



UNIUNEA EUROPEANĂ



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



OIPOSDRU

MINISTERUL
EDUCAȚIEI ȘI
CERCETĂRII
ȘTIINȚIFICE



Universitatea POLITEHNICA
din Bucuresti

FONDUL SOCIAL EUROPEAN

Investește în oameni!

Programul Operațional Sectorial pentru Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 – 2013

Proiect POSDRU/159/1.5/S/132397 – Excelență în cercetare prin burse doctorale și postdoctorale – ExcelDOC

Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

Școala doctorală de Inginerie



TEZĂ DE DOCTORAT

Cercetări biotehnologice de obținere a unui produs sinbiotic cu rol funcțional destinat alimentației copiilor

**Doctorand,
Ing. Alina Georgiana LEESCU (PROFIR)**

**Conducător științific,
Prof. univ.dr.ing. Camelia VIZIREANU**

**Conducător științific în cotutelă,
Prof. dr.ing. Petru ALEXE**

Seria I1: Biotehnologii Nr. 5

GALAȚI

2015



FONDUL SOCIAL EUROPEAN

Investește în oameni!

Programul Operațional Sectorial pentru Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 – 2013

Proiect POSDRU/159/1.5/S/132397 – Excelență în cercetare prin burse doctorale și postdoctorale – ExcelDOC

Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

Școala doctorală de Inginerie



TEZĂ DE DOCTORAT

Cercetări biotehnologice de obținere a unui produs sinbiotic cu rol funcțional destinat alimentației copiilor

Doctorand

Ing. Alina Georgiana LEESCU (PROFIR)

Președinte

Conducător științific

Conducător științific în cotutelă

Referenți științifici

Prof. dr. ing. Victor CRISTEA

Prof. dr. ing. Camelia VIZIREANU

Prof. dr. ing. Petru ALEXE

Prof. dr. ing. Mona Elena POPA

Conf. dr. ing. CS. I. Nastasia BELC

Conf. dr. ing. Luminița Anca GEORGESCU

Seria I1: Biotehnologii Nr. 5

GALAȚI

2015



UNIUNEA EUROPEANĂ



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



OIPOSDRU

MINISTERUL
EDUCAȚIEI ȘI
CERCETĂRII
ȘTIINȚIFICE



Universitatea POLITEHNICA
din Bucuresti

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

Domeniul **ȘTIINȚE INGINEREȘTI**

Seria I 1: **Biotehnologii**

Seria I 2: **Calculatoare și tehnologia informației**

Seria I 3: **Inginerie electrică**

Seria I 4: **Inginerie industrială**

Seria I 5: **Ingineria materialelor**

Seria I 6: **Inginerie mecanică**

Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**

Seria I 8: **Ingineria sistemelor**

Domeniul **ȘTIINȚE ECONOMICE**

Seria E 1: **Economie**

Seria E 2: **Management**

Domeniul **ȘTIINȚE UMANISTE**

Seria U 1: **Filologie- Engleză**

Seria U 2: **Filologie- Română**

Seria U 3: **Istorie**

CUPRINS

	(T)	(R)
Notații și abrevieri	1	
Listă figuri	2	
Listă tabele	5	
1. Microorganismele probiotice	6	9
1.1. Aspecte generale.....	6	
1.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7	
1.3. <i>Lactobacillus</i>	10	
1.3.1. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	12	
1.3.2. <i>Lactobacillus casei</i>	12	
2. Legumele, surse de compuși bioactivi	14	10
2.1. Aspecte generale.....	14	
2.2. Compuși funcționali.....	15	
2.3. Legumele rădăcinoase, surse potențiale.....	22	
3. Băuturile probiotice pe bază de materii prime de origine vegetală	27	10
3.1. Aspecte generale.....	27	
3.2. Băuturile probiotice pe bază de vegetale - de la tradiție la alimente comerciale....	28	
3.3. Tendințe actuale în dezvoltarea băuturilor probiotice pe bază de produse vegetale	31	
4. Materiale și metode	32	10
4.1. Materiale.....	32	
4.2. Metode de obținere a sucului fermentat pe bază de legume.....	32	
4.3. Metode de analiză.....	34	
4.3.1. Metode fizico-chimice	34	
4.3.2. Analize microbiologice.....	40	
4.3.3. Analiza senzorială.....	41	
4.3.4. Metodele de modelare și analiză statistică a datelor experimentale.....	42	
5. Studiul condițiilor biotehnologice de obținerea a sucului fermentat pe bază de legume (sfecă, țelină și morcov)	43	10
5.1. Introducere.....	43	
5.2. Stabilirea concentrației și raportului optim de inocul.....	44	
5.2.1. Evaluarea microbiologică.....	44	
5.2.2. Evaluarea caracteristicilor senzoriale.....	49	
5.3. Optimizarea compoziției nutritive a substratului fermentativ.....	51	
5.3.1. Dinamica culturilor probiotice.....	51	
5.3.2. Evaluarea caracteristicilor senzoriale.....	57	

5.4. Concluzii parțiale.....	58	
6. Testarea potențialului probiotic al sucului fermentat pe bază de legume.....	59	15
6.1. Introducere.....	59	
6.2. Studiul stabilității microorganismelor probiotice în suc de legume fermentat.....	60	
6.3. Testarea stabilității microorganismelor probiotice în condiții simulate cu cele <i>in vivo</i>	62	
6.4. Concluzii parțiale.....	64	
7. Analiza impactului îmbogățirii cu nutrienți asupra caracteristicilor senzoriale ale sucului fermentat pe bază de legume	65	18
7.1. Introducere.....	65	
7.2. Analiza acidității.....	66	
7.3. Analiza colorimetrică.....	68	
7.4. Analiza reologică.....	70	
7.5. Analiza senzorială.....	76	
7.6. Concluzii parțiale.....	84	
8. Evaluarea caracteristicilor fizico-chimice ale produsului fermentat pe bază de legume.....	85	25
8.1. Introducere.....	85	
8.2. Dinamica modificărilor compoziționale.....	87	
8.3. Evoluția compușilor cu potențial antioxidant.....	90	
8.3.1. Evoluția vitaminelor hidrosolubile.....	90	
8.3.2. Evoluția pigmentilor	93	
8.3.3. Evoluția compoziției polifenolilor, flavonoidelor și a activității antioxidante.....	94	
8.4. Evaluarea caracteristicilor nutriționale prin metode avansate de investigare (FTIR, spectrometru RAMAN).....	97	
8.5. Concluzii parțiale.....	101	
9. Concluziile generale și perspective.....	102	38
9.1. Concluzii generale.....	102	
9.2. Perspective.....	103	
Diseminarea rezultatelor cercetării	104	39
Referințe bibliografice.....	107	42
Anexa 1.....	134	
Anexa 2.....	135	
Anexa 3.....	138	

Mulțumiri

Adresez respectuoase mulțumiri conducătorilor științifici, doamna prof. dr. ing. Camelia Vizireanu și domnul prof. dr. ing. Petru Alexe, pentru sprijinul, îndrumarea și ajutorul acordat pe parcursul întregii perioade de cercetare și elaborare a tezei de doctorat.

Mulțumesc tuturor membrilor comisiei de doctorat, doamnei prof. dr. ing. Gabriela Bahrim, doamnei prof. dr. chim. Rodica Dinică și doamnei conf. dr. ing. Luminița Georgescu, pentru răbdarea cu care au analizat lucrarea de față precum și pentru sugestiile formulate.

Mulțumesc tuturor cadrelor didactice și colegilor din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor, Galați, România precum și din cadrul Institutului de Inginerie Chimică, Viena, Austria care m-au criticat, sprijinit, îndrumat și încurajat pe parcursul cercetărilor științifice. Sincere mulțumiri adresez conf. dr. ing. Iordăchescu Gabriela, dr. ing. Livia Pătrascu, ing. Mariana Stoiu pentru sprijinul acordat în realizarea analizelor necesare finalizării tezei de doctorat.

Calde mulțumiri familiei mele, în special fiului meu Profir Mihai-Alin, pentru răbdarea, încrederea și dragostea oferite pe parcursul acestor ani. Mulțumesc tuturor celor care m-au sprijinit și mi-au fost alături.

INTRODUCERE

Alimentele funcționale sunt intens studiate și promovate de diverse organisme din domeniul alimentației și nutriției. Ele sunt alimente care în forma inițială, fortificată, îmbogățită sau îmbunătățită oferă beneficii asupra sănătății. Dezvoltarea alimentelor funcționale presupune un proces complex și riscant deoarece trebuie îndeplinite o multitudine de cerințe tehnologice, legislative și senzoriale, pentru a satisface dorințele consumatorilor.

La nivel global, există un mare interes pentru promovarea consumului de fructe și legume în vederea îmbunătățirii stării de sănătate. Datorită conținutului de compuși esențiali, cum ar fi antioxidanții, cantități importante de fructe și legume trebuie să fie incluse în dieta de zi cu zi. Sucurile sunt surse bune de vitamine și pot contribui, de asemenea, la creșterea consumului general de fructe și legume.

Fermentarea lactică a sucului reprezintă o modalitate ușoară de consum a fructelor și legumelor deoarece îmbunătățește proprietățile nutritive și senzoriale precum și perioada de valabilitate. Fermentarea joacă roluri diferite în prelucrarea produselor alimentare: conservarea alimentelor prin formarea de metaboliți inhibitori ai bacteriilor lactice, cum ar fi acizi organici (acid lactic, acid acetic, acid formic, acid propionic), etanol, bacteriocine; îmbunătățirea siguranței alimentare prin inhibarea agenților patogeni sau îndepărtarea compușilor toxici; îmbunătățirea valorii nutritive și calității organoleptice ale produsului alimentar.

Matricele alimentare tipice pentru dezvoltarea produselor probiotice sunt produsele lactate fermentate, dar este posibilă obținerea de produse alimentare probiotice utilizând mai multe matrici atât pentru produse fermentate, cât și nefermentate. Noi matrici alimentare, cum ar fi sucurile de fructe și legume, au fost testate pentru a fi utilizate ca purtători ai microorganismelor probiotice și au avut rezultate promițătoare. Progresele tehnologice au făcut posibilă utilizarea fructelor și legumelor ca substraturi ideale pentru dezvoltarea probioticelor, deoarece acestea conțin elemente nutritive benefice, cum ar fi minerale, vitamine, fibre alimentare și antioxidanți. Produsele probiotice pe bază de produse vegetale au o continuă dezvoltare datorită creșterii popularității vegetarianismului și extinderii intoleranței la lactoză în rândul populației din întreaga lume.

O provocare importantă este menținerea unui număr corespunzător de probiotice în produsul alimentar în timpul prelucrării și depozitării, în scopul de a furniza beneficiile de sănătate vizate. Factorii care afectează supraviețuirea probioticelor în timpul depozitării sunt: ingredientele și aditivii alimentari, conținutul în substanță uscată/ activitatea apei, temperatura de depozitare, ambalajul, conținutul de oxigen, pH-ul și aciditatea totală. Condițiile de fermentare trebuie să fie, de cele mai multe ori, adaptate pentru a maximiza supraviețuirea culturilor probiotice, fără a compromite stabilitatea matricii alimentare în care

sunt integrate. Este important să se cunoască cultura probiotică potrivită pentru fermentare pentru a proiecta produse alimentare care conțin și mențin populații mari de microorganisme probiotice viabile în timpul prelucrării și depozitării produsului alimentar.

