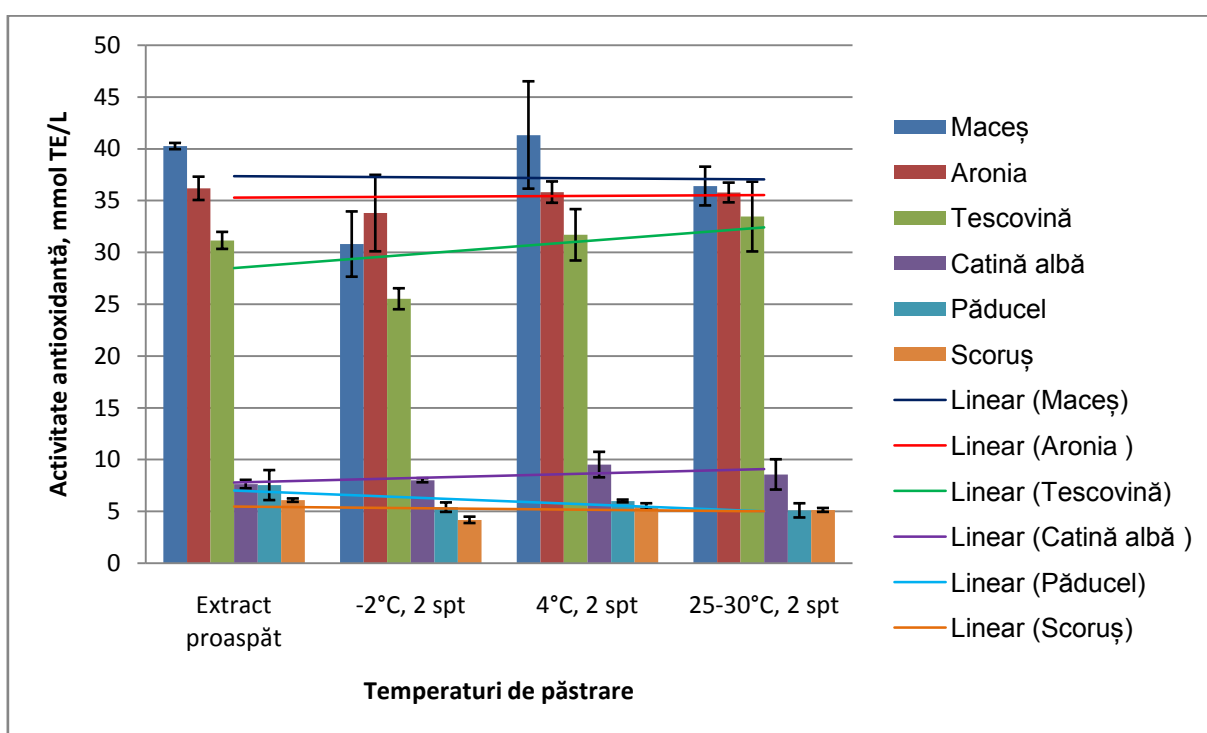


Fig. 3.31. Influența temperaturii asupra activității antioxidante asupra activității antioxidante după 2 săptămâni de păstrare

În figura 3.31 este reprezentată activitatea antioxidantă a extractelor vegetale după păstrarea timp de două săptămâni la diferite temperaturi. Ecuțiile curbelor liniare sunt date mai jos:

Tabelul 3.31. Ecuațiile curbelor evoluției antioxidante după expunerea la diferite regimuri termice

Extract	Ecuație
Măceș	$y=-0,105x+37,46$
Aronia	$y=0,082x+35,18$
Tescovină	$y=1,307x+27,18$
Cătină albă	$y=-0,154x+5,608$
Păducel	$y=0,43x+7,36$
Scoruș	$-0,672x+7,695$

Ecuațiile incluse în tabelul 3.31 relevă tendințe comune de creștere a activității antioxidante în cazul măceșului, tescovinei, aroniei și păducelului și de descreștere în cazul cătinii albe și scorușului.

În tabelele 3.32, 3.33 și 3.34 sunt date rezultatele pentru diferența de culoare (ΔE^* - overall difference of colour) dintre extractul proaspăt și, respectiv, fiecare extract supus unui regim termic, păstrat la diferite temperaturi sau supus acțiunii unui mediu diferit.

Tabelul 3.32. Diferența de culoare dintre extractele proaspete și cele supuse diferitor regimuri termice, precum și diferitor condiții de păstrare

Regimuri tehnologice și condiții de păstrare	-2°C, 12h	4°C, 12-24h	40°C, 15 min	60°C, 15 min	80°C, 15 min	100°C, 2 min	-2°C, 2 spt	4°C, 2 spt	25-30°C, 2 spt
ΔE^* Măceș	5,23	0	6,11	5,05	1,40	0,62	5,24	1,96	2,90
ΔE^* Tescovină	2,53	0,03	2,26	3,53	3,35	5,56	3,33	1,36	8,71
ΔE^* Aronie	3,12	0,04	2,59	2,27	2,66	15,12	3,81	2,94	14,44
ΔE^* Scoruș	4,67	2,50	3,93	3,29	1,70	5,81	12,49	16,52	13,55
ΔE^* Cătină	0,75	0,01	0,93	0,59	0,77	5,76	9,32	9,16	13,03
ΔE^* Păducel	4,91	3,06	4,84	4,81	2,09	2,52	17,10	18,90	20,76

În cazul celor mai multe tratamente culoarea extractului de tescovină și aronie a fost stabilă, fără a fi modificată semnificativ. Din păcate, în literatură au fost identificate doar valori ale pragului de perceptibilitate pentru vinuri. Aceste valori ar putea fi utilizate pentru a evalua diferențele de culoare în cazul extractului de tescovină. Astfel, este acceptat faptul că

degustatorii de vin pot distinge culoarea a două vinuri turnate în pahar dacă ΔE_{ab}^* este mai mare decât 5 unități. Mai mult ca atât diferențele ce pot fi identificate de ochiul uman depind de intensitatea culorii [166]. Alți autori au raportat alte valori ale pragului de perceptibilitate pentru diferențele colorimetrice CIELab. Astfel, Gonnet (2001) a menționat valoarea $\Delta E^*=0,8-1$, iar Martinez și colab. (2011) $\Delta E^*=3$ [167, 168]. Prin urmare, dacă pragul indicat de Kontoudakis și colab. (2001) este luat în considerare, expunerea la 100°C timp de 2 minute și păstrarea la 25-30° au produs diferențe semnificative ale culorii în cazul extractului de tescovină. În cazul unui alt extract bogat în antocieni, și anume cel de aronie, aceleași condiții - tratament termic la 100°C timp de 2 minute și păstrarea la 25-30°C timp de două săptămâni - au avut drept rezultat cele mai mari valori ale ΔE^* și anume 15,12 și 14,44, respectiv.

Rezultatele extractului de măceș arată că menținerea la -2°C (12 ore și 2 săptămâni) și tratamentele termice timp de 15 minute la 40°C și 60°C au produs cele mai mari diferențe de culoare. Nu au fost găsite date privind pragul de perceptibilitate de schimbare a culorii pentru extractul de măceș. Unele diferențe de culoare sunt evaluate în mod diferit de ochiul uman chiar dacă calculul lor se bazează pe simularea vederii cromatice a ochiului uman [169]. Așadar, este necesar a corela aceste diferențe de culoare cu nivelul de perceptibilitate a ochiului uman. Culoarea extractelor de păducel, scoruș și cătină albă a fost afectată cel mai mult de păstrarea timp de două săptămâni în toate condițiile cercetate. Cel mai probabil această modificare a culorii a fost cauzată de oxidarea carotenoidelor, or, anume aceste extracte conțin respectiva clasă de substanțe. Bineînțeles, excepție face extractul de măceș care de asemenea conține carotenoide, însă trebuie de avut în vedere că extractul de măceș conține cel mai probabil și cantități semnificative de acid ascorbic – un antioxidant foarte puternic.

Tabelul 3.33. Diferența de culoare dintre extractele proaspete și extractele cu pH modificat

	pH=2,5±0,2	pH=3,6±0,2	pH=5,4±0,2	pH=7,3±0,2	pH=8,7±0,2
ΔE^* Măceș	0,85±0,14	2,29±3,53	16,30±0,24	1,78±0,33	8,46±1,21
ΔE^* Tescovină	39,56±3,04	8,25±5,42	12,72±0,88	27,58±0,81	26,62±0,41
ΔE^* Aronie	18,76±3,61	9,61±2,14	4,32±1,37	17,08±2,23	14,51±0,45
ΔE^* Scoruș	0,92±0,64	0,17±0,52	0,51±0,10	1,22±0,50	5,50±9,31
ΔE^* Cătină	0,75±0,52	0,60±1,60	1,58±0,52	5,14±0,10	22,55±2,26
ΔE^* Păducel	1,38±0,54	1,36±0,10	2,70±0,10	12,16±1,80	16,01±0,93

Rezultatele $\Delta E^* > 5$ indică o modificare a culorii extractului de măceș la pH=3,6; pH=16,30 și pH=8,7. Culoarea extractului de tescovină a fost modificată în cazul tuturor valorilor de pH. Cu toate acestea, pentru a evalua calitatea acestei schimbări, este necesar a lua în calcul parametrii L^* , a^* și b^* . Culoarea extractului de aronie a fost schimbată atât de valorile acide ale pH-ului (2,5 și 3,6), cât și de valorile neutră (7,3) și alcalină (8,7). Culoarea extractelor de scoruș, păducel și cătină a demonstrat o stabilitate deosebită la valori acide. Aceasta a fost modificată doar de valorile alcaline (pH=8,7) ale pH-ului în cazul scorușului și păducelului și de valorile neutră (pH=7,3) și bazică (pH=8,7) în cazul cătinii.

Tabelul 3.34. Diferența de culoare dintre extractele proaspete și extractele cu adaos de săruri

Săruri/ Concentrație	ΔE^* Măceș	ΔE^* Tescovină	ΔE^* Aronie	ΔE^* Scoruș	ΔE^* Cătină	ΔE^* Păducel
NaCl 0,001M	4,82±0,22	1,70±0,17	2,74±1,22	3,36±0,04	0,51±0,19	1,89±0,92
NaCl 0,01M	18,36±0,31	2,07±0,45	2,66±1,48	3,30±0,02	0,57±0,07	1,84±0,84
NaCl 0,1M	5,39±0,09	6,33±0,09	2,93±1,05	3,27±0,09	0,48±0,06	1,96±0,87
CaCl ₂ 0,001M	5,03±0,17	16,80±7,03	3,17±1,39	3,89±0,15	0,59±0,12	1,30±0,60
Ca Cl ₂ 0,01M	4,86±0,33	37,44±1,79	2,94±1,23	3,83±0,12	0,49±0,19	1,87±0,67
CaCl ₂ 0,1M	5,07±0,16	43,02±1,28	3,52±1,35	3,91±0,09	0,43±0,40	2,12±0,11
KNO ₃ 0,001M	5,37±0,17	4,20±0,93	6,10±1,12	2,41±0,02	0,31±0,29	1,07±0,80
KNO ₃ 0,01M	4,57±0,10	3,08±0,36	5,66±1,69	2,21±0,34	0,30±0,08	1,10±0,68
KNO ₃ 0,1M	3,15±0,04	2,96±0,29	3,87±1,07	2,49±0,24	0,32±0,10	1,26±0,65

În ceea ce privește acțiunea forței ionice: sărurile NaCl, CaCl₂ și KNO₃ nu au modificat în mod vizibil culoarea extractelor, în cazul în care este luată în considerație valoarea pragului de perceptibilitate $\Delta E^* > 5$. Clorura de sodiu și clorura de calciu au afectat culoarea extractelor de măceș și tescovină. În special, în cazul tescovinei, clorura de calciu a ameliorat vizibil culoarea, după cum a fost arătat anterior.

3.10. Concluzii la capitolul 3

1. În cadrul cercetării au fost identificate cantități semnificative de polifenoli în toate cele șase extracte cercetate. Cele mai mari concentrații de polifenoli și cele mai mari valori ale activității antioxidante au fost determinate în extractele de măceș, aronie și tescovină, acestea fiind de câteva ori mai mari decât valorile medii identificate în extractele de scoruș, păducel și cătină albă. A fost demonstrat că toate extractele conțin cantități similare de acizi hidroxicinamici și flavonoli, pe când antocienii au fost identificați doar în extractele de tescovină și aronie [180-183]. Cea mai mare cantitate de carotenoide a fost identificată în măceș, urmat de cătina albă, scoruș și păducel. Polifenolii individuali majoritari determinați în toate extractele au fost acizii galic, protocatehic, ferulic, para-hidroxibenzoic, catehina, epicatehina și procianidina.
2. S-a demonstrat că nici unul dintre tratamentele termice testate nu a afectat semnificativ activitatea antioxidantă în cazul extractelor de măceș, aronie și păducel. În cazul extractelor de cătină albă și scoruș, tratamentul de 100°C timp de 2 minute a mărit semnificativ activitatea antioxidantă totală. Aceste schimbări pot fi atribuite modificării structurii moleculare a polifenolilor sau formării compușilor Maillard cu potențial antioxidant în timpul tratamentelor termice [180-183].
3. Rezultatele obținute după păstrarea timp de două săptămâni nu a relevat diferențe majore între activitatea antioxidantă a extractelor stocate la diferite temperaturi [180-183].
4. În ceea ce privește calitatea culorii: rezultatele studiului au arătat că tratamentul de 2 minute la 100°C a afectat cel mai mult extractele de aronie, scoruș și tescovină, pe când extractele de cătină albă, scoruș și păducel au fost afectate de stocarea timp de două săptămâni, indiferent de temperatură [180-183].
5. Rezultatele activității antioxidante obținute după modificarea pH-ului au arătat că cele mai mici valori au fost determinate în cazul celor mai acide valori testate, cu excepția cătinii albe. În același timp, valorile similare pH-ului extractului original, cât și cele determinate în cazul pH-ului neutru, fie că nu au provocat modificări ale activității antioxidante, fie că au mărit-o. Cele mai alcaline valori testate au scăzut potențialul doar în cazul extractului de măceș [180-183].
6. S-a demonstrat că valorile acide au ameliorat culoarea extractelor de aronie și tescovină prin intensificarea nuanțelor albastre și roșii. În cazul extractelor de cătină albă, păducel și scoruș, valorile alcaline au avut o influență negativă asupra culorii [180-183].
7. Adaosul de clorură de sodiu, nitrat de potasiu și clorură de calciu nu a afectat în mod major activitățile antioxidante ale extractelor. Clorura de calciu a îmbunătățit însă semnificativ și vizibil culoarea extractului de tescovină, iar acest efect ar putea fi exploatat pentru crearea unui nou colorant de origine naturală care ar avea și potențial antioxidant. Influența sărurilor asupra culorii celorlalte extracte a fost minoră [180-183].

4. REZULTATE ȘI DISCUȚII: STABILIZAREA EXTRACTELOR VEGETALE HORTICOLE PRIN COPIGMENTARE, ÎNCAPSULARE ȘI SEPARARE

Rezultatele și discuțiile din capitolul 3 au arătat că atât potențialul antioxidant, cât și culoarea extractelor vegetale horticole pot fi modificate în urma acțiunii temperaturii, timpului de stocare și anumitor factori de compoziție. În cazul în care regimurile ce implică factori destabilizatori nu pot fi evitate, este necesar a identifica metodele de stabilizare a compușilor bioactivi. Așadar, în acest capitol capitolul dat vor fi expuse rezultatele cercetării unor metode inovative de stabilizare și fracționare a compușilor bioactivi, și anume, copigmentarea, microîncapsularea și separarea, folosind microspuma coloidală.

4.1. Influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra activității antioxidante

În tabelul 4.1 este dată evoluția activității antioxidante în extractele de măceș, cu și fără acid galic și tanic, pe parcursul a șapte săptămâni.

Tabelul 4.1. Evoluția activității antioxidante pe parcursul a 7 săptămâni în extractele de măceș cu acizii tanic și galic (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Proba	24 ore	1 săptămână	2 săptămâni	3 săptămâni	4 săptămâni	7 săptămâni
Control	40,26±0,33	41,54±4,52	41,33±5,18	38,48±5,73	43,27±4,27	40,16±3,94
GA 100	41,10±0,80	41,92±1,59	38,37±0,99	38,00±2,41	36,69±2,32	43,87±1,35
GA 200	40,45±1,20	47,06±0,94	40,89±3,54	37,21±1,28	41,47±3,43	45,41±2,61
GA 400	45,79±4,03	45,98±2,99	42,87±1,67	41,01±0,94	48,00±1,90	47,32±3,05
TA 100	39,13±2,56	41,01±6,64	33,80±1,99	36,52±0,12	40,69±3,61	41,10±0,25
TA 200	41,84±1,89	41,93±1,31	38,38±3,67	39,38±1,20	44,77±6,92	42,45±0,53
TA 400	42,00±0,56	45,14±1,81	39,83±1,93	38,80±0,55	42,35±0,82	46,48±1,12

Tendința de evoluție a activității antioxidante a fost similară în toate extractele. Adăugarea de acizi galic și tanic au produs o ușoară creștere și o stabilizare suplimentară a valorii acestui parametru în comparație cu proba-martor. Cea mai evidentă influență pozitivă a fost înregistrată pentru acidul galic la concentrația de 400 mg/L.

În ceea ce privește activitatea antioxidantă determinată cu ajutorul radicalului DPPH, după cum a fost determinat anterior, extractul de măceș formează flocoane de culoare albă după adaosul de soluție DPPH.

În tabelul 4.2 este dată evoluția activității antioxidante în extractele de aronie, cu și fără acid galic și tanic, pe parcursul a șapte săptămâni.

Tabelul 4.2. Evoluția activității antioxidante pe parcursul a 7 săptămâni în extractele de aronie cu acizii tanic și galic (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Proba	24 ore	1 săptămână	2 săptămâni	3 săptămâni	4 săptămâni	7 săptămâni
Control	31,61±1,02	33,88±1,46	31,27±0,94	29,06±0,28	26,18±5,67	31,76±3,34
GA 100	34,70±5,02	34,05±0,64	36,09±0,34	29,21±1,83	27,33±2,03	32,07±0,24
GA 200	36,44±1,66	35,27±1,16	38,96±3,63	31,31±0,36	26,74±3,63	34,93±0,91
GA 400	36,93±0,92	38,79±0,38	38,28±0,05	29,97±3,71	31,18±2,72	32,42±2,13
TA 100	33,31±2,27	33,06±0,89	39,49±4,22	28,39±2,15	26,87±2,50	29,11±1,20
TA 200	34,85±0,39	35,09±0,69	36,12±2,37	29,37±1,36	28,26±3,42	33,92±0,94
TA 400	36,56±1,97	37,22±2,70	39,05±2,96	30,82±3,07	31,46±3,48	35,47±1,06

În ceea ce privește evoluția activității antioxidante în extractul de aronie, adăugarea de acizi galic și tanic nu au avut vreun efect pozitiv asupra tendințelor. Valoarea acestui parametru a crescut în toate extractele după trei săptămâni de depozitare la 4°C, după care a scăzut mult. În proba-martor, cu toate acestea, scăderea a fost evidentă chiar și după 2 săptămâni de păstrare. Tendința evoluției observată în toate extractele la sfârșitul săptămânilor 6 și 7 nu denotă diferențe semnificative, ceea ce înseamnă că adăugarea antioxidanților acid galic și acid tanic nu a îmbunătățit stabilitatea extractului.

În tabelul 4.3 este dată evoluția activității antioxidante în extractele de aronie, cu și fără acid galic și tanic, pe parcursul a șapte săptămâni.

Tabelul 4.3. Evoluția activității antioxidante pe parcursul a 7 săptămâni în extractele de tescovină cu acizii tanic și galic (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Proba	24 ore	1 săptămână	2 săptămâni	3 săptămâni	4 săptămâni	7 săptămâni
Control	33,96±0,00	34,88±1,49	36,28±2,73	34,47±2,63	34,38±1,18	37,62±2,28
GA 100	37,53±1,20	36,57±0,49	39,26±5,98	34,34±1,39	37,44±0,60	40,73±0,21
GA 200	37,51±0,04	41,02±0,01	40,58±1,77	37,62±3,09	39,81±3,85	39,84±1,14
GA 400	40,48±5,79	43,93±3,10	46,58±0,79	36,47±0,12	41,27±3,66	38,69±1,11
TA 100	36,58±3,08	34,42±1,05	42,63±4,55	34,88±4,76	37,86±0,62	38,17±1,66
TA 200	36,88±1,54	38,89±2,54	40,95±1,97	33,74±0,85	35,88±6,15	33,97±1,68
TA 400	41,06±1,14	38,93±2,36	42,34±2,65	36,07±1,05	37,23±1,20	36,05±1,67

Observarea activității antioxidante timp de 7 săptămâni după adăugarea acizilor galic și tanic în extractul de tescovină a arătat că indiferent de creșterea inițială, îndeosebi cazul acidului galic (400 mg/L), adiția de acid galic și acid tanic nu îmbunătățește stabilitatea activității antioxidante. Cu toate acestea, trebuie luat în considerare că solvenții joacă un rol important asupra comportării compușilor antioxidanți. În general, legarea intermoleculară a grupării

hidroxil cu acceptorii de legături de hidrogen a moleculelor de solvent scade activitatea antioxidantă [80].

În ceea ce privește activitatea antioxidantă determinată cu ajutorul radicalului DPPH, acest reactiv nu determină corect întotdeauna acest parametru din cauza culorii sale violete cu maxim de absorbție la lungimea de undă 515-517 nm. Astfel, antocienii din extractele de tescovină și aronie vor prezenta interferențe la determinarea activității antioxidante.

În tabelul 4.4 este dată evoluția activității antioxidante determinată cu ajutorul radicalului-cation ABTS în extractele de cătină albă, cu și fără acid galic și tanic, pe parcursul a șapte săptămâni. Activitatea antioxidantă a manifestat tendințe similare în toate extractele. Acidul galic și acidul tanic au provocat o ușoară creștere a acestui parametru, cea mai mare valoare fiind determinată în extractul în care a fost adăugat acidul galic în concentrația 400 mg/L. Același extract a fost cel mai stabil pe parcursul păstrării în ceea ce privește activitatea antioxidantă care a manifestat o ușoară creștere după șapte săptămâni de păstrare.

Tabelul 4.4. Evoluția activității antioxidante determinată prin metoda ABTS pe parcursul a 7 săptămâni în extractele de cătină cu acizii tanic și galic (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

Proba	24 ore	1 săptămână	2 săptămâni	3 săptămâni	4 săptămâni	7 săptămâni
Control	7,64±0,41	9,27±0,58	9,52±1,23	9,12±0,07	10,37±1,67	9,41±0,49
GA 100	11,43±0,52	10,40±0,92	10,03±1,60	9,96±0,13	9,95±0,57	10,21±1,49
GA 200	12,41±0,13	11,21±1,07	10,96±0,75	11,52±0,28	11,67±0,52	12,04±0,60
GA 400	12,26±0,37	13,47±0,95	14,11±1,25	14,06±0,10	14,46±0,09	15,20±0,21
TA 100	8,75±0,08	10,10±0,73	10,99±0,04	9,19±0,12	9,80±0,72	9,87±0,53
TA 200	9,56±0,75	10,34±0,73	10,88±0,22	9,89±0,85	11,47±0,73	10,90±0,99
TA 400	12,06±0,67	11,78±0,38	13,26±0,62	11,44±0,41	12,01±0,04	11,63±0,21

În tabelul 4.5 este dată evoluția aceluiași indice determinat cu ajutorul radicalului DPPH. În acest caz, activitatea antioxidantă a avut tendința de scădere în toate extractele. Astfel, după șapte săptămâni de păstrare, parametrul măsurat a scăzut de la cca 2000 μmol TE/L până la cca 300-400 μmol TE/L.

Tabelul 4.5. Evoluția activității antioxidante ($\mu\text{mol TE/L}$) determinată prin metoda DPPH pe parcursul a 7 săptămâni în extractele de cătină cu acizii tanic și galic (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Proba	24 ore	1 săptămână	2 săptămâni	3 săptămâni	4 săptămâni	7 săptămâni
Control	2074 \pm 350	883 \pm 10	707 \pm 33	371 \pm 21	615 \pm 43	265 \pm 45
GA 100	1880 \pm 9	978 \pm 51	661 \pm 49	327 \pm 18	675 \pm 59	321 \pm 16
GA 200	1834 \pm 8	892 \pm 35	572 \pm 41	319 \pm 26	666 \pm 12	345 \pm 39
GA 400	1848 \pm 37	957 \pm 25	669 \pm 2	339 \pm 98	658 \pm 35	402 \pm 63
TA 100	1856 \pm 9	948 \pm 16	581 \pm 71	345 \pm 16	689 \pm 1	394 \pm 44
TA 200	1869 \pm 22	881 \pm 21	572 \pm 24	330 \pm 18	679 \pm 27	451 \pm 55
TA 400	1866 \pm 22	864 \pm 24	626 \pm 65	328 \pm 1	677 \pm 19	400 \pm 3

În tabelul 4.6 este dată evoluția activității antioxidante determinată cu ajutorul radicalului-cation ABTS în extractele de păducel, cu și fără acid galic și tanic, pe parcursul a șapte săptămâni. La fel ca în cazul extractului de cătină albă, activitatea antioxidantă a manifestat tendințe similare în toate extractele. Acidul galic și acidul tanic au provocat o ușoară creștere a acestui parametru, cu cea mai mare valoare determinată în extractul în care a fost adăugat acidul galic în concentrația 400 mg/L. Același extract a fost cel mai stabil pe parcursul păstrării în ceea ce privește activitatea antioxidantă care însă a început să scadă după săptămâna a 4-a.

Tabelul 4.6. Evoluția activității antioxidante determinată prin metoda ABTS pe parcursul a 7 săptămâni în extractele de scoruș cu acizii tanic și galic (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Proba	24 ore	1 săptămână	2 săptămâni	3 săptămâni	4 săptămâni	7 săptămâni
Control	6,09 \pm 0,16	8,93 \pm 3,95	5,48 \pm 0,31	5,76 \pm 0,15	5,89 \pm 0,32	5,75 \pm 0,09
GA 100	7,29 \pm 0,49	7,74 \pm 0,12	8,05 \pm 0,10	6,90 \pm 0,13	6,65 \pm 1,31	7,35 \pm 0,84
GA 200	9,14 \pm 0,26	8,77 \pm 0,41	7,76 \pm 0,67	8,94 \pm 0,12	9,04 \pm 0,85	9,45 \pm 0,39
GA 400	10,37 \pm 0,26	11,32 \pm 0,13	12,66 \pm 0,25	13,83 \pm 1,02	13,53 \pm 1,35	11,61 \pm 1,41
TA 100	7,02 \pm 0,23	6,87 \pm 0,37	6,13 \pm 0,27	6,25 \pm 0,78	6,44 \pm 0,85	7,15 \pm 0,53
TA 200	5,08 \pm 0,24	7,66 \pm 0,09	7,23 \pm 0,09	6,64 \pm 0,33	7,32 \pm 5,87	8,41 \pm 0,08
TA 400	5,75 \pm 0,19	9,93 \pm 0,02	9,05 \pm 0,12	10,69 \pm 0,33	9,33 \pm 1,37	8,87 \pm 0,04

În tabelul 4.7 este dată evoluția aceluiași indice determinat cu ajutorul radicalului DPPH în extractul de păducel. În acest caz, activitatea antioxidantă a scăzut în primele două săptămâni după care a început iarăși să crească. Interesant, dar valoarea activității antioxidante a fost similară în toate extractele, chiar și în cele în care a fost adăugați acizii galic și tanic.

Tabelul 4.7. Evoluția activității antioxidante ($\mu\text{mol TE/L}$) determinată prin metoda DPPH pe parcursul a 7 săptămâni în extractele de păducel cu acizii tanic și galic (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Proba	24 ore	1 săptămână	2 săptămâni	3 săptămâni	4 săptămâni	7 săptămâni
Control	2025 \pm 1	1135 \pm 4	724 \pm 4	392 \pm 13	630 \pm 5	1025 \pm 6
GA 100	2063 \pm 3	1156 \pm 3	754 \pm 1	398 \pm 0	629 \pm 11	1056 \pm 7
GA 200	2040 \pm 18	1146 \pm 2	743 \pm 3	397 \pm 6	639 \pm 7	1052 \pm 2
GA 400	2042 \pm 4	1164 \pm 1	749 \pm 1	401 \pm 4	636 \pm 24	1050 \pm 7
TA 100	1948 \pm 96	1151 \pm 5	746 \pm 4	398 \pm 8	644 \pm 2	1052 \pm 5
TA 200	2025 \pm 3	1142 \pm 3	740 \pm 16	378 \pm 25	641 \pm 2	1039 \pm 1
TA 400	2010 \pm 9	1137 \pm 9	728 \pm 7	381 \pm 0	638 \pm 3	1037 \pm 10

În tabelul 4.8 este dată evoluția activității antioxidante în extractele de scoruș timp de șapte săptămâni atât în probele cu acizi galic și tanic, cât și în proba-martor.

Tabelul 4.8. Evoluția activității antioxidante determinată prin metoda ABTS pe parcursul a 7 săptămâni în extractele de păducel cu acizii tanic și galic (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Proba	24 ore	1 săptămână	2 săptămâni	3 săptămâni	4 săptămâni	7 săptămâni
Control	7,54 \pm 1,45	7,47 \pm 0,26	6,01 \pm 0,13	6,80 \pm 0,08	8,23 \pm 1,05	6,37 \pm 0,75
GA 100	8,15 \pm 1,06	8,09 \pm 0,45	7,32 \pm 0,05	7,11 \pm 0,06	9,85 \pm 2,01	8,22 \pm 1,01
GA 200	9,89 \pm 0,21	9,92 \pm 0,37	9,19 \pm 1,69	8,63 \pm 1,09	9,91 \pm 0,39	8,27 \pm 0,10
GA 400	13,55 \pm 0,11	14,18 \pm 0,68	11,20 \pm 0,01	11,45 \pm 0,61	11,19 \pm 0,15	11,21 \pm 0,97
TA 100	7,72 \pm 0,21	8,18 \pm 1,25	7,82 \pm 0,21	8,11 \pm 1,60	6,48 \pm 0,06	6,71 \pm 0,86
TA 200	8,63 \pm 0,88	7,19 \pm 0,92	8,16 \pm 0,41	8,19 \pm 0,48	7,44 \pm 1,18	7,57 \pm 1,17
TA 400	10,26 \pm 0,16	9,19 \pm 0,81	10,52 \pm 0,20	9,82 \pm 0,98	10,46 \pm 0,08	9,52 \pm 0,39

Chiar dacă adăugarea acestor doi acizi cu proprietăți antioxidante a produs o creștere a activității antioxidante, îndeosebi în cazul acidului galic (cca 1 mmol TE/L, 2 mmol TE/L și 6 mmol TE/L pentru fiecare concentrație, respectiv), acest parametru a fost foarte stabil chiar și în proba-martor în toate cele 7 săptămâni de depozitare. În tabelul 4.9 este dată evoluția aceluiași indice determinat cu ajutorul radicalului DPPH în extractul de scoruș. În acest caz, activitatea antioxidantă a scăzut în primele două săptămâni după care a început iarăși să crească. După săptămâna a 4-a, valorile activității antioxidante au rămas relativ stabile.

Tabelul 4.9. Evoluția activității antioxidante ($\mu\text{mol TE/L}$) determinată prin metoda DPPH pe parcursul a 7 săptămâni în extractele de scoruș cu acizii tanic și galic (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Proba	24 ore	1 săptămână	2 săptămâni	3 săptămâni	4 săptămâni	7 săptămâni
Control	1084 \pm 16	966 \pm 17	666 \pm 2	685 \pm 16	810 \pm 2	788 \pm 9
GA 100	1108 \pm 22	964 \pm 14	660 \pm 1	711 \pm 25	797 \pm 82	776 \pm 19
GA 200	1120 \pm 28	891 \pm 36	677 \pm 15	613 \pm 122	868 \pm 22	794 \pm 16
GA 400	1073 \pm 9	954 \pm 25	672 \pm 41	676 \pm 46	866 \pm 11	785 \pm 33
TA 100	1123 \pm 27	956 \pm 10	672 \pm 1	657 \pm 76	766 \pm 36	797 \pm 1
TA 200	1052 \pm 63	963 \pm 1	669 \pm 20	694 \pm 1	792 \pm 1	798 \pm 1
TA 400	1093 \pm 21	962 \pm 17	694 \pm 32	751 \pm 21	858 \pm 18	797 \pm 1

4.2. Influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare

În tabelul 4.10 este dată influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare, și anume (L^*) luminozitate, (a^*) componenta roșu/verde, (b^*) componenta galben/albastru, (C^*) cromaticitate ale extractului de tescovină.

Tabelul 4.10. Influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L^*) luminozitate, (a^*) componenta roșu/verde, (b^*) componenta galben/albastru, (C^*) cromaticitate ale extractului de tescovină

L^*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	42,3 \pm 0,1	42,6 \pm 0,6	42,5 \pm 0,6	44,2 \pm 0,1	43,4 \pm 0,6	43,4 \pm 0,2
GA 100	42,3 \pm 0,1	43,6 \pm 0,1	43,7 \pm 0,1	44,6 \pm 0,1	44,9 \pm 0,1	45,1 \pm 0,2
GA 200	42,2 \pm 0,1	43,6 \pm 0,1	43,6 \pm 0,2	44,6 \pm 0,2	44,5 \pm 0,1	44,1 \pm 0,7
GA 400	42,1 \pm 0,1	43,7 \pm 0,2	43,4 \pm 0,2	44,5 \pm 0,2	44,3 \pm 0,1	45,0 \pm 0,3
TA 100	42,1 \pm 0,1	41,8 \pm 2,4	42,2 \pm 1,7	43,7 \pm 1,0	44,1 \pm 1,1	44,8 \pm 0,6
TA 200	42,2 \pm 0,1	38,6 \pm 3,9	43,6 \pm 0,1	44,5 \pm 0,1	44,9 \pm 0,1	44,9 \pm 0,3
TA 400	42,2 \pm 0,1	40,9 \pm 1,4	42,5 \pm 0,1	43,9 \pm 0,7	43,0 \pm 1,0	42,5 \pm 0,6

a^*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	41,8 \pm 0,1	41,3 \pm 0,4	41,6 \pm 0,3	41,8 \pm 0,1	41,3 \pm 0,3	41,5 \pm 0,2
GA 100	42,0 \pm 0,1	41,9 \pm 0,1	42,5 \pm 0,1	41,8 \pm 0,1	41,6 \pm 0,1	41,4 \pm 0,2
GA 200	42,0 \pm 0,1	42,1 \pm 0,1	42,6 \pm 0,1	42,0 \pm 0,1	41,8 \pm 0,2	41,1 \pm 0,1
GA 400	42,1 \pm 0,1	42,2 \pm 0,1	42,5 \pm 0,1	42,1 \pm 0,1	42,0 \pm 0,4	41,5 \pm 0,2
TA 100	41,8 \pm 0,1	41,0 \pm 1,0	41,7 \pm 0,8	41,4 \pm 0,1	41,4 \pm 0,4	41,3 \pm 0,1
TA 200	41,8 \pm 0,1	39,4 \pm 1,9	42,3 \pm 0,1	41,9 \pm 0,1	41,7 \pm 0,1	41,4 \pm 0,1
TA 400	41,9 \pm 0,1	40,7 \pm 0,7	41,9 \pm 0,1	41,8 \pm 0,1	41,4 \pm 0,2	41,1 \pm 0,4

b*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	24,9±0,1	26,6±0,1	27,8±0,2	28,3±0,1	29,4±0,4	30,5±0,3
GA 100	24,9±0,1	26,3±0,1	27,5±0,1	27,8±0,1	29,0±0,1	29,9±0,1
GA 200	25,0±0,1	26,4±0,1	27,6±0,1	27,8±0,1	28,6±0,2	29,5±0,2
GA 400	25,0±0,1	26,3±0,1	27,6±0,1	27,9±0,2	28,8±0,2	29,5±0,4
TA 100	25,2±0,1	26,6±0,1	27,6±0,1	27,9±0,2	28,4±0,3	29,2±0,3
TA 200	25,2±0,1	26,4±0,4	27,5±0,1	27,8±0,1	28,4±0,1	29,2±0,1
TA 400	25,4±0,1	26,7±0,1	27,8±0,1	28,3±0,3	29,1±0,6	31,5±2,8

C*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	48,7±0,1	49,1±0,4	50,0±0,4	50,5±0,1	50,7±0,5	51,5±0,3
GA 100	48,8±0,1	49,5±0,1	50,6±0,1	50,2±0,1	50,7±0,1	51,1±0,1
GA 200	48,9±0,1	49,4±0,5	50,7±0,1	50,3±0,1	50,7±0,1	50,6±0,2
GA 400	49,0±0,1	49,7±0,1	50,7±0,1	50,5±0,1	50,9±0,2	50,9±0,4
TA 100	48,8±0,1	48,9±0,7	50,0±0,6	49,9±0,2	50,2±0,1	50,6±0,1
TA 200	48,8±0,1	47,5±1,8	50,5±0,1	50,2±0,1	50,4±0,1	50,6±0,2
TA 400	49,0±0,1	48,7±0,6	50,3±0,1	50,5±0,1	50,6±0,5	51,8±2,0

În ceea ce privește tendința de evoluție a luminozității, acest parametru a fost foarte instabil în primele două săptămâni de depozitare, dar a atins valori stabile la sfârșitul celei de a 3-a săptămâni și a rămas neschimbat după aceea. Doar o ușoară scădere a fost observată în extractul care conține acid tanic, în cea mai mare concentrație.

Potrivit lui Gonzalez-Manzano și colab. (2009), copigmentarea poate determina o scădere de luminozitate (L^*) și o creștere a cromaticității (C^*) [78]. Pe de altă parte, intensificarea polimerizării antocienilor în timpul maturării vinurilor, precum și scăderea gradului de copigmentare poate conduce la valori mai mari de L^* și valori mai scăzute ale C^* [90].

Evoluția componentei roșu/verde a arătat aceeași evoluție în toate soluțiile cu o scădere inițială a tonurilor roșii, stabilizarea suplimentară a culorii în următoarele 4 săptămâni și o scădere mai dramatică în a 7-a săptămână de depozitare. Adăugarea cofactorilor, și anume acidul galic și acidul tanic, nu a avut un efect benefic la păstrarea pigmentilor roșii. Concentrația ridicată a acidului tanic din extract a contribuit la pierderea nuanței și evoluția culorii spre nuanțe de verde.

Rezultatele pentru parametrul albastru/galben au arătat că acest indice este relativ stabil în timpul depozitării. Cu toate acestea, o schimbare spre tonuri mai galbene poate fi observată în a 7-a săptămână de depozitare. Alți autori au explicat acest fenomen prin formarea piranoantocienilor ce rezultă în nuanțe roșu-portocalii [158].

Evoluția cromaticității a adus o dovadă în plus că adăugarea ambilor acizi galic și tanic nu are nici un efect pozitiv asupra păstrării calității și purității culorii extractului de tescovină de struguri. Willstatter & Zollinger (1915) au remarcat intensificarea culorii atunci când taninul a fost adăugat la soluția acidă de malvidin 3-glucozidă [170]. Totuși, efectul nu a fost observat în cazul soluției diglucozidei de 3,5-cianidină [76]. Este important de remarcat faptul că intensificarea culorii este cauzată de două proprietăți, și anume, puterea de asociere și extincție a cuplului pigment-copigment [76].

În tabelul 4.11 este dată evoluția parametrului $(A-A_0)/A_0$ pe parcursul celor șapte săptămâni de depozitare. Acest parametru este recomandat de cercetători pentru evaluarea intensității copigmentării.

Tabelul 4.11. Evoluția parametrului $(A-A_0)/A_0$ în extractele de tescovină cu acid galic și acid tanic (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
GA 100	5,1 \pm 0,7	-0,6 \pm 0,1	-0,5 \pm 0,7	4,6 \pm 6,4	2,1 \pm 3,7	3,3 \pm 7,6
GA 200	5,7 \pm 0,6	0,1 \pm 0,1	12,9 \pm 7,4	-0,3 \pm 0,2	1,6 \pm 0,5	0,3 \pm 1,7
GA 400	5,7 \pm 0,7	15,2 \pm 5,9	1,1 \pm 0,6	0,3 \pm 0,1	0,7 \pm 0,9	0,5 \pm 3,9
TA 100	5,9 \pm 0,5	10,2 \pm 1,8	7,9 \pm 9,7	-0,8 \pm 0,1	0,1 \pm 0,5	-0,6 \pm 1,7
TA 200	4,2 \pm 4,0	4,6 \pm 4,9	-0,6 \pm 0,8	-1,0 \pm 0,4	0,1 \pm 0,9	-1,3 \pm 2,1
TA 400	8,5 \pm 0,6	4,6 \pm 2,2	9,8 \pm 11,4	-0,1 \pm 0,2	3,4 \pm 3,2	11,2 \pm 2,2

Durata de păstrare	$(A-A_0)/A_0$, %
24 ore	8,5 \pm 0,6
1 săpt.	4,6 \pm 2,2
2 săpt.	9,8 \pm 11,4
3 săpt.	-0,1 \pm 0,2
4 săpt.	3,4 \pm 3,2
7 săpt.	11,2 \pm 2,2

Evoluția parametrului $(A-A_0)/A_0$ pe parcursul celor șapte săptămâni de depozitare a arătat că chiar dacă acest parametru crește în primele două săptămâni, atunci când sunt adăugate concentrații mai mari de acid galic, creșterea culorii este foarte instabilă. În majoritatea cazurilor, în săptămânile următoare absorbanta a atins valori inițiale pentru majoritatea extractelor. Creșterea a fost stabilă doar în extractul în care s-au adăugat 400 mg/L de acid tanic. Brouillard

și colab. (1991) au raportat, de asemenea o intensificare a culorii cu 8%, atribuită copigmentării rezultate din interacțiunea malvidin 3-glucozidei și acidului galic [77].

Procesul de copigmentare este dependent de structura chimică a copigmentului, concentrația acestuia, precum și pH-ul, și temperatura mediului. În vinurile roșii acest fenomen rezultă din faptul că există o concentrație destul de mare de antocieni (cca 1 g/L) în aceeași soluție cu cantități mai mari de alți polifenoli flavonoidici. Mai mult ca atât, copigmentarea este dependentă de pH și are un maxim la 3,5 pentru un număr de perechi pigment-copigment [76]. Trebuie de remarcat că pH-ul extractelor cercetate în studiul de față a fost de 4,36. Adăugarea sărurilor de Na sau Mg ar putea stabiliza complexul format între pigment și copigment [76], deci, ar fi interesant a studia schimbarea parametrilor de culoare în prezența copigmenților și diferitor săruri utilizate în mod normal la prelucrarea produselor alimentare.

Autorii sugerează că o concentrație minimă (35 pM) de antocieni este necesară înainte ca procesul de copigmentare să devină detectabil [171] și poate fi ușor perturbat prin diluarea cu soluții-tampon sau solvenți [76].

Solvenții organici, ca etanolul pot perturba în mod normal asociațiile fizice cum ar fi cele găsite în copigmentare, iar unii autori au constatat că fenomenul dispare la 50% etanol, care se utilizează pentru diluarea soluției. Nu este însă clar dacă etanolul afectează antocienii liberi, pigmentul polimeric sau pe ambii [76]. Copigmentarea este observată și în vinurile care conțin niveluri ridicate de etanol (14-20%) cum ar fi vinul de Porto.

Gauche și colab. (2010) au cercetat, de asemenea, efectele protectoare ale acizilor organici asupra antocienilor din extractele de struguri Cabernet Sauvignon și au constatat că acizii organici au îmbunătățit stabilitatea formelor antocianice colorate. Efectul a fost studiat pentru diferite valori ale pH-ului și, în cele mai multe cazuri, capacitatea de protecție a scăzut în următoarea ordine de acid tanic > acid galic > acid cafeic > acid ferulic. Acidul tanic a fost cel mai bun copigment în sistemul lor model, la fel ca și în studiul de față [79].

În tabelul 4.12 este dată influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L*) luminozitate, (a*) componenta roșu/verde, (b*) componenta galben/albastru, (C*) cromaticitate ale extractului de aronie.

Tabelul 4.12. Influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L*) luminozitate, (a*) componenta roșu/verde, (b*) componenta galben/albastru, (C*) cromaticitate ale extractului de aronie (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

L*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	42,3±0,1	42,6±0,6	42,5±0,6	44,2±0,1	43,4±0,6	43,4±0,2
GA 100	42,3±0,1	43,6±0,1	43,7±0,1	44,6±0,1	44,9±0,1	45,1±0,2
GA 200	42,2±0,1	43,6±0,1	43,6±0,2	44,6±0,2	44,5±0,1	44,1±0,7
GA 400	42,1±0,1	43,7±0,2	43,4±0,2	44,5±0,2	44,3±0,1	45,0±0,3
TA 100	42,1±0,1	41,8±2,4	42,2±1,7	43,7±1,0	44,1±1,1	44,8±0,6
TA 200	42,2±0,1	38,6±4,0	43,6±0,1	44,5±0,1	44,9±0,1	44,9±0,3
TA 400	42,2±0,1	40,9±1,4	42,5±0,1	43,9±0,7	43,0±1,0	42,5±0,6

a*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	41,8±0,1	41,3±0,4	41,6±0,3	41,8±0,1	41,3±0,3	41,5±0,2
GA 100	42,0±0,1	41,9±0,4	42,5±0,1	41,8±0,1	41,6±0,1	41,4±0,2
GA 200	42,0±0,1	42,1±0,1	42,6±0,1	42,0±0,1	41,8±0,2	41,1±0,1
GA 400	42,1±0,1	42,2±0,1	42,5±0,1	42,2±0,1	42,0±0,4	41,5±0,2
TA 100	41,8±0,1	41,0±1,0	41,7±0,8	41,4±0,4	41,4±0,4	41,3±0,1
TA 200	41,8±0,1	39,4±1,9	42,3±0,1	41,9±0,1	41,7±0,1	41,4±0,1
TA 400	41,9±0,1	40,7±0,7	41,9±0,1	41,8±0,1	41,4±0,2	41,1±0,4

b*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	24,9±0,1	26,6±0,1	27,8±0,2	28,3±0,1	29,4±0,4	30,5±0,3
GA 100	24,9±0,1	26,3±0,1	27,5±0,1	27,8±0,1	29,0±0,1	29,9±0,1
GA 200	25,0±0,1	26,4±0,1	27,6±0,1	27,8±0,1	28,6±0,2	29,5±0,2
GA 400	25,0±0,1	26,3±0,1	27,6±0,1	27,9±0,2	28,8±0,2	29,5±0,4
TA 100	25,2±0,1	26,6±0,3	27,6±0,2	27,9±0,2	28,4±0,3	29,2±0,3
TA 200	25,2±0,1	26,4±0,4	27,5±0,1	27,8±0,1	28,4±0,1	29,2±0,1
TA 400	25,4±0,1	26,7±0,1	27,8±0,1	28,3±0,3	29,1±0,6	31,5±2,8

C*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	48,7±0,1	49,1±0,4	50,0±0,4	50,5±0,1	50,7±0,5	51,5±0,3
GA 100	48,8±0,1	49,5±0,1	50,6±0,1	50,2±0,1	50,7±0,1	51,1±0,1
GA 200	48,9±0,1	49,4±0,5	50,7±0,1	50,3±0,1	50,7±0,1	50,6±0,2
GA 400	49,0±0,1	49,7±0,1	50,7±0,1	50,5±0,1	50,9±0,2	50,9±0,4
TA 100	48,8±0,1	48,9±0,7	50,0±0,6	49,9±0,2	50,2±0,1	50,6±0,1
TA 200	48,8±0,1	47,5±1,8	50,5±0,1	50,2±0,1	50,4±0,1	50,6±0,2
TA 400	49,0±0,1	48,7±0,6	50,3±0,1	50,5±0,1	50,6±0,5	51,8±2,0

S-a constatat că valorile luminozității și ale parametrului roșu/verde au fost relativ stabile, în timp ce valorile parametrului albastru/galben au crescut pe parcursul celor șapte săptămâni de depozitare. Tendința de evoluție a parametrului b^* denotă o schimbare a culorii spre nuanțe de galben și maro. Același fenomen poate fi observat din evoluția nuanței și descreșterea graduală. Aceeași tendință este caracteristică pentru toate extractele, indiferent de concentrația și tipul de copigment adăugat.

Evoluția cromaticității arată că acizii galic și tanic nu exercită nici un efect pozitiv pentru păstrarea calității culorii extractului de aronie. Sintzing și colab. (2002) au cercetat efectul diferitelor reacții între antocieni și polifenoli și au constatat că acilarea cu acizii cinamici schimbă unghiul de nuanță spre violet și crește activitatea antioxidantă [172].

În tabelul 4.13 este dată influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L^*) luminozitate, (a^*) componenta roșu/verde, (b^*) componenta galben/albastru, (C^*) cromaticitate ale extractului de măceș.

Tabelul 4.13. Influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L^*) luminozitate, (a^*) componenta roșu/verde, (b^*) componenta galben/albastru, (C^*) cromaticitate ale extractului de măceș (rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard)

L^*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	92,3 \pm 0,1	91,8 \pm 0,5	90,5 \pm 0,4	91,4 \pm 1,3	90,8 \pm 0,4	89,0 \pm 0,6
GA 100	91,9 \pm 0,1	91,7 \pm 0,1	91,7 \pm 0,3	91,1 \pm 0,3	91,9 \pm 0,2	90,0 \pm 0,7
GA 200	92,9 \pm 0,1	91,6 \pm 0,7	91,4 \pm 0,5	91,7 \pm 0,6	91,9 \pm 0,4	90,1 \pm 0,7
GA 400	92,5 \pm 0,4	91,9 \pm 0,8	91,7 \pm 0,2	91,8 \pm 0,3	94,7 \pm 4,7	90,0 \pm 0,5
TA 100	92,1 \pm 0,8	92,5 \pm 0,2	90,7 \pm 0,2	91,5 \pm 0,3	91,9 \pm 0,2	90,1 \pm 0,6
TA 200	92,4 \pm 0,3	91,3 \pm 0,6	92,6 \pm 0,4	91,1 \pm 1,1	91,4 \pm 0,3	90,5 \pm 0,4
TA 400	92,7 \pm 0,1	92,6 \pm 0,2	91,7 \pm 0,6	90,2 \pm 4,5	91,4 \pm 0,2	91,1 \pm 0,1

a^*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	0,5 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1	0,8 \pm 0,2	0,9 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1
GA 100	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1
GA 200	0,4 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1
GA 400	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1
TA 100	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1	0,8 \pm 0,2	0,7 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1
TA 200	0,5 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,8 \pm 0,2	0,8 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1
TA 400	0,5 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	1,0 \pm 0,7	0,8 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1

b*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	18,3±0,1	19,0±0,6	19,7±0,7	19,6±0,9	20,2±0,7	20,8±0,8
GA 100	18,3±0,1	18,6±0,1	19,0±0,1	19,2±0,1	19,3±0,1	19,7±0,1
GA 200	18,2±0,1	18,7±0,2	19,4±0,3	19,2±0,1	19,2±0,2	19,8±0,5
GA 400	18,3±0,1	18,7±0,2	19,2±0,1	19,1±0,1	19,3±0,1	19,9±0,1
TA 100	18,3±0,1	18,6±0,1	19,4±0,1	19,3±0,1	19,1±0,2	19,9±0,4
TA 200	18,3±0,1	18,7±0,2	18,8±0,2	19,2±0,3	19,2±0,2	19,6±0,1
TA 400	18,2±0,1	18,3±0,1	19,0±0,1	19,3±1,0	18,9±0,1	19,2±0,2

C*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	18,3±0,1	19,0±0,6	19,7±0,7	19,6±0,9	20,2±0,7	20,8±0,8
GA 100	18,3±0,1	18,7±0,1	19,0±0,1	19,3±0,1	19,3±0,1	19,7±0,1
GA 200	18,2±0,1	18,8±0,2	19,4±0,3	19,2±0,1	19,2±0,2	19,9±0,5
GA 400	18,3±0,1	18,7±0,2	19,2±0,1	19,2±0,1	19,3±0,1	19,9±0,1
TA 100	18,3±0,1	18,6±0,1	19,4±0,1	19,3±0,1	19,1±0,2	19,9±0,4
TA 200	18,3±0,1	18,8±0,2	18,8±0,2	19,2±0,3	19,2±0,2	19,7±0,1
TA 400	18,2±0,1	18,3±0,1	19,0±0,1	19,3±1,0	18,9±0,1	19,2±0,2

Rezultatele pentru L* au arătat că luminozitatea tuturor extractelor a scăzut de la valori în jur de 92 până la valori în jur de 90. Această schimbare sugerează o degradare a pigmentilor în timpul depozitării. Chiar dacă scăderea este mai mare în proba de referință, nici o îmbunătățire semnificativă nu a putut fi observată în extractele care conțin acizi galic și tanic. Evoluția parametrului a* arată că componenta roșu/verde crește în timp, demonstrând o schimbare de culoare spre nuanțe roșiatice și brune, fenomen care ar putea fi explicat prin reacțiile de oxidare ce au loc în extract.

Creșterea cea mai semnificativă a fost observată în proba de control în timp ce această tendință a fost încetinită de prezența ambilor acizi galic și tanic, cu protecția mai accentuată manifestată de acidul tanic, la concentrația cea mai înaltă testată, adică 400 mg/L. Componenta albastru/galben a crescut, de asemenea, în timp, cu creșterea cea mai pronunțată în proba-martor. Se pare că atât acizii galic și tanic au efect protector asupra pigmentilor și previn trecerea culorii spre nuanțe mai galbene. Creșterea cromaticității se datorează în principal schimbării nuanței spre galben. Se pare că această intensificare a tonurilor gălbui a mărit calitatea generală a culorii extractului de măceș.

În tabelul 4.14 este dată influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L*) luminozitate, (a*) componenta roșu/verde, (b*) componenta galben/albastru, (C*) cromaticitate ale extractului de cătină albă.

Tabelul 4.14. Influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L*) luminozitate, (a*) componenta roșu/verde, (b*) componenta galben/albastru, (C*) cromaticitate ale extractului de cătină albă

L*						
Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	97,6±0,1	96,7±1,3	98,2±0,1	98,3±0,1	97,9±0,2	97,5±0,2
GA 100	97,8±0,1	98,3±0,1	98,1±0,1	98,3±0,1	97,9±0,2	97,2±0,1
GA 200	98,0±0,1	98,2±0,1	97,3±0,4	98,4±0,1	98,0±0,1	97,4±0,1
GA 400	97,7±0,4	98,2±0,1	97,5±0,7	98,3±0,1	98,0±0,2	97,5±0,2
TA 100	97,9±0,2	96,3±2,1	98,1±0,1	98,4±0,1	97,7±0,6	97,6±0,3
TA 200	96,6±0,3	97,5±0,3	97,8±0,5	98,4±0,1	98,0±0,1	97,3±0,3
TA 400	97,1±0,7	96,6±1,8	97,7±0,5	98,4±0,1	98,1±0,2	97,2±0,2

a*						
Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	-1,2±0,1	-1,2±0,1	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,2±0,1
GA 100	-1,2±0,1	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,2±0,1
GA 200	-1,2±0,1	-1,3±0,1	-1,2±0,1	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,2±0,1
GA 400	-1,2±0,1	-1,3±0,1	-1,2±0,1	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,2±0,1
TA 100	-1,2±0,1	-1,1±0,2	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,2±0,1	-1,2±0,1
TA 200	-1,1±0,1	-1,2±0,1	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,2±0,1
TA 400	-1,2±0,1	-1,1±0,2	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,3±0,1	-1,2±0,1

b*						
Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	8,0±0,1	8,4±0,6	8,0±0,1	7,8±0,1	8,1±0,1	8,5±0,1
GA 100	7,9±0,1	7,8±0,1	8,0±0,1	7,8±0,1	8,1±0,1	8,6±0,1
GA 200	7,8±0,1	7,9±0,1	8,3±0,1	7,9±0,1	8,0±0,1	8,5±0,1
GA 400	8,0±0,2	7,9±0,1	8,2±0,3	7,8±0,1	8,0±0,1	8,4±0,1
TA 100	7,9±0,1	8,6±0,8	7,9±0,1	7,8±0,1	7,9±0,1	8,3±0,2
TA 200	8,4±0,2	8,1±0,1	8,1±0,2	7,8±0,1	8,0±0,1	8,5±0,2
TA 400	8,3±0,6	8,5±0,7	8,2±0,3	7,9±0,1	7,9±0,1	8,6±0,1

C*						
Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	8,1±0,1	8,5±0,6	8,1±0,1	7,9±0,1	8,2±0,1	8,6±0,1
GA 100	8,0±0,1	7,9±0,1	8,1±0,1	8,0±0,1	8,2±0,1	8,7±0,1
GA 200	7,9±0,1	8,0±0,1	8,4±0,1	8,0±0,1	8,1±0,1	8,6±0,1
GA 400	8,1±0,2	8,0±0,1	8,3±0,3	7,9±0,1	8,1±0,1	8,5±0,1
TA 100	8,0±0,1	8,6±0,8	8,0±0,8	7,9±0,1	8,0±0,1	8,4±0,1
TA 200	8,5±0,2	8,2±0,1	8,2±0,1	7,9±0,1	8,1±0,1	8,6±0,2
TA 400	8,4±0,6	8,6±0,6	8,3±0,6	8,0±0,1	8,0±0,1	8,7±0,1

În general, culoarea extractului de cătină albă a fost stabilă și nu s-a modificat pe parcursul a șapte săptămâni. Rezultatele din primele două săptămâni demonstrează anumite diferențe între extracte, însă până la sfârșitul perioadei de observare, toți parametrii au avut valori foarte similare în toate extractele. După săptămâna a 4-a se observă o tendință de schimbare graduală a tuturor parametrilor. Astfel, luminozitatea începe să descrească, indicând o întunecare a culorii. Componentele cromatice roșu/verde (a*) și albastru/galben (b*) încep să crească, pe de altă parte. Această creștere denotă intensificarea nuanțelor galbene și cărămizii în extracte. Probabil, acest fenomen este cauzat de oxidarea polifenolilor. Nici chiar adaosul de acid galic și acid tanic nu au încetinit acest proces.

În tabelul 4.15 este dată influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L*) luminozitate, (a*) componenta roșu/verde, (b*) componenta galben/albastru, (C*) cromaticitate ale extractului de scoruș.

Tabelul 4.15. Influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L*) luminozitate, (a*) componenta roșu/verde, (b*) componenta galben/albastru, (C*) cromaticitate ai extractului de scoruș (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

L*						
Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	94,4±0,1	95,4±0,1	93,7±1,1	96,0±0,1	95,9±0,2	95,2±1,3
GA 100	94,4±0,1	95,3±0,1	94,7±0,1	95,1±0,2	95,0±1,1	93,6±0,1
GA 200	94,4±0,1	94,4±1,7	95,0±0,4	95,7±0,4	96,6±0,1	94,5±0,1
GA 400	95,8±0,1	95,9±0,1	95,0±0,3	95,9±0,4	96,5±0,2	95,9±1,4
TA 100	94,6±0,1	95,9±0,3	96,0±0,1	94,6±2,1	96,2±0,9	96,9±0,2
TA 200	95,3±0,1	95,7±0,2	95,8±0,3	96,5±0,2	96,2±0,5	96,1±1,0
TA 400	95,1±0,1	95,7±0,1	96,0±0,1	96,2±0,1	96,3±0,1	95,4±0,7

a*						
Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	-0,6±0,1	-0,8±0,1	-0,5±0,2	-0,9±0,1	-0,9±0,1	-0,7±0,1
GA 100	-0,6±0,1	-0,8±0,1	-0,7±0,1	-0,7±0,1	-0,7±0,2	-0,5±0,1
GA 200	-0,6±0,1	-0,6±0,3	-0,7±0,1	-0,8±0,1	-1,0±0,1	-0,7±0,1
GA 400	-0,8±0,1	-0,9±0,1	-0,7±0,1	-0,9±0,1	-1,0±0,1	-0,9±0,1
TA 100	-0,6±0,1	-0,9±0,1	-0,9±0,1	-0,7±0,1	-0,9±0,1	-1,0±0,1
TA 200	-0,7±0,1	-0,8±0,1	-0,8±0,1	-0,9±0,1	-0,9±0,1	-0,9±0,2
TA 400	-0,7±0,1	-0,8±0,1	-0,9±0,1	-0,9±0,1	-0,9±0,1	-0,8±0,1

b*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	15,1±0,1	14,5±0,1	15,6±0,6	14,0±0,1	14,0±0,2	14,7±0,4
GA 100	15,1±0,1	14,6±0,1	15,1±0,1	14,6±0,7	14,5±0,7	15,3±0,1
GA 200	14,8±0,5	14,9±1,0	14,8±0,2	14,2±0,3	13,4±0,1	14,0±0,9
GA 400	14,1±0,4	14,1±0,2	14,9±0,3	14,1±0,4	13,4±0,1	14,0±1,2
TA 100	15,0±0,1	14,0±0,2	14,1±0,1	14,7±1,4	13,6±0,6	13,2±0,1
TA 200	14,4±0,1	14,2±0,1	14,2±0,2	13,5±0,1	13,6±0,4	13,7±0,7
TA 400	14,6±0,1	14,1±0,1	14,1±0,1	13,7±0,1	13,7±0,2	14,2±0,4

C*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	15,1±0,1	14,5±0,1	15,6±0,6	14,0±0,1	14,0±0,1	14,7±0,4
GA 100	15,1±0,0	14,6±0,1	15,2±0,1	14,6±0,1	14,6±0,7	15,3±0,1
GA 200	14,9±0,5	14,9±1,0	14,8±0,2	14,2±0,3	13,4±0,1	14,1±0,9
GA 400	14,1±0,4	14,1±0,1	14,9±0,3	14,1±0,4	13,5±0,1	14,0±1,2
TA 100	15,0±0,1	14,1±0,2	14,1±0,1	14,7±1,3	13,7±0,6	13,2±0,1
TA 200	14,4±0,1	14,2±0,1	14,2±0,2	13,5±0,1	13,7±0,4	13,7±0,6
TA 400	14,6±0,1	14,2±0,1	14,2±0,1	13,7±0,1	13,7±0,2	14,2±0,4

Rezultatele pentru extractul de scoruș reflectă anumite diferențe între valorile parametrilor CIELab ai extractelor. Extractul în care a fost adăugat acidul tanic în concentrația 100 mg/L a manifestat tendințe de evoluție diferite în comparație cu celelalte extracte. În general, luminozitatea extractelor a fost stabilă. Acest parametru a crescut cel mai mult (cca 3 unități) în extractul cu acid galic 100 mg/L. Componentele cromatice a* și b* au fost în general stabile, manifestând o ușoară creștere spre sfârșitul perioadei de stocare, cu excepția extractului cu acid tanic (100 mg/L) unde acești parametri au avut tendință de descreștere. La fel, în acest extract, luminozitatea a avut tendință de creștere.

În tabelul 4.16 este dată influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L*) luminozitate, (a*) componenta roșu/verde, (b*) componenta galben/albastru, (C*) cromaticitate ale extractului de păducel.

Tabelul 4.16. Influența copigmenților acid galic și acid tanic asupra parametrilor de culoare: (L*) luminozitate, (a*) componenta roșu/verde, (b*) componenta galben/albastru, (C*) cromaticitate ale extractului de păducel (rezultatele sunt prezentate ca medie±abatere standard)

L*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	95,3±0,7	95,9±0,1	96,5±0,1	96,7±0,1	95,6±0,1	94,5±1,2
GA 100	93,3±0,3	96,0±0,5	96,7±0,1	96,7±0,1	95,5±0,1	94,8±0,8
GA 200	94,1±1,8	96,0±0,1	96,6±0,1	96,7±0,1	95,7±0,2	94,3±0,4
GA 400	95,8±0,1	96,3±0,3	95,7±0,8	96,4±0,2	95,4±0,3	95,3±0,5
TA 100	95,8±0,1	96,2±0,6	96,5±0,1	96,6±0,1	95,1±1,0	93,9±1,3
TA 200	95,6±0,2	94,1±0,4	96,5±0,1	96,5±0,1	95,5±0,5	94,5±0,3
TA 400	95,5±0,2	95,6±0,4	95,7±0,6	95,4±0,2	95,1±0,1	94,2±0,1

a*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	-1,3±0,1	-1,4±0,1	-1,5±0,1	-1,5±0,1	-1,4±0,1	-1,0±0,1
GA 100	-1,0±0,1	-1,4±0,1	-1,6±0,1	-1,5±0,1	-1,4±0,1	-1,3±0,1
GA 200	-1,1±0,3	-1,4±0,1	-1,6±0,1	-1,6±0,1	-1,5±0,1	-1,3±0,1
GA 400	-1,4±0,1	-1,5±0,1	-1,5±0,1	-1,6±0,1	-1,5±0,1	-1,5±0,1
TA 100	-1,4±0,1	-1,5±0,1	-1,5±0,1	-1,5±0,1	-1,4±0,1	-1,2±0,2
TA 200	-1,3±0,1	-1,2±0,1	-1,5±0,1	-1,5±0,1	-1,4±0,1	-1,2±0,1
TA 400	-1,3±0,1	-1,4±0,1	-1,4±0,1	-1,4±0,1	-1,4±0,1	-1,2±0,1

b*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	16,3±0,3	16,6±0,1	17,1±0,1	17,0±0,1	17,6±0,1	18,7±0,5
GA 100	16,9±0,1	16,4±0,1	16,9±0,1	17,0±0,1	17,6±0,1	18,6±0,2
GA 200	16,5±0,6	16,3±0,1	16,9±0,1	16,9±0,1	17,8±0,2	18,6±0,1
GA 400	15,9±0,1	16,2±0,1	17,2±0,1	17,1±0,1	18,2±0,1	18,7±0,1
TA 100	16,2±0,1	16,5±0,1	17,2±0,3	17,1±0,1	17,7±0,3	18,6±0,4
TA 200	16,7±0,1	17,6±0,1	17,6±0,1	17,6±0,1	18,1±0,1	19,0±0,1
TA 400	16,8±0,1	17,4±0,1	18,0±0,1	18,3±0,1	18,7±0,1	19,7±0,1

C*

Proba	24 ore	1 săpt.	2 săpt.	3 săpt.	4 săpt.	7 săpt.
Control	16,4±0,3	16,7±0,1	17,2±0,1	17,1±0,1	17,6±0,1	18,8±0,5
GA 100	16,9±0,1	16,4±0,1	16,9±0,1	17,0±0,1	17,6±0,1	18,7±0,2
GA 200	16,6±0,6	16,4±0,1	17,0±0,1	17,0±0,1	17,5±0,2	18,7±0,1
GA 400	16,0±0,1	16,3±0,1	17,3±0,2	17,2±0,1	17,7±0,1	18,8±0,1
TA 100	16,2±0,1	16,5±0,3	17,2±0,1	17,2±0,1	17,7±0,3	18,7±0,4
TA 200	16,7±0,1	17,7±0,1	17,6±0,1	17,7±0,1	18,1±0,1	19,0±0,1
TA 400	16,9±0,1	17,4±0,1	18,1±0,1	18,4±0,1	18,8±0,1	19,8±0,1

În cazul acestui extract evoluția tuturor parametrilor a avut aceleași tendințe ca și ale extractului de cătină albă. Astfel, culoarea extractului a fost stabilă și nu s-a modificat pe parcursul a șapte săptămâni. După săptămâna a 4-a se observă o tendință de schimbare graduală a tuturor parametrilor. Pe de altă parte, luminozitatea începe să descrească, componentele cromatice roșu/verde (a^*) și albastru/galben (b^*) încep să crească.

4.3. Efectul încapsulării asupra activității antioxidante a extractului de tescovină

În ultimii ani, încapsularea s-a dezvoltat mult ca strategie de sporire a biodisponibilității substanțelor bioactive care sunt absorbite greu de către sistemul digestiv uman. Proteinele, în calitate de polimeri naturali, demonstrează avantaje unice cum ar fi abundența în natură, natura amfifilică, biodegradabilitatea naturală, proprietăți de gelificare și emulsificare, toxicitate joasă etc. [173, 174]. Așadar, proteinele sunt o matrice foarte versatilă. Până în prezent au fost publicate o serie de studii privind încapsularea unor molecule ca retinolul, vitamina D₂, acizii grași, colesterolul și polifenolii în β -lactoglobulină [173]. În comparație cu alte proteine hidrofobe așa ca zeina și glutenul, β -lactoglobulina are solubilitate mai bună la diferite valori de pH și forță ionică. Însă, această proteină nu are capacitate de încapsulare înaltă din cauza conținutului relativ scăzut de aminoacizi hidrofobi (53,4% raport de concentrație molară). În schimb, în comparație cu alte proteine alimentare, β -lactoglobulina posedă două proprietăți unice: rezistență la acțiunea pepsinei și capacitatea de a fi digerat lent de către tripsină. Aceste proprietăți digestive motivează alegerea β -lactoglobulinei în calitate de încapsulant pentru livrarea controlată a compușilor bioactivi în tractul digestiv. Există mai multe probleme legate de producția industrială a sistemelor de livrare proteice ale compușilor bioactivi. În primul rând, aceste sisteme sunt sensibile la schimbările de mediu, iar dimensiunea și uniformitatea particulelor depinde de solventul organic, pH, temperatură și forță ionică. Alte preocupări sunt legate de tratamentele termice utilizate în mod tradițional în industria alimentară, cum ar fi sterilizarea, uscarea prin pulverizare etc. care vor cauza denaturarea nedorită a β -lactoglobulinei [173].

În prima experiență a fost efectuată încapsularea termică, utilizând extractul de tescovină brut obținut imediat după procesul de extracție, fără a efectua vreo pregătire prealabilă. Un exemplu de determinare a dimensiunii particulelor este dat în figura 4.1. Toate rezultatele sunt prezentate în raportul din anexa 4. Concentrația totală a polifenolilor în extract a fost de 4967 mg GAE/L.

Z-Average (d.nm): 471,9
Pdi: 0,359
Intercept: 0,906
Result quality : Good

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Peak 1:	682,2	91,6	233,0
Peak 2:	98,85	6,5	24,95
Peak 3:	5392	1,9	652,5

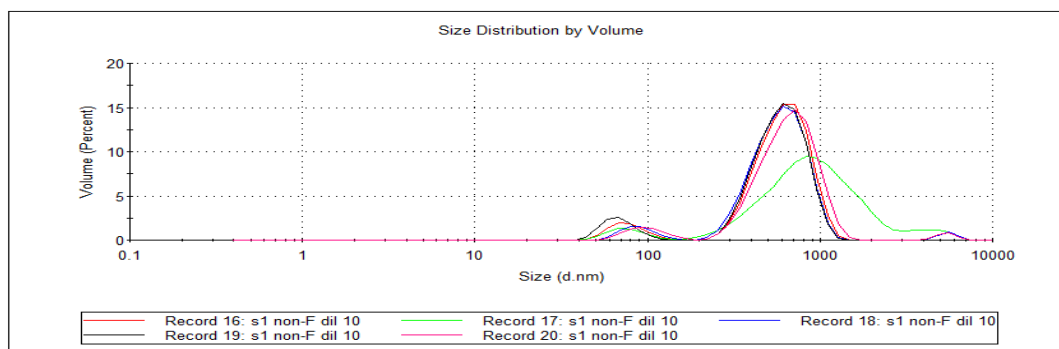


Fig. 4.1. Dimensiunea particulelor extractului brut de tescovină

Având în vedere că membrana filtrantă are dimensiunea porilor de 50 kDa, există probabilitatea că unii polifenoli nu trec în permeat pentru că ar fi încapsulați, dar datorită dimensiunii mari a moleculelor. Din această cauză, în cadrul altei experiențe a fost studiat procesul de încapsulare al extractului deja filtrat prin filtrul cu dimensiunea porilor menționată anterior. Un exemplu de determinare a dimensiunii particulelor este reprezentat în figura 4.2. Concentrația totală a polifenolilor în extractul folosit pentru încapsulare a fost de 416 mg GAE/L.

Z-Average (d.nm): 253,3
Pdi: 0,242
Intercept: 0,963
Result quality : Good

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Peak 1:	372,9	97,2	184,8
Peak 2:	4972	2,8	825,2
Peak 3:	0,000	0,0	0,000

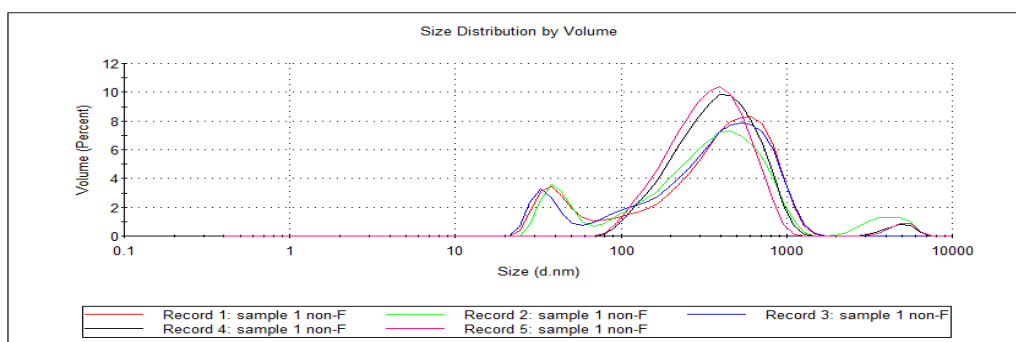


Fig. 4.2. Dimensiunea particulelor obținute după încapsularea extractului filtrat

În cadrul unui alt experiment, extractul de tescovină a fost diluat pentru a reduce concentrația totală a polifenolilor. Un exemplu al determinării dimensiunii particulelor este reprezentat în figura 4.3. În același raport menționat anterior sunt date și alte rezultate. Concentrația polifenolilor în extractul folosit pentru încapsulare determinată cu ajutorul reactivului Folin-Ciocalteu a fost de 1250 mg GAE/L.

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.n...)
Z-Average (d.nm): 209,5	Peak 1: 118,5	21,5	29,86
Pdl: 0,276	Peak 2: 333,5	34,9	138,9
Intercept: 0,935	Peak 3: 1663	43,6	828,0
Result quality : Good			

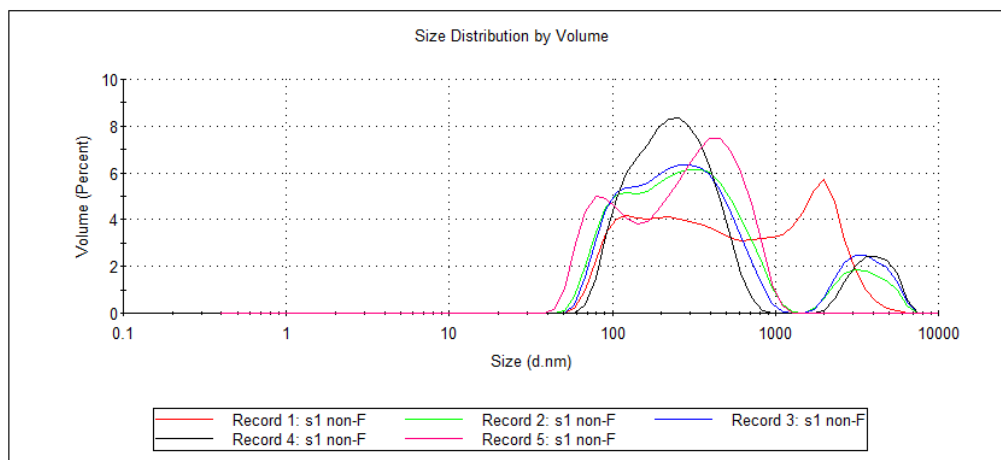


Fig. 4.3. Dimensiunea particulelor determinată după încapsularea extractului diluat

Având în vedere că au fost recuperați 4 mL de permeat și 1 mL retentat, au fost calculate retențiile polifenolilor totali. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.19. Rezultatele calculate pentru retentat caracterizează doar retentatul, oferind informații valoroase pentru utilizarea acestuia în formulările alimentare.

Capacitatea de încapsulare depinde mult de forțele de interacțiune dintre agentul încapsulant și compusul încapsulat. Forțele de asociere cum ar fi legăturile de hidrogen, interacțiunile hidrofobe și interacțiunile van der Waals, sunt responsabile de formarea legăturilor dintre agentul încapsulant și compusul încapsulat. Dispersia stabilă este crucială pentru îmbunătățirea biodisponibilității compușilor bioactivi încapsulați, fiind în mare măsură influențată de interacțiunile de atracție și respingere dintre moleculele care transportă compușii bioactivi. Interacțiunile atractive includ legăturile de hidrogen, interacțiunile van de Waals și cele hidrofobe, forțele electrostatice de asociere și atracție. Interacțiunile de respingere, pe de altă parte, includ repulsia electrostatică și sterică. Posesia de grupări hidrofobe (inele aromatice) sau grupări hidrofile (de exemplu, -OH sau -NH₂) este un factor major pentru interacțiunea hidrofobă sau respectiv pentru legarea la hidrogen. Sarcina superficială joacă un rol esențial în ceea ce privește tipul și magnitudinea interacțiunilor electrostatice. Acest parametru este de regulă determinat de potențialul zeta evaluat prin măsurarea mobilității electroforetice [173, 175].

Tabelul 4.17. Rezultatele determinărilor după procesul de încapsulare și filtrare

Proba	Dimensiunea particulelor, nm	Polifenoli totali, mg GAE/L	Acizi cinamici, mg CAE/L	Flavonoli, mg QE/L	Activitatea antioxidantă, μM TE/L
Extract filtrat (413 mgGAE/L) Media a 2 încercări, Retentat	209 \pm 63	629 \pm 144	165 \pm 163	178 \pm 14	3248 \pm 2450
Extract filtrat Media a 2 încercări, permeat		131 \pm 41	123 \pm 7	12 \pm 5	930 \pm 197
Extract diluat (cca 1250 mg GAE/L) Media a 2 încercări, Retentat	218 \pm 12	2155 \pm 591	259 \pm 96	255 \pm 108	12817 \pm 1839
Extract diluat (cca 1250 mgGAE/L) Media a 2 încercări, permeat		163 \pm 82	17 \pm 8	21 \pm 1	1697 \pm 298
Extract nediluat 1 probă, retentat	471	6738 \pm 113	472 \pm 6	426 \pm 13	35141 \pm 1220
Extract nediluat 1 probă, permeat		267 \pm 10	33 \pm 4	23 \pm 8	1729 \pm 160

Procesul tipic pentru prepararea nanoparticulelor utilizând proteine foarte solubile cum ar fi β -lactoglobulina este numit, de regulă, de- sau antisolvatare. Când sunt dizolvate în apă, moleculele de β -lactoglobulină au forma unor "sfere" pliate compact, cu grupele încărcate negativ expuse la solvent. Adăugarea unui antisolvent (de exemplu, etanol) declanșează deplierea parțială a proteinei, expunând siturile sale hidrofobe care erau inițial ascunse. Sarcina suprafeței proteinei este, de asemenea, afectată de antisolvent, deoarece acesta concurează cu proteina pentru moleculele de apă. Aceste procese conduc la asocierea hidrofobă și la o repulsie electrostatică redusă, ambele facilitând agregarea proteinelor. Odată cu creșterea concentrației de antisolvent, agregarea se intensifică și se formează particule mai mari, aproape sferice. În acest moment, procesul de dizolvare poate fi inversat, adăugând apă sau evaporând antisolventul. Particulele nou formate disociază cu ușurință în această fază. Pentru a reține integritatea particulelor, pot fi adăugați agenți chimici de reticulare așa ca glutaraldehida. Aceasta reacționează cu două grupări aminice primare pe lizină, creând o legătură covalentă care menține structura particulelor. După îndepărtarea antisolventului prin evaporare, nanoparticulele își păstrează proprietățile morfologice și nu mai disociază în moleculele individuale. În ceea ce

privește substanțele bioactive, ele sunt forțate să se asocieze fie cu molecule bioactive adiacente, fie cu proteina. Interacțiunea proteină-compus bioactiv poate fi îmbunătățită prin modularea conținutului de antisolvent în timpul evaporării [175].