Obiectivul acestui studiu îl reprezintă realizarea, prin procesul de fermentare cu ajutorul microorganismelor probiotice, a unui aliment funcțional pe bază de legume rădăcinoase, cu potențiale efecte benefice în alimentația copiilor, a vegetarienilor precum și a persoanelor cu intoleranță la lactoză.

Cele trei legume selectate pentru acest studiu, **sfecla roșie, morcovul și țelina**, aduc un aport semnificativ de compuși funcționali cum ar fi carotenoidele, flavonoidele, betalaine, vitaminele B și C, minerale și fibre. Prin fermentare, valoarea funcțională a sucului de legume crește datorită îmbunătățirii stabilității acestor compuși. Combinarea de microorganisme probiotice și fibre obținute din legume a dus la obținerea unui produs sinbiotic bogat în nutrienți. Stabilitatea calităților nutriționale și senzoriale a produsului sinbiotic obținut a fost testată pe toată perioada de depozitare a acestuia.

Obiectivele principale ale studiului sunt:

- ❖ Identificarea culturilor probiotice care se pot dezvolta în suc de legume.
- ❖ Optimizarea procesului de fermentare pentru a obține un produs probiotic cu o perioadă extinsă de valabilitate.
- ❖ Testarea *in vitro* a stabilității microorganismelor probiotice.
- ❖ Analiza fizico-chimică a produsului sinbiotic obținut și a stabilității sale în timpul depozitării.

Structural, teza cuprinde o primă parte – *Documentare* - în care este prezentat stadiul actual al cunoașterii prin studiul literaturii de specialitate, și cea de-a doua parte – *Partea experimentală* – care cuprinde rezultate, discuții, concluzii și contribuțiile personale.

Investigarea literaturii de specialitate a determinat structurarea părții de documentare în trei capitole cu referire la principalele materii prime și ingrediente utilizate în cercetări – **legumele și microorganismele probiotice**, precum și a **băuturilor sinbiotice** obținute din acestea la nivel internațional.

Partea experimentală este structurată în șapte capitole:

Capitolul 4. Materiale și metode prezintă materialele, metodele și modelările matematice folosite în studiu.

Capitolul 5. Studiul condițiilor biotehnologice de obținere a sucului fermentat pe bază de legume (sfecă, țelină și morcov) cuprinde optimizarea parametrilor biotehnologici pentru obținerea unui produs sinbiotic stabil pe parcursul perioadei de depozitare, de 21 de zile.

Capitolul 6. Testarea potențialului probiotic al sucului fermentat pe bază de legume prezintă rezultatele obținute la testarea *in vitro* a viabilității microorganismelor probiotice.

Capitolul 7. Analiza impactului îmbogățirii cu nutrienți asupra caracteristicilor senzoriale ale sucului fermentat pe bază de legume cuprinde date referitoare la evoluția caracteristicilor senzoriale, reologice și colorimetrice a produsului.

Capitolul 8. Evaluarea caracteristicilor fizico-chimice ale produsului fermentat pe bază de legume cuprinde caracterizarea calitativă a băuturii sinbiotice.

Capitolul 9. Concluziile generale și perspective prezintă sinteza concluziilor ce se desprind din cercetările efectuate.

Teza de doctorat conține 142 pagini, în care sunt incluse 59 de figuri și 30 de tabele.

Datorită caracterului interdisciplinar al studiului, acesta s-a desfășurat în cotutela doamnei profesor doctor inginer Camelia Vizireanu, pentru domeniul *Biotehnologii*, și a domnului profesor doctor inginer Petru Alexe, pentru domeniul *Inginerie Industrială*. Cercetările s-au realizat în cadrul laboratoarelor Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea Dunărea de Jos din Galați, România precum și în cadrul Institutului de Inginerie Chimică, Universitatea Tehnică din Viena, Austria.

Cercetarea a fost derulată prin Programul Operațional Sectorial de Dezvoltare al Resurselor Umane 2007-2013, prin contractul POSDRU/159/1.5/S/132397. Această cercetare a beneficiat de suportul tehnic al proiectului „*Centrul Român pentru Modelarea Sistemelor Recirculante de Acvacultură – MoRAS*” (622/11.03.2014, cod SMIS 48745).

Elementele de originalitate ale studiului sunt:

- Obținerea unei băuturi sinbiotice, în care se regăsesc microorganisme probiotice adaptate și capabile să se dezvolte într-o matrice alimentară bogată în prebiotice, vitamine și compuși antioxidanți.
- Utilizarea reziduurilor vegetale provenite din stoarcerea legumelor ca sursă de fibre.
- Urmărirea evoluției viabilității probioticelor, a compușilor funcționali, precum și a atributelor senzoriale, prin analize microbiologice, reologice, HPLC și spectroscopie în infraroșu.

I. STUDIUL DOCUMENTAR

Stadiul actual al realizărilor științifice și aplicative în ceea ce privește materialele și metodele de obținere a produselor fermentate pe bază de materii prime de origine vegetală este prezentat în 3 capitole.

În capitolul 1, intitulat „*Microorganisme probiotice*”, sunt prezentate principalele microorganisme cu potențial probiotic și influența acestora asupra stării de sănătate a organismului uman. De asemenea, este prezentat cadrul legislativ ce reglementează utilizarea și siguranța probioticelor pentru consumul uman.

Capitolul 2, intitulat „**Legumele, surse de compuși bioactivi**”, prezintă sursele potențiale de legume rădăcinoase și compoziția lor chimică. Sunt descrise principalii compuși cu rol funcțional și rolul lor în menținerea stării de sănătate a organismului uman.

Capitolul 3, intitulat „**Băuturile probiotice pe bază de materii prime de origine vegetală**”, este structurat în 3 subcapitole. Primul prezintă potențialul alimentelor funcționale și etapele de realizarea a produselor funcționale pe bază de materii prime vegetale. În cel de-al doilea subcapitol sunt prezentate stadiul actual al cercetărilor și produsele probiotice comerciale realizate pe bază de materii prime vegetale. Cel de-al treilea subcapitol analizează tendințele și potențialul de dezvoltare ale băuturilor probiotice pe bază de produse vegetale.

II. PARTEA EXPERIMENTALĂ

În capitolul 4, intitulat „**Materiale și metode**”, sunt descrise materialele, metodele și echipamentele utilizate în acest studiu. Este prezentată schema tehnologică de obținere a produsului sinbiotic pe bază de legume, precum și metodele fizico-chimice, microbiologice, reologice, colorimetrice și senzoriale utilizate în realizarea și caracterizarea băuturii sinbiotice.

Capitolul 5, „**Studiul condițiilor biotehnologice de obținere a sucului fermentat pe bază de legume (sfeclă, țelină și morcov)**”, prezintă studiul experimental realizat cu scopul de a optimiza condițiile biotehnologice ce influențează viabilitatea microorganismelor probiotice în matricea alimentară selectată. Procesul de obținere al sucului fermentat pe bază de legume s-a realizat în două etape. *Designul experimental I* a avut în vedere optimizarea compoziției inoculului. *Designul experimental II* a urmărit optimizarea compoziției nutritive a substratului fermentativ.

Primul design experimental a avut în vedere stabilirea unei concentrații inițiale a inoculului astfel încât culturile starter folosite să fie capabile să se dezvolte în matricea alimentară selectată. De asemenea, s-a stabilit influența raportului dintre microorganismele probiotice selectate pentru obținerea sucului fermentat, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* și *Saccharomyces boulardii*, asupra potențialului probiotic al produsului.

Designul Componentelor Centrale (DCC) și modelarea suprafeței de răspuns au fost folosite pentru a optimiza cantitatea de inocul și proporția între drojzii și bacterii în noua băutură obținută. Designul investighează 5 niveluri pentru fiecare variabilă independentă. În studiul prezent a fost folosit DCC circumscris, cu o distanță între puncte de $\pm 1,41$. Experimentele au fost efectuate într-o ordine aleatorie pentru a reduce influențele externe asupra valorilor măsurate. Tabelul 5.1. prezintă valorile factorilor studiați și nivelurile codificate corespunzătoare.

Au fost investigați cei doi parametri, iar ca răspuns a fost selectată viabilitatea celulară de la sfârșitul fermentației.

Modelul de ordinul al doilea utilizat de soft pentru generarea condițiilor experimentale testate poate fi, în general, descris folosind ecuația (1).

$$\text{Viabilitatea (log ufc / ml)} = b_0 + b_1A + b_2B + b_3A^2 + b_4B^2 + b_5AB \quad \text{ec. (1)}$$

unde: A, B reprezintă variabilele independente studiate,

$b_0 \div b_5$ reprezintă constantele pentru efectul general de proces, efectele liniare și pătratice ale fiecărei variabile independente, precum și efectele interacțiunii dintre variabile asupra viabilității celulelor.

Tabelul 5.1. Nivelurile de variație ale variabilelor independente utilizate în modelul I

Variabilele independente	Codul	Nivelul de variație				
		-1,41	-1	0	+1	+1,41
Concentrația de inocul (log ufc/ml)	A	4,1716	5	7	9	9,8284
Proporție drojdii:bacterii	B	0,0343	0,2	0,6	1	1,1657

Un design central cu 5 nivele pentru cei doi 2 factori: cantitatea de inocul (A) și proporția dintre drojdii și bacterii (B), a fost folosit în 10 serii pentru a obține o băutură probiotică pe bază de suc de legume.

Tabelul 5.2. prezintă matricea DCC folosită pentru optimizare, cu niveluri codificate și reale ale principalelor variabile studiate. Prin analiza statistică a rezultatelor obținute este realizat un model empiric pentru viabilitatea celulară în funcție de cantitatea de inocul și de proporția drojdii: bacterii.

Tabelul 5.2. Matricea designului experimental I (valorile codificate și valorile reale)

Proba	Valorile codificate		Valorile reale	
	Cantitatea de inocul (log ufc/ml)	Proporția drojdii:bacterii	Cantitatea de inocul (log ufc/ml)	Proporția drojdii:bacterii
1	0	0	7	0,6
2	0	0	7	0,6
3	-1	-1	5	0,2
4	0	-1,41	7	0,0343
5	-1,41	0	4,1716	0,6
6	0	-1	7	0,2
7	-1	-1,41	5	0,0343
8	-1,41	+1,41	4,1716	1,1657
9	-1,41	0	4,1716	0,6
10	-1,41	0	4,1716	0,6

Prin înlocuirea valorilor numerice a constantelor din model, ecuația (1) devine ecuația (2). Această ecuație este o funcție liniară care poate fi utilizată pentru a prezice viabilitatea celulară în intervalele investigate pentru cele două variabile.

$$\text{Viabilitatea (log ufc / ml)} = 3,23 + 2,3539*A + 3,1185*B \text{ ec. (2)}$$

unde: *A* reprezintă cantitatea de inocul (log ufc/ml),

B reprezintă proporția drojdii: bacterii.