Compușii fenolici sunt capabili să se asocieze cu proteinele prin legături de oxigen și legături de tipul p-p. Aceste legături vor contribui la stabilitatea nanoparticulelor [173]. Rezultate similare au fost raportate și pentru particulele de β -lactoglobulină în care au fost încapsulați polifenoli din ceaiul verde [175].

În tabelul 4.18 sunt date rezultatele dimensiunilor medii ale particulelor determinate pentru fiecare concentrație testată.

Tabelul 4.18. Dimensiunea particulelor determinate pentru fiecare valoare a concentrației de polifenoli

Concentrația polifenolilor în extractul inițial, mgGAE/L (Folin-Ciocalteu)	Dimensiunea particulelor, nm
4967	472 (1 replicat)
2500	274±84 (media±AS a 3 repetări)
1250	218±12 (media±AS a 2 repetări)
416	209±63 (media±AS a 2 repetări)

Aparent, există o corelație între concentrația inițială a polifenolilor în soluție și dimensiunea particulelor. Cu toate acestea, pentru a stabili cauzalitatea sunt necesare mai multe experiențe. Având în vedere că obiectivul este de a obține particule cu diametrul de cca 200 nm, concentrația polifenolilor din soluțiile utilizate în testele ulterioare nu trebuie să depășească 1250 mg GAE/L.

Pentru prepararea nanoparticulelor de proteine este esențial controlul dimensiunilor. Dimensiunile particulelor mai mici indică o dispersie mai bună, stabilitate și suprafață mai mare, ambele fiind benefice pentru absorbția compușilor bioactivi încorporați. În plus, s-a demonstrat că particulele cu un diametru mediu de 100-600 nm pot să pătrundă în vasele de sânge din vecinătatea tumorilor [176].

În ceea ce privește proprietățile organoleptice, s-a stabilit că particulele ce au dimensiunile cuprinse în intervalul 100-1000 nm pot oferi o combinație de gust și senzație plăcute. Sistemele de livrare mai mici, cum ar fi complexe moleculare, sunt cauza unui gust neplăcut, probabil din cauza difuziei rapide. Pe de altă parte particulele mari provoacă senzații „nisipoase” sau cremoase [173].

În tabelul 4.19 sunt date valorile medii le retențiilor diferitor compuși după încapsulare.

Tabelul 4.19. Valorile medii ale retențiilor polifenolilor după încapsulare

Parametru	R%, extract diluat	R%, extract filtrat
Polifenoli totali	89,6	74,6

Retențiile au fost calculate utilizând bilanțul de masă dintre permeat și extractul original. A fost determinată o retenție mai bună în cazul extractului diluat, iar acest rezultat ar putea fi explicat fie printr-un randament mai mare în cazul utilizării unor concentrații mai mari în extractul-materie primă, fie prin reținerea compușilor fenolici mai mari de 50 kDa în porii filtrului.

4.3.1. Evoluția activității antioxidante la păstrarea extractelor încapsulate

0,25 mL de extract încapsulat (retentat), permeat și extract inițial au fost stocate în fiole Eppendorf la temperatura camerei și expuse la lumină, pentru a urmări evoluția activității antioxidante. Au fost efectuate determinări în zilele 0, 2, 5, 7 și 9.

În tabelul 4.20 sunt date rezultatele probelor obținute din extractul diluat.

Tabelul 4.20. Modificarea activității antioxidante în probele obținute din extractul diluat

Proba	Activitatea antioxidantă, $\mu\text{M TE/L}$				
	Ziua 0	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9
Retentat	17769 \pm 517	15149 \pm 3748	12643 \pm 356	13729 \pm 289	13715 \pm 2096
Permeat	1206 \pm 31	1271 \pm 115	1226 \pm 85	1064 \pm 107	1124 \pm 188
Extract original	16768 \pm 1505	25453 \pm 1312	32240 \pm 3029	18566 \pm 2100	18258 \pm 1238

Rezultatele arată că activitatea antioxidantă a extractului încapsulat a fost stabilă, astfel acest parametru scăzând ușor până în ziua a 5-a după care a rămas stabil. În comparație, activitatea antioxidantă în extractul original a crescut până în ziua a 5-a, după care a scăzut mult. O posibilă explicație pentru evoluțiile diferite ar consta în faptul că β -lactoglobulina protejează polifenolii de acțiunea factorilor externi cum ar fi oxigenul și lumina. Totuși, o scădere graduală a activității antioxidante este evidentă. Aceste modificări ar putea fi explicate prin degradarea β -lactoglobulinei [174].

În tabelul 4.21 este dată evoluția activității antioxidante în extractul filtrat.

Tabelul 4.21. Modificarea activității antioxidante în probele obținute din extractul filtrat

Proba	Activitatea antioxidantă, $\mu\text{M TE/L}$				
	Ziua 0	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9
Retentat	3735 \pm 1090	2456 \pm 19	2971 \pm 225	1927 \pm 187	2970 \pm 153
Permeat	776 \pm 141	833 \pm 36	751 \pm 91	857 \pm 183	831 \pm 192
Extract original	1732 \pm 34	1744 \pm 1960	1960 \pm 43	1879 \pm 69	1629 \pm 36

Rezultatele arată o evoluție diferită în comparație cu probele obținute din extractul diluat. În acest caz, activitatea antioxidantă are o evoluție stabilă a extractului original și o evoluție instabilă a extractului încapsulat (retentat). Rezultatele publicate de Zhang și colab. (2014) privind formarea liganzilor între β -lactoglobulină și tocoferol/resveratrol au arătat în mod similar că acest proces poate întârzia descompunerea oxidativă a acestor compuși antioxidanți. În plus, autorii au determinat că capacitatea și locul de legare a substanțelor bioactive depind de tipul și consecutivitatea adăugării acestor molecule [177]. Aceste concluzii ar putea explica evoluția diferită în extractul filtrat și cel diluat. Aceeași autori au demonstrat rolul protector al moleculelor de β -lactoglobulină față de α -tocoferol, acest fenomen fiind explicat prin formarea liganzilor între aceste două substanțe [177].

Alți cercetători au testat efectul încapsulării epigallocatehin-3-galatlui, o catehină cu potențial antioxidant identificată în ceaiul verde, în β -lactoglobulină. Ca și în studiul de față, a fost utilizată termoîncapsularea, fiind obținute particule cu dimensiunea <50 nm. În plus, s-a demonstrat că procesul de complexare a conferit protecție considerabilă catehinei studiate la păstrarea timp de 8 zile [175].

Încapsularea în β -lactoglobulină a oferit o bună protecție împotriva degradării acidului docosahexenoic în timpul unui test accelerat privind perioada de valabilitate descris de Zimet și Livney (2009) [178]. Autorii au demonstrat că doar aproximativ 5-10% de acid a degradat timp de 100 de ore la 40°C, comparativ cu aproximativ 80% în cazul acidului neîncapsulat.

4.4. Separarea polifenolilor din extractul de aronie (*Aronia melanocarpa*) cu utilizarea microspumei coloidale (CGA colloidal gas aphrons)

Având în vedere că cercetările anterioare cu privire la separarea polifenolilor utilizând microspuma coloidală au fost efectuate folosind în calitate de probă de separat extractul de tescovină, s-a decis ca experiențele din acest studiu să fie efectuate cu extract de aronie. În figura 4.3 este reprezentată faza lichidă și faza spumă după procesul de separare. Astfel, chiar și culoarea fazei spumă indică faptul ca anumiți compuși polifenolici colorați au fost separați din extractul inițial.



Fig. 4.3. Faza lichidă și faza spumă obținute după procesul de separare (Imagine: arhiva personală)

În tabelul 4.22 sunt date rezultatele pentru activitatea antioxidantă, conținutul total de polifenoli (determinat prin două metode), acizi cinamici, flavonoli și antocieni determinate în extractul original, faza lichidă și faza spumă.

Rezultatele și abaterile standard calculate incluse în tabelul 4.22 indică o repetabilitate bună a metodei. Aceste rezultate au fost folosite pentru a calcula recuperarea și factorul de separare date în tabelul 4.24. Compararea valorilor diferiților compuși după procesul de recuperare cu microspumă coloidală arată că cele mai înalte rezultate au fost obținute pentru activitatea antioxidantă și polifenolii totali (determinați prin două metode). Pentru alți compuși au fost de asemenea obținute rezultate de cca 50%, ceea ce demonstrează că separarea utilizând microspuma coloidală este o metodă simplă cu potențial înalt de separare a compușilor. Pe de altă parte, rezultatele pentru factorul de separare obținut pentru diferiți compuși indică valori similare, însă antocienii prezintă un maxim în acest caz, demonstrând cea mai înaltă afinitate pentru faza spumă ($SF=1,97$). Tween 20 este un surfactant non ionic, deci, interacțiunile de natură ionică dintre surfactant și antocieni ar putea fi excluse, explicând această afinitate înaltă prin acțiunea forțelor electrostatice și hidrofobe [103].

Tabelul 4.22. Rezultatele pentru diferite grupe de polifenoli și activitatea antioxidantă după procesul de separare (rezultatele pentru fiecare probă sunt prezentate ca medie±abatere standard a 3 determinări, de asemenea, a fost calculată media±abaterea standard a celor două probe)

Parametru	Extract inițial	Faza spumă			Faza lichidă		
		Proba 1	Proba 2	Media	Proba 1	Proba 2	Media
Activitate antioxidantă, μM TE/L	25070±1202	6651±479	6105±36	6378±386	4253±62	4175±201	4214±55
Conținut total de polifenoli (Abs280),mg GAE/L	3823±158	1295±48	1382±40	1338±61	857±8	831±11	844±18
Conținut total de polifenoli (Folin-Ciocalteu), mg GAE/L	5660±508	1190±105	1250±123	1220±43	916±68	890±20	903±18
Acizi cinamici, mg CAE/L	647±71	312±10	332±2	323±16	179±14	223±9	201±31
Flavonoli, mg QE/L	632±35	319±8	352±12	336±22	179±13	219±13	199±29
Antocieni, mg ME/100g	9,2±0,1	5,0±0,2	5,6±0,1	5,3±0,4	2,6±0,6	2,8±0,5	2,7±0,2

Tabelul 4.23. Factorul de separare și recuperarea diferitor grupe de compuși după separare

Parametru	Activitate antioxidantă, μM TE/L	Polifenoli totali (Abs280),mgGAE/L	Polifenoli totali (Folin-Ciocalteu), mg GAE/L	Acizi cinamici, mg CAE/L	Flavonoli, mg QAE/L	Antocieni totali, mgME/100g
Factor de separare, SF= CAPy/CLPy	1,51±0,07	1,59±0,11	1,35±0,07	1,62±0,18	1,69±0,12	1,97±0,05
Recuperare, %	70,3±4,7	60,9±6,3	71,8±5,0	46,0±3,4	45,1±3,7	46,4±6,4

A fost calculat raportul activitate antioxidantă/polifenoli totali pentru toate fazele, rezultatele fiind prezentate în tabelul 4.24.

Tabelul 4.24. Raportul activitate antioxidantă/polifenoli totali pentru fazele obținute după separare și pentru extractul inițial

Probă	Raport activitate antioxidantă/polifenoli totali
Faza spumă	5,2
Faza lichidă	4,7
Extract inițial	4,4

Așadar, analiza activității antioxidante a demonstrat că activitatea antiradicalică a polifenolilor nu este influențată de surfactantul Tween 20. Deci, sunt necesare mai multe cercetări pentru optimizarea separării compușilor antioxidanți. În plus, ar fi util a efectua analiza altor compuși și analiza organoleptică pentru a evalua efectul procesului de separare.

Tabelul 4.25. Raportul polifenoli totali Folin-Ciocalteu/polifenoli totali Abs280 pentru fazele obținute după separare și pentru extractul inițial

Probă	Valoare
Faza spumă	0,91
Faza lichidă	1,07
Extract inițial	1,48

Valorile date în tabelul 4.25 indică un anumit tip de selectivitate și/sau oxidarea compușilor fenolici în timpul separării. De regulă, ambele metode sunt utilizate pentru a determina concentrația polifenolilor totali. Totuși, indicele determinat prin măsurarea absorbantei la 280 nm se bazează pe absorbția caracteristică inelului aromatic la 280 nm, în timp ce indicele Folin-Ciocalteu se bazează pe capacitatea compusului de a reduce reactivul Folin-Ciocalteu care depinde de structura și starea moleculară oxidativă a antioxidantului. Deci, o modificare a raportului semnaleză o modificare a compoziției și/sau oxidarea compușilor fenolici [103].

Spigno și colab. (2014) au efectuat și ei separarea polifenolilor din extractul etanolic de tescovină, utilizând surfactanții CTAB și Tween 20. Aceștia au obținut o recuperare și un factor de separare mai mari pentru antocieni în comparație cu polifenolii totali, în baza raportului de volum [103]. Comparând cei doi surfactanți, aceiași autori au concluzionat că antocienii au o mai

mare afinitate pentru CTAB decât pentru Tween 20, dar o recuperare mai mare a polifenolilor totali a fost obținută pentru Tween 20. Mai mult ca atât, separarea polifenolilor este cauzată de forțe electrostatice și hidrofobe în cazul microspumei generată cu CTAB și doar de forțe hidrofobe în cazul microspumei generate de Tween 20. La fel ca și în cazul aroniei, separarea cu GCA generată de Tween 20 nu a condus la o pierdere substanțială a capacității antioxidante contrar extracției cu microspumă coloidală generată din CTAB [103].

4.5. Utilizarea extractelor vegetale naturale la fabricarea produselor de cofetărie

În scopul evaluării extractelor vegetale naturale în produsele alimentare, unul dintre extractele cercetate, și anume extractul de aronie, a fost utilizat în calitate de colorant la fabricarea produselor de cofetărie de tip jeleu. Documentele normative prevăd trei tipuri de produse de tip jeleu, în funcție de compoziția acestora:

- 1) de fructe – preparat pe bază de piure gelifiant de fructe;
- 2) de jeleu – preparat pe baza altor ingrediente gelifiante cum ar fi gelatina;
- 3) de fructe și jeleu – ce combină piureul de fructe cu alte ingrediente gelifiante [179].

Pentru a pregăti jeleurile, în calitate de materii prime au fost utilizate: sucul de mere, sucul de lămâie, zahărul-tos, gelatina. În figura 4.4 este reprezentată schema tehnologică pentru fabricarea produselor de cofetărie de tip jeleu pe baza piureului de fructe, iar în figura 4.5 schema tehnologică de fabricare a produselor de cofetărie de tip jeleu pe baza sucului de fructe, cu adaos liofilizat de extract de aronie. Această schemă se remarcă prin simplitatea procesului tehnologic. Au fost preparate trei probe:

- proba de referință (fără adaos de colorant);
- proba cu extract vegetal de aronie în calitate de colorant natural;
- proba cu colorant sintetic.

În figura 4.6 sunt reprezentate imagini cu cele trei produse finite.

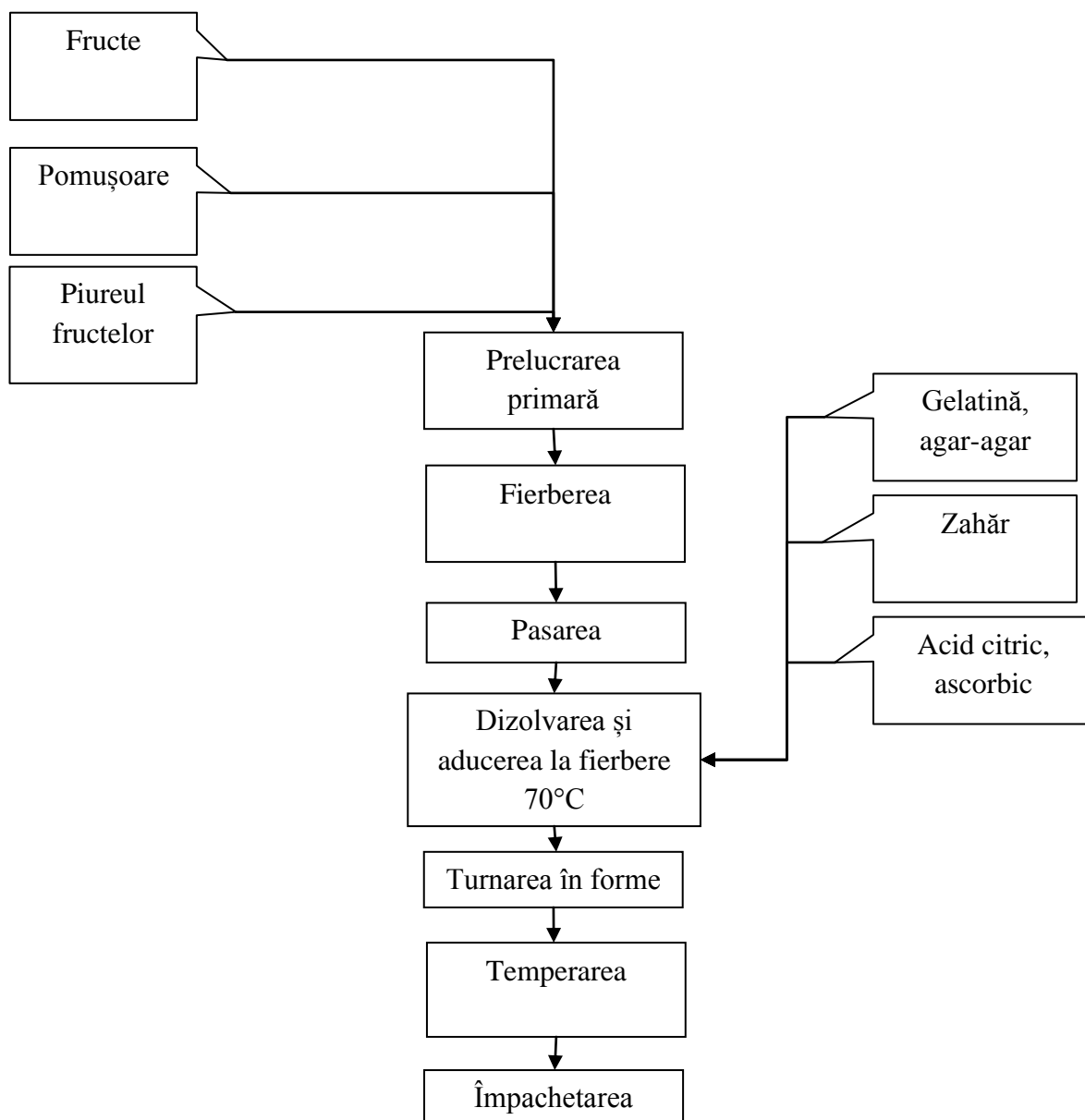


Fig. 4.4. Schema tehnologică de preparare a jeleurilor din piureuri de fructe

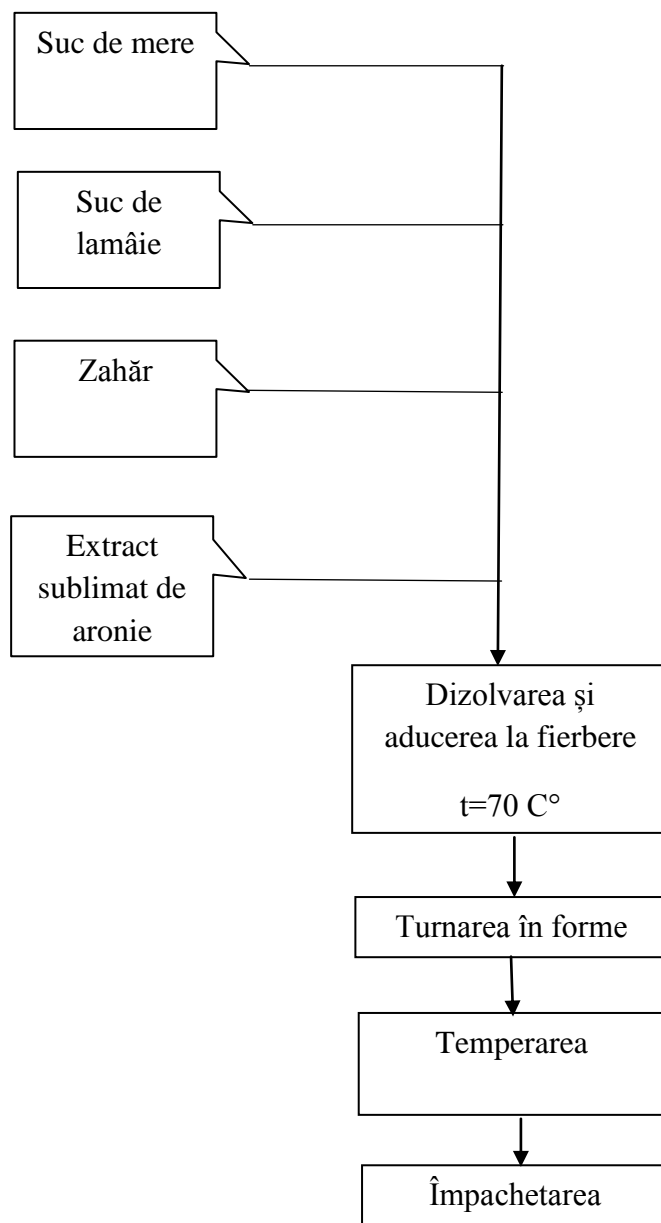


Fig. 4.5. Schema tehnologică de preparare a jeleurilor din suc de fructe cu adaos de extract vegetal horticol

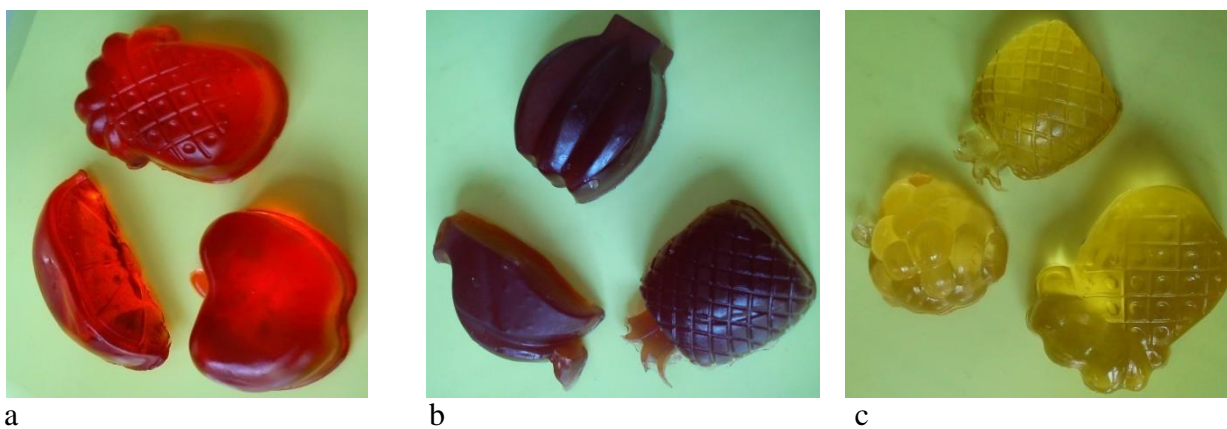


Fig. 4.6. Produsele finite obținute (a - proba cu colorant sintetic; b - proba cu colorant natural; c - proba-martor)

După fabricarea jeleurilor, aceasta au fost analizate în laboratoarele Universității Tehnice a Moldovei, utilizând metodele descrise în standardul GOST 6442-89 [179].

Rezultatele analizei organoleptice efectuate de o echipă de degustători de 6 persoane sunt reprezentate în figura 4.7.

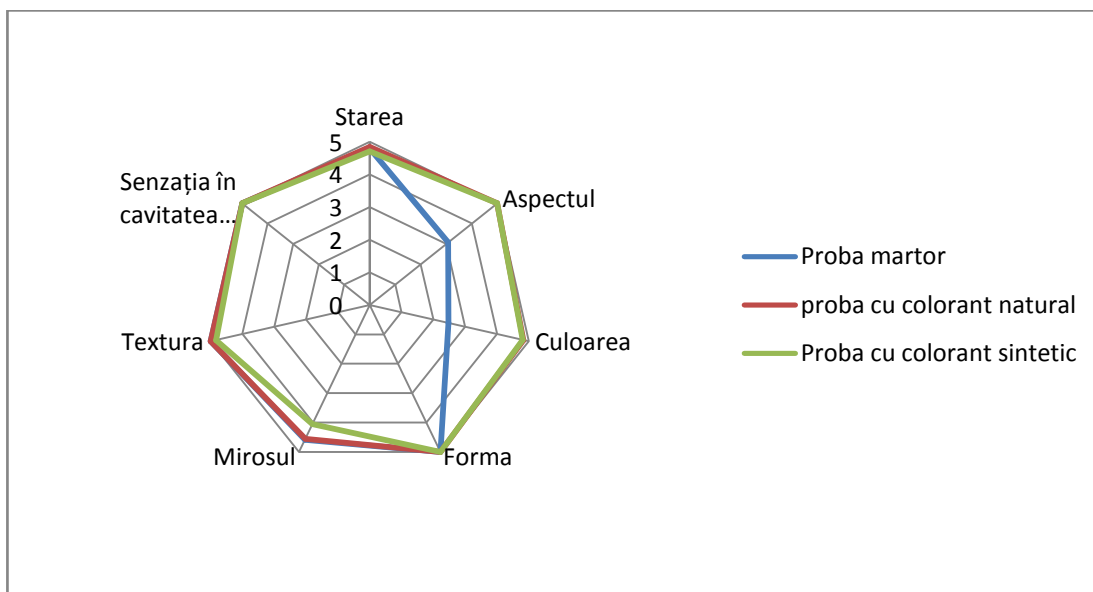


Fig. 4.7. Rezultatele analizei senzoriale a jeleurilor cercetate

Analiza organoleptică comparativă a arătat că proba cu extract de aronie este de calitate similară cu cea a probei cu colorant sintetic, din punct de vedere al texturii, stării, aspectului, culorii, formei și senzației în cavitatea bucală. În ceea ce privește mirosul, proba cu extract de aronie este de o calitate senzorială superioară atât față de proba cu colorant sintetic, cât și față de proba-martor. În figura 4.8 este reprezentat nivelul de aciditate în probele de jeleu în stare proaspătă, probele păstrate în decurs de 5 săptămâni și probele păstrate în decurs de 8 săptămâni.

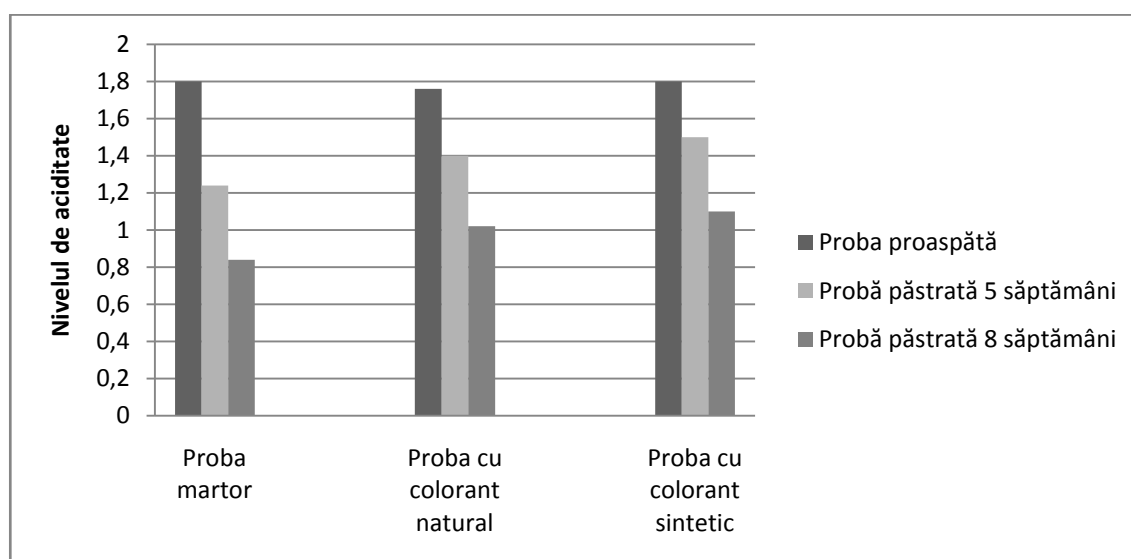


Fig. 4.8. Nivelul de aciditate în probele de jeleu

Rezultatele reprezentate în figura 4.8 arată o descreștere cu $0,46^\circ$ pentru proba cu colorant sintetic și $0,39^\circ$ pentru proba cu extract natural. Deci extractul natural este practic la un nivel cu cel sintetic în ceea ce privește stabilitatea.

În figura 4.9 este reprezentată modificarea masei substanței uscate în probele de produs finit la păstrare. Rezultatele obținute arată că modificările acestui parametru nu sunt esențiale, ceea ce ar permite stabilirea unei durate de păstrare de câteva luni.

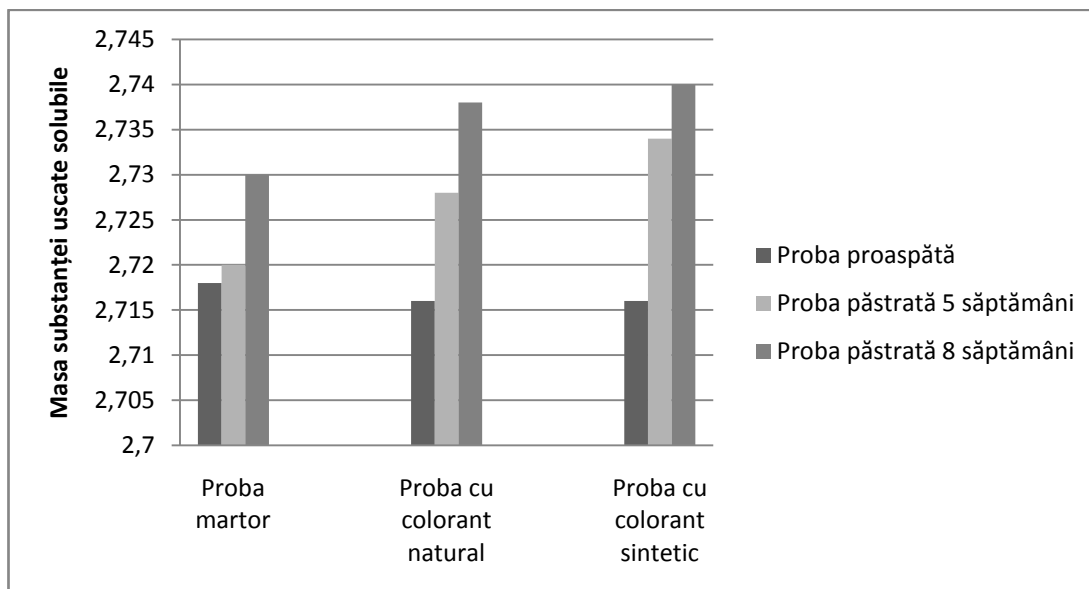


Fig. 4.9. Modificarea masei substanței uscate solubile la păstrare

Rezultatele pentru substanța uscată arată un conținut similar de substanță uscată în proba cu colorant sintetic și în proba cu extract de aronie.

În figura 4.10 sunt reprezentate rezultatele pentru intensitatea culorii, exprimată ca densitate optică, la diferite valori ale pH-ului.

Rezultatele reprezentate în figura 4.10 arată că valorile intensității culorii la $\text{pH}=2$ sunt mai mari decât la $\text{pH}=2,5$ și $\text{pH}=3$. O scădere a densității optice la $\text{pH}=2,5$ și $\text{pH}=3,0$ poate fi observată în cazul tuturor celor trei probe preparate. Deci, cu cât valoarea pH-ului este mai acidă, cu atât mai mare este intensitatea culorii. Aceste rezultate confirmă rezultatele obținute anterior în cazul experiențelor cu extractul etanolic de aronie.

Antocienii – compușii coloranți principali din extractul de aronia, reprezintă o grupă de substanțe naturale care își pierd intensitatea. Pentru determinarea stabilității culorii în timp, a fost măsurată intensitatea culorii produselor obținute în ziua a 7-a și a 60-a zi. Rezultatele determinărilor sunt reprezentate în figura 4.11.

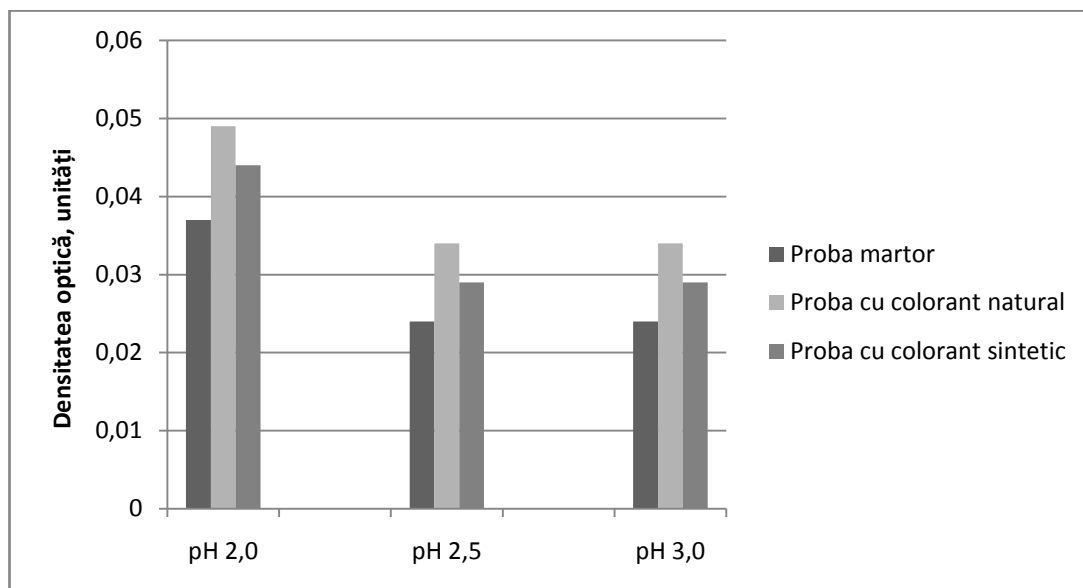


Fig. 4.10. Variația intensității culorii jeleului în funcție de pH și colorant

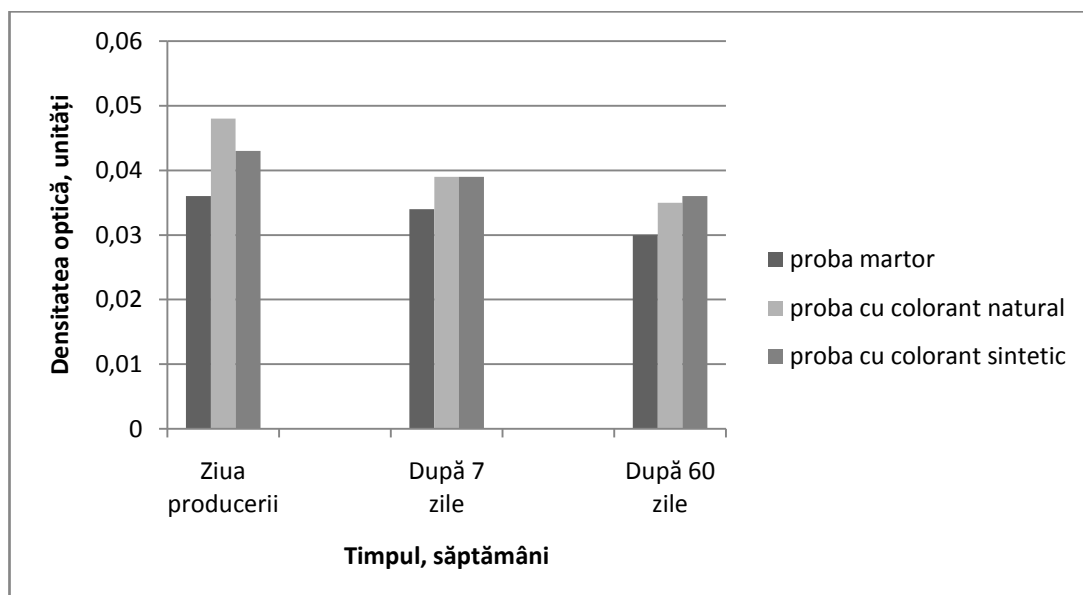


Fig. 4.11. Variația culorii jeleului la păstrare

La păstrarea produsului cu colorant natural în decursul a 60 zile se observă o reducere minimă a intensității culorii (maxim cu 0,05 unități), pe când la produsul cu colorant artificial „azorubină” nu are loc nici o schimbare a culorii. Cu toate acestea, pentru o apreciere obiectivă a culorii și percepției consumatorilor, este necesar a corela densitatea optică a culorii cu parametrii CIELab și a determina pragul de perceptibilitate al ochiului uman pentru diferențele de culoare.

Jeleul are o structură gelatinoasă, care poate fi caracterizată prin indici reologici, și anume, penetrarea produsului. Rezultatele obținute din 10 în 10 secunde până la penetrarea maximală sunt reprezentate în figura 4.12.

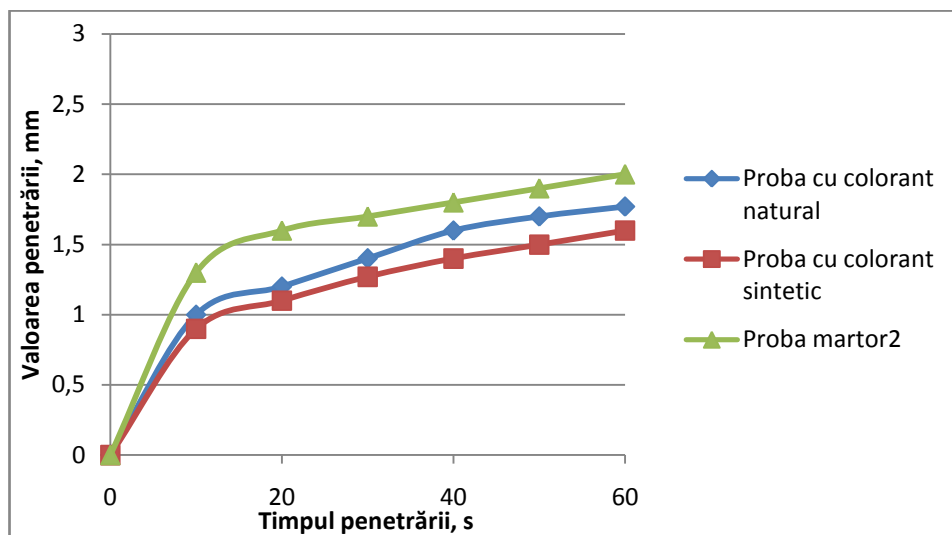


Fig. 4.12. Determinarea gradului de penetrare a jeleului

Conform rezultatelor din figura 4.12 la 10 s valorile penetrării produsului sunt de la 0 până la 1mm, care cresc continuu, ajungând până la valoarea maximă de 1,77 mm. Astfel, indiferent de pH și colorant, structura jeleului rămâne practic identică.