MSR (*Modelarea Suprafeței de Răspuns*) a fost aplicată pentru a înțelege interacțiunea variabilelor și apoi utilizat pentru a găsi condițiile optime de dezvoltare a produsului probiotic.

Suprafețele de răspuns, prezentate în Figura 5.1., au arătat că viabilitatea celulară maximă (log ufc/ml) se obține în intervalul 5,33÷8,33 log ufc/ml inocul și la o proporție drojdii:bacterii de 0,47÷0,85. Toate variabilele studiate au o influență semnificativă asupra viabilității celulare ($p < 0,05$).

Pentru determinarea interacțiunii dintre condițiile de fermentare și nivelurile optime care au cel mai mare efect asupra viabilității microorganismelor au fost utilizate suprafețele de răspuns 2D.

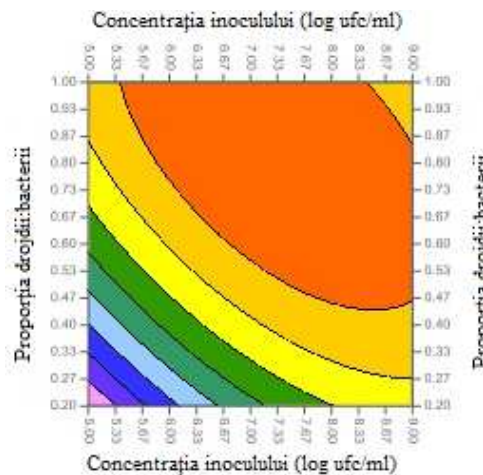


Figura 5.1. Suprafețele de răspuns pentru viabilitatea celulară corespunzătoare modelului 1

Varianta optimă pentru dezvoltarea băuturii probiotice, și utilizată în cercetările ulterioare, a fost o concentrație inițială a inoculului de 6 log ufc/ml și o proporție între microorganismele probiotice de 1 : 1 : 1 (*L. acidophilus* : *L. casei* : *Saccharomyces boulardii*).

După 7 zile de depozitare, viabilitatea microorganismelor probiotice a scăzut sub limita admisă (7 log ufc/ml) pentru a putea declara produsul probiotic. De aceea, cel de-al doilea design experimental a urmărit creșterea viabilității probioticelor prin adăugarea de nutrienți necesari pentru dezvoltarea microorganismelor selectate. S-a urmărit obținerea

unui produs care să-și mențină caracteristicile probiotice pe toată perioada de valabilitate de 21 zile, ceea ce ar determina o creștere a potențialului de comercializare al produsului sinbiotic.

În scopul obținerii unei bune viabilități a microorganismelor pe perioada de depozitare a produsului s-a adăugat miere și pulpă de legume liofilizată. Mierea a fost selectată atât datorită conținutului bogat de carbohidrați, cât și capacității antioxidante pe care o are aceasta. Pulpă de legume este considerată un reziduu rezultat în urma stoarcerii legumelor. Ea este un produs bogat în nutrienți, în special fibre. Liofilizarea are rolul de a concentra anumiți compuși și de a reduce pierderile potențiale care pot apărea în urma tratamentelor clasice de uscare a produselor alimentare.

Prin utilizarea DCC și a modelării suprafeței de răspuns s-a obținut un model de ordinul al treilea (cubic) pentru răspunsul variabilelor. Tabelul 5.3. prezintă valorile factorilor studiați și nivelurile codificate corespunzătoare.

Tabelul 5.3. Nivelurile de variație ale variabilelor independente utilizate în modelul II

Variabilele independente	Codul	Nivelul de variație				
		-1,4142	-1	0	+1	+1,4142
Cantitatea de pulpă de legume liofilizată (g/100ml)	A	0,5858	1	2	3	3,414
Cantitatea de miere (g/100ml)	B	3,9645	5	7,5	10	11,0355

Modelul de ordinul al treilea utilizat de software pentru condițiile experimentale testate poate fi descris, în general, folosind ecuația (3).

$$\text{Viabilitatea (log ufc/ml)} = b_0 + b_1 A + b_2 B + b_3 A^2 + b_4 B^2 + b_5 AB + b_6 A^3 + b_7 B^3 \quad \text{ec. (3)}$$

unde : A, B reprezintă variabilele independente studiate,

$b_0 \div b_7$ reprezintă constantele pentru efectul general de proces, efectele liniare, pătratic și cubice ale fiecărei variabile independente, precum și efectele interacțiunii dintre variabile asupra viabilității celulelor.

Prin înlocuirea valorilor numerice a constantelor din modelul doi, ecuația (3) devine ecuația (4). Această ecuație este o funcție liniară care poate fi utilizată pentru a prezice viabilitatea celulară în intervalul investigat pentru cei doi parametri selectați.

$$\text{Viabilitatea (log ufc/ml)} = 10,3257 + 0,5798 * A + 0,6243 * B + 0,0257 * A^2 - 0,0340 * B^2 - 0,1569 * AB - 0,3128 * A^3 - 0,2149 * B^3 \quad \text{ec. (4)}$$

unde: A reprezintă cantitatea de pulpă de legume liofilizată,

B reprezintă cantitatea de miere.

Cei doi parametri, cantitatea de miere și cea de pulpă de legume liofilizată, au fost investigați în 11 serii (Tabelul 5.4.) iar răspunsul selectat a fost viabilitatea în timpul depozitării în condiții de refrigerare. Prin analiza statistică a rezultatelor din Tabelul 5.5. se obține un model empiric al viabilității în funcție de cantitatea de pulpă de legume liofilizată și miere.

Tabelul 5.4. Matricea designului experimental II (valorile codificate și valorile reale)

Proba	Valori codificate		Valori reale	
	Cantitatea de pulpă de legume liofilizată	Cantitatea de miere	Cantitatea de pulpă de legume liofilizată	Cantitatea de miere
	(g/100ml)	(g/100ml)	(g/100ml)	(g/100ml)
1	-1	+1	1	10
2	0	-1,4142	2	3,9645
3	+1,4142	0	3,414	7,5
4	+1	-1	3	5
5	-1	-1	1	5
6	0	+1,4142	2	11,0355
7	+1	+1	3	10
8	0	0	2	7,5
9	0	0	2	7,5
10	-1,4142	0	0,5858	7,5
11	0	0	2	7,5

Figura 5.2. reprezintă grafic acest model indicând faptul că viabilitatea celulară maximă (log ufc/ml) se obține atunci când sucul de legume este îmbogățit cu $2,16 \pm 3g / 100ml$ pulpă de legume liofilizată și $8,33 \pm 10g/100ml$ miere.

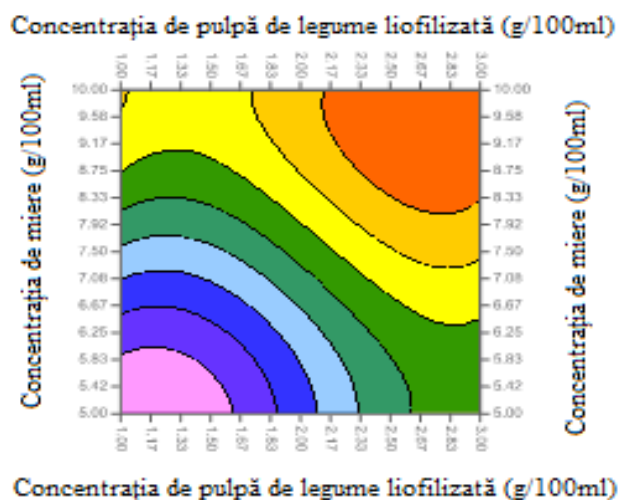


Figura 5.2. Suprafețele de răspuns pentru viabilitatea celulară corespunzătoare modelului II

În urma analizei probelor, s-a stabilit că varianta optimă pentru produsul analizat este îmbogățirea cu 2,5g/100ml pulpă de legume liofilizată și 7,5g/100ml miere.

Concluzii parțiale

❖ Sucul de legume a fost folosit ca substrat pentru obținerea băuturii probiotice. Acesta constituie un mediu cu potențial mai ridicat decât sucule de fructe datorită pH-ului și conținutului de substanțe nutritive esențiale în dezvoltarea bacteriilor probiotice.

❖ Cele trei microorganisme probiotice, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* și *Saccharomyces boulardii*, au dovedit că se pot dezvolta în matrici alimentare pe bază de produse vegetale. Drojdiile produc anumiți nutrienți (vitaminele B) necesari în menținerea viabilității bacteriilor probiotice pe perioada de depozitare a produsului, îmbunătățind stabilitatea acestora. Un inocul inițial de 6 log ufc/ml și o proporție de 1:1:1 au fost stabilite ca fiind variantele optime.

❖ Pulpă de legume liofilizată și mierea au adus un plus de substanțe nutritive suculei de legume, oferind o bună stabilitate microorganismelor probiotice pe toată perioada de depozitare. În urma cercetărilor efectuate, s-a stabilit că varianta optimă pentru produsul analizat este îmbogățirea cu 2,5g/100ml pulpă de legume liofilizată și 7,5g/100ml miere.

În capitolul 6, intitulat „**Testarea potențialului probiotic al suculei fermentat**”, sunt prezentate efectele sinergismului dintre microorganismele testate și a matriciei alimentare utilizate asupra stabilității microorganismelor, pe perioada de depozitare, în sucule de legume fermentat. Viabilitatea microorganismelor probiotice a fost testată în sucule de legume fermentat cu mixul probiotic obținut sau cu una dintre cele trei culturi de *Lactobacillus acidophilus* (LA), *Lactobacillus casei* (LC), *Saccharomyces boulardii* (SB).

Astfel, s-au urmărit pierderile la 7, 14 și 21 de zile de la fermentarea suculei de legume. Microorganismele au fost inoculate în culturi simple sau sub formă de mix probiotic (PM), într-o concentrație inițială de 6 log ufc/ml, pentru a stabili influența combinației obținute asupra fiecărui probiotic din compoziția mixului. De asemenea, s-a testat viabilitatea microorganismelor atât în sucule de legume, cât și în cel îmbogățit cu nutrienți (probele codate cu N) în vederea stabilirii influenței compușilor vegetali și a mierii asupra fiecărei culturi.

S-a observat o viabilitate mai mare în probele îmbogățite cu nutrienți în comparație cu probele de suc de legume fermentat (Figura 6.1.). Cu toate acestea, *Saccharomyces boulardii* a înregistrat o viabilitate mai bună în sucule de legume fără nutrienți.