Pentru stabilirea influenței extractului de aronia asupra proprietăților microbiologice a jeleurilor, a fost efectuată însămânțarea mediilor cu diluție a jeleurilor cu colorant natural și sintetic. În urma acestui test a fost depistat un număr redus de colonii, ceea ce ne demonstrează că produsele corespund normelor sanitaro-igienice.

În figura 4.13 sunt reprezentate rezultatele analizei microbiologice a jeleurilor păstrate pe o perioadă îndelungată.

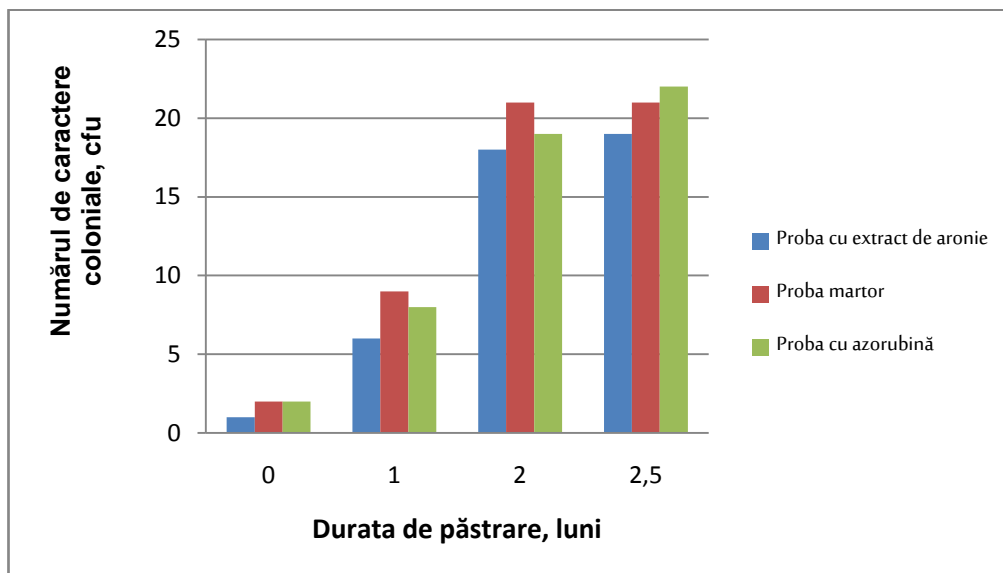


Fig. 4.13. Creșterea numărului de microorganisme pe o durată de păstrare de 2 luni a jeleurilor

Analizând frotiurile la microscop, s-a stabilit prezența streptococilor, stafilococilor și diplococilor în jeleurile cu colorant natural, fiind observate mai multe colonii de streptococi și diplococi, stafilococii având în număr mai redus. În proba ce are colorant sintetic sunt prezenți

nu numai streptococi și diplococi, dar și micrococi și bacili. Pe mediile de cultură nu au fost depistate mucegaiuri.

La păstrarea în timp îndelungat a jeleurilor nu au fost depistate microorganisme patogene ca E.coli și mucegaiuri, ce ar minimaliza inofensivitatea produsului și termenul de păstrare a lor. Totodată, în perioada de păstrare nu s-au depistat creșteri mari de caractere coloniale, ajungând în număr fix până la 22 de colonii, deci, nu a fost necesar a determina numărul total de germeni.

4.6. Concluzii la capitolul 4

1. Adaosul de acizi galic și tanic a avut influențe minore atât asupra evoluției activității antioxidante, cât și a parametrilor de culoare în cazul tuturor extractelor cercetate. S-a demonstrat că acidul tanic ar putea juca rolul de copigment în cazul adăugării sale în extractul de tescovină, fără a afecta activitatea antioxidantă a acestui extract. Însă, este necesar a optimiza concentrația acestui compus în extract [180].

2. Analiza activității antioxidante a demonstrat că aceasta nu este afectată de surfactantul Tween 20, iar microspuma coloidală generată de acest compus poate fi folosită cu succes la separarea compușilor cu activitate antioxidantă din extractele vegetale. Cu toate acestea, ar fi necesar un studiu separat ce ar avea ca scop optimizarea procesului respectiv.

3. β -lactoglobulina poate fi folosită cu succes la încapsularea polifenolilor din tescovină fără a afecta activitatea antioxidantă a acestora [184].

4. Ca rezultat al cercetării tehnologiei de fabricare a jeleurilor cu extract de aronie, au fost calculate valorile indicilor fizico-chimici, microbiologici și organoleptici ai produselor obținute. S-a studiat, de asemenea, acțiunea acestor factori în timpul păstrării produsului. S-a stabilit că diferența între nivelul de aciditate al produsului cu extract de aronie și cel cu colorant sintetic este de 7 grade, iar diferența dintre masa uscată este de 0,33%.

CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI

În baza cercetărilor teoretice și experimentale, a fost abordată complex problema privind regimurile tehnologice operaționale (tratamente termice, temperaturi de păstrare, factori de compoziție a sistemelor alimentare) pentru menținerea potențialului antioxidant și culorii extractelor hidroalcoolice de compuși biologic activi din tescovina de struguri și fructele de pădure. Cercetările întreprinse în cadrul tezei au condus la formularea următoarelor concluzii:

1. Prin metode fizico-chimice (HPLC, spectroscopie UV-VIS) au fost determinate concentrațiile diferitor clase de compuși biologic activi în extractele hidroalcoolice de tescovină, aronie, păducel, scoruș, cătină albă și măceș, fiind identificate cantități semnificative de polifenoli în toate cele șase extracte cercetate [180-183]. Dintre polifenolii individuali, compușii majoritari determinați în toate extractele au fost acizii galic, protocatehic, ferulic, para-hidroxibenzoic, catehina, epicatehina și procianidina B1. Toate extractele conțin cantități importante de acizi hidroxicinamici, cu valori cuprinse între 224 mg CAE/L (măceș) și 580 mg CAE/L (aronie) și flavonoli, cu valori cuprinse între 194 mg QE/L (măceș) și 668 mg QE/L (cătină albă), iar în cazul tescovinei și aroniei - cantități importante de antocieni, respectiv 138 mg ME/L și 102 mg ME/L. Extractele de măceș, cătină albă, scoruș și păducel au un conținut important de carotenoide (308 - 42 mg/g).

2. Cercetarea comparativă a activității antioxidante și a parametrilor instrumentali de culoare ai extractelor (CIELab) a demonstrat că există o corelație pozitivă puternică între conținutul total de polifenoli și activitatea antioxidantă ($R=0,9931$), precum și o relație pozitivă moderată ($R=0,6142$) între cromaticitate și activitatea antioxidantă. Aceste rezultate demonstrează că extractele vegetale din tescovina de struguri și fructele de pădure sunt o sursă importantă de antioxidanți naturali care pot îndeplini simultan funcții tehnologice și funcționale în produsele alimentare.

3. A fost cercetat efectul tratamentelor termice asupra activității antioxidante și a parametrilor de culoare a extractelor. În cazul extractelor de cătină albă, tratamentul de 100°C timp de 2 minute a mărit semnificativ activitatea antioxidantă - de la 7,64 mmol TE/L la 11,35 mmol TE/L, schimbări atribuite modificării structurii moleculare a polifenolilor sau formării compușilor Maillard cu potențial antioxidant în timpul tratamentelor termice. Păstrarea extractelor timp de două săptămâni la diferite temperaturi nu atestă diferențe majore între activitatea lor antioxidantă, însă tratamentul de 2 minute la 100°C și păstrarea la 25-30°C au afectat culoarea extractelor de aronie și tescovină, rezultând valori ale diferenței globale a culorii între 5,56 și 15,12. Astfel, intervalul termic este redus în cazul extractelor bogate în antocieni [180-183].

4. În scopul stabilizării extractelor bogate în antocieni a fost cercetat procesul de copigmentare cu acizi galic și tanic. Adăosul de acizi galic și tanic a avut influențe minore atât asupra evoluției activității antioxidante, cât și a parametrilor de culoare. S-a demonstrat că acidul tanic ar putea juca rolul de copigment pentru extractul de tescovină, fără a afecta activitatea antioxidantă a acestui extract [180].

5. A fost investigat efectul pH și al unor săruri prezente în mediile alimentare asupra activității antioxidante și a parametrilor de culoare a extractelor. Valorile optime ale activității antioxidante se atestă pentru pH slab acid și neutru (între 3,5 și 7,8). Adăosul de clorură de sodiu, nitrat de potasiu și clorură de calciu nu influențează semnificativ activitatea antioxidantă a extractelor. Clorura de calciu (0,1 M) a îmbunătățit vizibil culoarea extractului de tescovină, intensificând nuanța roșie de la 30,00 la 69,00. Acest efect ar putea fi exploatat pentru crearea unui nou colorant de origine naturală care ar prezenta și potențial antioxidant. Influența sărurilor asupra culorii celorlalte extracte a fost minoră [180].

6. Pentru protejarea compușilor biologic activi a fost investigat procesul de încapsulare a extractelor în β -lactoglobulină. A fost stabilită corelația dintre concentrația inițială a polifenolilor în soluție, care nu trebuie să depășească 1250 mg GAE/L pentru a obține particule cu diametrul de cca 200 nm. S-a constatat că β -lactoglobulina protejează polifenolii de acțiunea factorilor externi cum ar fi oxigenul și lumina și poate fi folosită cu succes la încapsularea polifenolilor din tescovină fără a afecta activitatea antioxidantă a acestora. Așadar, acest procedeu poate fi utilizat de către procesatorii de alimente la crearea noilor produse [184].

7. A fost investigată tehnologia de fabricare a jeleurilor cu extract de aronie în raport cu aplicarea colorantului sintetic (azorubina, E 122). Variația indicilor organoleptici, fizico-chimici, microbiologici și organoleptici ai produselor obținute, inclusiv în timpul păstrării produsului (60 zile) a demonstrat că extractele naturale nu cedează aditivilor sintetici și pot fi aplicate cu succes la fabricarea produselor de cofetărie.

Recomandări pentru cercetările de perspectivă

Pentru a completa și a înțelege mai bine rezultatele experiențelor descrise în această teză, în viitor este necesar:

1. A studia detaliat interacțiunile dintre antocieni și ionii metalelor în sisteme-model și sistemele alimentare.

2. A efectua analiza HPLC a carotenoidelor din extractele de scoruș, măceș, cătină albă și păducel și a cerceta corelațiile activitate antioxidantă-polifenoli și activitate antioxidantă-carotenoide
3. A continua analiza activității antioxidante în cazul extractelor de cătină albă, păducel și scoruș, modificând metoda (cantitățile și concentrația DPPH).
4. A urmărit evoluția activității antioxidante a compușilor fenolici majoritari identificați în extracte în soluții-model și sisteme alimentare.
5. A cerceta conținutul enzimelor antioxidante și a metalelor de tranziție în extractele vegetale horticole și a analiza influența acestora asupra activității antioxidante globale.

BIBLIOGRAFIE

1. Scott-Thomas C. 2014, 10 08. <http://www.foodnavigator.com/Market-Trends/Natural-and-organic-trends-drive-European-food-colourings-growth> (vizitat 02.06.2016).
2. Watson E. (2013). Kalsec: In Europe, natural food colors are now 'standard operating procedure', in the US companies are just starting to look at them. <http://www.foodnavigator-usa.com/Suppliers2/Kalsec-In-Europe-natural-food-colors-are-now-standard-operating-procedure-in-the-US-some-companies-are-still-just-starting-to-look-at-them> (vizitat 05.06.2016)
3. Lee S., Jeong S., Kim S., Park H., Nam K., Ahn, D. Effect of far-infrared radiation and heat treatment on the antioxidant activity of water extracts from peanut hulls. În: Food Chemistry, 2006, nr. 94 , p. 489-493.
4. Kammerer D. R., Kammerer J., Valet R., Carle R. Recovery of polyphenols from the by-products of plant and food processing and application as valuable food ingredients. În: Food Research International , 2014, nr. 65, p. 2-12.
5. Astley S. B. Dietary antioxidants - past, present and future? In: Trends in Food Science & Technology, 2003, nr. 14 , p. 93-98.
6. Oliveira D. A., Salvador A. A., Smania Jr A., Smania E. F., Maraschin M., Ferreira S. R. Antimicrobial activity and composition profile of grape (Vitis Vinifera) pomace extracts obtained by supercritical fluids. În: Journal of Biotechnology, 2013, nr. 164, p. 423-432.
7. Mason S., Morrison D., McConell K., Wadley, G. Muscle redox signalling pathways in exercise. Role of antioxidants. În: Free Radical Biology and Medicine, 2016, nr. 98, p. 29-45.
8. HGC229/2013. HOTĂRÎRE Nr. 229 din 29.03.2013 pentru aprobarea Regulamentului sanitar privind aditivii alimentari. HGC229/2013. s.l. : Guvernul Republicii Moldova, 29.03.2013.
9. Nimse S. B., Pal, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. În: Royal Society of Chemistry Advances, 2015, nr. 5, p. 27986-28006.
10. Madhavi D. V., Deshpande, S. S., Salunkhe D. K. Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996, p. 512.
11. Tatarov P. G., Ivanova R. A., Macari A. V. Shelf-life prediction of plum foods using antioxidant activity indices. În: Chemistry Journal of Moldova, 2008, nr. 3 (2), p. 65-69.
12. Wojcik M., Wozniak L. A., Burzynska-Pedziwiatr I. A Review of Natural and Synthetic Antioxidants Important for Health and Longevity. În: Current Medicinal Chemistry, 2010, nr. 17 (28), p. 3262-3288.
13. Aruoma O. I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. În: Journal of the American Oil Chemists' Society, 1998, nr. 75, p. 199-212.
14. Bouayed J., Bohn, T. Exogenous antioxidants - Double-edged swords in cellular redox state. În: Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2010, nr. 3 (4), p. 228-237.
15. Foyer C. H., Fletcher J. M. Plant antioxidants: colour me healthy. In: Biologist, 2001, nr. 48 (3) , p. 115-120.

16. Cadenas E. *Basic mechanisms of antioxidant activity*. In BioFactors, 1997, nr. 6, p. 391-397.
17. Cristea E. Influența tratamentelor tehnologice asupra potențialului antioxidant al extractelor vegetale. Teză de master. Chișinău, Universitatea Tehnică a Moldovei, 2011, 70 p.
18. Vulic I, Vitarelli G., Zenner J. M. Structure–property relationships: phenolic antioxidants with high efficiency and low colour contribution. *Polymer Degradation and Stability*, 2002, nr. 78 (1), p. 27-34.
19. He J., Giusti M. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2010, Vol. 1, p. 163-187. DOI: 10.1146/annurev.food.080708.100754.
20. Balasundram N., Sundram K., Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. În: *Food Chemistry*, 2006, nr. 99, p. 191-203.
21. Sigma-Aldrich. Sigma-Aldrich – Products.
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/h20008?lang=en®ion=GB> (vizitat 26.09.2016).
22. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. În: *Free Radical Biology & Medicine*, 1996, nr. 20, p. 933-956.
23. Andreasen M., Landbo A., Christensen L., Hansen A., Meyer, A. Antioxidant effects of phenolic rye (*Secale cereale* L.) extracts, monomeric hydroxycinnamates, and ferulic acid dehydrodimers on human low-density lipoproteins. În: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, nr. 49, p. 4090-4096.
24. Sigma Aldrich. 4-hydroxycinnamic acid .
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/mm/800237?lang=en®ion=GB> (vizitat 01.04.2017).
25. van Acker S., van den Berg D.-J., Tromp M., Griffioen D., van Bennekom W., van der Vijgh, W. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. În: *Free Radical Biology & Medicine*, 1996, nr. 20, p. 331-342.
26. Seeram N., Nair M. Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. În: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, nr. 50, p. 5308-5342.
27. Adebawo, O O. Roles of flavonoids in human health.
<https://www.slideshare.net/Kkolawole/roles-of-flavonoids-in-human-health-seminar-presentation> (vizitat 01.04.2017).
28. Linda L., Caragia V., Sarandi T. The prospect of using the carrot of increased carotene content in functional foods. În: *Lucrări Științifice, seria Agronomie*, 2015, nr. 58, p. 181-184.
29. Gazzani, G., Papetti A., Daglia M., Berte F., Gregotti C. Protective Activity of Water Soluble Components of Some Common Diet Vegetables on Rat Liver Microsome and the Effect of Thermal Treatment. În: *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1998, nr. 46, p. 4123-4127.

30. Zafra-Stone S., Yasmin T., Bagchi M., Chatterjee A., Vinson J. A., Bagchi D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. În: *Molecular Nutrition & Food Research*, 2007, nr. 51, p. 675-683.
31. Finley J. W., Kong A. N., Hintze K. J., Jeffrey E. H., Ji L. L., Lei, X. G. Antioxidants in foods: state of the science important to the food industry. În: *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2011, nr. 59-13, p. 6837-6847.
32. Schaeffer J. Color me healthy - eating for a rainbow of benefits. În: *Today's Dietitian*, 2008, nr. 10, p. 34.
33. Chapman S. Guidelines on approaches to the replacement of Tartrazine, Allura Red, Ponceau 4R, Quinoline Yellow, Sunset Yellow and Carmoisine in food and beverages. Aberdeen : Food Standards Agency in Scotland, 2011, 38 p.
34. Davis J L. Antioxidants in Fruits. <http://www.webmd.com/diet/features/antioxidants-in-fruits?page=2#1> (vizitat 29.07.2016).
35. Savikin K., Zdunic G., Jankovic T., Godevac D., Stanoikovic T., Plievliakusic D. Berry fruit teas: Phenolic composition and cytotoxic activity. În: *Food Research International*, 2014, nr. 62, p. 677-683.
36. Denev P. N., Kratchanov C. G., Ciz M., Lojek A., Kratchanova M. G. Bioavailability and antioxidant activity of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols: In vitro and in vivo evidences and possible mechanisms of action: A review. În: *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2012, nr. 11, p. 471-489.
37. Kom B., Ku C. S., Pham T. X., Park Y., Martin D. A., Xie L. și alții. *Aronia melanocarpa* (chokeberry) polyphenol-rich extract improves antioxidant function and reduces total plasma cholesterol in apolipoprotein E knockout mice. În: *Nutrition Research*, 2013, nr. 33, p. 406-413.
38. Kardum N., Takic M., Savikin K., Zec M., Zdunic G., Spasic S., și alții. Effects of polyphenol-rich chokeberry juice on cellular antioxidant enzymes and membrane lipid status in healthy women. În: *Journal of Functional Foods*, 2014, nr. 9, p. 89-97.
39. Martin D. A., Taheri R., Brand M. H., Draghi II A., Sylvester F. A., Bolling B. W. Anti-inflammatory activity of aronia berry extracts in murine splenocytes. În: *Journal of Functional Foods*, 2014, nr. 8C, p. 68-75.
40. Bermudez-Soto M.-J., Tomas-Barberan F.-A., Garcia-Conesa M.-T. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. În: *Food Chemistry*, 2007, nr. 102, p. 865-874.
41. Ratnasooriya C., Rupasinghe V. Extraction of phenolic compounds from grapes and their pomace using beta-cyclodextrin. In: *Food Chemistry*, 2012, nr. 134(2), p. 625-631.
42. Ngo T., Zhao Y. Stabilization of anthocyanins on thermally processed red d'Anjou pears through complexation and polymerization. În: *LWT - Food Science and Technology*, 2009, nr. 42, p. 1144-1152.

43. Negro C., Tommasi L., Miceli A. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. În: *Bioresource Technology*, 2003, nr. 87, p. 41-44.
44. Spigno G., De Faveri D. Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of extracts. În: *Journal of Food Engineering*, 2007, nr. 78, p. 793-801.
45. Hashim M. A., Segupta B. In: *Bioresource Technol.*, 1998, nr. 64, p. 199-204.
46. Pedroza M. A., Carmona M., Alonzo G. L., Salinas M. R. Pre-bottling use of dehydrated waste grape skins to improve color, phenolic and aroma composition of red wines. În: *Food Chemistry*, 2013, nr. 136, p. 224-236.
47. Delgado Adamez J. D., Gamero Samino E., Valdes Sanchez E., Gonzalez-Gomez D. In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis Vinifera L.*). În: *Food Control*, 2012, nr. 24, p.136-141.
48. Cunja V., Mikulic-Petkovsek M., Zupan A., Stampar F., Schmitzer V. Frost decreases content of sugars, ascorbic acid and some quercetin glycosides but stimulates selected carotenes in *Rosa canina* hips. În: *Journal of Plant Physiology*, 2015, nr. 178, p. 55-63.
49. Czyzowska A., Klewicka E., Pogorzelski E., Nowak A. Polyphenols, vitamin C and antioxidant activity in wines from *Rosa canina L.* and *Rosa rugosa Thunb.* În: *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, nr. 39, p. 62-68.
50. Lattanzio F., Greco E., Carretta D., Cervellati R., Govoni P., Speroni E. In vivo anti-inflammatory effect of *Rosa canina L.* extract. În: *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, nr. 137, p. 880-885.
51. Lee H.-I., Kim M.-S., Lee K.-M., Park S.-K., Seo K.-I., Kim H.-J. și alții. Anti-visceral obesity and antioxidant effects of powdered sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) leaf tea in diet-induced obese mice. În: *Food and Chemical Toxicology*, 2011, nr. 49, p. 2370-2376.
52. Upadhyay N. K., Yogendra Kumar M. S., Gupta A. Antioxidant, citoprotective and antibacterial effects of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) leaves. În: *Food and Chemical Toxicology*, 2010, nr.48, p. 3443-3448.
53. Fan J., Ding X., Gu, W. Radical-scavenging proanthocyanidins from sea buckthorn seed. În: *Food Chemistry*, 2007, nr. 102, p. 168-177.
54. Xu Y.-J., Kaur M., Dhillon R. S., Tappia P. S., Dhalla N. S. Health benefits of sea buckthorn for the prevention of cardiovascular diseases. În: *Journal of Functional Foods*, 2011, nr. 3, p. 2-12.
55. Gil-Izquierdo A., Mellethin A. Identification and quantitation of flavonols in rowanberry (*Sorbus aucuparia L.*) juice. În: *European Food Research and Technology*, 2001, nr. 213, p. 12-17.
56. Termentzi A., Kefalas P., Kokkalou E. Antioxidant activities of various extracts and fractions of *Sorbus domestica* fruits at different maturity stages. În: *Food Chemistry*, 2006, nr. 98, p. 599-608.

57. Termentzi A., Kefalas P., Kokkalou E. LC-DAD-MS (ESI+) analysis of the phenolic content of *Sorbus domestica* fruits in relation to their maturity stage. În: *Food Chemistry*, 2008, nr. 106, p. 1234-1245.
58. Bahorun T., Trotin F., Vasseur J. Comparative polyphenolic productions in *Crataegus monogyna* callus cultures. În: *Phytochemistry*, 1994, nr. 37, p. 1273-1276.
59. Klimczak I., Malecka M., Szlachta M., Gliszczynska-Swiglo A. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. În: *Journal of Food Composition and Analysis*, 2007, nr. 20 (3-4), p. 313-322.
60. US Food and Drug Administration. BBB - pH Values of Various Foods. <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/ucm122561.htm> (vizitat 22.12.2016).
61. Vizireanu C. Procedee de conservare folosite în industria alimentară. <http://www.agir.ro/buletine/32.pdf> (vizitat 10.02.2017).
62. Stojanovic J., Silva J. L. Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, colour and chemical properties of rabbiteye blueberries. În: *Food Chemistry*, 2007, nr. 101 (3), p. 898-906.
63. Cilla A., Perales S., Lagarda M., Barbera R., Clemente G., Farre R. Influence of storage and in vitro gastrointestinal digestion on total antioxidant capacity of fruit beverages. În: *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, nr. 24 (1), p. 87-94.
64. Pataro G., Donsi G., Ferrari G. Aseptic processing of apricots in syrup by means of a continuous pilot scale ohmic unit. În: *LWT - Food Science and Technology*, 2011, nr. 44 (6), p. 1546-1554.
65. Gonzalez-Cebrino F., Duran R., Delgado-Adamez J., Contador R., Barnabe P. Impact of high pressure processing on color, bioactive compounds, polyphenol oxidase activity, and microbiological attributes of pumpkin purée. În: *Food Science and Technology International*, 2016, nr. 22 (3), p. 235-245.
66. Lurrari J. A., Ruperez P., Saura-Calixto F. Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels. În: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, nr. 45 (4), p. 1390-1393.
67. Choi Y., Lee S., Chun J., Lee H., Lee J. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. În: *Food Chemistry*, 2006, nr. 99 (2), p. 381-387.
68. Dewanto V., Wu X., Adom K., Liu, R. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. În: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, nr. 50 (10), p. 3010-3014.
69. Connor A., Luby J., Hancock J., Berkheimer S., Hanson E. Changes in Fruit Antioxidant Activity among Blueberry Cultivars during Cold-Temperature Storage. În: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, nr. 50 (4), p. 893-898.

70. Cordenunsi B. R., Genovese M. I., Oliveira do Nascimento J. R., Hassimotto N. M., Jose dos Santos R., Lajolo F. M. Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *În: Food Chemistry*, 2005, nr. 91, p. 113-121.
71. Shin Y., Liu R., Nock J., Holliday D., Watkins C. Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. *În: Postharvest Biology and Technology*, 2007, nr. 45 (3), p. 349-357.
72. Liyana-Pathirana C., Shahidi F. Antioxidant Activity of Commercial Soft and Hard Wheat (*Triticum aestivum* L.) as Affected by Gastric pH Conditions. *În: Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, nr. 53 (7), p. 2433-2440.
73. Mendas G., Medic M., Bojic M., Zuntar I., Vinkovic I. Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *În: Food Chemistry*, 2011, nr. 124 (1), p. 354-361.
74. Morales F., Jimenez-Perez S. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *În: Food Chemistry*, 2001, nr. 72 (1), p. 119-125.
75. Scotter M. Emerging and persistent issues with artificial food colours: natural colour additives as alternatives to synthetic colours in food and drink. *În: Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 2011, nr. 3, p. 28-39.
76. Boulton R. The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *În: Am. J. Enol. Vitic.*, 2001, nr. 52 (2), p. 67-87.
77. Brouillard R., Wigand M.-C., Dangles O., Cheminat A. pH and solvent effects on the copigmentation of malvidin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. *În: J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1991, nr. 2, p. 1235-1241.
78. Gonzalez-Manzano S., Duenas M., Rivas-Gonzalo J. C., Escribano-Bailon M. T., Santos-Buelga C. Studies on the copigmentation between anthocyanins and flavan-3-ols and their influence in the colour expression of red wine. *În: Food Chemistry*, 2009, nr. 114, p. 649-656.
79. Gauche C., Malagoli E. D., Bordignon Luiz M. T. Effect of pH on the copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts with organic acids. *În: Scientia Agricola*, 2010, nr. 67 (1), p. 41-46.
80. Jabbari M., Gharib F. Solvent dependence on antioxidant activity of some water-insoluble flavonoids and their cerium (IV) complexes. *În: Journal of Molecular Liquids*, 2012, nr. 168, p. 36-41.
81. Jurd L., Asen S. The formation of metal and co-pigment complexes of cyanidin 3-glucoside. *În: Phytochemistry*, 1966, nr. 5, p. 1263-1271.
82. Shiono M., Matsugaki N., Takeda K. Phytochemistry: structure of the blue cornflower pigment. *În: Nature*, 2005, nr. 436, p. 791.
83. Altukaya A., Gokmen V., Skibsted L. H. pH dependent antioxidant activity of lettuce (*L. sativa*) and synergism with added phenolic antioxidants. *În: Food Chemistry*, 2016, nr. 190, p. 25-32.

84. Guillotin S., Sanoner P., Renard C. M. Stabilisation of the colour of anthocyanins in solutions by admixture with phytocomponents from apple. În: *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 2009, ISAFRUIT Special Issue, p. 96-99.
85. Brevet de invenție. US4481226 A, USA, Stabilized anthocyanin food colorant. Crosby W. H., Fulger C. V., Haas G. J., Nesheiwat, D. M., 1984.
86. Klamchuk P., Horng P. L. Transformation products of hindered phenolic antioxidants and colour development in polyolefins. În: *Polymer Degradation and Stability*, 1991, nr. 34 (1-3), p. 333-346.
87. Harberston J., Spayd, S. Measuring Phenolics in the winery. În: *Am. J. Enol. Vitic.*, 2006, nr. 57 (3), p. 280-288.
88. Malaj N., De Simone B. C., Quartarolo A. D., Russo N. Spectrophotometric study of malvidin-3-O-glucoside with p-coumaric, vanillic and syringic acids. În: *Food Chemistry*, 2013, nr. 141, p. 3614-3620.
89. Cristea E. Determination of the optimal phenolic extraction yield in red wines using the Glories method. Teză de master. Porto, 2014, 60 p.
90. Gutierrez I. H., Lorenzo E. S., Espinosa A. V. Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah. În: *Food Chemistry*, 2005, nr. 92, p. 269-283.
91. Garcia-Marino M., Escudero-Gilete M. L., Heredia F. J., Escribano-Bailon M. T., Rivas-Gonzalo J. C. Color-copigmentation study by tristimulus colorimetry (CIELAB) in red wines obtained from Tempranillo and Graciano varieties. În: *Food Research International*, 2013, nr. 51, p. 123-131.
92. Somers C. *The Wine Spectrum. An Approach Towards Objective Definition of Wine Quality*. Adelaide: Winetitles, 1998.
93. Campos F.M. Studies on the interacion between phenolic compounds and lactic acid bacteria from wine. Teză de doctor. Porto, 2009, 292 p.
94. Malien-Aubert C., Dangles O., Amiot M. J. Color Stability of Commercial Anthocyanin-Based Extracts in Relation to the Phenolic Composition. Protective Effects by Intra- and Intermolecular Copigmentation. În: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, nr. 49, p. 170-176.
95. Munin, A., & Edwards-Levy, F. (2011). Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. *Pharmaceutics* , 3 (4), 793-829.
96. Zhang J., Liu X., Subirade M., Zhou P., Liang L. A study of multi-ligand beta-lactoglobulin complex formation. În: *Food Chemistry*, 2014, nr. 165, p. 256-261.
97. Baerle A., Dimova O., Zadorojnai L., Tatarov P., Zenkovich A. Electrophoresis of oil-containing edible microcapsules with protein-polyuronic shells. În: *Ukrainian Food Journal*, 2014, nr. 3 (2), p. 211-217.

98. Gomez-Mascaraque L. G., Lagaron J. M., Lopez-Rubio A. Electrospayed gelatin submicroparticles as edible carriers for the encapsulation of polyphenols of interest in functional foods. *În: Food Hydrocolloids*, 2015, nr. 49, p. 42-52.
99. Robert P., Gorena T., Romero N., Sepulveda E., Chavez J., Saenz C. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *În: International Journal of Food Science and Technology*, 2010, nr. 45, p. 1386-1394.
100. Trifkovic K. T., Milasinovic N. Z., Kalagasidis Krusic M. T., Knezevic-Jugovic Z. D., Nedovic V. A., Bugarski, B. M. Chitosan micobeads for encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) polyphenols. *În: Carbohydrate Polymers*, 2014, nr. 111, p. 901-907.
101. Dermiki M., Gordon M. H., Jauregi P. Recovery of astaxanthin using colloidal gas aphrons (CGA): A mechanistic study. *În: Separation and Purification Technology*, 2009, nr. 65, p. 54-64.
102. Jauregi P., Varley J. Colloidal gas aphrons: potential applications in biotechnology. *Reviews. Tibitech October.: Elsevier Science Ltd*, 1999. Vol. 17, p. 389-395.
103. Spigno G., Amendola D., Dahmoune F., Jauregi, P. Colloidal gas aphrons based separation process for the purification and fractionation of natural phenolic extracts. *În: Food and Bioproducts Processing*, 2014, nr. 94, p. 434-442.
104. Spigno G., Dermiki M., Pastori C., Casanova F., Jauregi P. Recovery of gallic acid with colloidal gas aphrons generated from a cationic surfactant. *În: Separation and Purification Technology*, 2010, nr. 71, p. 56-62.
105. Spigno G., Tramelli L., De Faveri D. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *În: Journal of Food Engineering*, 2007, nr. 81 (1), p. 200-208.
106. Hansen Chr. *Advancing nature's brilliance together*. London : s.n., 2015.
107. d'Alessandro L. G., Kriaa K., Nikov I., Dimitrov K. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *În: Separation and Purification Technology*, 2012, nr. 93, p. 42-47.
108. Dwyer K., Hosseinian F., Rod M. The Market Potential of Grape Waste Alternatives. *În: Journal of Food Research*, 2014, nr. 3(2), p. 91-106.
109. Estevez M., Ventanas S., Cava, R. Effect of natural and synthetic antioxidants on protein oxidation and colour and texture changes in refrigerated stored porcine liver pâté. *În: Meat Science*, 2006, nr. 74 (2), p. 396-403.
110. Sanchez-Escalante A., Torrescano G., Djenane D., Beltran J., Roncales P. Stabilisation of colour and odour of beef patties by using lycopene-rich tomato and peppers as a source of antioxidants. *În: Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2003, nr. 83 (3), p. 187-194.
111. Ladron de Guevara R., Gonzalez M., Garcia-Meseguer M., Nieto J., Amo M., Varon R. Effect of adding natural antioxidants on colour stability of paprika. *În: Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2002, nr. 82 (9), p. 1061-1069.

112. Aladedunye F., Matthaus B. Phenolic extracts from *Sorbus aucuparia* (L.) and *Malus baccata* (L.) berries: Antioxidant activity and performance in rapeseed oil during frying and storage. *In: Food Chemistry*, 2014, nr. 159, p. 273-281.
113. . Oszmianski J., Wojdolo A. *Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity*. *In: Eur. Food Res. Technol.*, 2005, nr. 221, p. 809-813.
114. Demir N., Yioldiz O., Alpaslan M., Hayaloglu A. A. Evaluation of volatiles, phenolic compounds and antioxidant activities of rose hip (*Rosa L.*) fruits in Turkey. *In: LWT - Food Science and Technology*, 2014, nr. 57, p. 126-133.
115. Malvern Instruments Ltd. Zetasizer Nano Series User Manual. Malvern : Malvern Instruments Ltd., 2004. Vol. 1.1.
116. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *In: Free Radical Biology & Medicine*, 1999, nr. 26, p. 1231-1237.
117. Alam N., Bristi N. J., Rafiqzaman. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *In: Saudi Pharmaceutical Journal*, 2013, nr. 21 (2), p. 143-152.
118. Cristea E., Zugravii E. Влияние различных технологических обработок на антирадикальную активность и содержание полифенолов молдавских вин (The influence of different technological treatments on the antiradical activity and polyphenol content of Moldovan wines). *Novocherkassk : ГНУ ВНИИВиВ Россельхозакадемии. „Достижения, проблемы и перспективы развития отечественной виноградо-винодельческой отрасли на современном этапе” (Achievements, challenges and prospects of development of the domestic viticulture and winemaking industry today)*. 2013, p. 32-33.
119. Singleton V. L., Rossi J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *In: Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, nr. 16, p. 144-158.
120. Spranger I., Sun B., Mateus A. M., de Freitas V., Ricardo-da-Silva J. Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds. *In: Food Chemistry*, 2008, nr. 108, p. 519-532.
121. Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. *Handbook of Enology - Volume 2, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. Chichester: John Wiley and Sons, Ltd., 2006, 451 p.
122. Lee J., Durts R. W., Wrolstad R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *In: Journal of AOAC International*, 2005, nr. 88, p. 1269-1278.
123. Giusti M. M., Wrolstad R. E. Characterisation and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *In: Current protocols in food analytical chemistry*, 2001, p. F1.2.1-F1.2.13.
124. Sant'Anna V., Brandelli A., Marczak Damasceno Ferreira L., Tessaro I. C. Kinetic modeling of total polyphenol extraction from grape marc and characterization of extracts. *Separation and Purification Technology*, 2012, nr. 100, p. 82-87.

125. Biehler, E., Mayer, F., Hoffmann, L., Krause, E., & Bohn, T. (2009). Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, nr. 0, p. C1-C7.
126. WHO, International Agency for Research on Cancer. Carotenoids, Vol. 2. Lyon : International Agency for Research on Cancer, 1998, 470 p.
127. OIV. Determination of chromatic characteristics according to CIE. CIELab. *International Methods of Wine and Must Analysis*, Vol. 1, 2013, 504 p.
128. IHS Global Spec. Color Meters and Appearance Instrument Information. http://www.globalspec.com/learnmore/manufacturing_process_equipment/inspection_tools_instruments/color_appearance_instruments (vizitat 17.01.2017).
129. <http://www.aces.edu/>. Explanation of the LAB Color Space . http://www.aces.edu/dept/fisheries/education/pond_to_plate/documents/ExplanationoftheLABColorSpace.pdf (vizitat 30.03.2017).
130. <http://www.brucelindbloom.com/>. XYZ to RGB. <http://www.brucelindbloom.com/index.html?Equations.html> (vizitat 31.03.2017).
131. **Bârsan-Pipu N.** Analiza varianței (ANOVA). <http://universitatea-cantemir.ro/Cercetare/documente/TEMA%205%20-%20ANALIZA%20VARIANTEI.pdf> (vizitat 31.03.2017).
132. <https://profs.info.uaic.ro/>. ANOVA: analiza post-hoc, analiza bifactorială. https://profs.info.uaic.ro/~val/statistica/StatWork_5.pdf (vizitat 30.03.2017).
133. Box J. D. Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. În: *Water Research*, 1983, nr. 17 (5), p. 511-525.
134. Singleton V. L., Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, nr. 16, p. 144-158.
135. Ercisli S. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. În: *Food Chemistry*, 2007, nr. 104, p. 1379-1384.
136. Wangesteen H., Braunlich M., Nikolic V., Malterud K. E., Slimestad R., Barsett H. Anthocyanins, proanthocyanidins and total phenolics in four cultivars of aronia: Antioxidant and enzyme inhibitory effects. În: *Journal of functional foods*, 2014, nr. 7, p. 746-752.
137. Tolic M.-T., Jurcevic I.-L., Krbavcic I.-P., Markovic K., Vahcic N. Phenolic Content, Antioxidant Capacity and Quality of Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Products. În: *Food Technology and Biotechnology*, 2015, nr. 53 (2), p. 171-179.
138. Vaher M., Koel M. Separation of polyphenolic compounds extracted from plant matrices using capillary electrophoresis. În: *Journal of Chromatography A*, 2003, nr. 990, p. 225-230.
139. . Roman I., Stănilă A., Stănilă S. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. În: *Chemistry Central Journal*, 2013, nr. 7 (73).