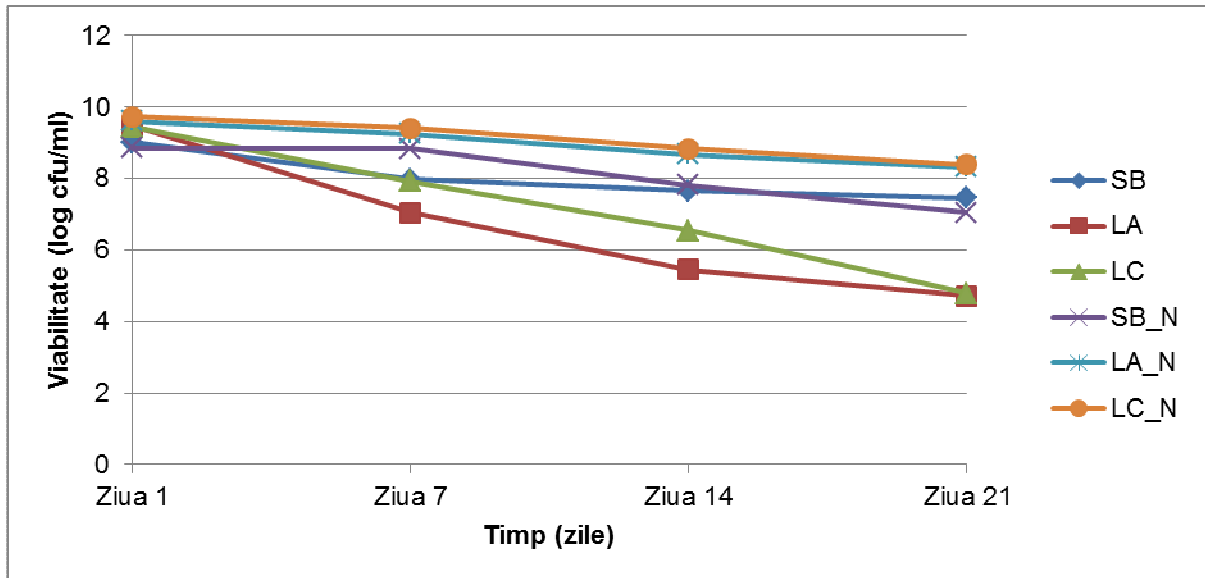


Figura 6.1. Evoluția viabilității microorganismelor probiotice pe perioada de depozitare

În mixul probiotic, bacteriile (*BM*) au avut o viabilitate mai mare în comparație cu cea a drojdiilor (*DM*) (Figura 6.2.). Bacteriile au arătat o stabilitate mai bună datorită capacității lor de a folosi pereții celulari ai drojdiilor, care sunt bogați în oligozaharide, ca substrat pentru dezvoltare. Sinergismul dintre microorganisme a avut un impact mai important decât prezența nutrienților în suc de legume. Lactobaciliile au dovedit o capacitate mai mare de a se dezvolta și de a-și menține viabilitatea în mixul probiotic.

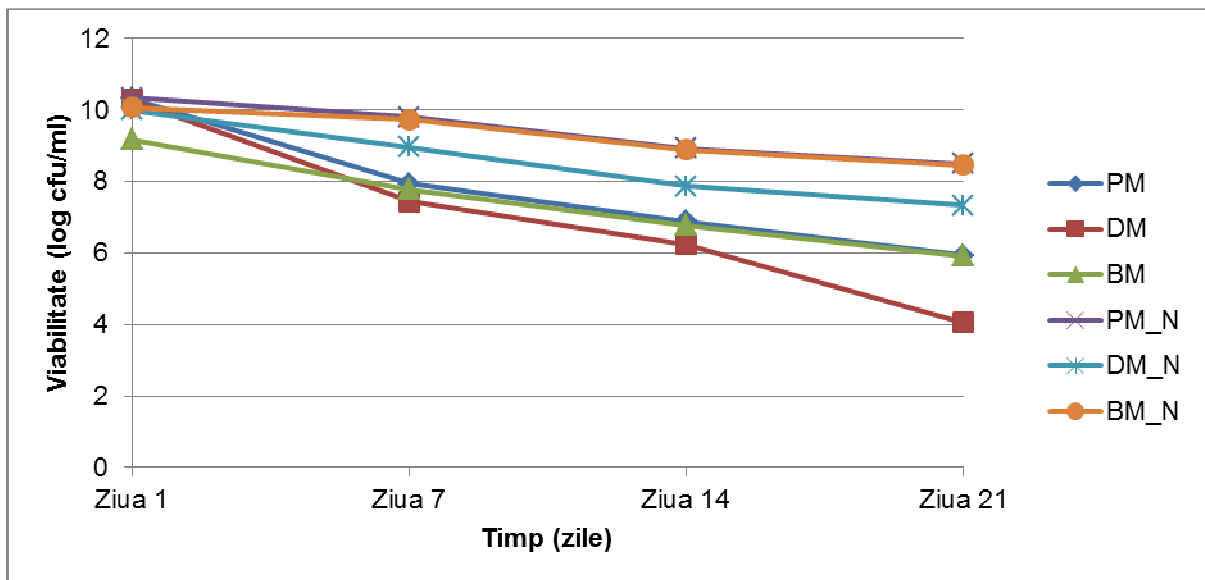


Figura 6.2. Evoluția viabilității mixurilor probiotice pe perioada de depozitare

Viabilitatea microorganismelor probiotice în condiții gastrointestinale simulate a fost testată la 7 zile după fermentare. În suc de legume fermentat pierderile de viabilitate au fost semnificative, în special pentru cele două specii de lactobacili.

Îmbogățirea cu nutrienți a dovedit un efect benefic asupra viabilității probioticelor în condiții gastro-intestinale simulate (Figura 6.3.). Legumele sunt o sursă importantă de fibre ce au efect protector asupra probioticelor.

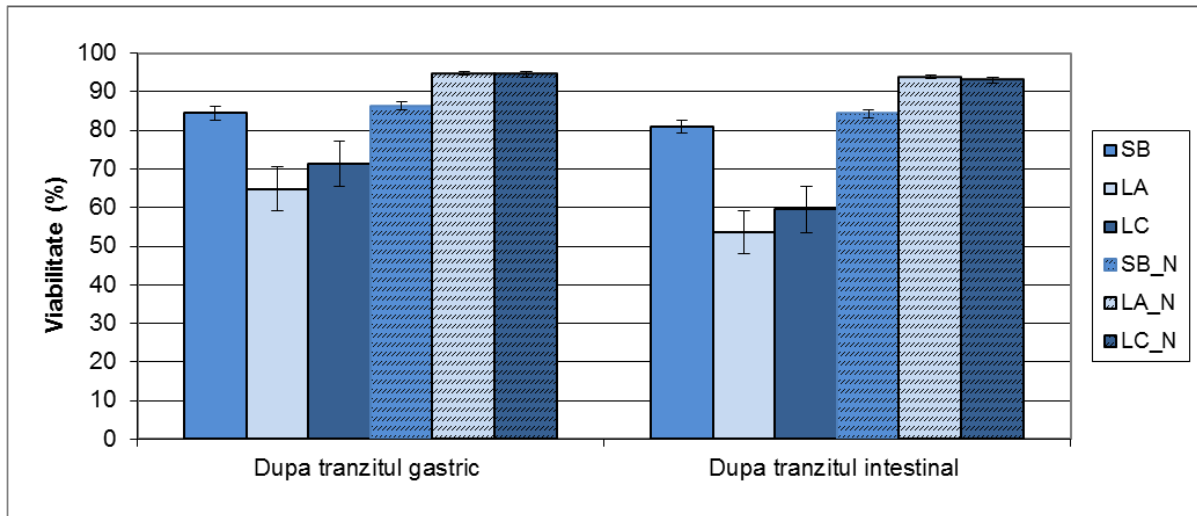


Figura 6.3. Evoluția viabilității microorganismelor probiotice în condiții gastrointestinale simulate

În tranzitul gastric s-a înregistrat cea mai mare pierdere a viabilității probioticelor aflate în culturi simple sau în mixul probiotic (Figura 6.4.), în timp ce în tranzitul intestinal pierderile înregistrate sunt nesemnificative. Nutrienții au dovedit un efect protector important și asupra microorganismelor din mixul probiotic.

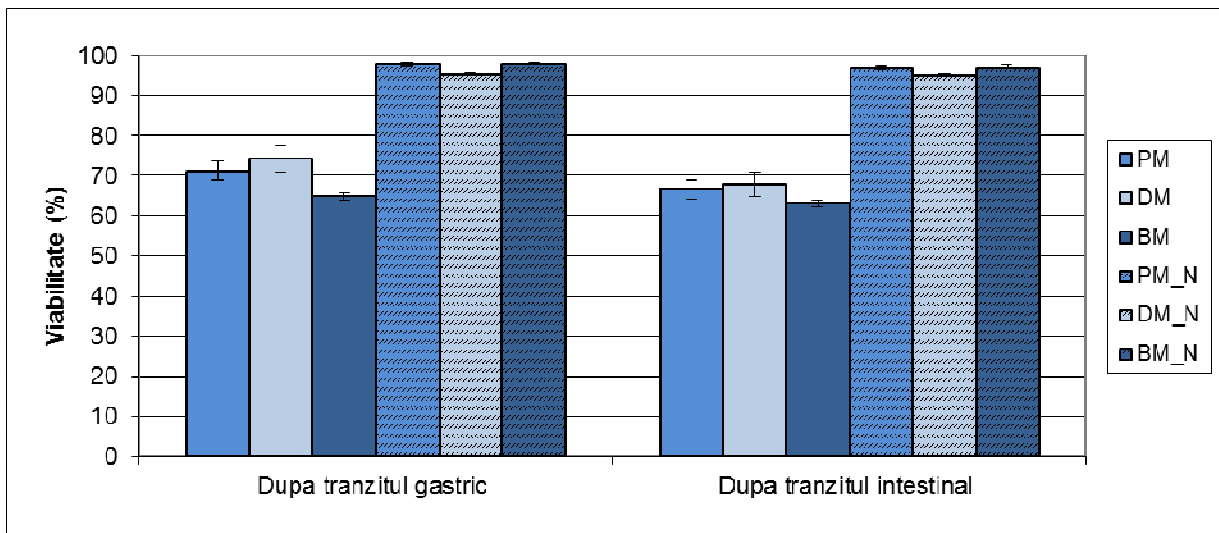


Figura 6.4. Evoluția viabilității mixurilor probiotice în condiții gastrointestinale simulate

Probele fermentate cu *Saccharomyces boulardii* nu au înregistrat un comportament diferit din punct de vedere statistic în condiții gastrointestinale simulate. Rezultatele noastre sugerează că nutrienții au un efect protector asupra lactobacililor și un impact nesemnificativ asupra drojdiilor.

Concluzii parțiale

❖ *Saccharomyces boulardii* sintetizează compuși necesari menținerii viabilității speciilor de *Lactobacillus* pe perioada de depozitare. Simbioza dintre microorganisme în mixul realizat permite obținerea unui produs cu potențial probiotic.