140. Andersson S., Olsson M., Johansson E., Rumpunen K. Carotenoids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries during ripening and use of pheophytin a as a maturity marker. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, nr. 57 (1), p. 250-258.
141. Tournmour H. H., Segundo M. A., Magalhaes L. M., Barreiros L., Queiroz J., Cunha L. M. Valorization of grape pomace: Extraction of bioactive phenolics with antioxidant properties. *Industrial Crops and Products*, 2015, nr. 74, p. 397-406.
142. Apolinar-Valiente R., Romero-Cascales I., Gomez-Plaza E., Lopez-Roca J. M., Ros-Garcia J. M. Cell wall compounds of red grapes skins and their grape marcs from three different winemaking techniques. *Food Chemistry*, 2015, nr. 187, p. 89-97.
143. Ramirez-Lopez L. M., DeWitt, C. A. Analysis of phenolic compounds in commercial dried grape pomace by high-performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *Food Science and Nutrition*, 2014, nr. 2 (5), p. 470-477.
144. Türkben C., Uylaşer V., İncedayı B., Çelikkol I. Effects of different maturity periods and processes on nutritional components of rose hip (*Rosa canina* L.). *Food, Agriculture and Environment*, 2010, nr. 8 (1), p. 26-30.
145. Cui T., Zhong-Jian L., Kayahara H., Ma L., Wu L.-X., Nakamura K. Quantification of the Polyphenols and Triterpene Acids in Chinese Hawthorn Fruit by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, nr. 54, p. 4574-4581.
146. Shahrzad S., Aoyagi K., Winter A., Koyama A., Bitsch I. Pharmacokinetics of Gallic Acid and Its Relative Bioavailability from Tea in Healthy Humans. *The Journal of Nutrition*, 2001, nr. 131 (4), p. 1207-1210.
147. Yang J., Xiao Y. Grape phytochemicals and associated health benefits. *Food Science and Nutrition*, 2013, nr. 53 (11), p. 1202-12025.
148. Srinivasan M., Sudheer A., Menon V. Ferulic Acid: Therapeutic Potential Through Its Antioxidant Property. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2007, nr. 40 (2), p. 92-100.
149. Chen C. Sinapic Acid and Its Derivatives as Medicine in Oxidative Stress-Induced Diseases and Aging. In: *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, p. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3571614>.
150. Kursvietiene L., Staneviciene I., Mongirdiene A., Bernatoniene J. Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol. *Medicina*, 2016, In Press, Corrected Proof.
151. Farah A., Monteiro M., Donangelo C. M., Lafay S. Chlorogenic Acids from Green Coffee Extract are Highly Bioavailable in Humans. *The Journal of Nutrition*, 2008, nr. 138 (12), p. 2309-2315.
152. Understanding Color. <https://www.rgbworld.com/color.html> (vizitat 04.06.2016).
153. Kurzeja E., Stec M., Ramos P., Pilawa B., Pawlowska-Goral K. The influence of sterilization on free-radical generation, discoloration and the antioxidant properties of certain spice herbs. *Ital. J. Food Sci.*, 2012, nr. 24, p. 254-262.

154. Jeong S. M., Kim S. Y., Kim D. H., Jo S. C., Nam K. C., Ahn D. U., și alții. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. În: *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2004, nr. 52, p. 3389-3393.
155. Walkowiak-Tomczak D. Changes in antioxidant activity of black chokeberry juice concentrate solutions during storage. În: *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 2007, nr. 6 (2), p. 49-55.
156. Jayaprakasha G., Singh R., Sakariah K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. În: *Food Chemistry*, 2001, nr. 73, p. 285-290.
157. Liang Z., Sang M., Fan P., Wu B., Wang L., Yang S. L. CIELAB Coordinates in Response to Berry Skin Anthocyanins and Their Composition in *Vitis*. În: *Journal of Food Science*, 2011, nr. 76, p. 490-497.
158. Torchio F., Rio Segade S., Gerbi V., Cagnasso E., Rolle L. Changes in chromatic characteristics and phenolic composition during winemaking and shelf-life of two types of red sweet sparkling wines. În: *Food Research International*, 2011, nr. 44, p. 729-738.
159. Patras A., Tiwari B. K., Brunton N., Butler F. Modelling the effect of different sterilisation treatments on antioxidant activity and colour of carrot slices during storage. În: *Food Chemistry*, 2009, nr. 114 (2), p. 484-491.
160. Patras A., Brunton N. P., Da Pieve S., Butler F. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. În: *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2009, nr. 10, p. 308-313.
161. Casati C. B., Sanchez V., Baeza R., Magnani N., Evelson P., Zamora M. C. Relationships between colour parameters, phenolic content and sensory changes of processed blueberry, elderberry and blackcurrant commercial juices. În: *International Journal of Food Science & Technology*, 2012, nr. 47 (8), p. 1728-1736.
162. Saeedeh A. D., Vishlakshi Devi D., Urooj A. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. În: *Food Chemistry*, 2007, nr. 100, p. 1100-1105.
163. Chen C., Xue H., Mu S. pH dependence of reactive sites of curcumin possessing antioxidant activity and free radical scavenging ability studied using the electrochemical and ESR techniques: Polyaniline used as a source of the free radical. În: *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2014, nr. 713, p. 11-27.
164. Lemanska K., Szymusiak H., Tyrakowska B., Zielinski R., Soffers A. E., Rietjens I. M. The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. În: *Free Radical Biology & Medicine*, 2001, nr. 31, p. 869-881.
165. Birse M. J. The colour of red wine. Teză de doctor. Adelaide: The University of Adelaide, School of Agriculture, Food and Wine, Faculty of Sciences, 2007, 338 p.
166. Kontoudakis N., Esteruelas M., Fort F., Canals J. M., De Freitas V., Zamora F. Influence of the heterogeneity of grape phenolic maturity on wine composition and quality. În: *Food Chemistry*, 2011, nr. 124, p. 767-774.

167. Gonnet J. F. Colour effect of co-pigmentation of anthocyanin revisited-3. A further description using CIELab differences and assessment of matched colours using the CMC model. În: Food Chemistry, 2001, nr. 75, p. 473-485.
168. Martinez J. A., Melgosa M., Perez M. M., Hita E., Neguerela A. I. Note. Visual and Instrumental Color Evaluation in Red Wines. În: Food Science and Technology International, 2011, p. 439-444.
169. <http://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/color/part5/01.html> (vizitat 14.03.2016)
170. Willstatter R., Zollinger E. H. Über die Farbstoffe der Weintraube und der Heidelbeere. În: Ann. Chem. Liebigs., 1915, nr. 408, p. 83-109.
171. Asen S., Jurd L. The constitution of a crystalline blue cornflower pigment. În: Phytochemistry, 1967, nr. 6, p. 577-584.
172. Stintzig F. C., Stintzig A. S., Carle R., Frei B., Wrolstad R. E. Color and Antioxidant Properties of Cyanidin-Based Anthocyanin Pigments. În: J. Agric. Food Chem., 2002, nr. 50 (21), p. 6172-6181.
173. Teng Z., Ruoyang X., Qin W. Beta-lactoglobulin-based encapsulating systems as emerging bioavailability enhancers for nutraceuticals: a review. In: Royal Society of Chemistry Advances, 2015, nr. 5, p. 35138-35154.
174. Marty J., Oppenheim R.C., Speiser P. Nanoparticles - New Colloidal Drug Delivery System. In: Pharm. Aca. Helv., 1978, nr. 53, p. 17-23.
175. Teng Z., Luo Y.C., Wang Q. Nanoparticles Synthesized from Soy Protein: Preparation, Characterization, and Application for Nutraceutical Encapsulation. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, nr. 60, p. 2712-2720.
176. Fleischer C., Payne C.K. Nanoparticle surface charge mediates the cellular receptors used by protein-nanoparticles complexes. In: J. Phys. Chem. B., 2012, nr. 116, p. 8901-8907.
177. Zhang J., Liu X., Subirade M., Zhou P., Liang L. A study of multi-ligand beta-lactoglobulin complex formation. In: Food Chemistry, 2014, nr. 165, p. 256-261.
178. Zimet P., Livney Y.D. Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for ω -3 polyunsaturated fatty acids. In: Food Hydrocolloids, 2009, nr. 4 (23), p. 1120-1126.
179. GOST 6442-89. Marmelade. Specifications. 1980.
180. Cristea E., Sturza R., Niculaua M., Ghendov-Moșanu A., Patraș A. The influence of copigmentation, pH and ionic force on the antioxidant activity and colour parameters of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extract. În: Pigments in Foods. Cluj-Napoca: Colorama 2016, p.87.
181. Cristea E., Sturza R., Patraș, A. The influence of temperature and time on the stability of the antioxidant activity and colour parameters of grape marc ethanolic extract. În: The Annals of

the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI – Food Technology, 2015, nr. 39 (2), p. 96-104.

182. Cristea E. The influence of thermal treatments on the antioxidant activity and colour of the chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extract. În: *International Journal of Food Studies*, 2016, nr. 5, p. 224-231.

183. Cristea E. The influence of temperature and time on the antioxidant activity and colour parameters of dog-rose (*Rosa Canina*) ethanolic extract. În: *Studii și Cercetări Științifice. Chimie și Inginerie Chimică, Biotehnologii, Industrie Alimentară*, 2016, nr. 17 (2), p. 189-197.

184. Cristea E., Sturza R., Jauregi P., Guo, Y. The influence of encapsulation on the antioxidant activity of grape marc extract. În: *Modern Technologies in the Food Industry-2016*. Chișinău: Tehnica-Info, 2016, p. 18.

LISTA ANEXELOR

Lista anexelor cuprinde:

1. ANEXA 1. Brevet de invenție
2. ANEXA 2. Atestare privind obținerea bursei „Eugen Ionescu” și completarea stagiului
3. ANEXA 3. Atestare privind efectuarea stagiului la Universitatea din Reading
4. ANEXA 4. Raport privind rezultatele experiențelor pentru încapsularea polifenolilor
5. ANEXA 5. Rezultatele experiențelor privind separarea polifenolilor din aronie utilizând microspuma coloidală
6. ANEXA 6. Exemple de determinare a parametrilor CIELab
7. ANEXA 7. Descrierea metodei HPLC
8. ANEXA 8. Cromatogramele și timpii de retenție HPLC
9. ANEXA 9. Corelația Pearson Polifenoli - Activitate antioxidantă
10. ANEXA 10. Corelația Pearson Activitate antioxidantă - Culoare

ANEXA 1. Brevet de invenție



REPUBLICA MOLDOVA

Agencia de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

BREVET
DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ

Nr. **1136**

Eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

Titlul: **Procedeu de obținere a extractului de tescovină de struguri**

Titular: **CRISTEA Elena, MD**

Data depozit: **2016.09.13**
Durata brevetului : **6 ani**

Descrierea invenției, revendicările și desenele constituie parte integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată



Director General



CHIȘINĂU

ANEXA 2. Atestare privind obținerea bursei „Eugen Ionescu” și completarea stagiului

Bucarest, le 30 janvier 2015

Madame Elena CRISTEA
Université Technique de Moldavie
République de Moldavie
N/Réf. : CE/DG/021/2015

Madame,

J'ai le plaisir de vous informer que l'Agence universitaire de la Francophonie (AUF) a retenu votre candidature à une **Bourse de recherche doctorale** dans le cadre du programme « Eugen Ionescu » mis en place par le Gouvernement roumain pour l'année académique 2014-2015, **sous réserve** de nous faire parvenir, **dans les délais impartis**, le formulaire d'acceptation de l'allocation à la mobilité de recherche doctorale et engagement du bénéficiaire (ci-joint), dûment complété par vos soins. Celui-ci devra être accompagné des documents justificatifs indispensables à l'octroi définitif de l'allocation et à la mise en route effective.

En outre, si pendant le processus de mise en place de votre allocation il s'avère que l'information fournie dans le dossier de candidature n'était pas correcte et/ou complète, votre allocation sera annulée.

L'ensemble des documents demandés est à retourner au plus tard **le 22 février 2015**, au Bureau Europe centrale et orientale de l'Agence universitaire de la Francophonie (AUF). Sans réception de ces derniers à cette date, l'allocation sera annulée.

Cette allocation vous est attribuée dans le domaine *Agro-alimentaire* afin de vous permettre d'effectuer une mobilité d'une durée de **3 mois à l'Université des sciences agricoles et de médecine vétérinaire « Ion Ionescu de la Brad » de Iasi (Roumanie)**.

Vous trouverez ci-joint une attestation de votre qualité d'allocataire de l'Agence universitaire de la Francophonie (AUF) que vous pourrez produire, si nécessaire, aux autorités académiques et aux services diplomatiques et consulaires.

J'attire enfin votre attention sur le fait que cette mobilité doit impérativement prendre fin au plus tard **le 31 juillet 2015**. Aucune prolongation ne sera autorisée au-delà de cette date.

Je vous demanderais, dès à présent, de prendre connaissance de la notice d'information sur les conditions d'assurance qui vous seront appliquées dès le début de la période de soutien financier.

Je vous souhaite le meilleur bénéfice de cette allocation et vous prie de croire, Madame, à l'assurance de mes salutations les meilleures.



Fabien FLORI
Directeur régional
Bureau Europe Centrale et Orientale
Agence universitaire de la Francophonie



Ministère de l'Éducation et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITÉ DES SCIENCES AGRICOLES
ET DE MÉDECINE VÉTÉRINAIRE
«ION IONESCU DE LA BRAD» DE IASI
"University of Applied Life Sciences and Environment"



ENSEIGNEMENT UNIVERSITAIRE
AGRONOMIQUE À IASI

ATTESTATION DE FIN DE STAGE

Je, soussigné Prof. dr. BECEANU Dumitru, je confirme par la présente que M^{lle} Elena CRISTEA, venant de l'Université Technique de Moldavie, a achevé son stage doctorale au sein de la Faculté d'Horticulture de l'Université des Sciences Agricoles et de Médecine Vétérinaire « Ion Ionescu de la Brad » de Iași, qui s'est déroulé du 01 mai au 31 juillet 2015, dans le cadre du Programme «Eugen Ionescu» 2014 - 2015.

Le stage, ayant comme thème «L'extraction de polyphénols de raisin à partir de déchets viti-vinicoles et leur utilisation dans la production de boissons non alcoolisées» s'est bien déroulée et a bien pris fin. Au cours de cette période de recherche, M^{lle} Elena CRISTEA a effectué ses recherches dans le Laboratoire d'analyse des composés bioactifs antioxydants, sous la direction de M^{me} lecteur dr. Antoanela PATRAS (co-responsable de stage) et a suivi avec rigueur les techniques liées à l'extraction et l'analyse des polyphénols.

Fait à Iași, le 31 juillet 2015

Encadreur scientifique,

Prof. dr. BECEANU Dumitru

ANEXA 3. Atestare privind efectuarea stagiului la Universitatea din Reading



Dr P. Jauregi BSc, PhD

Department of Food and Nutritional Sciences

Whiteknights, PO Box 226
Reading RG6 6AP

phone +44 (0)118 378 8728

fax +44 (0)118 931 0080

email p.jauregi@reading.ac.uk

Alternative phone +44 (0)118 378 8716

Reading 24st April 2015

To whom it may concern,

RE : Research placement in Reading University of Elena CRISTEA

This is to let you know that Elena CRISTEA did a research placement in my laboratory in the Department of Food and Nutritional Sciences from 19th February till the 27th April 2015. During this time she undertook experiments on the extraction of polyphenols from berries and grape marc using the CGA method developed in our laboratory. She also conducted experiments on the encapsulation of polyphenols from these extract by the heat induction method developed in our laboratory.

Yours faithfully,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Paula".

Dr Paula Jauregi.

Food & Nutritional Sciences
University of Reading
Whiteknights
Reading RG6 6AP UK

ANEXA 4. Raport privind rezultatele experiențelor pentru încapsularea polifenolilor

Experiment 1 (03.2015)

Encapsulation of polyphenols from non-filtered wine 1 (concentration of polyphenols 4967 mgGAE/L)

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 471,9	Peak 1: 682,2	91,6	233,0
Pdl: 0,359	Peak 2: 98,85	6,5	24,95
Intercept: 0,906	Peak 3: 5392	1,9	652,5

Result quality : Good

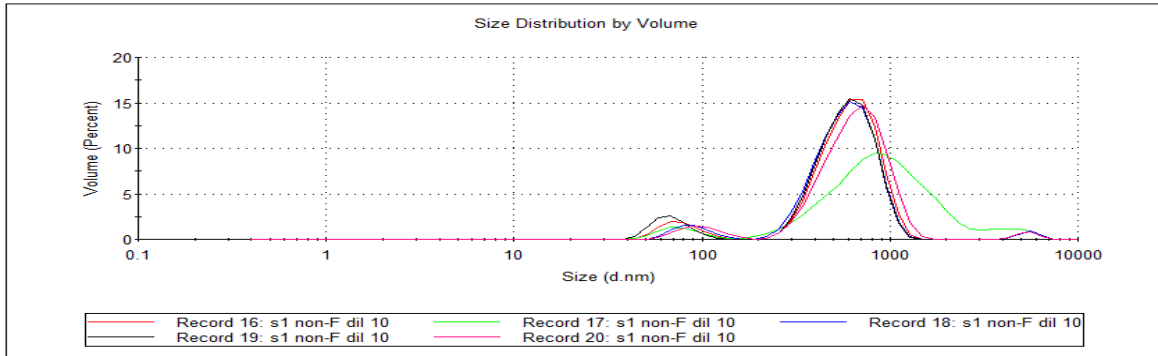


Fig. A4.2. Encapsulation of polyphenols: Particle size 1

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 284,4	Peak 1: 35,69	29,6	11,94
Pdl: 0,420	Peak 2: 1113	70,4	1129
Intercept: 0,611	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality : Good

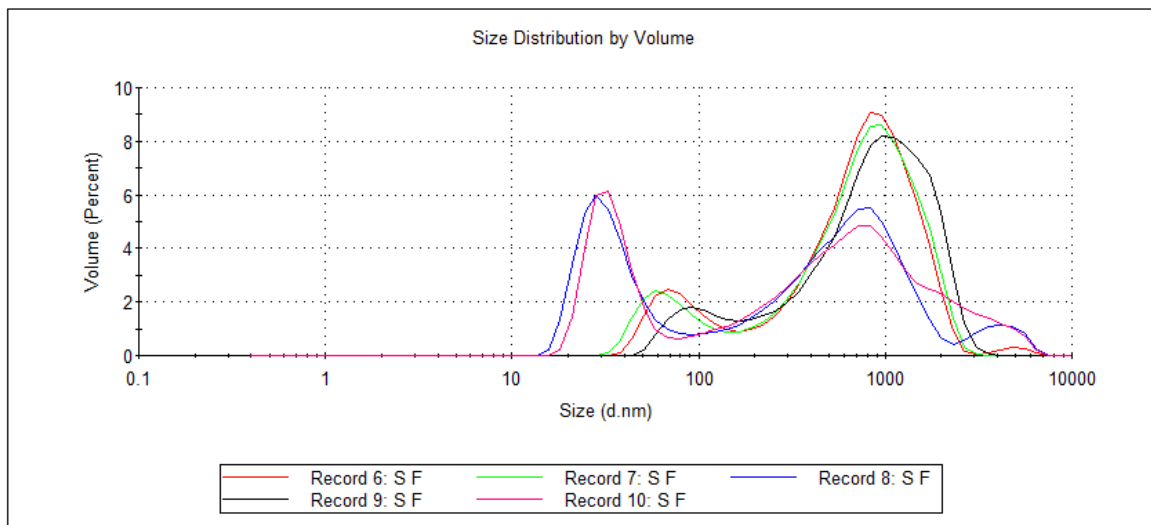


Fig. A4.3. Encapsulation of polyphenols: Particle size – 2

Table A4.1. Initial encapsulation results

Indice	Concentration in retentate	Concentration in permeate	Difference between retentate and permeate, %
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L			
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	6738±113	267±10	2424
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	472.0±6.1	33.4±3.8	1313
Flavonols, mg quercetin eq./L	425.4±12.5	23.2±7.5	1204
Anthocyanins, mg/100g a.monomeric b.total			
Antioxidant activity, μM Trolox eq/L	35141±1220	1729±160	1932

Encapsulation of polyphenols from filtered extract 1 (concentration of polyphenols 416 mgGAE/L) (no filtration before DLS) ID: F301

Z-Average (d.nm): 253,3 **Peak 1:** 372,9 **% Volume:** 97,2 **St Dev (d.n...)** 184,8
Pdl: 0,242 **Peak 2:** 4972 2,8 825,2
Intercept: 0,963 **Peak 3:** 0,000 0,0 0,000
Result quality : Good

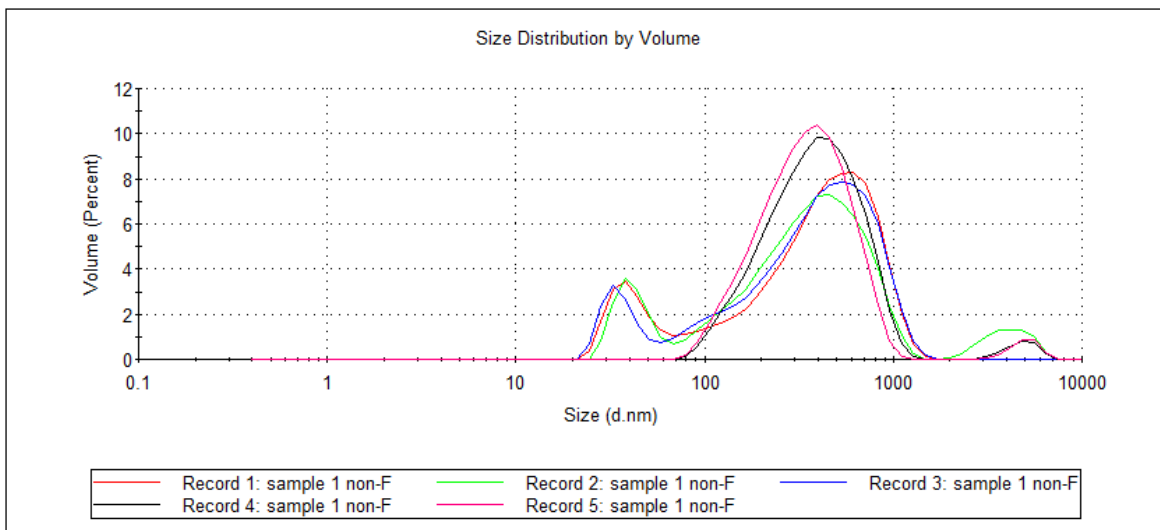


Fig. A4.4. Encapsulation of polyphenols: Particle size – 3

Table A4.2. Encapsulation results

Indice	Feed	Concentration in retentate	Concentration in permeate	Retention, % (<i>calculated using concentration in retentate and volume of retentate</i>)	Retention, % (<i>calculated using concentration in permeate and volume of permeate</i>)
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L	438±22	1043±3	181±2	88±1	-10±1
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	416±11	527±1	160±12	34	24
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	50.6±6.1	164.7±9.2	17.4±1.8	87	32
Flavonols, mg quercetin eq./L	53.5±10.0	188.0±8.7	15.2±0.0	94	44
Anthocyanins, mg/100g					
a.monomeric	1.85±0.05	-	0.03±0.01		
b.total	2.04±0.05	-	0.03±0.01		
Antioxidant activity, µM Trolox eq/L	1732±34	1515±130	1069±79	32±3	-

Encapsulation of polyphenols from filtered extract 2 (non-filtered sample) ID: F30R2

Z-Average (d.nm): 164,2
Pdl: 0,460
Intercept: 0,951
Result quality : Good

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Peak 1:	69,06	67,6	87,23
Peak 2:	1597	32,4	720,1
Peak 3:	0,000	0,0	0,000

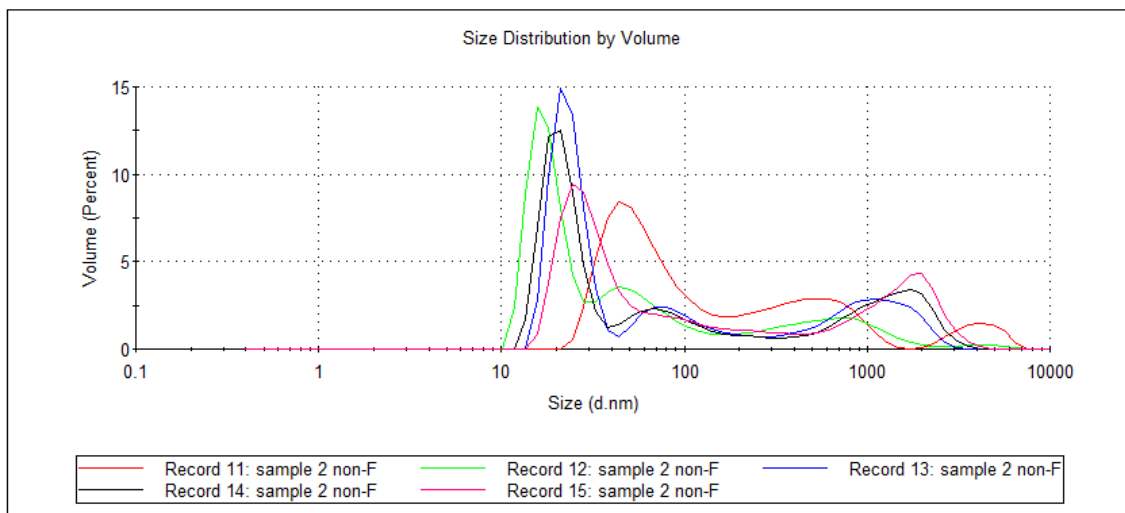


Fig. A4.5. Encapsulation of polyphenols – Particle size – 4

Table A4.3. Encapsulation results

Indice	Feed	Concentration in retentate	Concentration in permeate	Retention, % (calculated using concentration in retentate and volume of retentate)	Retention, % (calculated using concentration in permeate and volume of permeate)
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L	438±22	1391±18	151±2	116±2	10±1
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	416±11	731±38	102±4	47	54
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	50.6±6.1	162.5±7.5	7.5±2.3	86	72
Flavonols, mg quercetin eq./L	53.5±10.0	168.6±6.2	8.3±1.2	84	71
Anthocyanins, mg/100g					
a.monomeric	1.85±0.05	-	0.00±0.02	-	-
b.total	2.04±0.05	-	0.00±0.01	-	-
Antioxidant activity, µM Trolox eq/L	1732±34	4981±445	791±28	106±9	-

Diluted extract (Concentration of polyphenols of cca 1250 mgGAE/L Folin-Ciocalteu)

Sample 1

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 209,5	Peak 1: 118,5	21,5	29,86
Pdl: 0,276	Peak 2: 333,5	34,9	138,9
Intercept: 0,935	Peak 3: 1663	43,6	828,0
Result quality : Good			

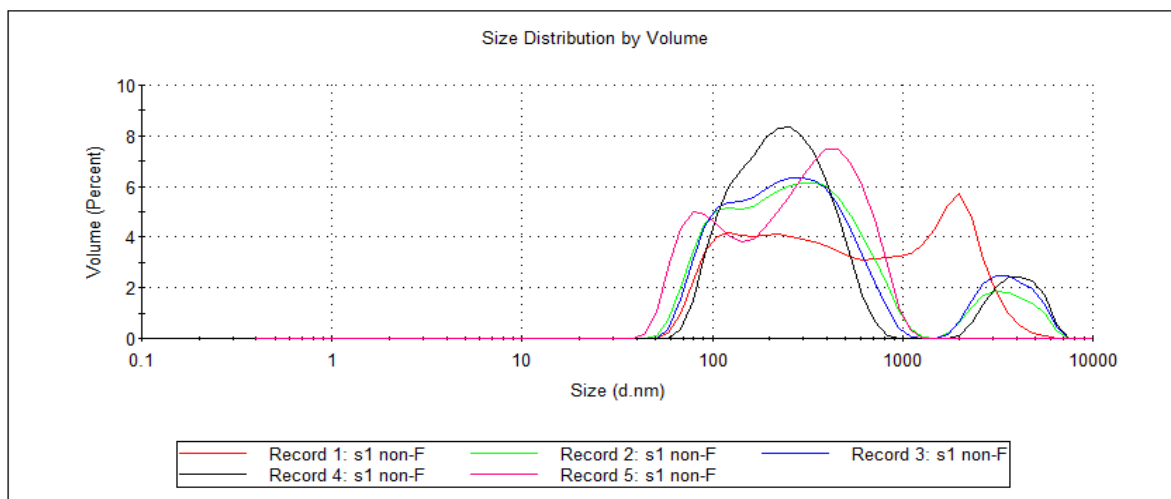


Fig. A4.5. Encapsulation of polyphenols. Particle size – 5

Table A4.4. Encapsulation results

Indice	Concentration in retentate	Concentration in permeate	Difference between retentate and permeate, %
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L			
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	2573±129	221±10	1064
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	326.5±17.5	22.5±6.1	1351
Flavonols, mg quercentin eq./L	330.8±44.1	20.1±6.7	1545
Anthocyanins, mg/100g a.monomeric b.total			
Antioxidant activity, μM Trolox eq/L	14118±709	1907±152	640

Sample 2

Z-Average (d.nm): 226,5 **Peak 1:** 343,3 **% Volume:** 70,0 **St Dev (d.n...)** 149,3
Pdl: 0,226 **Peak 2:** 47,82 30,0 11,19
Intercept: 0,905 **Peak 3:** 0,000 0,0 0,000
Result quality : Good

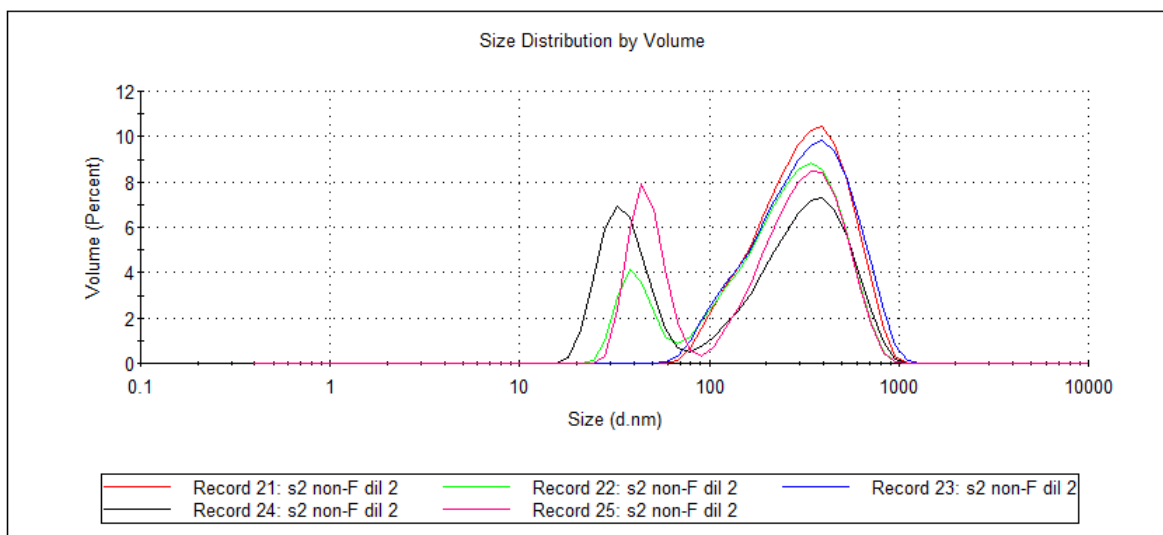


Fig. A4.6. Encapsulation of polyphenols. Particle size – 7

Table A4.5. Encapsulation results

Indice	Concentration in retentate	Concentration in permeate	Difference between retentate and permeate, %
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L			
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	1737±88	105±10	1554
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	190.4±6.6	11.9±0.4	1500
Flavonols, mg quercetin eq./L	178.1±4.1	21.5±9.6	728
Anthocyanins, mg/100g a.monomeric b.total			
Antioxidant activity, μM Trolox eq/L	11516±1218	1486±90	675

Summary. Diluted extract, sample 2 (ID: 15D2) (Concentration of total polyphenols in the initial extract cca 2500 mgGAE/L, concentration in the feed (after treatment and removal of the formed precipitate) - 983±30 mgGAE/L).

Table A4.6. Summary of initial trials

Sample	Particle size, nm	Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	Flavonols, mg catechin eq./L	Antioxidant activity, μ M Trolox eq/L
Filtered extract (413 mgGAE/L)	208.8 \pm 63.0	629 \pm 144	164.7 \pm 162.5	178.3 \pm 13.7	3248 \pm 2450
Filtered extract		131 \pm 41	12.5 \pm 7.0	11.8 \pm 4.9	930 \pm 197
Retention, %					
Diluted extract cca 1250 mgGAE/L Folin-Ciocalteu	218.0 \pm 12.0	2155 \pm 591	258.5 \pm 96.2	254.5 \pm 108.0	12817 \pm 1839
Diluted extract cca 2500 mgGAE/L Folin-Ciocalteu		163 \pm 82	17.2 \pm 7.5	20.8 \pm 1.0	1697 \pm 298
Non-diluted extract	471.4	6738 \pm 113	472.0 \pm 6.1	425.5 \pm 12.5	35141 \pm 1220
Non-diluted extract		267 \pm 10	33.4 \pm 3.8	23.2 \pm 7.5	1729 \pm 160

Experiment 2 (15.04.2015)

Table A4.7. Encapsulation results – second trial

Indice	Concentration in the feed	Concentration in retentate	Concentration in permeate	Retention, % (calculated using concentration in retentate and volume of retentate)	Retention, % (calculated using concentration in permeate and volume of permeate)
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L	670 \pm 9	1140 \pm 3	198 \pm 2	26 \pm 1	75 \pm 1
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	1048 \pm 20	1729 \pm 73	156 \pm 30	25 \pm 1	87 \pm 1
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	96.7 \pm 2.5	160.3 \pm 54.7	27.8 \pm 2.0	25 \pm 8	76 \pm 2
Flavonols, mg quercetin eq./L	75.8 \pm 10.2	179.9 \pm 70.6	26.9 \pm 3.2	36 \pm 14	70 \pm 4
Anthocyanins, mg/100g					
a.monomeric	1.68 \pm 0.06	0	0.10 \pm 0.01	-	-
b.total	2.04 \pm 0.12	31.87 \pm 4.88	0.08 \pm 0.01	0.21 \pm 0.03	99.99 \pm 0.01
Antioxidant activity, μ M Trolox eq/L	6204 \pm 624	17403 \pm 653	1184 \pm 73	42 \pm 2	84 \pm 1

Diluted extract, sample 1 (ID: 15D1) (Concentration of total polyphenols in the initial extract cca 2500 mgGAE/L, concentration in the feed (after treatment and removal of the formed precipitate) - 1048±20 mgGAE/L).

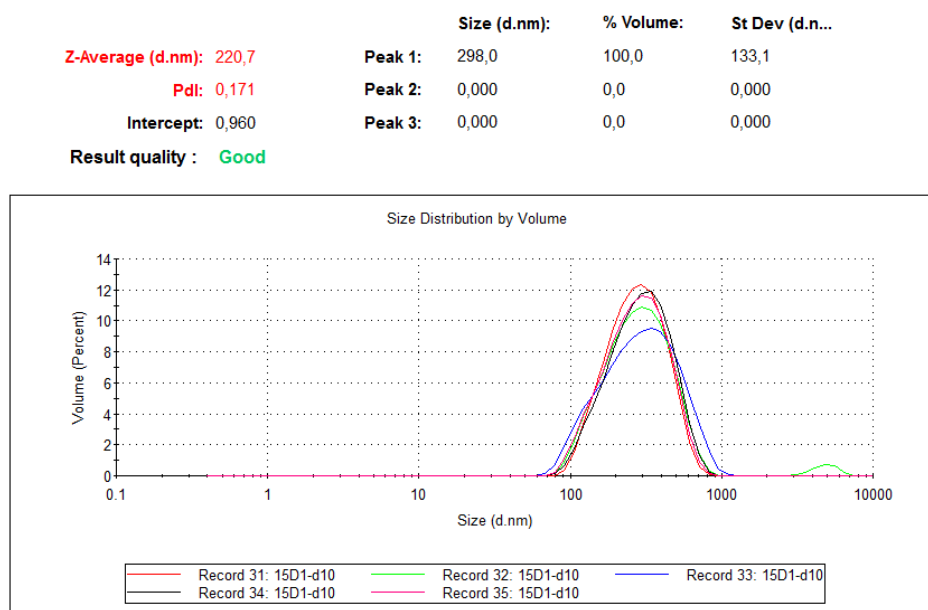


Fig. A4.8. Encapsulation of polyphenols – Particle size - 8

Table A4.8. Encapsulation results – second trial

Indice	Feed	Concentration in retentate	Concentration in permeate	Retention, % (calculated using concentration in retentate and volume of retentate)	Retention, % (calculated using concentration in permeate and volume of permeate)
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L	782±8	1062±5	234±12	20±1	75±1
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	983±30	1457±14	236±4	22±0	80±0
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	100.3±9.9	145.9±24.6	42.7±1.8	22±4	64±2
Flavonols, mg quercetin eq./L	86.4±12.4	151.7±26.7	37.7±1.5	26±1	63±1
Anthocyanins, mg/100g					
a.monomeric	1.17±0.48	0	0.15±0.01	-	-
b.total	1.78±0.02	28.01±1.59	0.13±0.01	0.23±0.01	99.99±0.01
Antioxidant activity, µM Trolox eq/L	7874±380	18134±1578	1228±119	35±3	87±1

Z-Average (d.nm): 371,2
Pdl: 0,360
Intercept: 0,800
Result quality : Good

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Peak 1:	930,9	100,0	522,3
Peak 2:	0,000	0,0	0,000
Peak 3:	0,000	0,0	0,000

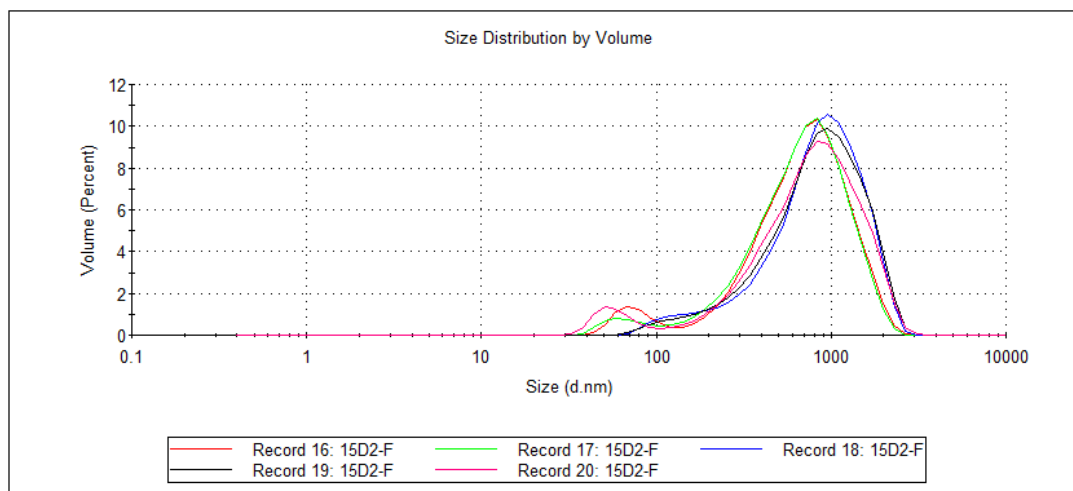


Fig. A4.9. Encapsulation of polyphenols – Particle size - 9

Diluted extract, sample 3 (ID: 15D3) (Concentration of total polyphenols in the initial extract cca 2500 mgGAE/L, concentration in the feed (after treatment and removal of the formed precipitate) - 1027±73 mgGAE/L).