❖ Adăugarea de nutrienți în sucul de legume fermentat ajută la menținerea unei bune viabilități a microorganismelor testate în condiții gastrointestinale simulate. Fibrele alimentare oferă un efect protectiv asupra probioticelor.

❖ Băutura probiotică obținută în urma etapei de optimizare a dovedit o bună stabilitate în timpul testării *in vitro*.

În capitolul 7, intitulat „**Analiza impactului îmbogățirii cu nutrienți asupra caracteristicilor senzoriale ale sucului fermentat pe bază de legume**”, este evaluat impactul pe care îl au nutrienții asupra caracteristicilor senzoriale ale produsului obținut. Au fost supuse analizelor colorimetrice, reologice și senzoriale atât sucul fermentat pe bază de legume (P1), cât și cel îmbogățit cu miere și pulpă de legume liofilizată (P2).

Sucul de legume proaspăt are un pH optim, de 5,5÷6, pentru dezvoltarea microorganismelor probiotice. Aciditatea sucului este dată de acidul malic, citric, isocitric, succinic și fumaric. O creștere ușoară a pH-ului a fost observată după sterilizarea sucului (Figura 7.1.), care ar putea fi explicată prin evaporarea unor acizi organici.

La începutul perioadei de depozitare aciditatea sucului îmbogățit cu nutrienți era mai mică decât cea a sucului simplu, însă pe perioada de depozitare are loc o acumulare mai mare de acizi organici în proba P2. Astfel, în cea de-a 21 zi de depozitare aciditatea acestei probe este de 1,18 g/100ml iar cea a sucului fermentat fără nutrienți este de 0,96 g/100ml. O strânsă corelație a fost observată între scăderea pH-ului pe durata depozitării și creșterea acidității. Cea mai mare scădere de pH s-a înregistrat în prima săptămână.

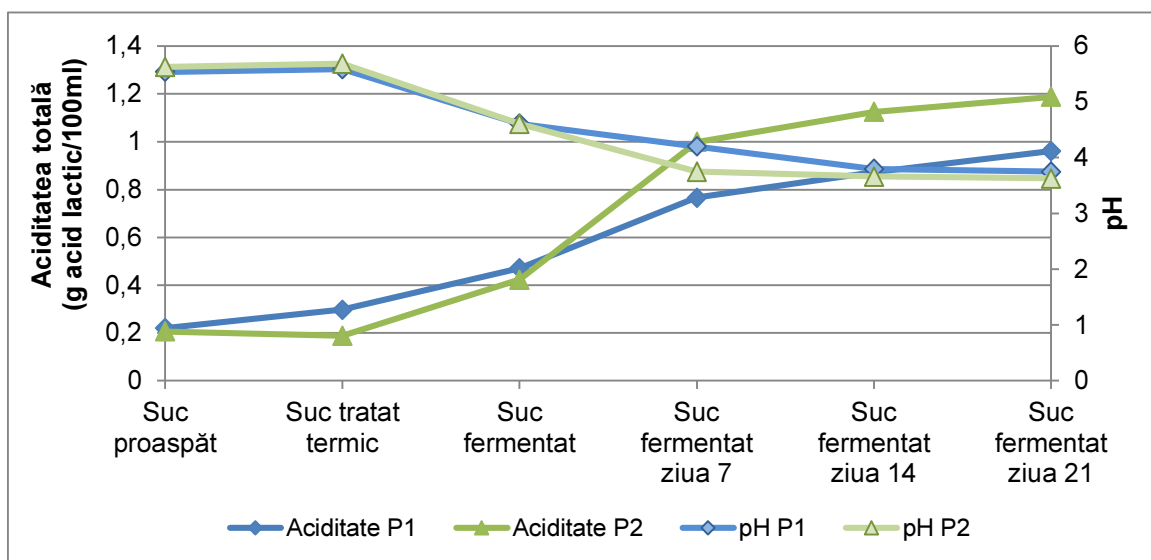


Figura 7.1. Evoluția pH-ului și a acidității pe perioada depozitării

Culoarea este un important atribut senzorial, pe baza căruia un produs alimentar poate fi respins înainte de o analiză senzorială corespunzătoare. Proba de suc îmbogățită cu nutrienți a prezentat o luminositățe mai mare decât cea a probei *P1*, datorită concentrației mai mari de glucide. Și ceilalți parametri colorimetrici au înregistrat valori mai mari, pulpa de legume aducând un aport semnificativ de nutrienți.

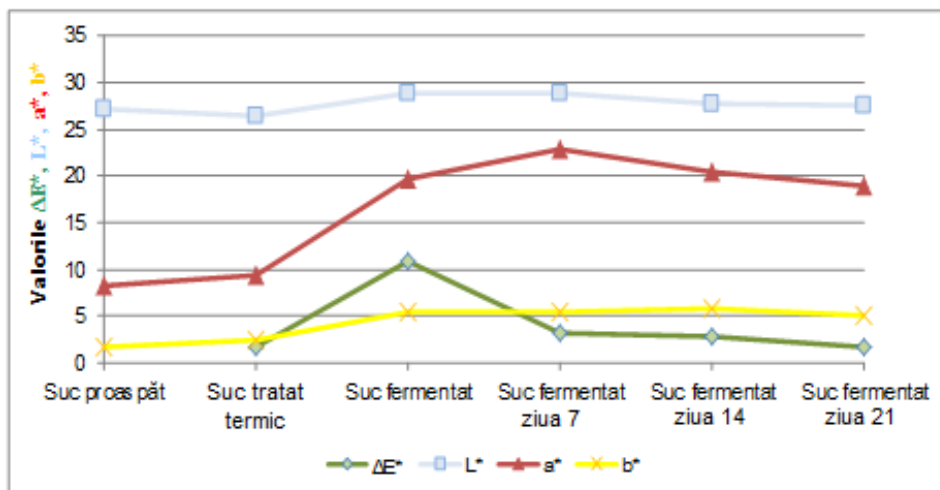


Figura 7.2. Evoluția parametrilor de culoare pe perioada depozitării la proba *P1*

Tratamentul termic nu a afectat semnificativ parametrii de culoare ai probei *P1* (Figura 7.2.), însă a avut un impact negativ asupra culorii probei îmbogățite cu nutrienți (Figura 7.3). Fermentarea a avut un impact pozitiv semnificativ asupra parametrilor de culoare, datorită ruperii unor structuri și eliberării pigmentilor. Diferențe semnificative de culoare s-au înregistrat după prima săptămână de depozitare, spre sfârșitul perioadei pierderile fiind ne semnificative în proba *P2*.

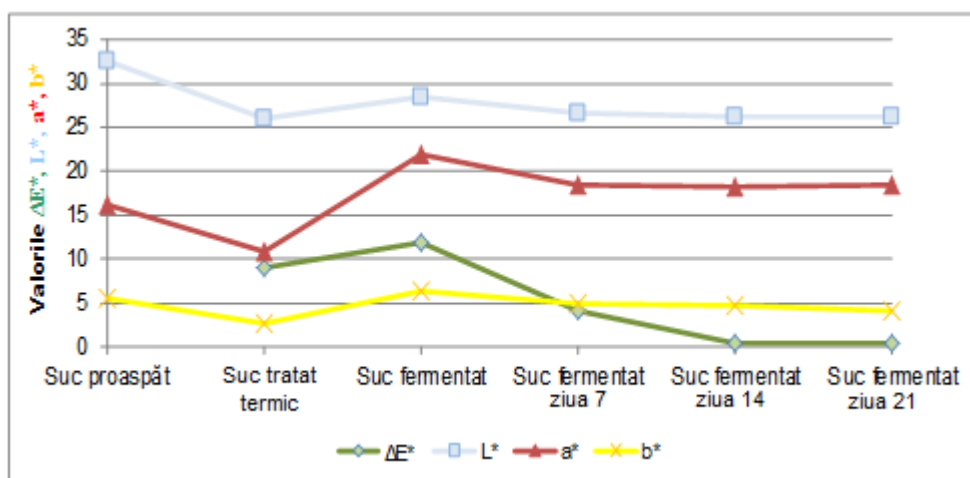


Figura 7.3. Evoluția parametrilor de culoare pe perioada depozitării la proba *P2*

Procesul de fermentare poate influența comportamentul reologic și textura produselor alimentare. Schimbările sunt influențate de cantitatea de zaharuri fermentescibile din produsul inițial, precum și de prezența unor factori de creștere esențiali în dezvoltarea microorganismelor, ca proteinele și vitaminele.

În cadrul analizei reologice s-au realizat teste de curgere prin forfecare și teste oscilatorii. Prin aplicarea testelor de curgere s-a dorit inițial determinarea tipului de fluid non-Newtonian în care s-a încadrat sucul obținut. Astfel prin menținerea constantă a vitezei de forfecare la $1s^{-1}$ am putut constata dependența de timpul solicitării a vâscozității fluidului testat (sucul de legume). Acest lucru poate fi observat în special în cazul sucului aflat în cea de-a 21 zi de la fermentare (Figura 7.4).

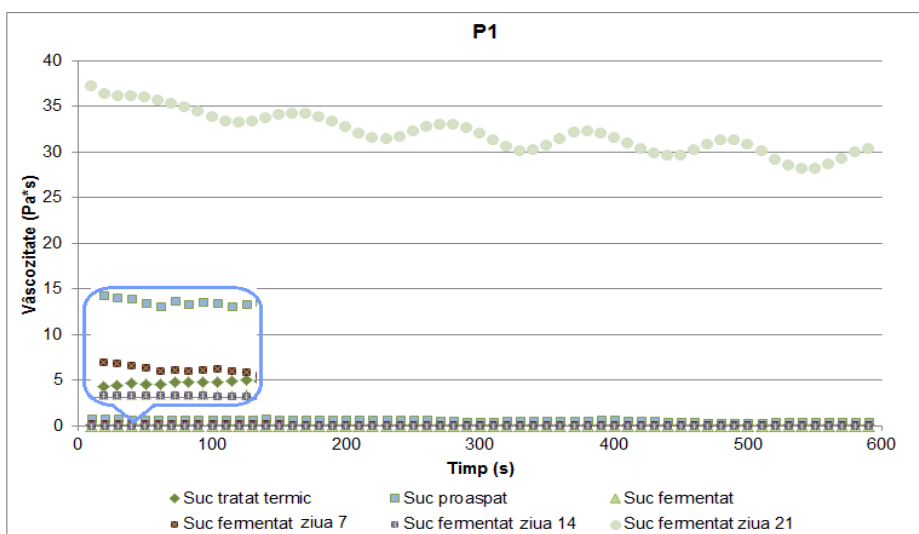


Figura 7.4. Evoluția vâscozității în timp a probei P1

Sucul de legume îmbogățit cu nutrienți a prezentat o creștere a vâscozității pe toată perioada de depozitare, având comportament caracteristic fluidelor tixotrope (Figura 7.5).