Table A4.9. Encapsulation results – second trial

Indice	Feed	Concentration in retentate	Concentration in permeate	Retention, %	Retention, %
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L	829±9	758±2	125±8	46±1	93±1
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	1027±73	1052±14	33±8	51±1	98±0
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	101.8±8.7	86.9±19.5	8.7±2.5	43±10	96±1
Flavonols, mg quercetin eq./L	94.6±2.0	88.2±14.7	5.8±3.7	47±8	97±2
Anthocyanins, mg/100g					
a.monomeric	1.26±0.56	24.97±3.97	0.01±0.02	-	-
b.total	1.94±0.04	3.04±3.83	0.00±0.02	0.08±0.10	99.99±0.01
Antioxidant activity, µM Trolox eq/L					
	6695±429	7882±688	735±52	59±5	95±0

Z-Average (d.nm): 230,2
Pdl: 0,278
Intercept: 0,943
Result quality : Good

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Peak 1:	368,2	67,3	223,4
Peak 2:	3616	9,1	1129
Peak 3:	37,48	23,5	8,196

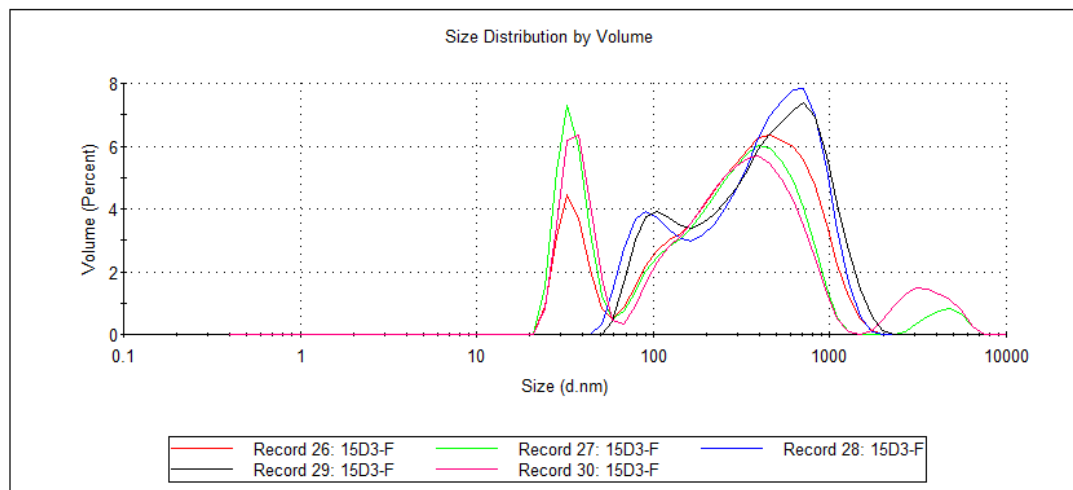


Fig. A4.10. Encapsulation of polyphenols – Particle size - 10

Filtered extract, sample 1 (ID: 15F1) (Concentration of total polyphenols in the initial extract 416 mgGAE/L, concentration in the feed (no precipitate) - 181 mgGAE/L).

Table A4.9. Encapsulation results – second trial

Indice	Feed	Concentration in retentate	Concentration in permeate	Retention, %	Retention, %
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L	438±22	-	147±3	-	35±2
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	416±11	680±17	97±2	56±0	54±1
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	50.6±6.1	86.4±0.8	8.0±1.9	58±1	69±7
Flavonols, mg quercetin eq./L	53.5±10.0	76.1±5.0	5.2±3.5	49±2	81±13
Anthocyanins, mg/100g					
a.monomeric	1.85±0.05		0.03±0.05		
b.total	2.04±0.05		0.03±0.03		
Antioxidant activity, μM Trolox eq/L	1732±34	4505±358	875±22	90±7	1±2

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 92,45	Peak 1: 377,7	2,0	166,0
Pdl: 0,826	Peak 2: 30,51	29,9	10,86
Intercept: 0,899	Peak 3: 4781	0,4	895,3

Result quality : Refer to quality report

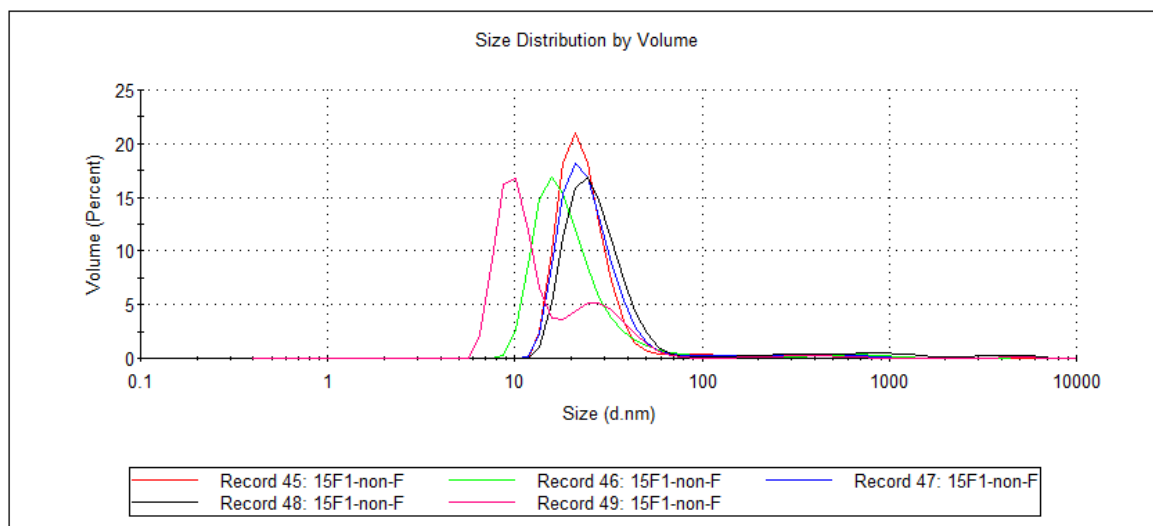


Fig. A4.11. Encapsulation of polyphenols: Particle size - 11

Remark: Even with further dilution, the PDI was still above 0.5

Filtered extract, sample 2 (ID: 15F2) (Concentration of total polyphenols in the initial extract 416 mgGAE/L, concentration in the feed (no precipitate) - 181 mgGAE/L).

Table A4.9. Encapsulation results – second trial

Indice	Feed	Concentration in retentate	Concentration in permeate	Retention, %	Retention, %
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L	438±22	-	135±2	-	40±1
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	416±11	515±42	87±3	40±1	59±1
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	50.6±6.1	88.0±1.5	7.1±1.1	56±1	73±4
Flavonols, mg quercetin eq./L	53.5±10.0	77.9±24.9	3.9±0.9	47±11	86±3
Anthocyanins, mg/100g					
a.monomeric	1.85±0.05		0.01±0.01	-	-
b.total	2.04±0.05		-	-	-
Antioxidant activity, µM Trolox eq/L	1732±34				
		2964±299	676±45	55±6	24±5

Z-Average (d.nm): 64,41 **Peak 1:** 31,06 **% Volume:** 25,5 **St Dev (d.n...)** 14,60
Pdl: 0,660 **Peak 2:** 602,9 1,0 289,8
Intercept: 0,893 **Peak 3:** 4351 0,3 1021
Result quality : **Good**

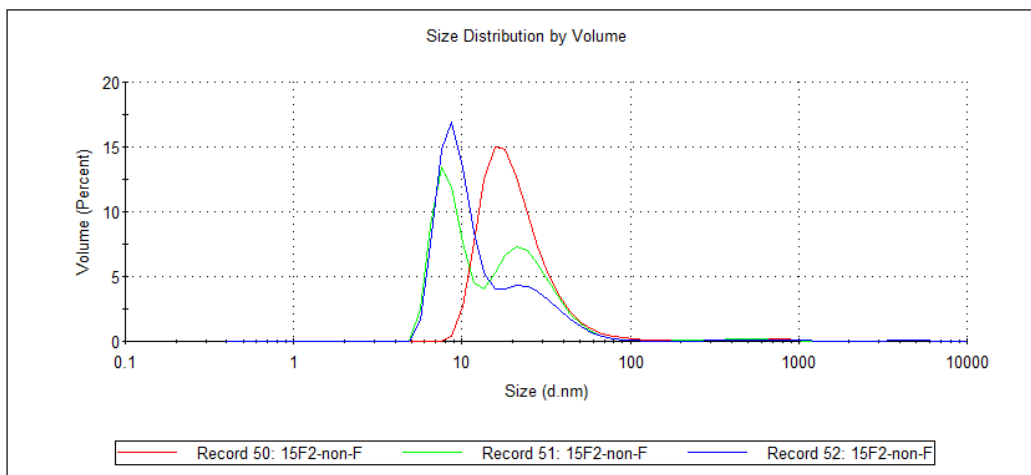


Fig. A4.12. Encapsulation of polyphenols: Particle size - 12

Remark: Even with further dilution, the PDI was still above 0.5

Summary

Table A4.10. Encapsulation results – particle size

Concentration of polyphenols in the initial extract, mgGAE/L (Folin-Ciocalteu)	Particle size
4967	471.9 (1 replicate)
2500	274.0±84.3 (average±SD of 3 replicates)
1250	218±12.0 (average±SD of 2 replicates)
416	208.8±63.0 (average±SD of 2 replicates)

Table A4.11. Average retention between the replicates

Indice	R, diluted extract	R, filtered Extract
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L	75±0	28.3±16.1
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	83.5±4.9	55.7±2.9
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	70±8.5	71.3±2.1
Flavonols, mg quercetin eq./L	66.5±4.9	79.3±7.6
Anthocyanins, mg/100g		

a.monomeric	-	-
b.total	99.99±0	-
Antioxidant activity, μM Trolox eq/L	85.6±2.1	24

Antioxidant activity

Table A4.12. Evolution of the antioxidant activity during storage

Sample ID	Antioxidant activity, μM Trolox eq/L				
	Day 0	Day 3	Day 5	Day 7	Day 9
15D1R	17403±653	17799±1668	12894±3374	13524±396	15197±401
15D2R	18134±1578	12498±571	12391±1857	13933±1829	12223±1138
15D3R	7882±688	4357±1278	5017±904	5307±239	5472±275
15D1P	1184±73	1189±7	1166±92	988±2	991±10
15D2P	1228±119	1352±170	1286±72	1140±239	1257±81
15D3P	735±52	852±22	488±121	593±44	881±53
15F1R	4505±358	2469±101	3130±23	1795±41	3078±157
15F2R	2964±299	2442±31	2812±476	2059±345	2862±112
15F1P	875±22	858±57	815±56	986±33	967±91
15F2P	676±45	807±42	686±29	727±17	695±35
Extract	16768±1505	25453±1312	32240±3029	18566±2100	18258±1238
Filtered extract	1732±34	1744±94	1960±43	1879±69	1629±36
F30.03R2		2059±128	2361	1708±16	1680±167
F30.03P2				528±15	638±243

0.25 mL of the retentates, the permeates and the initial extract were left in Eppendorf tubes at room temperature, exposed to light in order to monitor the kinetics of the loss of the antioxidant activity. Measurements were taken on day 0, day 2, day 5, day 7, and day 9.

Change in the antioxidant activity of the diluted extract (retentate vs. permeate vs. original extract).

(Sample 15D3 was excluded because of the filtration error and thus different results).

Table A4.13. Change in the antioxidant activity of the diluted extract (retentate vs. permeate vs. original extract)

Sample	Antioxidant activity, μM Trolox eq/L				
	Day 0	Day 3	Day 5	Day 7	Day 9
Retentate	17769±517	15149±3748	12643±356	13729±289	13715±2096
Permeate	1206±31	1271±115	1226±85	1064±107	1124±188
Original extract	16768±1505	25453±1312	32240±3029	18566±2100	18258±1238

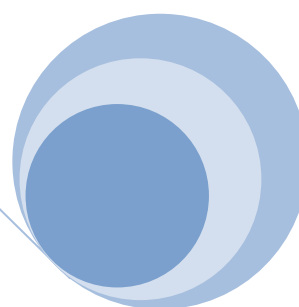
The results are presented as average±standard deviation of the two replicates

Table A4.14. Change in the antioxidant activity of the diluted extract (retentate vs. permeate vs. original extract)

Sample	Antioxidant activity, $\mu\text{M Trolox eq/L}$				
	Day 0	Day 3	Day 5	Day 7	Day 9
Retentate	3735 \pm 1090	2456 \pm 19	2971 \pm 225	1927 \pm 187	2970 \pm 153
Permeate	776 \pm 141	833 \pm 36	751 \pm 91	857 \pm 183	831 \pm 192
Original extract	1732 \pm 34	1744 \pm 1960	1960 \pm 43	1879 \pm 69	1629 \pm 36

The results are presented as average \pm standard deviation of the two replicates

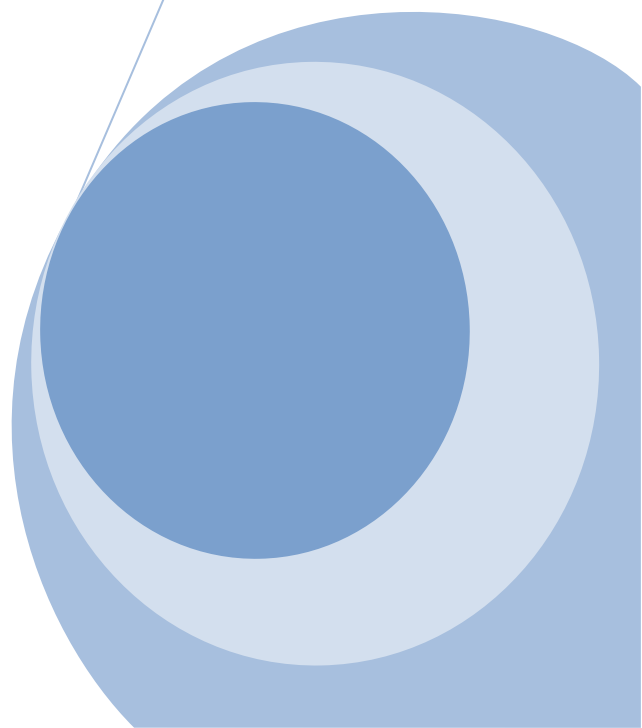
**ANEXA 5. Rezultatele experiențelor privind separarea polifenolilor din aronie
utilizând microspuma coloidală**



Report on results

Separation of polyphenols from chokeberry
extracts using colloidal gas aphrons

Elena Cristea
11/5/2015



Materials and methods

Separation of polyphenols

The ethanolic extract of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) was used for the experiments. The extract was obtained by extraction of 10 g of dried chokeberry (*Aronia melanocarpa*) powder in 50% ethanol solution. The obtained extract was stored at 4°C for one day before the separation and all measurements were performed. The CGA is generated from a surfactant solution stirred at 8000 rpm with Silverson mixer for 5 min. Tween 20, 10mM solution was used as surfactant. The trials are carried out in a flotation gas column (internal diameter – 0.25m, total height – 0.4 m). 60 mL of the extract sample and the CGA generated from 400 mL of the initial surfactant solution are pumped into the column by a peristaltic pump. The volumetric flow is regulated so that the mixing time would be 3.5-4 min. Once the column filled, the mixture is left standing for drainage time before pumping out the separated bottom liquid and upper aphron phase. The volumes of the separated liquid phase (V_{LP}) and collapsed aphron phase (V_{AP}) are measured. The percent recovery of a specific compound y in the aphron phase (R_{ey}) is calculated based on the difference between the total amount of y in the feed and ($M_{y/feed}$) and the amount of y measured in the separated liquid phase ($M_{y/liq}$). The separation factor (SF) is calculated in order to determine the approximate affinity of a compound to the aphron phase compared to the affinity to the liquid phase, based on the concentrations of the compound y in the aphron and in the liquid phase (C_{APy} and C_{LPy}) given by the Eq. $SF = C_{APy}/C_{LPy}$ (Spigno et al., 2014) (Nurmahani). After the separation the antioxidant activity, the content of total polyphenols, anthocyanins, cinnamic acids, and flavonols were determined in the original extract, liquid phase and aphron phase.



Fig. A5.1. Experimental installation

Determination of different classes of phenolics and antioxidant activity

Antioxidant activity by reaction with ABTS radical

The antioxidant activity of the extracts is assessed by assay with the radical ABTS, which is based on the ability of antioxidants to reduce the radical and decrease its absorbance at 734 nm.

Trolox (2.5 mM) is prepared in ethanol for use as a stock standard. Fresh working standards are prepared every day by ethanol dilution (*mother-solution: 0.025g Trolox in 50 mL ethanol, 5 points: 0; 500; 1000; 1500; 2000*). ABTS is dissolved in water to 7 mM concentration. ABTS radical cation is produced by reacting ABTS stock solution with 2.45 mM potassium persulfate (final concentration) and allowing the mixture to stand in the dark at room temperature for 12-16 hours before use. Since ABTS and potassium persulfate react stoichiometrically at a ratio of 1:0.5, this will result in incomplete oxidation of the ABTS. The oxidation of ABTS commences immediately, but the absorbance is not maximal and stable until after more than 6 hours. The radical is stable in this form for more than two days when stored in the dark at room temperature. In order to test the phenolic compounds the ABTS radical is diluted to an absorbance of 0.70 (± 0.02) at 734 nm and equilibrated at 30°C. The sample solutions are diluted in such way that they would produce between 20%-80% inhibition of the blank absorbance, after the introduction of a 10 μ L aliquot of each dilution into the assay. After the addition of 1.0 mL of diluted ABTS radical solution to 10 μ L of antioxidant compounds or Trolox standards, the absorbance reading was taken at room temperature exactly 1 min after initial mixing and up to 6 min, using ethanol as a blank. The percentage inhibition of absorbance at 734 nm is calculated and plotted as a function of concentration of antioxidants and of Trolox for the standard reference data (Pellegrini et al., 1998).

The content of anthocyanins by difference of pH

The content of total and monomeric anthocyanins is determined by reading the absorbance at 520 nm and 700 nm after the appropriate dilution and addition of 4 mL of pH=1.0 and pH=4.5 solutions to 1mL of sample (Amendola et al., 2010).

Total cinnamic acids

The content of total cinnamic acids is determined by reading the absorbance at 320 nm and expressing the results as caffeic acid equivalents (CAE) based on a calibration curve with standard of caffeic acid (Spigno et al., 2007).

Total flavonols

The content of total flavonols is determined by reading the absorbance at 370 nm and expressing the results as caffeic acid equivalents (CAE) based on a calibration curve with standard of quercetin (Spigno et al., 2007). Sant'Anna et al. 2012, Demir

Total polyphenols (Folin-Ciocalteu and Abs 280)

Abs 280

The total polyphenol content is determined by measuring the absorbance at 280 nm and expressed as equivalent of gallic acid (GAE) by construction of a calibration curve. The calculation of the total polyphenol index [TPI] will be made following the method described by Ribereau-Gayon et al. (2006). This test presents a number of advantages such as speed and reproducibility. Still some molecules such as chalcones and cinnamic acids do not have an absorption maximum at this wavelength (Ribereau-Gayon et al., 2006).

TPI=Abs280*dilution

Folin-Ciocalteu method

All phenolic compounds including tannins are oxidized by Folin-Ciocalteu reagent. The blue coloration produced has a maximum absorption in the region of 750 nm, and is proportional to the total quantity of phenolic compounds originally present. The determination of Folin-Ciocalteu index is performed by introducing the following into a 1.5 mL Eppendorf tube strictly in the following order:

0.2 mL of the sample, previously diluted

6 mL of distilled water

0.5 mL of Folin-Ciocalteu reagent

The mixture is vortexed, and after 1 min, 1.5 mL of aqueous sodium carbonate (20%) are added, the mixture is vortexed again and allow to stay in the dark at room temperature for 120 min. Afterwards, the absorbance is determined at 750 nm through a path length of 1 cm against a blank prepared with distilled water in place of the sample. If the absorbance was not in the region of 0.3 appropriate dilution shall be made. The results are calculated from a calibration curve, using gallic acid as a standard expressed in equivalents of gallic acid (Waterman et al., 1994).

Results and discussion

Table 1 summarizes the results for the antioxidant activity, the content total polyphenols as determined by two methods, the content of cinnamic acids and flavonols, the content of anthocyanins determined in the original extract, the liquid phase and the aphron phase. The recovery for each parameter was also calculated.

Table A5.1. Phenolic composition, antioxidant activity of the original extract, the liquid phase, the aphron phase, and the percentage of recovery

Indice	Original extract	Aphron phase			Liquid phase			Recovery, %
		Sample 1	Sample 2	Average	Sample 1	Sample 2	Average	
Antioxidant activity, μM Trolox eq/L	25070 \pm 1202	6651 \pm 479	6105 \pm 36	6378 \pm 386	4253 \pm 62	4175 \pm 201	4214 \pm 55	70.3 \pm 4.7
Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L	3823 \pm 158	1295 \pm 48	1382 \pm 40	1338 \pm 61	857 \pm 8	831 \pm 11	844 \pm 18	60.9 \pm 6.3
Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	5660 \pm 508	1190 \pm 105	1250 \pm 123	1220 \pm 43	916 \pm 68	890 \pm 20	903 \pm 18	71.8 \pm 5.0
Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	647 \pm 71	312 \pm 10	332 \pm 2	323 \pm 16	179 \pm 14	223 \pm 9	201 \pm 31	46.0 \pm 3.4
Flavonols, mg quercetin eq./L	632 \pm 35	319 \pm 8	352 \pm 12	336 \pm 22	179 \pm 13	219 \pm 13	199 \pm 29	45.1 \pm 3.7
Anthocyanins, mg/100g								
a.monomeric	7.85 \pm 3.72	8.40 \pm 0.06	-2.79 \pm 0.29	-	19.78 \pm 1.20	0.95 \pm 0.18	-	-
b.total	9.15 \pm 0.08	5.03 \pm 0.19	5.62 \pm 0.11	5.33 \pm 0.41	2.60 \pm 0.06	2.81 \pm 0.49	2.70 \pm 0.15	46.4 \pm 6.4

The results for each sample are presented as average \pm standard deviation of 3 determinations , the average \pm SD of the two samples is also calculated

Table A5.1. Separation factor and percentage of recovery for each of the determined parameters

	Antioxidant activity, μM Trolox eq/L	Total polyphenols (Abs280),mgGAE/L	Total polyphenols (Folin-Ciocalteu), mgGAE/L	Cinnamic acids, mg caffeic acid eq./L	Flavonols, mg quercetin eq./L	Total anthocyanins, mg/100g
Separation factor, SF= CAPy/CLPy	1.51 \pm 0.07	1.59 \pm 0.11	1.35 \pm 0.07	1.62 \pm 0.18	1.69 \pm 0.12	1.97 \pm 0.05
Recovery, %	70.3 \pm 4.7	60.9 \pm 6.3	71.8 \pm 5.0	46.0 \pm 3.4	45.1 \pm 3.7	46.4 \pm 6.4

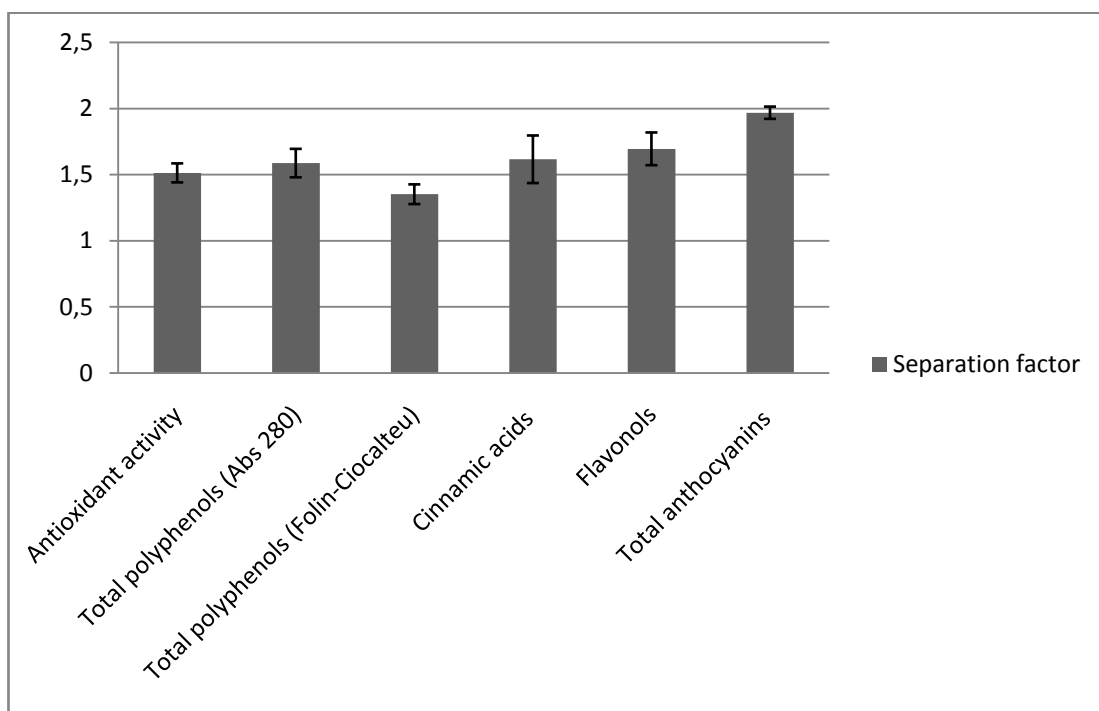


Fig. A5.2. Separation factor for each of the determined parameters (error bars represent the standard deviation for the duplicate)

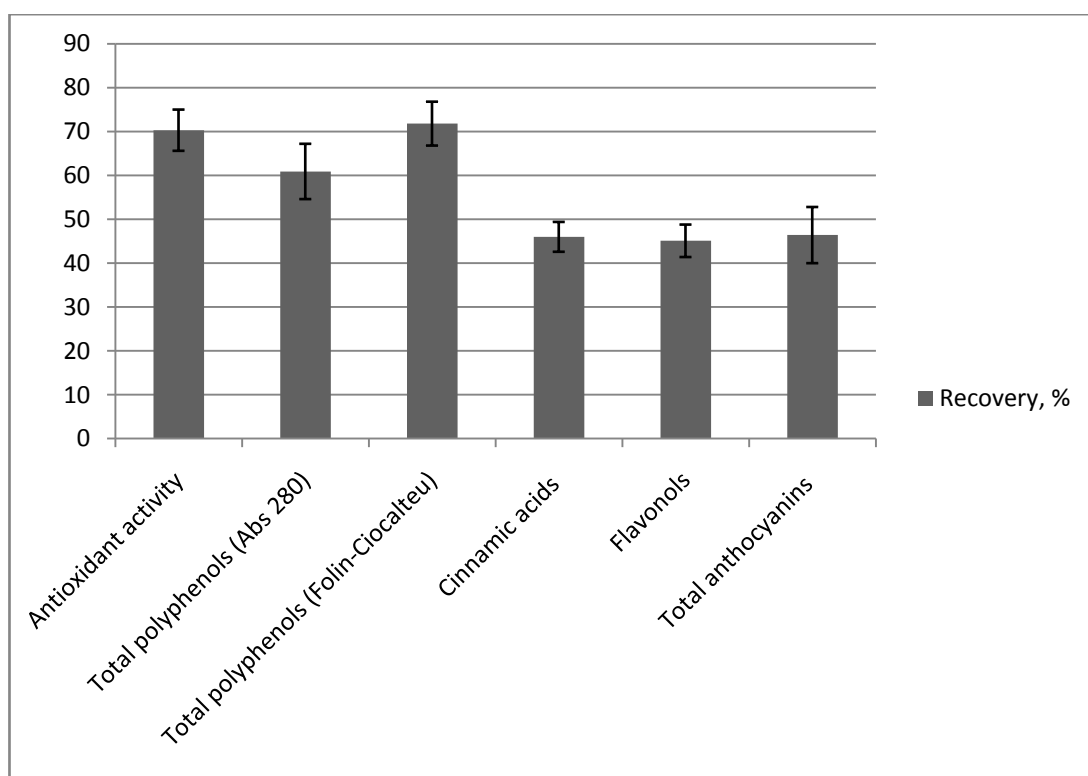


Fig. A5.3. Percentage of recovery for each of the determined parameters (error bars represent the standard deviation for the duplicate)

ANEXA 6. Exemple de determinare a parametrilor CIELab

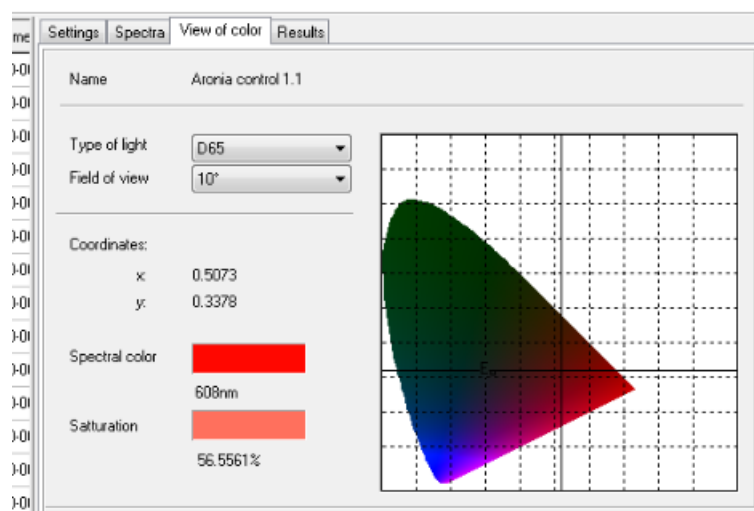


Fig. A6.1. Coordonatele de culoare: aronie

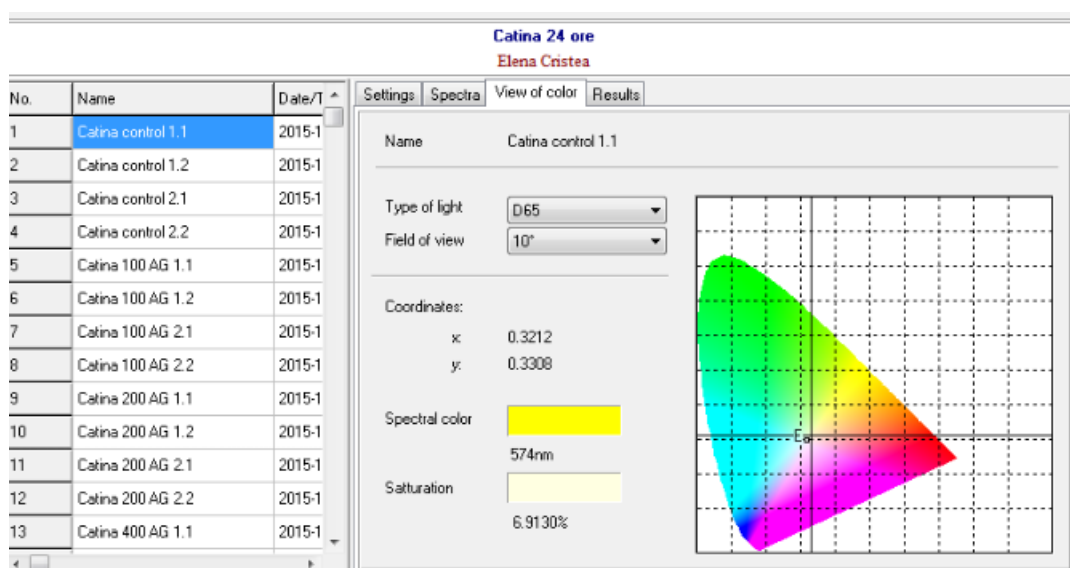


Fig. A6.2. Coordonatele de culoare: cătină albă

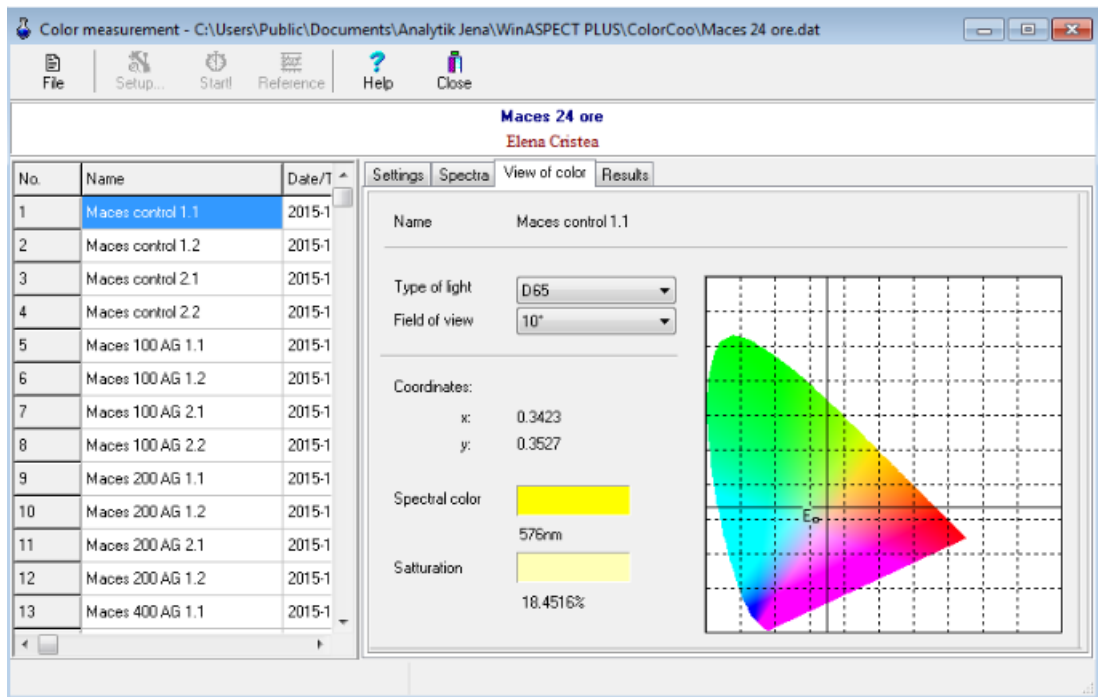


Fig. A6.3. Coordonatele de culoare: măceș

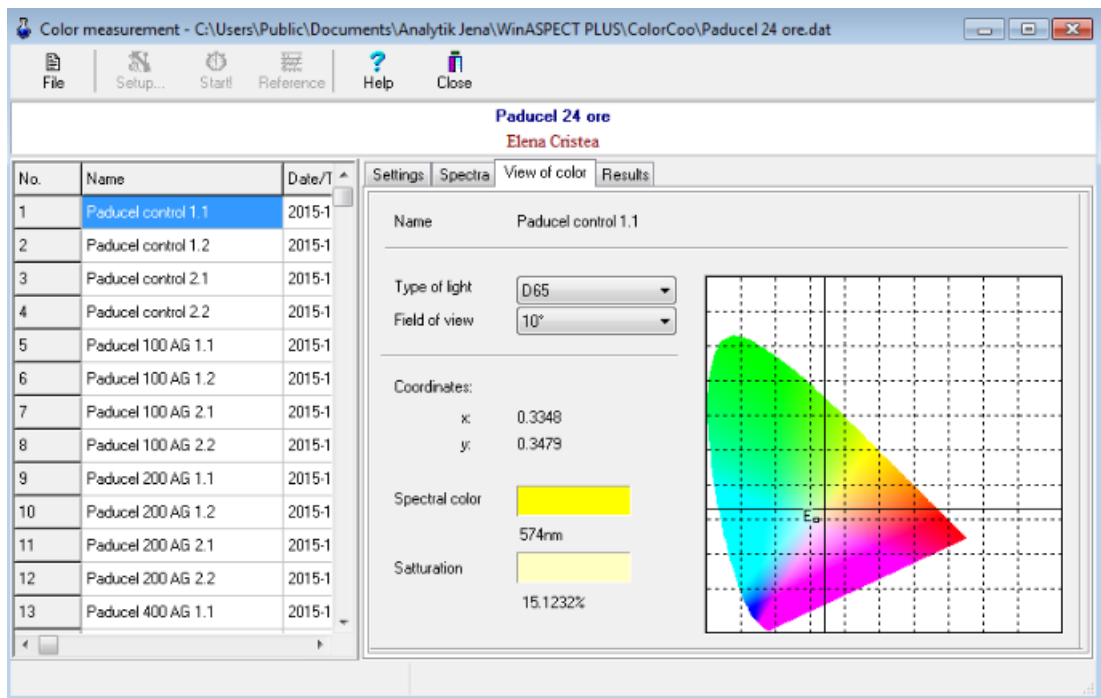


Fig. A6.4. Coordonatele de culoare: păducel

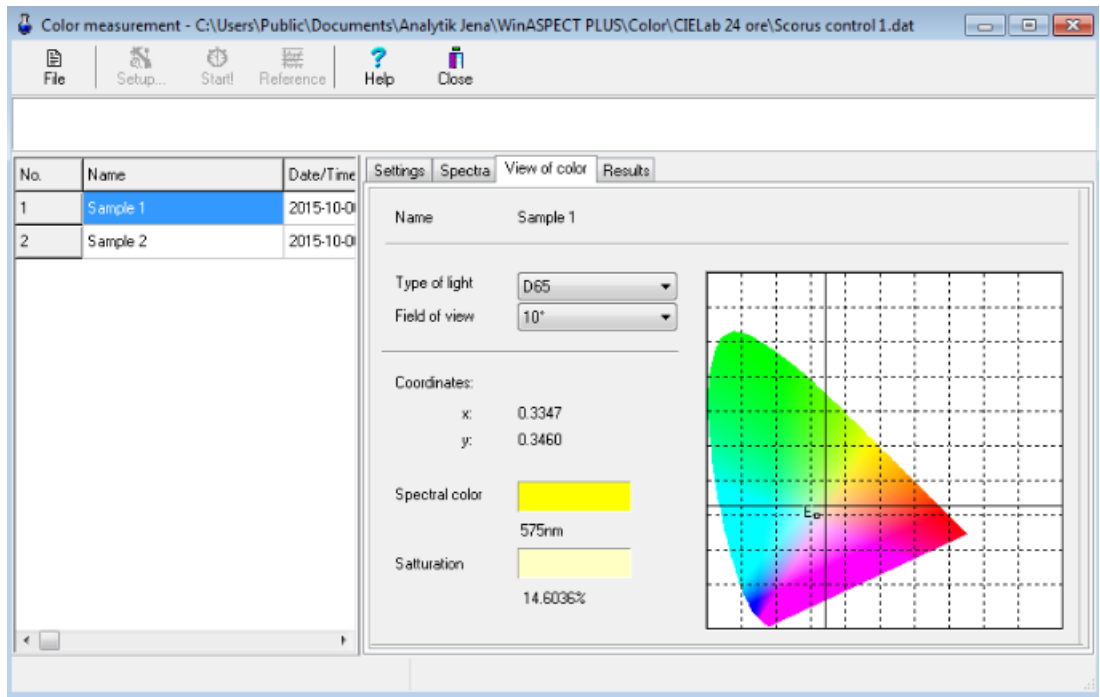


Fig. A6.5. Coordonatele de culoare: păducel

ANEXA 7. Descrierea metodei HPLC

Tabelul A7.1. Timpii de eluție pentru compușii fenolici identificați

Nr.	Compus	λ	min	timp inceput	timp final				
1	acid galic	280 nm	5,294	4,85	6,1				280
2	acid protocatehic	256 nm	9,267	8,96	9,8		8,7		256
3	acid p-hidroxibenzoic	256 nm	13,918	13,58	14,75				
4	acid gentisic	324 nm	15,531	14,1	16,4		14,5		324
24	B1	280 nm	16,704	16,35	17,08		16,3		280
9	acid m-hidroxibenzoic	280 nm	17,989	17,62	18,6				
5	catechina	280 nm	18,53	18,25	19,9				
6	acid vanilic	256 nm	20,319	20	20,6		20		256 P1
27	acid cafeic	324 nm	20,485	19,9	20,9		20		324 P2
8	acid clorogenic	324 nm	22,871	22,4	24,6				
25	B2	280 nm	23,433	23,1	24,2		23		280
7	acid siringic	280 nm	25,002	24,68	25,55				
26	epicatechina	280 nm	26,836	26,6	27,3				
10	acid p-cumaric	324 nm	29,695	29,3	31,6		29		324
21	acid ferulic	324 nm	36,211	35,88	36,5				
13	acid ferulic	324 nm	36,233	35,85	36,97				
11	acid salicilic	280 nm	36,995	36,1	37,55		36		280 P2
22	polidatin	280 nm	38,234	36,7	39,36				
20	acid sinapic	324 nm	38,564	37,5	39		37,4		324 P2
23	hyperoside	280 nm	47,305	45,2	48,4		45		280
12	acid ellagic	280 nm	48,185	47,8	48,8				
19	trans-resveratrol	324 nm	49,333	49	50		49		324
16	rutin x3H2O	256 nm	50,968	48	52		50,3		256
18	cis-resveratrol	324 nm	57,089	56,75	57,5		56,6		324
17	ester CH3 al ac ferulic	365 nm	57,754	57,3	58,4		57,5		365
14	morin	280 nm	57,882	57,25	59		57,15		280 P2
15	quercitina	256 nm	65,278	64	66		64		256