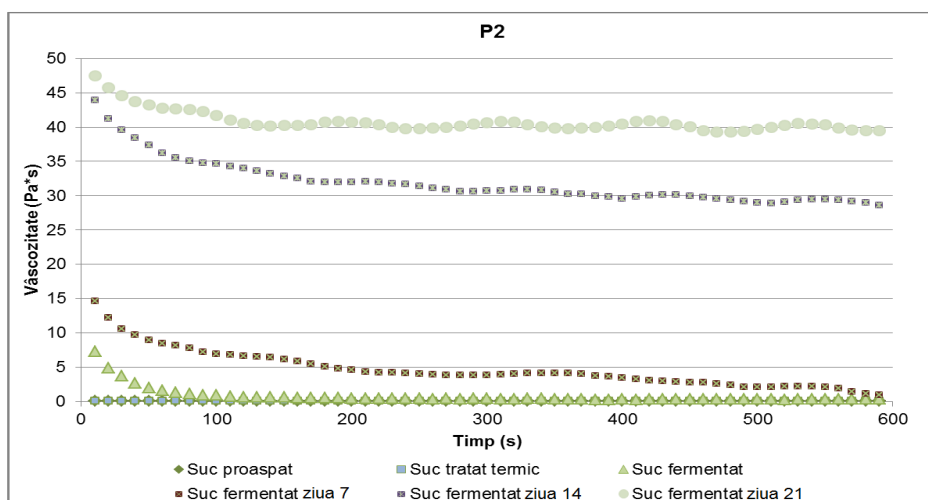


Figura 7.5. Evoluția vâscozității în timp a probei P2

Cele două probe au avut un comportament semnificativ diferit în timpul testului de curgere, acest fapt datorându-se pulpei de legume ce a adus un aport semnificativ de fibre, crescând vâscozitatea probei *P2*.

Ulterior testului de curgere la viteză constantă, a fost realizat și testul de scanare a vitezei de forfecare prin creșterea și descreșterea acesteia, de la $0 \div 100 \text{ s}^{-1}$ respectiv de la $100 \div 0 \text{ s}^{-1}$. S-a observat caracterul tixotrop al sucului obținut, respectiv fluidificarea sucului odată cu creșterea vitezei de forfecare. Prezența pulpei în sucuri poate fi identificată prin valori ale vâscozității mai mari. Procesul de fermentare a dus la îngroșarea sucului, fapt ce s-a putut observa odată din creșterea valorii vâscozității, dar și prin prezența ariei mai mari de histerezis formată între curbele tensiunii de forfecare. Aria de histerezis se formează atunci când restructurarea fluidului are loc mai lent decât destructurarea pe aceleași viteze de forfecare. Fenomenul de îngroșare poate fi explicat prin faptul că exopolizaharidele produse de microorganismele utilizate în fermentarea sucului au creat structuri compacte. Acestea acționează ca agenți de îngroșare ce îmbunătățesc proprietățile reologice ale produselor fermentate și limitează sinereza.

Primul test oscilatoriu a presupus scanarea deformării de la $0,1 \div 100\%$ la o frecvență constantă a oscilațiilor de 1Hz. Toate probele au prezentat caracter vâscoelastic până la o deformare de 2%. Acest lucru s-a văzut în valorile modulelor de vâscoelasticitate, G' (modulul de înmagazinare, elasticitate) prevalând semnificativ ($p < 0,05$) față de G'' (modulul de pierdere, vâscos).

De asemenea, fenomenul se poate observa și din valorile unghiului de fază, care până la o deformare de 2% a avut valori caracteristice solidelor ($< 45^\circ$), crescând concomitent cu creșterea deformării în zona caracteristică fluidelor ($> 45^\circ$). Putem afirma că, până la valori ale deformării de aproximativ 10% sucul a prezentat caracter vâsco-elasto-plastic, după care s-a constatat fenomenul de curgere, respectiv inversia de faze dintre G' și G'' . Perioada de fermentare nu a influențat momentul destructurării fluidului pentru curgere.

Scanarea frecvenței oscilațiilor s-a realizat în domeniul de frecvență $0,1$ la 10Hz , menținându-se domeniul de vâscoelasticitate prin impunerea unei deformări constante de 1%, care să asigure menținerea probei în domeniul de vâscoelasticitate liniară. În intervalul analizat, toate probele au înregistrat valori mai mari ale modulului G' comparativ cu G'' . Odată cu creșterea perioadei de depozitare, respectiv a vâscozității, proba *P2* a înregistrat valori semnificativ mai mari față de proba inițială ($p < 0,05$).

Sucul de legume fermentat și cel îmbogățit cu nutrienți au fost analizate senzorial, timp de 3 săptămâni, la un interval de 7 zile. Intensitatea atributelor analizate a fost măsurată pe o scară de la 0 la 15 pentru a observa schimbările suferite de sucul fermentat pe perioada depozitării.

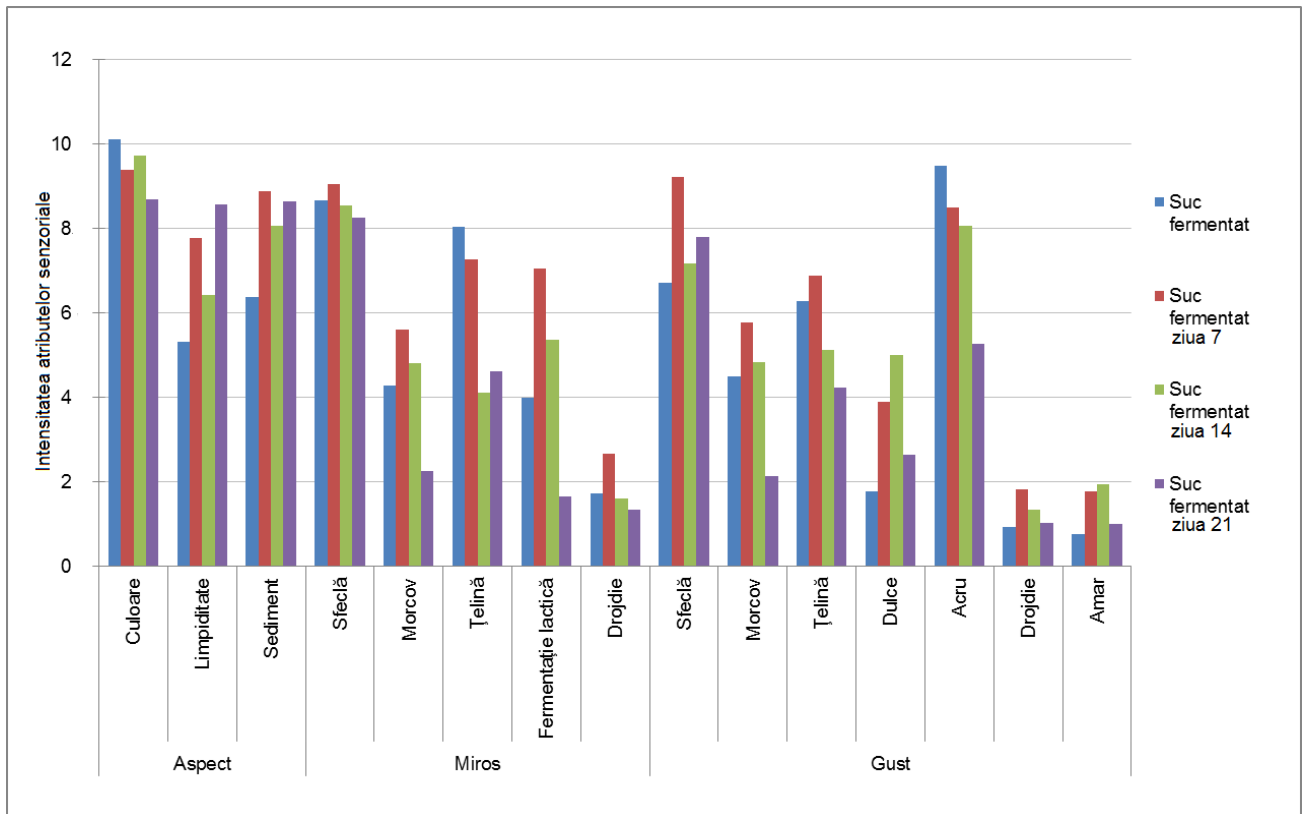


Figura 7.6. Evoluția intensității atributelor senzoriale în timpul depozitării sucului *P1*

Se observă o creștere a limpidității și a sedimentului probei *P1*, datorate separării de faze (Figura 7.6.). Deși concentrația de suc de țelină este mai mică decât cea a sucului de morcov, aroma și gustul de țelină sunt mai intense, în special în prima parte a perioadei de depozitare. Aroma specifică a drojdiilor este acoperită de cea de fermentație lactică. Drojdiile sunt utilizate ca substrat în dezvoltarea bacterilor lactice, având o viabilitate mai scăzută și de aceea această aromă este aproape de pragul de percepție.

Deși se constată o creștere a acidității, senzorial gustul acru scade ca intensitate. Acest lucru este justificat de creșterea concentrației de exopolizaharide.

Proba *P2* a înregistrat o intensitate mai mare a culorii decât cea a probei *P1* (Figura 7.7.). Scăderea intensității culorii sucului de legume fermentat are loc datorită pierderilor în pigmenti. Intensitatea gustului dulce scade datorită scăderii concentrației de glucide fermentescibile. Intensitatea gustului acru crește în primele două săptămâni, însă la sfârșitul perioadei de depozitare intensitatea percepută de paneliști scade datorită creșterii conținutului de exopolizaharide. Gustul amar și cel de drojdie au înregistrat intensități aflate la limita de percepție.