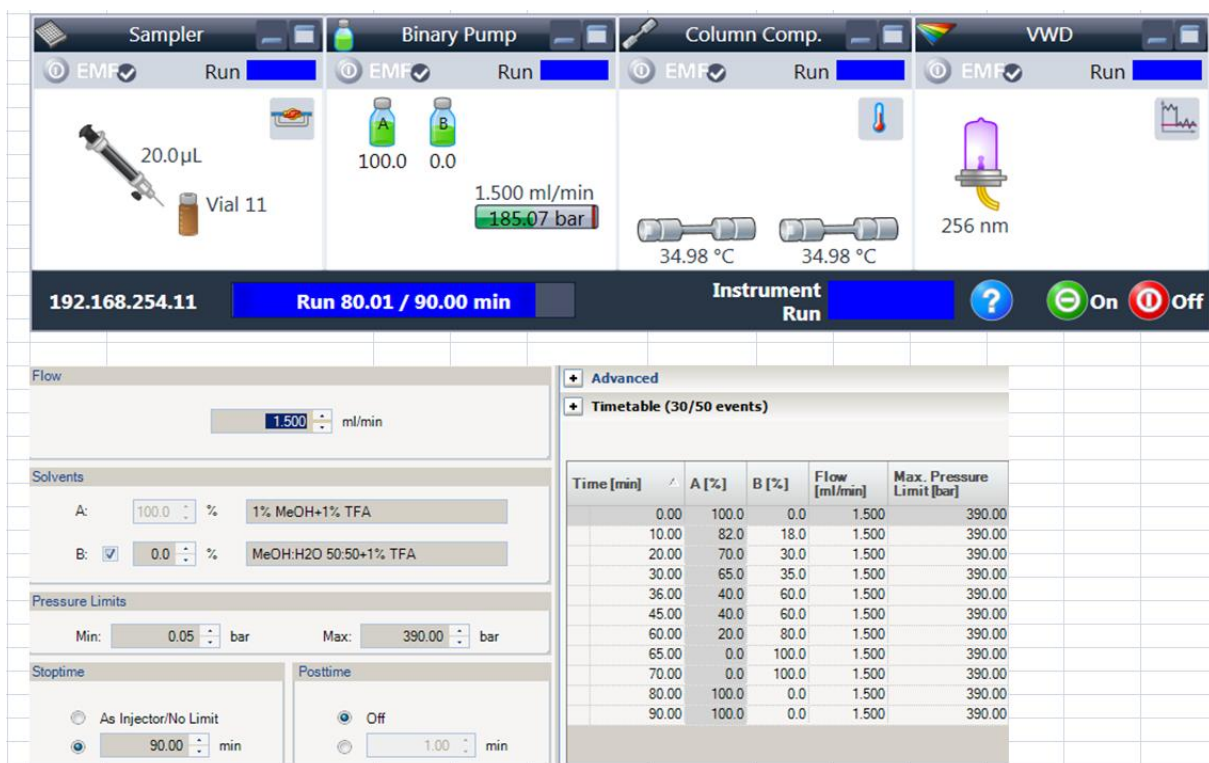


Fig. A7.1. Datele pentru metoda HPLC

P1

Signal

Wavelength: 280 nm

Peakwidth: > 0.05 min (1 s resp. time) (6.87 Hz)

Stoptime

As Pump/Injector

1.00 min

Posttime

Off

1.00 min

Advanced

Timetable

Time	Function	Parameter
8.7	Change Signal	Wavelength: 256
14.5	Change Signal	Wavelength: 324
16.4	Change Signal	Wavelength: 280
20	Change Signal	Wavelength: 256
23	Change Signal	Wavelength: 280
29	Change Signal	Wavelength: 324
45	Change Signal	Wavelength: 280
49	Change Signal	Wavelength: 324
50.3	Change Signal	Wavelength: 256
56.6	Change Signal	Wavelength: 324
▶ 57.5	Change Signal	Wavelength: 365
64	Change Signal	Wavelength: 256

Fig. A7.2. Lungimile de undă la care s-a efectuat detecția: metoda P1

P2

Signal

Wavelength: 280 nm

Peakwidth: > 0.05 min (1 s resp. time) (6.87 Hz)

Stoptime

As Pump/Injector

1.00 min

Posttime

Off

1.00 min

Advanced

Timetable

Time	Function	Parameter
▶ 8.7	Change Signal	Wavelength: 256
14.5	Change Signal	Wavelength: 324
16.4	Change Signal	Wavelength: 280
20	Change Signal	Wavelength: 324
23	Change Signal	Wavelength: 280
29	Change Signal	Wavelength: 324
36	Change Signal	Wavelength: 280
37.4	Change Signal	Wavelength: 324
45	Change Signal	Wavelength: 280
49	Change Signal	Wavelength: 324
50.3	Change Signal	Wavelength: 256
56.6	Change Signal	Wavelength: 324
57.15	Change Signal	Wavelength: 280
64	Change Signal	Wavelength: 256

Fig. A7.3. Lungimile de undă la care s-a efectuat detecția: metoda P2

ANEXA 8. Cromatogramele și timpii de retenție HPLC

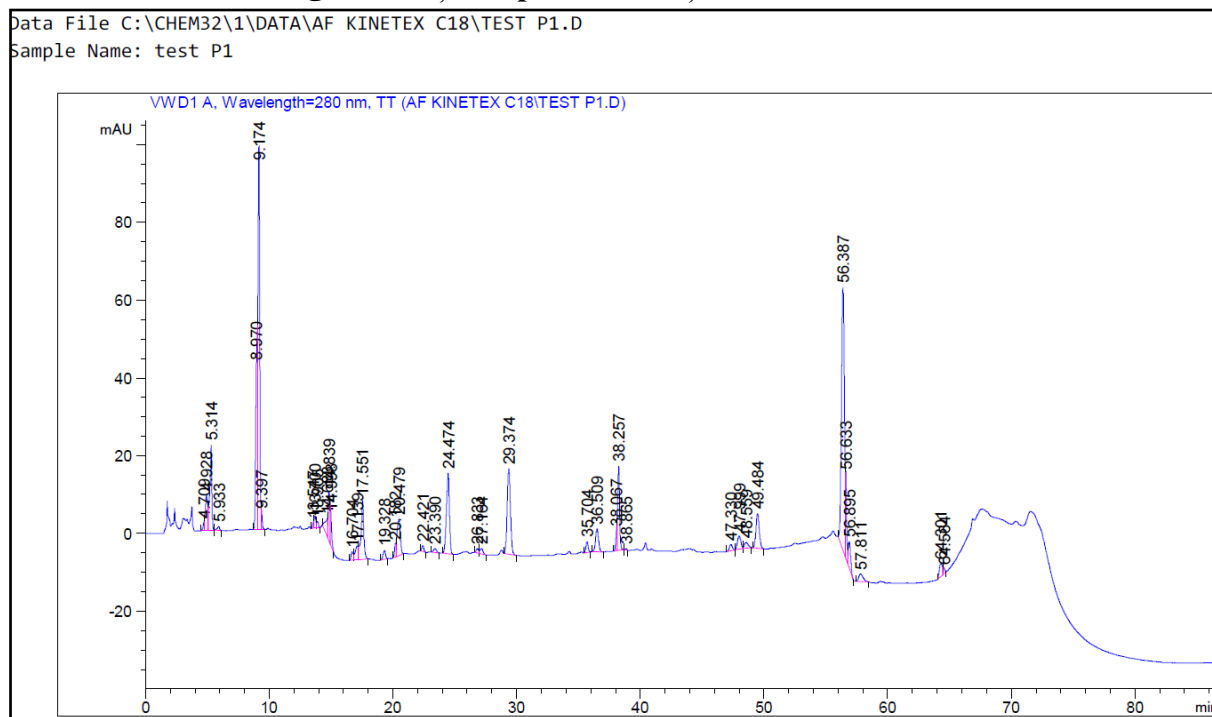


Fig. A8.1. Cromatograma amestecului sintetic de compuși fenolici obținută prin metoda P1

Tabelul A8.1. Timpii de retenție P1 pentru copușii fenolici din amestecul sintetic

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.709	BV F	0.0990	13.54526	1.93863	0.2398
2	4.928	VV	0.2052	124.79501	9.01270	2.2091
3	5.314	VB	0.1569	245.20589	21.88429	4.3406
4	5.933	BBA	0.1799	12.82707	1.01221	0.2271
5	8.970	BV F	0.1589	460.21344	42.33086	8.1466
6	9.174	VV	0.1396	920.06500	98.43638	16.2868
7	9.397	VBAB	0.0975	29.28647	4.19117	0.5184
8	13.547	BV F	0.1056	9.76606	1.31459	0.1729
9	13.700	VV	0.1462	30.75636	3.10440	0.5444
10	13.905	VBA	0.1438	15.40314	1.62857	0.2727
11	14.683	BV F	0.1646	58.73358	4.43869	1.0397
12	14.839	VV	0.1630	131.72783	12.72066	2.3318
13	14.998	VBAB	0.1306	68.02424	7.71097	1.2041
14	16.704	BV	0.1840	25.92278	2.08966	0.4589
15	17.139	VV	0.2641	62.59240	3.54706	1.1080
16	17.551	VBA	0.2148	229.08571	15.10238	4.0552
17	19.328	BBA	0.2114	32.43543	2.31614	0.5742

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
18	20.182	BV F	0.0928	23.88629	3.37268	0.4228
19	20.479	VBA	0.2774	173.37271	9.28991	3.0690
20	22.421	BBA	0.1741	16.91625	1.51348	0.2994
21	23.390	BBA	0.2537	16.15117	9.85864e-1	0.2859
22	24.474	BBA	0.2518	351.20770	20.69988	6.2170
23	26.833	BV	0.2067	15.23730	1.11017	0.2697
24	27.164	VBA	0.2571	22.79901	1.36778	0.4036
25	29.374	BBA	0.2870	401.59778	21.87392	7.1090
26	35.704	BBA	0.1935	35.03952	2.83961	0.6203
27	36.509	BBA	0.2585	100.11418	5.96170	1.7722
28	38.067	BV F	0.1043	36.95874	5.05207	0.6542
29	38.257	VB	0.1520	223.24835	21.70771	3.9519
30	38.865	BBA	0.1287	2.78142	3.30566e-1	0.0492
31	47.330	BB	0.2807	28.34580	1.63692	0.5018
32	47.999	BV	0.3033	65.25735	3.45536	1.1552
33	48.559	VBA	0.3322	34.08550	1.55043	0.6034
34	49.484	BBA	0.2880	166.52136	8.90646	2.9477
35	56.387	BV	0.2583	1123.58386	67.47846	19.8894
36	56.633	VV B	0.0826	127.32626	21.83150	2.2539
37	56.895	VBA	0.2141	95.23076	6.86956	1.6858
38	57.811	BBA	0.3607	47.57964	1.90858	0.8422
39	64.301	BV	0.2512	52.74626	3.34017	0.9337
40	64.564	VBAB	0.1986	18.78536	1.27164	0.3325
Totals :				5649.15823	447.13376	

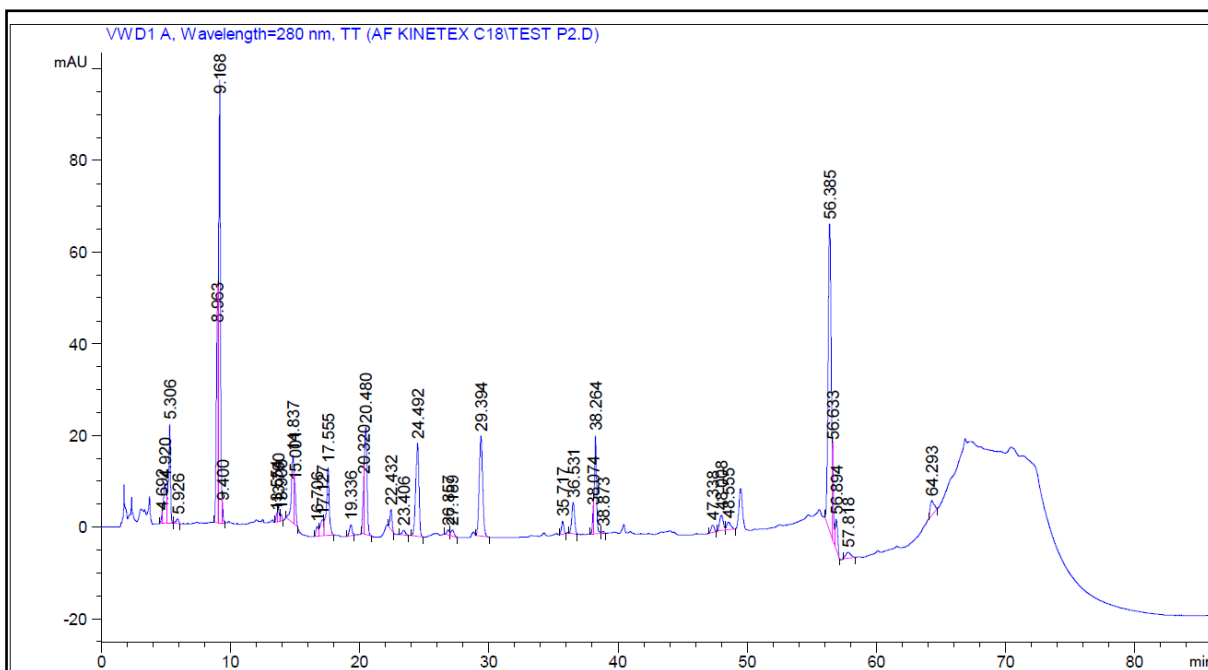


Fig. A8.2. Cromatograma amestecului sintetic de compuși fenolici obținută prin metoda P2

Tabelul A8.2. Timpii de retenție P2 pentru copușii fenolici din amestecul sintetic

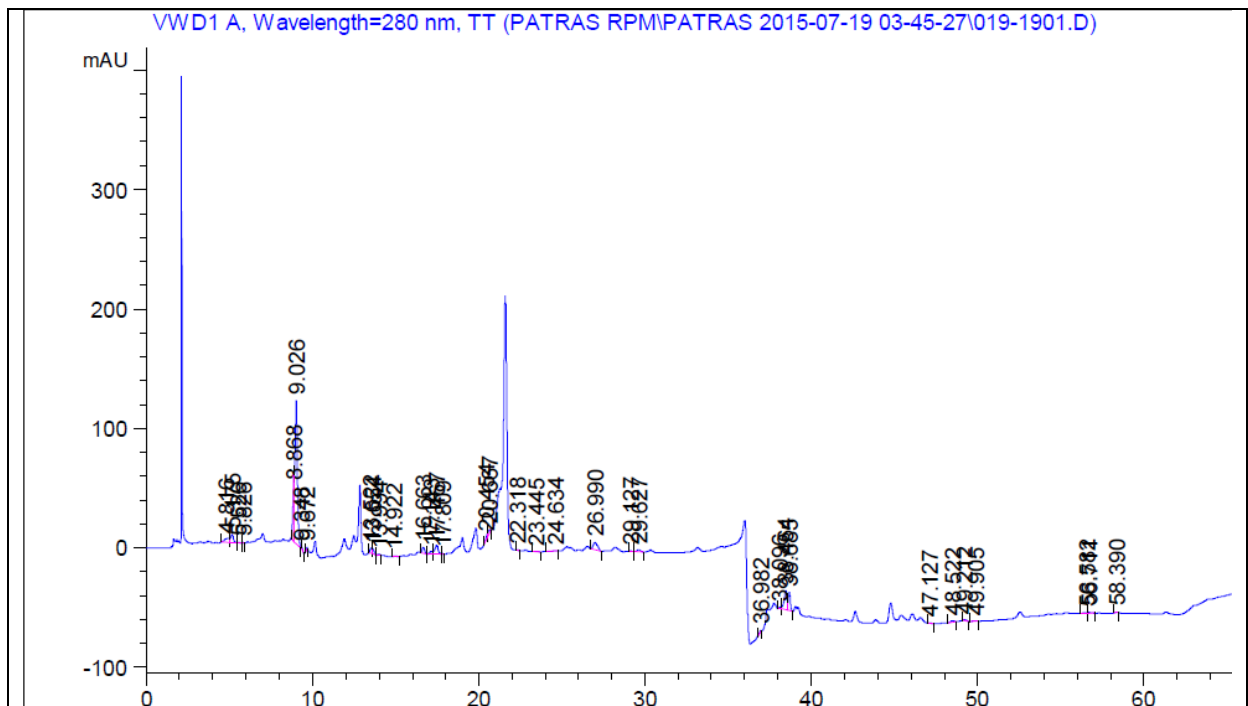
Tabelul A8.1. Timpii de retenție P2 pentru copușii fenolici din amestecul sintetic

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	
1	4.692	BV F	0.0987	14.27623	0.2502	?
2	4.920	VV	0.2150	126.98198	2.2251	?
3	5.306	VB	0.1601	241.11356	4.2249	a
4	5.926	BBA	0.1769	12.83579	0.2249	?
5	8.963	BV F	0.1603	468.48117	8.2090	?
6	9.168	VV	0.1422	911.79352	15.9770	a
7	9.400	VV B	0.1015	28.69981	0.5029	?
8	13.554	BV F	0.1187	11.84644	0.2076	?
9	13.700	VV	0.1407	28.02995	0.4912	?
10	13.906	VBA	0.1483	14.27508	0.2501	?
11	14.837	BV	0.1946	191.42899	3.3543	?
12	15.001	VBAB	0.1454	87.65026	1.5359	?
13	16.706	BV	0.1813	26.34356	0.4616	?
14	17.127	VV	0.2718	65.13387	1.1413	?
15	17.555	VBA	0.2192	226.15906	3.9629	?
16	19.336	BBA	0.2175	32.32130	0.5664	?

17	20.320	BV F	0.1054	88.06094	1.5431 ?
18	20.480	VBA	0.2022	305.20322	5.3480 ?
19	22.432	BBA	0.1711	47.06879	0.8248 ?
20	23.406	BBA	0.2436	15.73584	0.2757 ?
21	24.492	BBA	0.2570	351.46136	6.1585 ?
22	26.857	BV	0.2105	15.66891	0.2746 ?
23	27.189	VBA	0.2622	23.01566	0.4033 ?
24	29.394	BBA	0.2933	406.85495	7.1292 ?
25	35.717	BBA	0.1949	35.27346	0.6181 ?
26	36.531	BB	0.2415	103.64392	1.8161 ?
27	38.074	BV F	0.0964	36.40302	0.6379 ?
28	38.264	VV	0.1576	230.73454	4.0431 ?
29	38.873	VBA	0.1797	5.47003	0.0958 ?
30	47.338	BBA	0.2749	27.48869	0.4817 ?
31	48.008	BV	0.3090	65.59461	1.1494 ?
32	48.555	VBA	0.3400	36.54382	0.6403 ?
33	56.385	BV	0.2578	1113.48096	19.5111 ?
34	56.633	VV B	0.0829	122.14368	2.1403 ?
35	56.894	VBA	0.2078	88.95867	1.5588 ?
36	57.818	BBA	0.4075	34.23154	0.5998 ?
37	64.293	BBA	0.3069	66.50129	1.1653 ?

Totals :

5706.90847



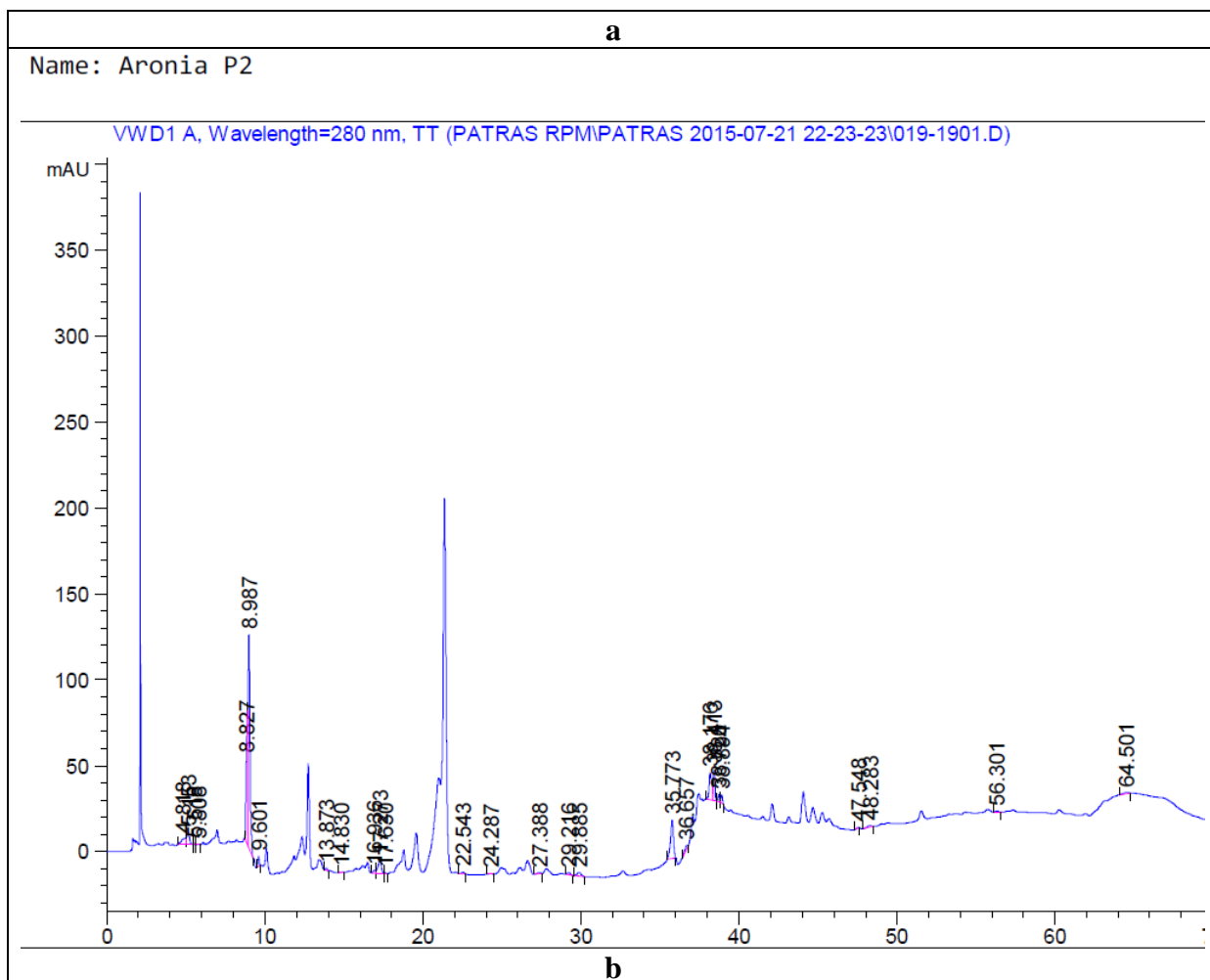


Fig. A8.3. Cromatogramele extractului de aronie obținute prin metodele P1 (a) și P2 (b)

Tabelul. A8.3. Timpii de retenție ai extractului de aronie obținuți prin metodele P1 (a) și P2 (b)

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.816	BV F	0.2945	61.10086	2.85867	2.3974
2	5.175	VB	0.1618	79.88107	6.87572	3.1343
3	5.529	BB	0.1053	2.18499	3.22476e-1	0.0857
4	5.826	BB	0.0709	8.12860e-1	1.87561e-1	0.0319
5	8.868	BV F	0.0840	262.86978	46.07185	10.3142
6	9.026	VB	0.1551	1247.61279	119.67804	48.9525
7	9.348	BB	0.0892	6.07480	1.05214	0.2384
8	9.672	BBA	0.0744	7.60764	1.70343	0.2985
9	13.522	BV	0.1203	33.46451	4.42364	1.3130
10	13.654	VB B	0.1315	33.91315	3.91905	1.3306

11	13.994	BBA	0.1360	9.23324	1.14857	0.3623
12	14.922	BBA	0.1752	4.22249	3.40674e-1	0.1657
13	16.663	BB	0.1603	52.23555	5.22411	2.0496
14	17.143	BV	0.1633	25.34137	2.30258	0.9943
15	17.467	VV	0.2073	109.02704	7.50767	4.2779
16	17.809	VB	0.1194	3.60597	4.73452e-1	0.1415
17	20.454	BV F	0.1532	24.96613	2.55664	0.9796
18	20.667	VB	0.1891	33.43971	2.71057	1.3121
19	22.318	BB	0.1635	4.96244	5.07848e-1	0.1947
20	23.445	BB	0.2265	3.97053	2.24722e-1	0.1558
21	24.634	BB	0.2872	8.89576	4.21171e-1	0.3490
22	26.990	BB	0.2645	107.92589	5.97878	4.2347
23	29.127	BV	0.1701	3.87794	3.66437e-1	0.1522
24	29.627	VB	0.2569	25.51782	1.52122	1.0012
25	36.982	BBA	0.1804	6.30856	5.82869e-1	0.2475
26	38.096	BV F	0.1342	11.25758	1.15395	0.4417
27	38.464	VV	0.1775	196.76025	15.93761	7.7203
28	38.685	VB	0.1251	125.88959	15.30074	4.9395
29	47.127	BB	0.1865	5.10213	4.34508e-1	0.2002
30	48.522	BB	0.2268	18.18063	1.26902	0.7134
31	49.212	BB	0.2025	10.10146	8.51499e-1	0.3964
32	49.905	BBA	0.1920	2.56804	1.76063e-1	0.1008
33	56.582	BV F	0.1551	7.52170	6.11761e-1	0.2951
34	56.711	VB	0.1858	9.12325	7.56594e-1	0.3580
35	58.390	BBA	0.1481	3.06203	3.44476e-1	0.1201

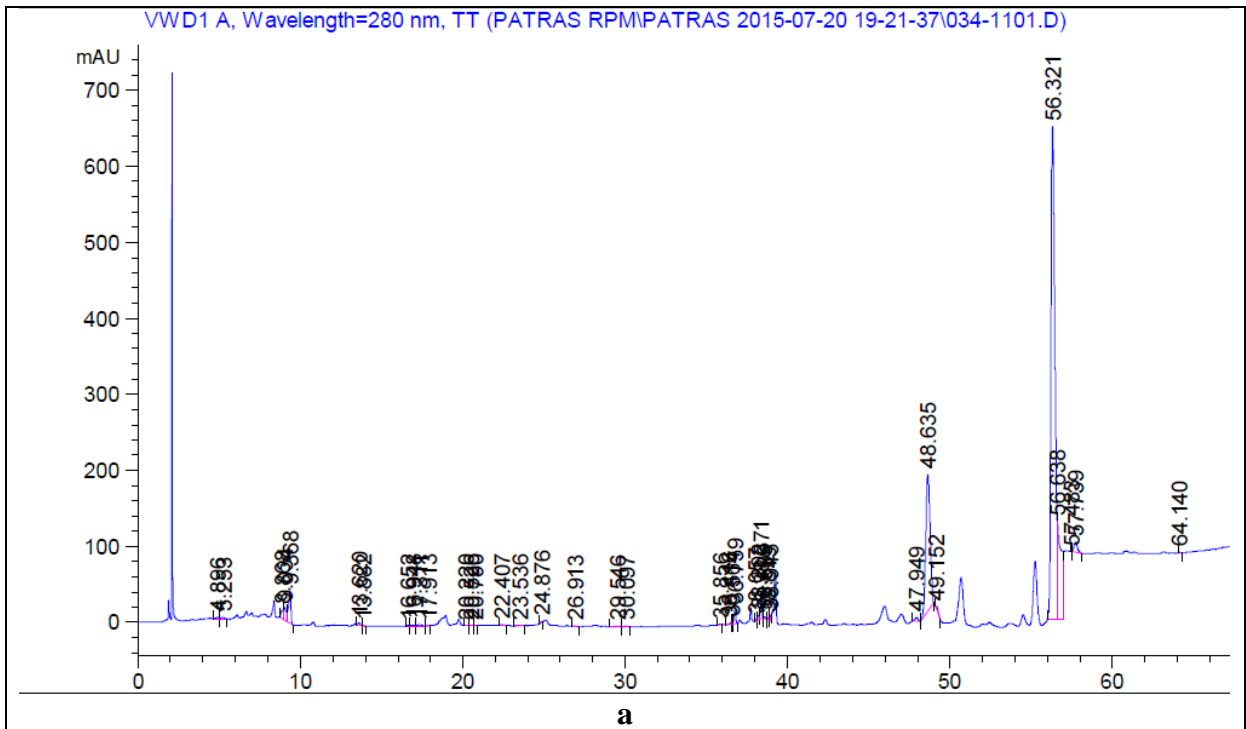
Totals : 2548.61956 255.79609

a

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	
1	4.818	BV F	0.2831	56.08276	2.0582	?
2	5.153	VB	0.1783	88.23940	3.2384	?
3	5.306		0.0000	0.00000	0.0000	a
4	5.518	BB	0.0922	2.35673	0.0865	?
5	5.808	BB	0.1039	1.46085	0.0536	?
6	8.827	BV F	0.1259	434.17960	15.9342	?
7	8.987	VB	0.1427	1146.65405	42.0818	a
8	9.601	BBA	0.1116	38.52212	1.4137	?
9	13.873	BB	0.1338	9.85683	0.3617	?
10	14.830	BB	0.2127	3.89178	0.1428	?
11	16.936	BV	0.1593	18.86742	0.6924	?
12	17.273	VV	0.2123	115.47970	4.2381	?
13	17.630	VB	0.1126	2.90015	0.1064	?
14	22.543	BBA	0.1784	10.46030	0.3839	?
15	24.287	BB	0.2116	8.04309	0.2952	?
16	27.388	BB	0.3090	8.69389	0.3191	?
17	29.216	BB	0.2260	17.16217	0.6298	?
18	29.885	BBA	0.2862	37.69246	1.3833	?
19	35.773	BBA	0.1882	286.79639	10.5253	?
20	36.657	BB F	0.1632	21.83887	0.8015	?
21	38.176	BV	0.1581	174.02094	6.3865	?
22	38.413	VB	0.1219	140.16849	5.1441	?
23	38.720	BV	0.1067	27.20941	0.9986	?
24	38.894	VBA	0.1229	34.15516	1.2535	?
25	47.548	BBA	0.1753	4.58280	0.1682	?
26	48.283	BB	0.2771	15.87299	0.5825	?
27	56.301	BB	0.2265	3.78724	0.1390	?
28	64.501	BBA	0.3118	15.84607	0.5815	?

Totals : 2724.82165

b



Name: catina P2

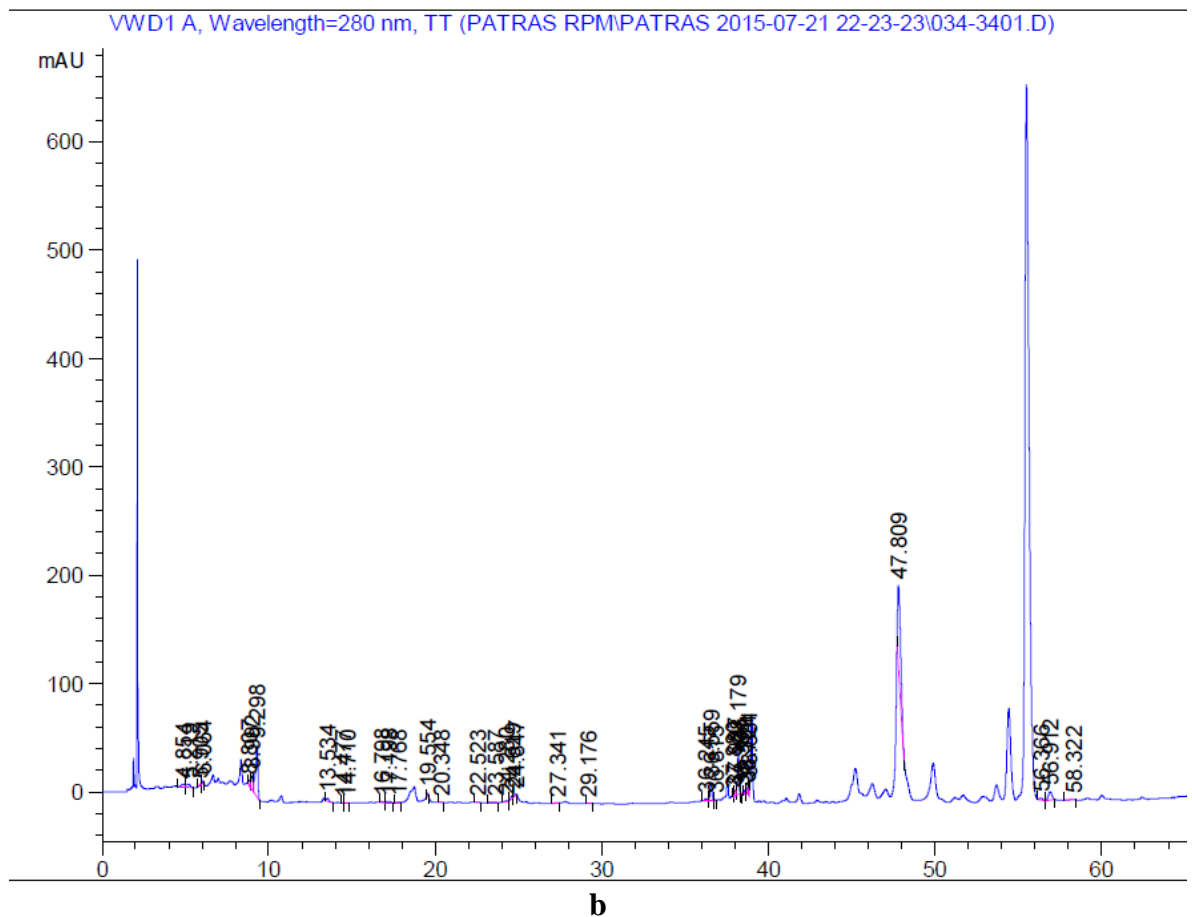


Fig. A8.4. Cromatogramele extractului de cătină obținute prin metodele P1 (a) și P2 (b)

Tabelul. A8.4. Timpii de retenție ai extractului de cătină obținuți prin metodele P1 (a) și P2 (b)

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.896	BV	0.1696	24.77467	2.07846	0.1362
2	5.253	VV	0.2160	26.67439	1.90276	0.1466
3	8.868	BV F	0.1635	120.05444	10.77604	0.6598
4	9.034	VV	0.1379	158.55817	17.00647	0.8714
5	9.368	VBA	0.1505	457.77899	43.46468	2.5158
6	13.620	BB	0.1333	24.94873	2.96066	0.1371
7	13.882	BBA	0.1367	2.69252	3.32464e-1	0.0148
8	16.652	BV	0.1661	6.79883	6.32663e-1	0.0374
9	16.948	VV	0.1935	16.62546	1.23470	0.0914
10	17.311	VB	0.2539	29.57500	1.57618	0.1625

11	17.913	BBA	0.1566	5.38223	5.56105e-1	0.0296
12	20.220	BB	0.1336	1.90039	2.18381e-1	0.0104
13	20.526	BV	0.1247	1.60661	2.05609e-1	8.829e-3
14	20.790	VBA	0.1368	1.40986	1.66280e-1	7.748e-3
15	22.407	BBA	0.2012	13.17551	1.06426	0.0724
16	23.536	BBA	0.2457	4.05275	2.21250e-1	0.0223
17	24.876	BBA	0.1691	6.77003	6.67432e-1	0.0372
18	26.913	BB	0.1995	3.45858	2.66430e-1	0.0190
19	29.546	BB	0.2662	3.66065	1.97047e-1	0.0201
20	30.097	BBA	0.2013	2.18333	1.32278e-1	0.0120
21	35.856	BBA	0.1624	10.90556	1.07212	0.0599
22	36.416	BV F	0.1437	13.58064	1.30067	0.0746
23	36.564	VV	0.0822	9.91125	1.91548	0.0545
24	36.759	VB	0.1097	131.82265	18.43008	0.7245
25	38.057	BV F	0.0731	9.12091	1.91144	0.0501
26	38.202	VV	0.1011	37.49930	5.62078	0.2061
27	38.371	VB	0.0960	234.33548	37.60025	1.2878
28	38.589	BB	0.1026	19.29185	3.06347	0.1060
29	38.819	BB	0.0676	4.53021	1.08576	0.0249
30	38.945	BV F	0.0830	31.11271	5.30560	0.1710
31	47.949	BB	0.2326	63.38416	4.42561	0.3483
32	48.635	BBA	0.2980	3394.38525	180.53952	18.6545
33	49.152	BB	0.2564	49.77297	2.84699	0.2735
34	56.321	BV	0.2585	1.06379e4	648.00659	58.4625
35	56.638	VV B	0.2360	2428.94653	127.94254	13.3487
36	57.483	BV F	0.0559	1.45773	3.60487e-1	8.011e-3
37	57.739	VBA	0.2395	199.00569	13.23393	1.0937
38	64.140	BB	0.1519	7.06956	7.42481e-1	0.0389

Totals : 1.81961e4 1141.06394

a

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	N
1	4.854	BV	0.2191	43.43793	1.6190	?
2	5.219	VB	0.2234	37.37164	1.3929	ac
3	5.905	BV F	0.1126	4.78035	0.1782	?
4	6.064	VBA	0.0934	12.31152	0.4589	?
5	8.807	BV	0.1139	38.62993	1.4398	?
6	8.992	VV	0.1390	125.14137	4.6641	?
7	9.298	VB	0.1449	474.84760	17.6979	ac
8	13.534	BB	0.1272	21.80437	0.8127	?
9	14.477	BV F	0.0860	1.23737	0.0461	?
10	14.710	VB	0.2162	2.35630	0.0878	?
11	16.798	BV	0.1583	8.67308	0.3233	?
12	17.198	VB	0.2576	24.67638	0.9197	?
13	17.768	BB	0.1848	8.96467	0.3341	?
14	19.554	BBA	0.0998	16.20443	0.6040	?
15	20.348	BB	0.1377	4.13699	0.1542	?
16	22.523	BBA	0.1767	3.76974	0.1405	?

17	23.587	BBA	0.3160	4.41150	0.1644	?
18	24.280	BB	0.1571	3.93006	0.1465	?
19	24.619	BV	0.1569	22.62908	0.8434	?
20	24.847	VBA	0.1742	14.18751	0.5288	?
21	27.341	BB	0.3427	5.65881	0.2109	?
22	29.176	BB	0.1913	1.42619	0.0532	?
23	36.245	BV	0.1466	18.36309	0.6844	?
24	36.559	VB	0.1148	124.82454	4.6523	?
25	36.815	BB	0.1018	3.76619	0.1404	?
26	37.880	BV F	0.0631	6.90454	0.2573	?
27	37.987	VV F	0.1162	36.16919	1.3481	?
28	38.179	VB	0.0985	263.38477	9.8165	?
29	38.361	BB	0.0565	2.88060	0.1074	?
30	38.591	BB	0.0800	14.56582	0.5429	?
31	38.724	BV F	0.0789	25.92766	0.9663	?
32	38.831	VV F	0.0742	60.47701	2.2540	?
33	47.809	BB	0.2122	1102.30786	41.0838	?
34	56.366	BB	0.2069	22.40747	0.8351	?
35	56.912	BBA	0.2319	111.63387	4.1607	?
36	58.322	BBA	0.3380	8.87207	0.3307	?