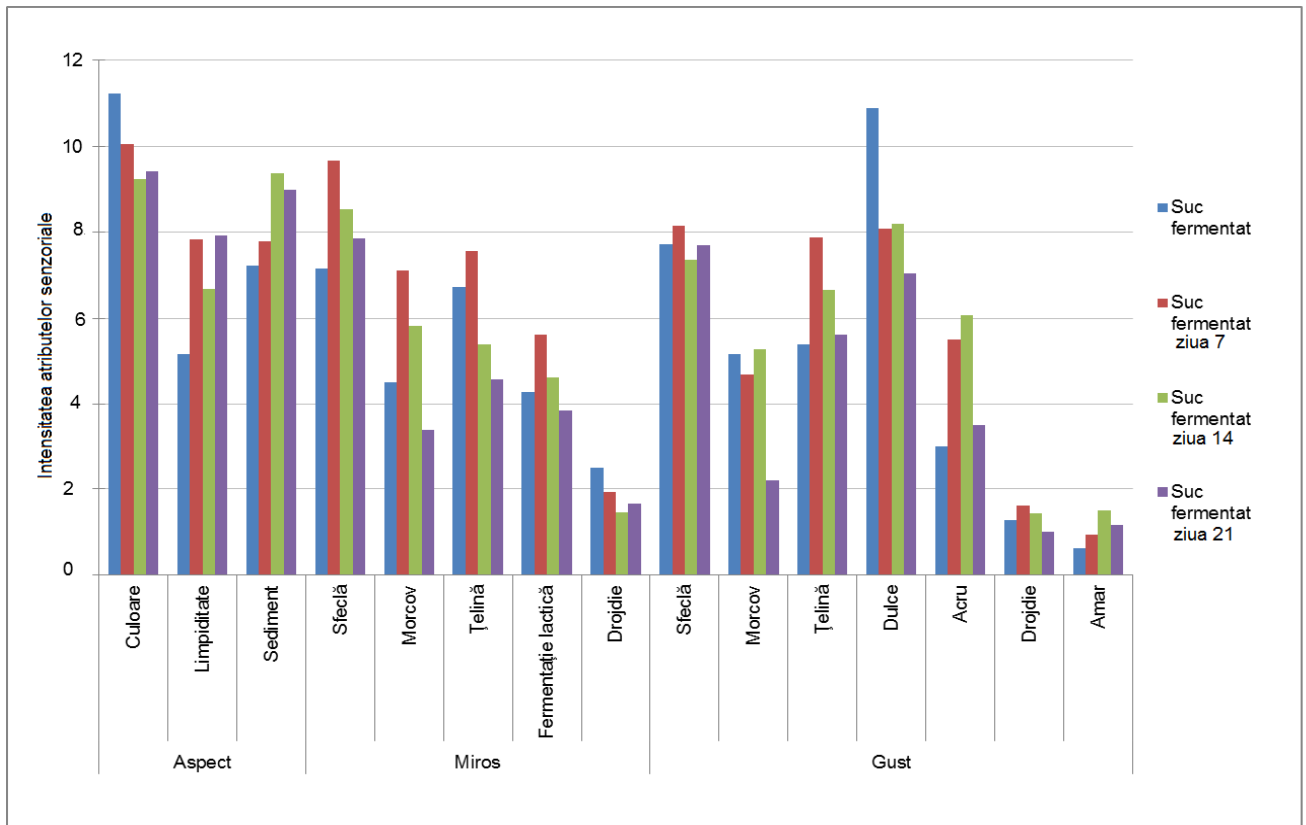


Figura 7.7. Evoluția intensității atributelor senzoriale în timpul depozitării sucului P2

Rezultatele analizei senzoriale pentru variațiile de culoare la cele două probe au fost corelate cu cele obținute prin intermediul analizei colorimetrice. Paneliștii au perceput mai ușor modificările în intensitatea culorii probei P2 comparativ cu proba P1 (Figura 7.8.). Variația pierderilor în nutrienți pe perioada de depozitare a fost mai ușor perceptibilă în suc cu nutrienți unde intensitatea inițială a culorii a fost mai puternică.

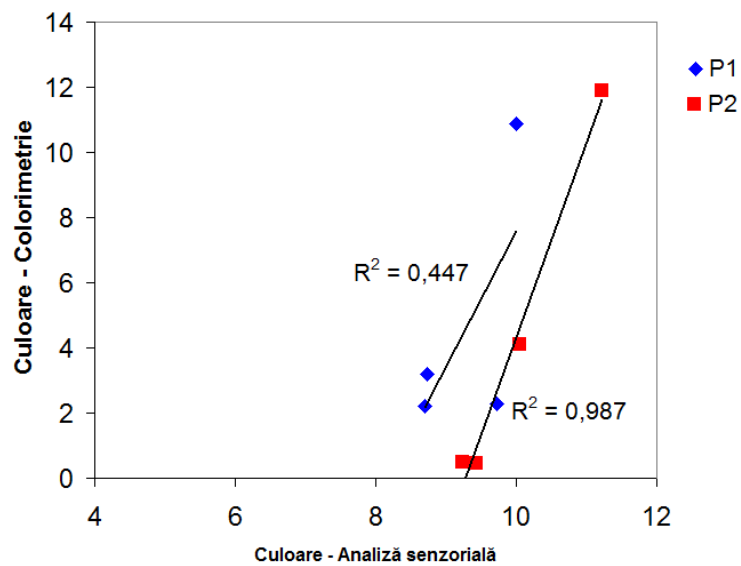


Figura 7.8. Corelația dintre analiza senzorială și colorimetrie a probelor de suc P1 și P2

De asemenea, s-a obținut corelația dintre atributele de gust ale celor două probe și variația acidității cuantificată prin metode fizico-chimice în primele două săptămâni de depozitare (Figura 7.9). În ultima săptămână are loc o descreștere a viabilității microorganismelor. De aceea, are loc și o descreștere a compușilor cu influență asupra proprietăților senzoriale, metabolizați de către probiotice.

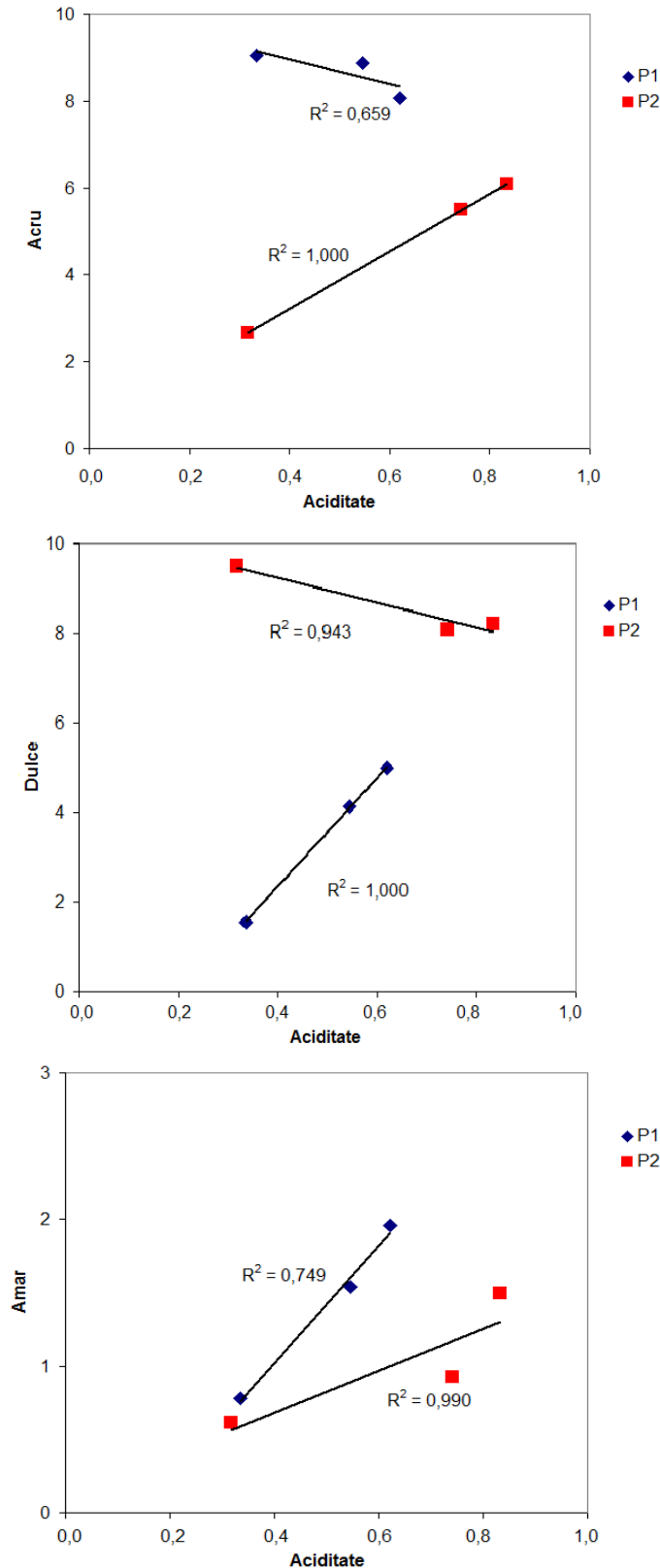


Figura 7.9. Corelația dintre percepția atributelor senzoriale și aciditatea determinată chimic

Pentru proba *P2* intensitatea gustului acru a fost direct proporțional cu aciditatea probei, în timp ce intensitatea gustului dulce a fost invers proporțională. Acest fapt poate fi explicat prin scăderea concentrației glucidelor. Pentru proba *P1*, însă, intensitatea celor două atribute a fost percepută în mod diferit, gustul acru fiind mascat de exopolizaharide. A fost observată o corelație directă între intensitatea gustului amar și aciditatea produsului, datorită creșterii concentrației de acizi organici și peptide rezultate în urma procesului de fermentare.

Concluzii parțiale

- ❖ Pe parcursul perioadei de depozitare are loc o scădere a intensității culorii celor două probe datorită pierderii unor compuși ca polifenoli, betalaine, caroteni.
- ❖ Fermentarea a influențat proprietățile reologice ale produsului prin creșterea vâscozității datorită exopolizaharidelor produse de probiotice. În sucul îmbogățit cu nutrienți această creștere a fost mai importantă, deoarece acesta este un mediu propice pentru dezvoltarea microorganismelor.
- ❖ Intensitatea gustului dulce a fost mai mare la sucul cu adaos de miere, având o acceptabilitate mai mare pentru grupul de consumatori vizați.
- ❖ Aspectul celor două probe nu a fost diferit din punct de vedere statistic, pulpa de legume neavând un impact negativ asupra atributelor sucului de legume fermentat.
- ❖ Prin îmbogățirea cu nutrienți, sucul de legume și-a îmbunătățit calitățile senzoriale și reologice. Această probă a arătat o bună stabilitate pe perioada de depozitare, fiind selectată ca variantă optimă pentru obținerea produsului sinbiotic.

Capitolul 8 se intitulează „**Evaluarea caracteristicilor fizico-chimice ale produsului fermentat pe bază de legume**”. Acesta cuprinde studiul modificărilor fizico-chimice ale băuturii sinbiotice pe perioada de depozitare.

Pe parcursul perioadei de depozitare are loc o scădere a conținutului de substanțe nutritive, în special glucide, ceea ce a influențat conținutul de substanță uscată din produs (Tabelul 8.1.). Pe parcursul perioadei de depozitare glucidele și proteinele sunt utilizate în metabolismul microorganismelor probiotice. Acest lucru poate fi explicat prin scăderea conținutului de minerale cum ar fi magneziu, zinc sau potasiu.

Tabelul 8.1. Evoluția compoziției chimice a sucului de legume fermentat

Proba	Glucide (g/100ml)	Proteine (g/100ml)	Fibre solubile (g/100ml)	Fibre insolubile (g/100ml)	Cenușă (g/100ml)	Substanță uscată (g/100ml)
Suc proaspăt	8,28±0,07	0,96±0,03	2,84±0,14	0,67±0,01	0,65±0,02	13,67±0,02
Suc tratat termic	8,29±0,08	0,93±0,02	2,81±0,17	0,67±0,01	0,64±0,02	13,46±0,01
Suc fermentat	6,57±0,02	0,91±0,04	2,76±0,05	0,48±0,03	0,64±0,02	11,48±0,02
Suc fermentat ziua 7	5,83±0,05	0,86±0,04	2,39±0,06	0,32±0,01	0,61±0,01	10,19±0,04
Suc fermentat ziua 14	4,22±0,04	0,64±0,02	2,26±0,08	0,31±0,01	0,55±0,01	8,06±0,04
Suc fermentat ziua 21	4,06±0,01	0,57±0,03	2,09±0,11	0,26±0,01	0,50±0,01	7,53±0,03

În matricea Pearson (Tabelul 8.2.) se observă că cea mai mare corelație există între substanță uscată și glucide, urmată de fibre.