Totals : 2683.07153

b

Tabelul. A8.5. Timpii de retenție ai extractului de măceș obținuti prin metodele P1 (a) și P2 (b)

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.820	BV	0.3046	82.15369	4.13443	8.5157
2	5.212	VB	0.1959	100.64779	7.64221	10.4327
3	8.815	BV F	0.2123	62.52050	4.28801	6.4806
4	9.091	VB	0.1413	171.48317	18.07289	17.7752
5	9.305	BB	0.0763	3.50327	7.50374e-1	0.3631
6	9.507	BV	0.0835	1.60121	3.02840e-1	0.1660
7	9.629	VBA	0.0882	1.61224	2.83453e-1	0.1671
8	13.507	BV	0.0718	6.04089e-1	1.29815e-1	0.0626
9	13.735	VB	0.1659	11.13672	1.10249	1.1544
10	14.479	BV F	0.1195	11.75530	1.30634	1.2185
11	14.832	VV	0.3331	25.54437	1.06183	2.6478
12	15.086	VBA	0.1401	3.41919	3.50282e-1	0.3544
13	16.901	BV	0.1709	108.96528	9.55537	11.2948
14	17.172	VB	0.1477	92.50768	9.57404	9.5889
15	17.538	BV	0.1542	15.78966	1.60286	1.6367
16	17.682	VV B	0.1125	8.26303	1.11729	0.8565
17	19.279	BB	0.1695	16.91971	1.55060	1.7538

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
18	23.233	BBA	0.2311	8.07576	5.73894e-1	0.8371
19	24.176	BV	0.1854	19.22649	1.58278	1.9929
20	24.409	VBA	0.1995	13.90765	1.10336	1.4416
21	26.904	BB	0.2557	15.34721	9.63400e-1	1.5908
22	27.391	BBA	0.1866	2.56887	2.03509e-1	0.2663
23	30.190	BBA	0.1916	3.75674	2.67325e-1	0.3894
24	36.242	BB	0.1508	46.06734	4.75941	4.7751
25	36.649	BV	0.1204	10.72285	1.37039	1.1115
26	36.807	VBAB	0.1064	3.86700	5.42828e-1	0.4008
27	38.380	BV F	0.1392	18.54650	1.96509	1.9224
28	38.483	VBA	0.1146	19.47803	2.57044	2.0190
29	47.923	BB	0.2397	38.16536	2.57827	3.9560
30	48.768	BBA	0.2449	12.16076	7.72332e-1	1.2605
31	49.307	BB	0.2090	2.67462	1.79237e-1	0.2772
32	49.875	BB	0.1584	1.73003	1.67501e-1	0.1793
33	56.604	BV	0.1874	5.26281	4.18843e-1	0.5455
34	57.065	VBA	0.2299	5.75156	3.34237e-1	0.5962
35	57.779	BB	0.1739	5.45476	5.11735e-1	0.5654
36	58.258	BBA	0.2208	13.54328	9.71688e-1	1.4038

Totals : 964.73452 84.66141

a

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
1	4.866	BV	0.2290	67.49148	9.2662	?
2	5.167	VB	0.2407	132.10609	18.1375	?
3	5.306		0.0000	0.00000	0.0000	ac
4	8.779	BV F	0.1186	24.31069	3.3377	?
5	8.982	VB	0.1410	144.13361	19.7888	ac
6	9.557	BBA	0.1861	15.69340	2.1546	?
7	13.534	BB	0.1345	6.60813	0.9073	?
8	13.855	BV F	0.1896	16.34917	2.2447	?
9	14.516	BV	0.2101	53.09316	7.2894	?
10	14.757	VV	0.1654	27.90268	3.8309	?
11	15.128	VBA	0.3859	21.65409	2.9730	?
12	16.768	BB	0.1379	77.28080	10.6103	?
13	17.105	BV	0.1330	12.61599	1.7321	?
14	17.272	VB B	0.1151	4.65779	0.6395	?
15	17.528	BV	0.1352	7.41171	1.0176	?
16	17.690	VB	0.1731	8.11569	1.1142	?

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
17	19.181	BB	0.1491	3.88164	0.5329	?
18	20.382	BB	0.1506	1.16511	0.1600	?
19	23.456	BV	0.1692	24.08494	3.3067	?
20	23.611	VBAB	0.1520	19.35446	2.6573	?
21	24.843	BBA	0.1694	1.98669	0.2728	?
22	27.074	BBA	0.2544	4.73688	0.6504	?
23	29.159	BB	0.2071	4.16604	0.5720	?
24	36.468	BV	0.1123	5.51601	0.7573	?
25	38.188	BB	0.2365	6.60229	0.9065	?
26	38.740	BBA	0.1363	5.41240	0.7431	?
27	48.059	BV	0.2783	10.06255	1.3815	?
28	48.522	VB	0.2423	11.84393	1.6261	?
29	56.081	BB	0.1777	3.33097	0.4573	?
30	56.817	BB	0.1706	3.25413	0.4468	?
31	58.321	BBA	0.1840	3.53579	0.4854	?

Totals : 728.35830

b

Tabelul A8.6. Timpii de retenție ai extractului de păducel obținuti prin metodele P1 (a) și P2 (b)

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.841	BV	0.1439	5.86259	5.88540e-1	1.5167
2	5.072	VV	0.1865	9.60845	7.39887e-1	2.4859
3	5.360	VB	0.1533	5.87497	5.93890e-1	1.5199
4	5.540	BB	0.0740	1.18447	2.57641e-1	0.3064
5	5.956	BV F	0.1105	8.85010	1.04475	2.2897
6	8.800	BV F	0.1504	7.23008	7.12425e-1	1.8705
7	9.035	VB	0.1447	38.57375	4.04761	9.9796
8	9.653	BBA	0.1025	2.44375	3.81033e-1	0.6322
9	13.621	BB	0.1931	22.51891	1.94755	5.8260
10	14.479	BV F	0.0742	8.92160e-1	1.66441e-1	0.2308

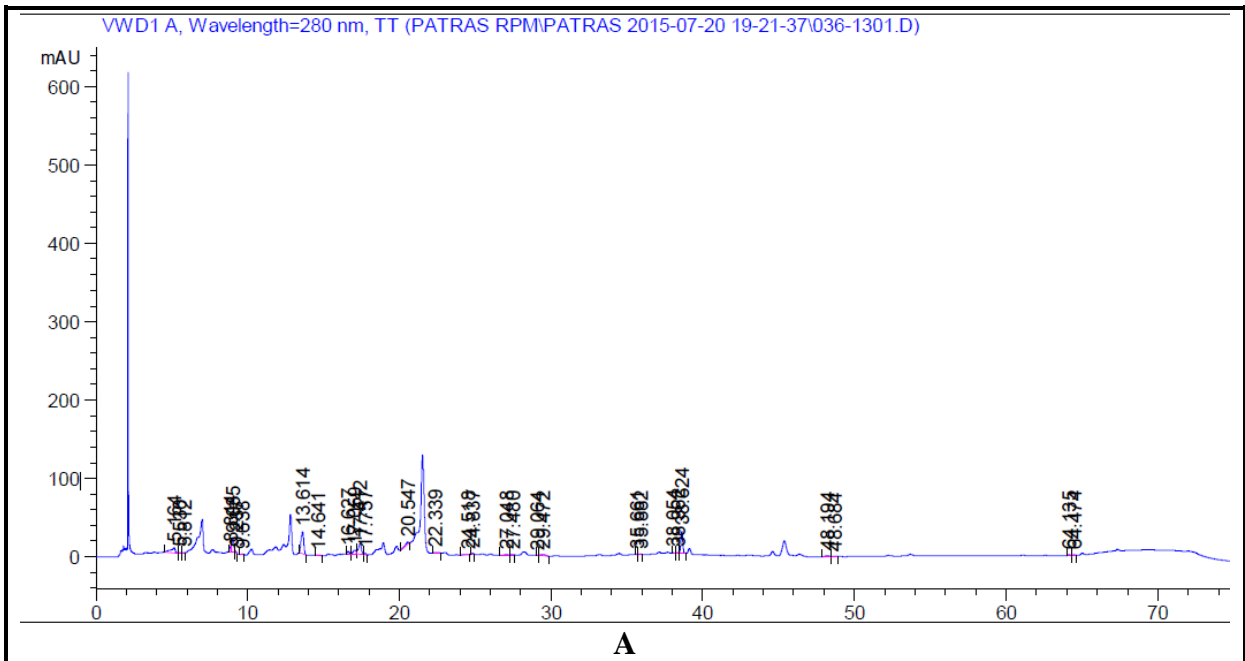
11	14.649	VB	0.1379	5.32016	5.94445e-1	1.3764
12	16.626	BB	0.1423	63.32455	7.17361	16.3831
13	17.059	BV	0.1814	25.24417	2.11658	6.5311
14	17.425	VB	0.1351	2.05112	2.46161e-1	0.5307
15	17.738	BB	0.1182	1.03767	1.31534e-1	0.2685
16	19.558	BBA	0.1136	3.32934	4.88334e-1	0.8614
17	20.542	BB	0.1704	3.18341	2.71257e-1	0.8236
18	22.319	BBA	0.1739	15.99847	1.57394	4.1391
19	23.533	BBA	0.1981	4.89919	3.77173e-1	1.2675
20	24.288	BB	0.2075	3.74549	2.76662e-1	0.9690
21	24.875	BBA	0.1758	4.59993	4.36210e-1	1.1901
22	27.049	BB	0.2524	14.97968	8.61373e-1	3.8755
23	27.514	BBA	0.1693	4.50613	4.43538e-1	1.1658
24	29.558	BB	0.2593	8.16802	4.27460e-1	2.1132
25	35.567	BB	0.1170	1.24952	1.74581e-1	0.3233
26	35.837	BBA	0.1580	9.39176	9.34733e-1	2.4298
27	36.321	BB	0.1442	3.26621	3.39591e-1	0.8450
28	36.766	BBA	0.1742	4.23950	3.92001e-1	1.0968
29	37.965	BB	0.1513	41.96768	4.20793	10.8577
30	38.603	BB	0.2588	15.65857	8.10894e-1	4.0511
31	47.589	BBA	0.1449	1.56069	1.38136e-1	0.4038
32	48.192	BB	0.2121	4.29659	2.61432e-1	1.1116
33	49.623	BB	0.2129	2.56589	1.68265e-1	0.6638
34	56.769	BBA	0.2759	3.57651	1.69056e-1	0.9253
35	57.744	BV	0.2384	31.19040	2.01965	8.0695
36	58.210	VBA	0.2020	4.13446	2.60435e-1	1.0696

Totals : 386.52438 35.77476

A

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	N
1	4.870	BV	0.2167	21.69913	7.0133	?
2	5.346	VV	0.1909	9.01188	2.9127	ac
3	5.521	VB	0.0994	2.54596	0.8229	?
4	5.799	BV F	0.1516	9.44184	3.0517	?
5	8.994	BB	0.1489	39.11686	12.6428	ac
6	9.590	BBA	0.1383	6.88597	2.2256	?
7	13.530	BB	0.1522	14.33873	4.6344	?
8	14.519	BB	0.1813	9.21633	2.9788	?
9	16.893	BB	0.1770	23.34871	7.5465	?
10	19.387	BBA	0.1780	15.12147	4.8874	?
11	20.204	BV F	0.1202	8.99771	2.9081	?
12	20.347	VV	0.1549	21.56562	6.9702	?
13	20.734	VBA	0.2440	14.48510	4.6817	?
14	23.311	BB	0.2287	4.77881	1.5445	?
15	24.617	BB	0.1592	8.23041	2.6601	?
16	27.127	BBA	0.2958	23.55173	7.6121	?

b



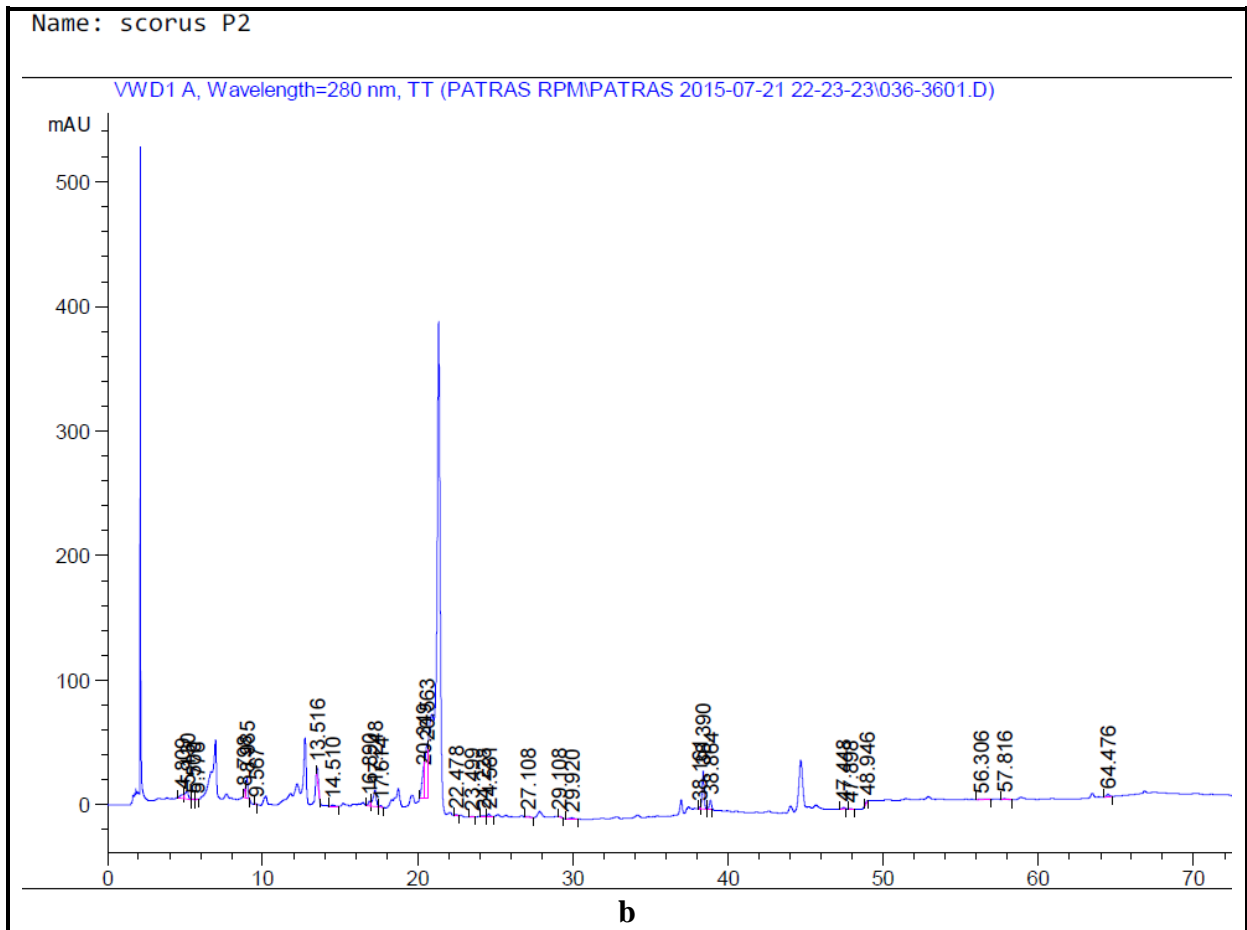


Fig. A8.5. Cromatogramele extractului de scoruș obținute prin metodele P1 (a) și P2 (b)

Tabelul A8.7. Timpii de retenție ai extractului de scoruș obținute prin metodele P1 (a) și P2 (b)

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	5.164	BB	0.2624	137.70805	6.84410	9.4669
2	5.530	BB	0.0899	3.50817	6.01333e-1	0.2412
3	5.812	BB	0.0792	1.12011	2.16737e-1	0.0770
4	8.844	BV F	0.1299	50.66176	5.62201	3.4828
5	9.035	VB	0.1453	159.46118	16.85275	10.9623
6	9.237	BB B	0.0614	1.69727	4.66496e-1	0.1167
7	9.638	BBA	0.1029	4.00403	6.46225e-1	0.2753
8	13.614	BB	0.1891	335.85852	28.65746	23.0890
9	14.641	BV	0.1891	6.47602	5.14571e-1	0.4452
10	16.627	BV	0.1586	29.96527	2.96800	2.0600

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
11	17.059	VV	0.1848	64.79636	5.09257	4.4545
12	17.412	VV	0.2090	204.40417	14.17893	14.0520
13	17.757	VB	0.1285	12.70757	1.53675	0.8736
14	20.547	BB	0.2180	36.25429	2.44646	2.4923
15	22.339	BBA	0.2247	8.03422	5.30637e-1	0.5523
16	24.518	BB	0.3462	6.78607	2.54395e-1	0.4665
17	24.837	BBA	0.1213	5.92786	8.14754e-1	0.4075
18	27.048	BB	0.2310	14.31992	9.67323e-1	0.9844
19	27.480	BBA	0.1820	6.87719	6.40914e-1	0.4728
20	29.064	BV	0.1280	1.18367	1.24901e-1	0.0814
21	29.472	VB	0.3394	36.72852	1.74046	2.5249
22	35.661	BV	0.0951	2.38236	3.95171e-1	0.1638
23	35.882	VBA	0.1444	1.44429	1.66732e-1	0.0993
24	38.054	BV	0.1197	4.57726	5.37763e-1	0.3147
25	38.362	VV	0.0875	7.63030	1.32658	0.5246
26	38.624	VB	0.1350	258.60303	28.90206	17.7780
27	48.194	BV	0.2555	25.84833	1.57491	1.7770
28	48.684	VBA	0.2383	8.99701	5.97332e-1	0.6185
29	64.135	BB	0.1314	9.78850	1.23981	0.6729
30	64.474	BB	0.1743	6.87599	6.42710e-1	0.4727

Totals : 1454.62728 127.10085

A

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	
1	4.809	BV F	0.2602	49.97486	2.5387	?
2	5.130	VB	0.1877	91.22134	4.6339	?
3	5.306		0.0000	0.00000	0.0000	a
4	5.500	BB	0.0870	3.01955	0.1534	?
5	5.776	BB	0.0938	1.81752	0.0923	?
6	8.798	BV F	0.1205	37.67969	1.9141	?
7	8.985	VB	0.1375	146.22241	7.4279	a
8	9.567	BBA	0.1127	6.70085	0.3404	?
9	13.516	BB	0.1083	69.27859	3.5193	?
10	14.510	BB	0.1893	9.70570	0.4930	?
11	16.890	BV	0.1555	41.71957	2.1193	?
12	17.248	VV	0.2089	196.54671	9.9843	?
13	17.614	VB	0.1177	10.45246	0.5310	?
14	20.349	BV F	0.1814	286.24451	14.5409	?
15	20.563	VV F	0.1873	535.41937	27.1986	?
16	22.478	BB	0.1591	8.03990	0.4084	?
17	23.499	VB	0.1585	3.85125	0.1956	?
18	24.228	BV	0.2148	4.11010	0.2088	?
19	24.581	VBA	0.1710	19.21250	0.9760	?
20	27.108	BB	0.2326	13.85343	0.7037	?
21	29.108	BB	0.2445	9.00984	0.4577	?
22	29.920	BBA	0.3048	16.36063	0.8311	?
23	38.161	BV F	0.0799	7.97574	0.4052	?
24	38.390	VV	0.1306	264.41437	13.4319	?
25	38.864	VBA	0.1336	60.49092	3.0729	?
26	47.448	BBA	0.2166	14.70116	0.7468	?
27	47.898	BB	0.2072	5.18811	0.2635	?
28	48.946	BB F	0.1536	14.43082	0.7331	?
29	56.306	BB	0.3418	6.24014	0.3170	?
30	57.816	BBA	0.2564	10.62773	0.5399	?
31	64.476	BBA	0.1904	24.04264	1.2213	?

Totals : 1968.55240

b

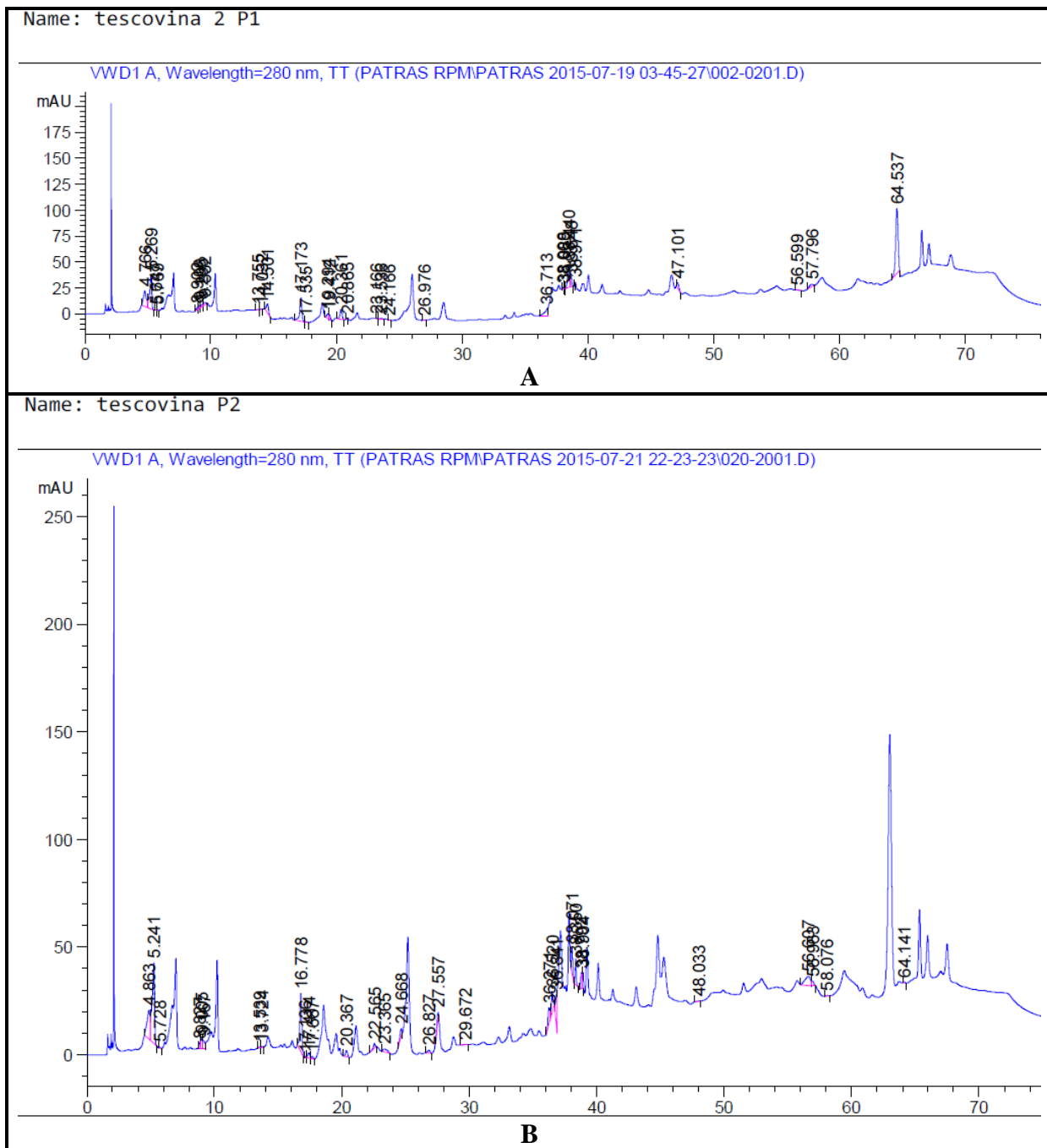


Fig. A8.6. Cromatogramele extractului de tescovină obținute prin metodele P1 (a) și P2 (b)

Tabelul A8.8. Timpii de retenție ai extractului de tescovină obținute prin metodele P1 (a) și P2 (b)

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	4.766	BV	0.2374	241.37442	14.87031	8.6421
2	5.269	VB	0.1699	411.59796	33.76142	14.7367
3	5.647	BV	0.0919	2.52563	4.12017e-1	0.0904
4	5.769	VB	0.0904	3.81777	6.36156e-1	0.1367
5	8.902	BV F	0.1774	20.82103	1.68796	0.7455
6	9.106	VV	0.1300	24.68595	2.85404	0.8838
7	9.296	VV F	0.1356	19.99967	2.07782	0.7161
8	9.532	VBA	0.2271	34.01613	2.39110	1.2179
9	13.755	BB	0.1538	4.33101	4.20053e-1	0.1551
10	14.032	BBA	0.1004	1.42062	2.27964e-1	0.0509
11	14.501	BB	0.1847	104.74860	8.66546	3.7504
12	17.173	BV	0.1807	286.37411	23.39765	10.2532
13	17.535	VB	0.2109	5.97827	3.86857e-1	0.2140
14	19.294	BV	0.1488	44.30966	4.42832	1.5864
15	19.412	VBA	0.1265	36.38006	4.49401	1.3025
16	20.361	BB	0.1667	107.07784	9.69846	3.8338
17	20.865	BBA	0.0977	3.44874	5.88151e-1	0.1235
18	23.166	BB	0.1113	2.53013	3.79394e-1	0.0906
19	23.536	BBA	0.1721	9.96938	8.95303e-1	0.3569
20	24.166	BB	0.1366	1.92388	2.24093e-1	0.0689
21	26.976	BB	0.1661	2.61867	2.55734e-1	0.0938
22	36.713	BV F	0.2239	106.59643	6.15602	3.8165
23	38.008	BV F	0.0945	8.32903	1.28638	0.2982
24	38.089	VB	0.0624	5.52885	1.43453	0.1980
25	38.440	BV	0.1628	240.77246	21.48135	8.6205
26	38.648	VB	0.1063	72.28046	9.98539	2.5879
27	38.971	BBA	0.0628	7.54065	2.00007	0.2700
28	47.101	BB	0.1955	57.04589	4.74878	2.0424
29	56.599	BB	0.2240	6.90264	4.73440e-1	0.2471
30	57.796	BB	0.3613	54.91409	2.58608	1.9661
31	64.537	BBA	0.2156	863.15448	62.84411	30.9040
Totals :				2793.01451	225.74842	

a

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	N
1	4.863	BV	0.2245	219.35637	10.6819	?
2	5.241	VB	0.1950	505.17676	24.6005	ac
3	5.728	BB	0.0960	3.92910	0.1913	?
4	8.827	BV F	0.1662	23.76576	1.1573	?
5	9.005	VV	0.1306	37.65018	1.8334	?
6	9.167	VV B	0.1471	35.17349	1.7128	ac
7	13.539	BV	0.1393	4.43911	0.2162	?
8	13.724	VB	0.1225	3.17880	0.1548	?
9	16.778	BB	0.1686	292.75214	14.2561	?
10	17.136	BV F	0.1382	4.22243	0.2056	?
11	17.414	VV	0.1760	29.43917	1.4336	?
12	17.687	VB	0.1329	8.03481	0.3913	?
13	20.367	BB	0.1650	30.99907	1.5096	?
14	22.565	BBA	0.1586	22.26451	1.0842	?
15	23.365	BBA	0.3208	31.63386	1.5405	?
16	24.668	BB	0.1874	42.90337	2.0893	?
17	26.827	BB	0.1944	14.79921	0.7207	?
18	27.557	BBA	0.1756	36.86561	1.7952	?
19	29.672	BB	0.2855	4.44293	0.2164	?
20	36.271	BV	0.1768	86.82594	4.2281	?
21	36.520	VB	0.1376	90.91105	4.4271	?
22	36.841	BV F	0.1175	120.81370	5.8832	?
23	38.071	BB	0.0924	68.20937	3.3216	?
24	38.350	BV	0.0984	76.42216	3.7215	?
25	38.792	BV F	0.1313	61.54423	2.9970	?
26	38.904	VBA	0.0869	38.86619	1.8927	?
27	48.033	BB	0.1899	1.91056	0.0930	?
28	56.607	BV	0.4003	117.35588	5.7149	?
29	56.963	VBAB	0.2291	31.02531	1.5108	?
30	58.076	BB	0.1858	4.56572	0.2223	?
31	64.141	BB	0.1372	4.04774	0.1971	?

Totals : 2053.52452

b

ANEXA 9. Corelația Pearson Polifenoli - Activitate antioxidantă

Result Details & Calculation

X Values

$$\sum = 19346$$

$$\text{Mean} = 3224.333$$

$$\sum(X - M_x)^2 = SS_x = 21374157.333$$

Y Values

$$\sum = 121.44$$

$$\text{Mean} = 20.24$$

$$\sum(Y - M_y)^2 = SS_y = 1110.268$$

X and Y Combined

$$N = 6$$

$$\sum(X - M_x)(Y - M_y) = 152978.95$$

R Calculation

$$r = \frac{\sum(X - M_x)(Y - M_y)}{\sqrt{(SS_x)(SS_y)}}$$

$$r = 152978.95 / \sqrt{(21374157.333)(1110.268)} = 0.9931$$

Meta Numerics (cross-check)

$$r = 0.9931$$

Key

X: X Values

Y: Y Values

M_x : Mean of X Values

M_y : Mean of Y Values

$X - M_x$ & $Y - M_y$: Deviation scores

$(X - M_x)^2$ & $(Y - M_y)^2$: Deviation Squared

$(X - M_x)(Y - M_y)$: Product of Deviation Scores

The value of R is 0.9931. This is a strong positive correlation, which means that high X variable scores go with high Y variable scores (and vice versa).

The value of R^2 , the coefficient of determination, is 0.9862.

ANEXA 10. Corelația Pearson Activitate antioxidantă - Culoare

Result Details & Calculation

X Values

$$\Sigma = 137.39$$

$$\text{Mean} = 22.898$$

$$\Sigma(X - M_x)^2 = SS_x = 1070.065$$

Y Values

$$\Sigma = 121.44$$

$$\text{Mean} = 20.24$$

$$\Sigma(Y - M_y)^2 = SS_y = 1110.268$$

X and Y Combined

$$N = 6$$

$$\Sigma(X - M_x)(Y - M_y) = 669.441$$

R Calculation

$$r = \Sigma((X - M_x)(Y - M_y)) / \sqrt{((SS_x)(SS_y))}$$

$$r = 669.441 / \sqrt{((1070.065)(1110.268))} = 0.6142$$

Meta Numerics (cross-check)

$$r = 0.6142$$

Key

X: X Values

Y: Y Values

M_x : Mean of X Values

M_y : Mean of Y Values

$X - M_x$ & $Y - M_y$: Deviation scores

$(X - M_x)^2$ & $(Y - M_y)^2$: Deviation Squared

$(X - M_x)(Y - M_y)$: Product of Deviation Scores

The value of R is 0.6142. This is a moderate positive correlation, which means there is a tendency for high X variable scores go with high Y variable scores (and vice versa).

The value of R^2 , the coefficient of determination, is 0.3772.

Declarația asumării răspunderii

Subsemnata, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Cristea Elena

Semnătura:

Data: 26.05.2018

CV**Nume, prenume: CRISTEA Elena**

*Str. Andrei Doga, 28, ap.4, Chişinău, R. Moldova, MD-2024
41 Bassett Road, Bognor Regis, UK, PO21 2JH
Telefon: +37322435815 Mobil: +447770022884; +37367211933
cristea.elle@gmail.com Data naşterii: 29/08/1986*

Cetăţenie: Republica Moldova

Studii:

31/10/2011– Prezent	Doctorand ştiinţe tehnice Universitatea Tehnică a Moldovei, Chişinău
01/09/2012– 31/08/2014	Masterat European (master of science) în domeniile ştiinţelor despre alimente, tehnologiei alimentare şi nutriţiei (Erasmus Mundus), KU Leuven (Belgia), Dublin Institute of Technology (Irlanda), Hochschule Anhalt (Germania), Universidade Catolica Portuguesa (Portugalia), http://www.sefotechnut.org/
01/09/2009– 31/03/2011	Masterat "Managementul restaurantelor şi serviciilor de catering" Universitatea Tehnică a Moldovei, Chişinău (Moldova) http://www.utm.md/
01/09/2005– 22/06/2009	Licenţă de inginer în tehnologia de produselor alimentare Universitatea Tehnică a Moldovei, Filiera francofonă "Technologies Alimentaires", Chişinău (Moldova) http://www.utm.md/

Stagii (instituţie, perioadă, calificare)

01/05/2015– 31/07/2015	Doctorand în departamentul de biochimie Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară, Iaşi (România) Efectuarea cercetărilor privind compoziţia, activitatea antioxidantă şi parametrii de culoare ai extractelor de tescovină şi fructelor de pădure. Bursa doctorală Eugen Ionescu.
19/02/2015– 27/04/2015	Doctorand în departamentul de ştiinţe despre alimente şi nutriţie Universitatea din Reading, Reading (Marea Britanie) Cercetări privind nanoencapsularea polifenolilor din extractul de tescovină. Separarea polifenolilor din extractele de tescovină şi aronie utilizând microspuma coloidală.

Domeniile de interes ştiinţific

Studiul antioxidantilor şi compuşilor în extractele vegetale horticoale, ingrediente alimentare de origine naturală, produse funcţionale, crearea aromelor.

Participări în proiecte ştiinţifice naţionale şi internaţionale

1. Formation de préparation et de perfectionnement à l'analyse moderne des composés chimiques bioactifs dans les produits agro-alimentaires d'origine végétale 2013-2014 (proiect finanţat de AUF).
 2. L'extraction de polyphénols de raisin à partir de déchets viti-vinicoles et leur utilisation dans
-

-
- la production de boissons non alcoolisées (bursa Eugen Ionescu, AUF).
3. "Organisation des séminaires doctoraux 2016" (proiect finanțat de AUF)
 4. 16.80013.5107.22/Ro:Substituirea aditivilor alimentari sintetici cu componenți bioactivi extrași din resurse naturale regenerabile (proiect bilateral in derulare).

Participări la foruri științifice (naționale și internaționale)

1. International Conference Modern Technologies in Food Industry- 2016, MTFI-2016 (20-22 octombrie 2016, Chișinău, Republica Moldova)
2. International Conference of Applied Sciences - CISA 2016. Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology and Food Engineering. 10th edition (2-4 iunie 2016, Bacău România)
3. Seminar doctoral „L’utilisation de techniques innovantes dans l’obtention de molécules biologiquement actives” (31 mai- 2 iunie 2016. Bacău, România);
4. 8th Congress - Pigments in Food (28 iunie – 1 iulie 2016 Cluj Napoca, România); .
5. The 7TH International Symposium. Faculty of Food Science and Engineering. Dunarea de Jos University of Galati (24-26 septembrie 2015, Galați, România);
6. Seminarul „L’extraction des composés phénoliques à partir de produits horticoles” (28 mai 2015, Iași, România);
7. „Достижения, проблемы и перспективы развития отечественной виноградо-винодельческой отрасли на современном этапе” (Achievements, challenges and prospects of development of the domestic viticulture and winemaking industry today), (20 iulie-15 august, 2013, Novocheerkassk, Federația Rusă).

Lucrări științifice și științifico-metodice publicate - numărul de monografii, articole, materiale ale comunicărilor științifice, brevete de invenții, manuale, ghiduri etc.

Teze de master:

1. **Cristea Elena.** Influența tratamentelor tehnologice asupra potențialului antioxidant al extractelor vegetale, teză de master, coordonată de prof. univ. dr. Olga Deseatnicova, Facultatea Tehnologie și Management în Industrie Alimentară, Universitatea Tehnică a Moldovei, susținută în data de 20 ianuarie 2011.
2. **Cristea Elena.** Determination of the Optimal Phenolic Extraction Yield in Red Wines using the Glories Method, teză de master coordonată de Francisco Campos și José Antonio Couto, Școala Superioară de Biotehnologie, Universitatea Catolică Portugheză (*Escola Superior de Biotecnologia da Univesidade Católica Portuguesa*), susținută în data de 26 mai 2014.

Articole în diferite reviste științifice

- în reviste internaționale cotate ISI și SCOPUS :

1. **Elena Cristea.** The influence of thermal treatments on the antioxidant activity and colour of the chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extract. In: International Journal of Food Studies. 2016, Vol 5, p. 224-231. DOI : 10.7455/ijfs/5.2.2016.a10
2. **Elena Cristea, Rodica Sturza, Aliona Ghendov-Moșanu, Marius Niculaua, Paula Jauregi, Antoanela Patraș.** The influence of copigmentation, pH and ionic force on the antioxidant activity and colour parameters of ethanolic grape marc extract. Articol trimis la Food Chemistry – under review.

- în reviste din străinătate recunoscute

3. **Elena Cristea.** The influence of temperature and time on the antioxidant activity and colour parameters of dog-rose (*Rosa Canina*) ethanolic extract. In: Studii și Cercetări Științifice. Chimie și Inginerie Chimică, Biotehnologii, Industrie Alimentară. 2016, nr. 17 (2), p. 189–197. <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=csc6&num=201602&vol=2&aid=4423>
4. **Elena Cristea, Rodica Sturza, Antoanela Patraș.** The influence of temperature and time on the stability of the antioxidant activity and colour parameters of grape marc ethanolic extract. In: The Annals of the University *Dunarea de Jos* of Galati, Fascicle VI – Food Technology, 2015, nr. 39(2), p. 96-104. [Anale 2015-vol 2-FullpaperCristea.pdf](#)

5. Elena Cristea. Evolution of Antioxidant Activity in Sea Buckthorn during Technological Treatments. In: Journal of Food Science and Engineering, 2011, nr. 17(2), p. 193-198.

Articole în culegeri științifice

1. Elena Cristea, Elena Zugravii. Влияние различных технологических обработок на антирадикальную активность и содержание полифенолов молдавских вин (The influence of different technological treatments on the antiradical activity and polyphenol content of Moldovan wines), prezentat la conferința internațională „Достижения, проблемы и перспективы развития отечественной виноградо-винодельческой отрасли на современном этапе” (Achievements, challenges and prospects of development of the domestic viticulture and winemaking industry today), Novocherkassk, 2013. p.32-33, ГНУ ВНИИВиВ Россельхозакадемии, ISBN 978-5-85633-039-6.

Material/ teze la forurile științifice

1. Elena Cristea, Rodica Sturza, Marius Nicolaua, Aliona Ghendov-Moșanu, Antoanela Patraș. The influence of copigmentation, pH and ionic force on the antioxidant activity and colour parameters of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extract. In: Book of Abstracts – 8th International Congress „Pigments in Food” - Colored Food for Health Benefits, 2016, Colorama 2016, ISBN 978-606-8778-11-2. P. 87.

2. Aliona Ghendov-Moșanu, Rodica Sturza, Elena Cristea, Antoanela Patraș. Utilisation du supplément d'églañtier pour la fabrication des gâteaux glacés. In: Abstract Book of International Conference of Applied Sciences - CISA 2016. Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology and Food Engineering. 10th edition. June 2nd-4nd 2016, Bacău, Romania. Food safety criteria in the third Millennium. In : Abstract Book of International Conference of Applied Sciences - CISA 2016. Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology and Food Engineering. 10th edition. June 2nd-4nd 2016, Bacău, Romania.

3. Elena Cristea, Rodica Sturza, Paula Jauregi, Yuchen Guo. The influence of encapsulation on the antioxidant activity of grape marc extract. MTFI-2016. Book of Abstracts of the International Conference Modern Technologies in the Food Industry 2016. Tehnica-Info. 2016, 68 p., ISBN: 978-9975-80-840-8, p. 18.

Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții

1. Cerere de brevet Procedeu de obținere a extractului de tescovină de struguri. No. 1534. Data: 13.09.2016

Cunoaștere a limbilor:

Româna (limbă maternă), engleză (competență profesională completă, TOEFL (103/120, 2012), franceză (competență profesională completă), rusă (bilingv), portugheză (competență profesională limitată), spaniolă (competență profesională limitată), germană (nivel A1.2)

Date de contact de serviciu (adresă, telefon, email):

Besmoke Ltd., Unit B1/Ford Airfield Ind Est, Arundel BN18 0HY, Marea Britanie, tel: +44 1903 733368, elena@besmoke.com, info@besmoke.com