Tabelul 8.2. Matricea de corelație Pearson (n) pentru compușii nutriționali

Variable	Glucide	Proteine	Fibre solubile	Fibre insolubile	Cenușă	Substanță uscată
Glucide	1	0,929	0,950	0,963	0,906	0,998
Proteine	0,929	1	0,938	0,824	0,989	0,944
Fibre solubile	0,950	0,938	1	0,935	0,949	0,966
Fibre insolubile	0,963	0,824	0,935	1	0,819	0,960
Cenușă	0,906	0,989	0,949	0,819	1	0,927
Substanță uscată	0,998	0,944	0,966	0,960	0,927	1

Corelația mare dintre variabilele analizate se poate observa și din analiza principalelor componente. Astfel, PC1 este reprezentat de toate componentele și exprimă 94,45 % din variația datelor (Figura 8.1.). Partea negativă a PC2 este reprezentată de cenușă, proteine și fibre solubile, variabilele cu influența cea mai scăzută asupra conținutului de substanță uscată.

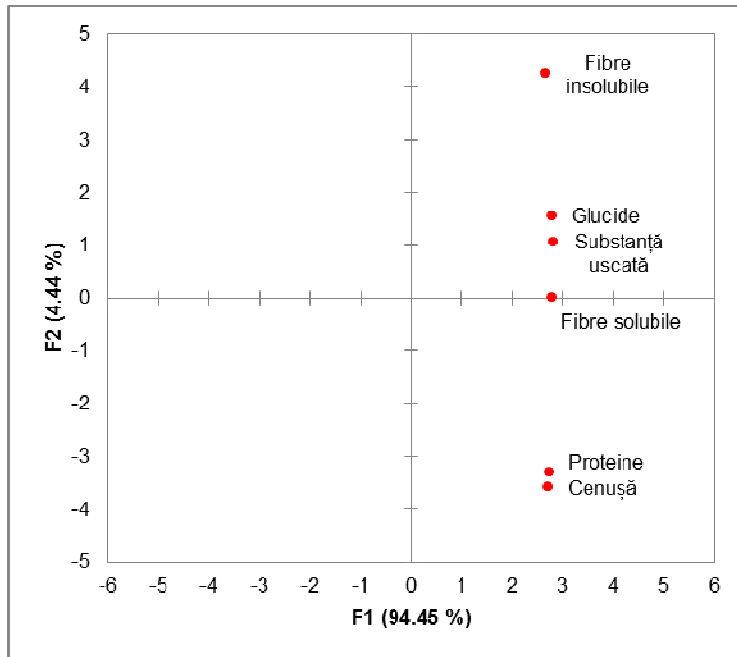


Figura 8.1. Graficul corelației dintre principale componente cu rol nutrițional

Există o corelație strânsă între compușii nutritivi și viabilitatea microorganismelor (Figura 8.2.). Astfel, se observă că, odată cu scăderea conținutului de glucide, proteine, minerale și fibre solubile are loc și o scădere a viabilității microorganismelor.

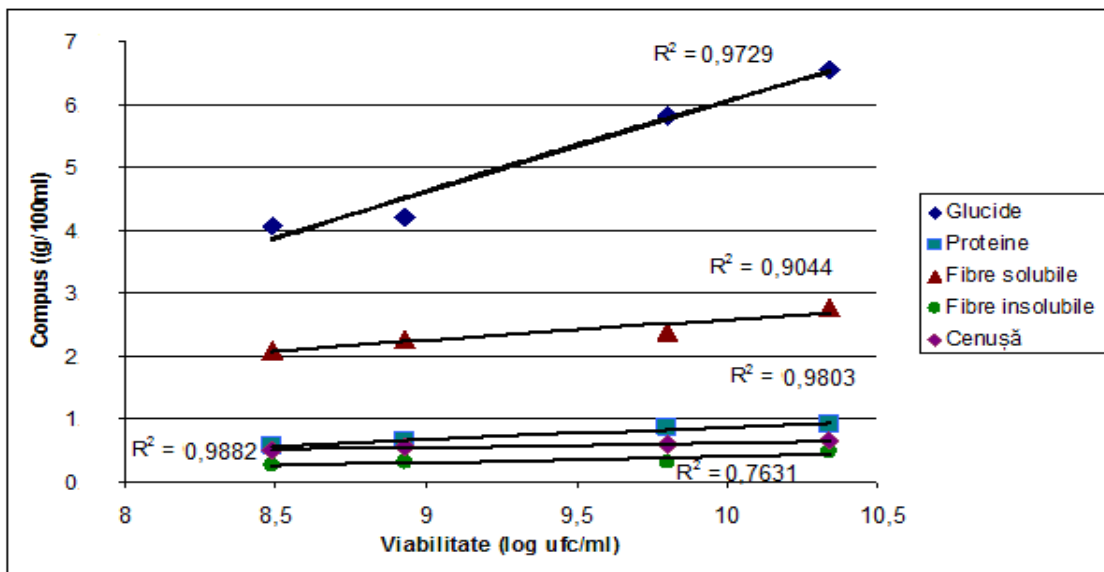


Figura 8.2. Graficul de corelație dintre viabilitatea microorganismelor și compușii cu rol nutrițional

Se observă o strânsă corelație între scăderea conținutului de glucide fermentescibile și creșterea vâscozității sucului de legume fermentat (Figura 8.3). De asemenea, prin fermentarea glucidelor are loc și sintetizarea acizilor organici, ceea ce a condus la creșterea acidității.

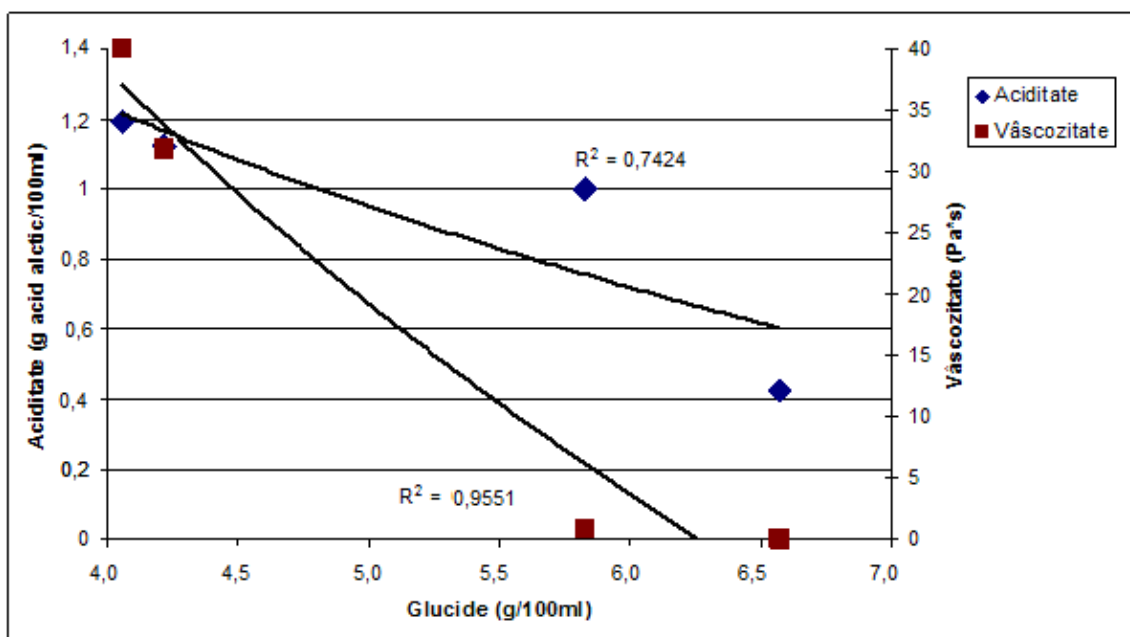


Figura 8.3. Graficul de corelație dintre variația glucidelor și cea a caracteristicilor senzoriale măsurate prin metode fizico-chimice

O scădere importantă a concentrației acidului ascorbic a fost înregistrată în sucul tratat termic. Cu toate acestea, după procesul de fermentare, conținutul de acid ascorbic revine la valorile inițiale (Tabelul 8.3), probabil ca urmare a biosintezei acidului L-ascorbic de către *Saccharomyces cerevisiae*. Degradarea vitaminei C este influențată de nivelul pH-ului și a pierderilor în glucide care au loc după fermentare.

Tabelul 8.3. Evoluția concentrației vitaminelor hidrosolubile în sucul de legume

Proba	Vitamina C (mg/100ml)	Vitamina B2 (mg/100ml)	Vitamina B3 (mg/100ml)	Vitamina B5 (mg/100ml)	Vitamina B6 (mg/100ml)
Suc proaspăt	4,69±0,20	0,75±0,23	1,85±0,30	2,31±0,09	1,11±0,12
Suc tratat termic	0,21±0,07	0,73±0,38	1,91±0,02	2,38±1,01	1,21±0,30
Suc fermentat	4,51±2,83	1,00±0,68	1,92±0,44	4,81±0,42	1,69±0,19
Suc fermentat ziua 7	2,23±0,37	2,93±0,14	1,97±0,91	4,83±1,23	3,60±0,14
Suc fermentat ziua 14	1,89±0,18	1,17±0,44	2,81±0,39	5,44±0,12	4,01±0,40
Suc fermentat ziua 21	0,88±0,06	1,02±0,06	2,85±0,25	4,73±0,19	3,60±0,16

Toate vitaminele B au fost stabile în timpul procesării cu microunde și au arătat o creștere după fermentare. Studii anterioare au demonstrat o stabilitate mai mare a vitaminelor B în timpul procesării cu ajutorul microundelor, în raport cu alte metode de tratare termică. Vitaminele pot fi produse în timpul procesului de fermentare, însă concentrația lor în timpul depozitării poate fi afectată de interacțiunea dintre vitamine sau dintre acestea și microorganisme.

S-au obținut rezultate bune pentru recuperarea vitaminelor hidrosolubile în probele de suc precum și în soluțiile standard (Tabelul 8.4.). Cromatogramele probelor sunt reprezentate în Figura 8.4.

Tabelul 8.4. Validarea metodelor analitice

Parametru	Vitamina C	Vitamina B2	Vitamina B3	Vitamina B5	Vitamina B6
%R	99,32±6,93	100,55±4,94	100,15±4,81	98,27±4,53	101,09±4,89
%RR	106,05 ± 9,87	108,13±10,51	98,52±14,25	96,10±5,26	97,25±7,46
%RSD	4,44	7,22	1,20	4,13	1,41

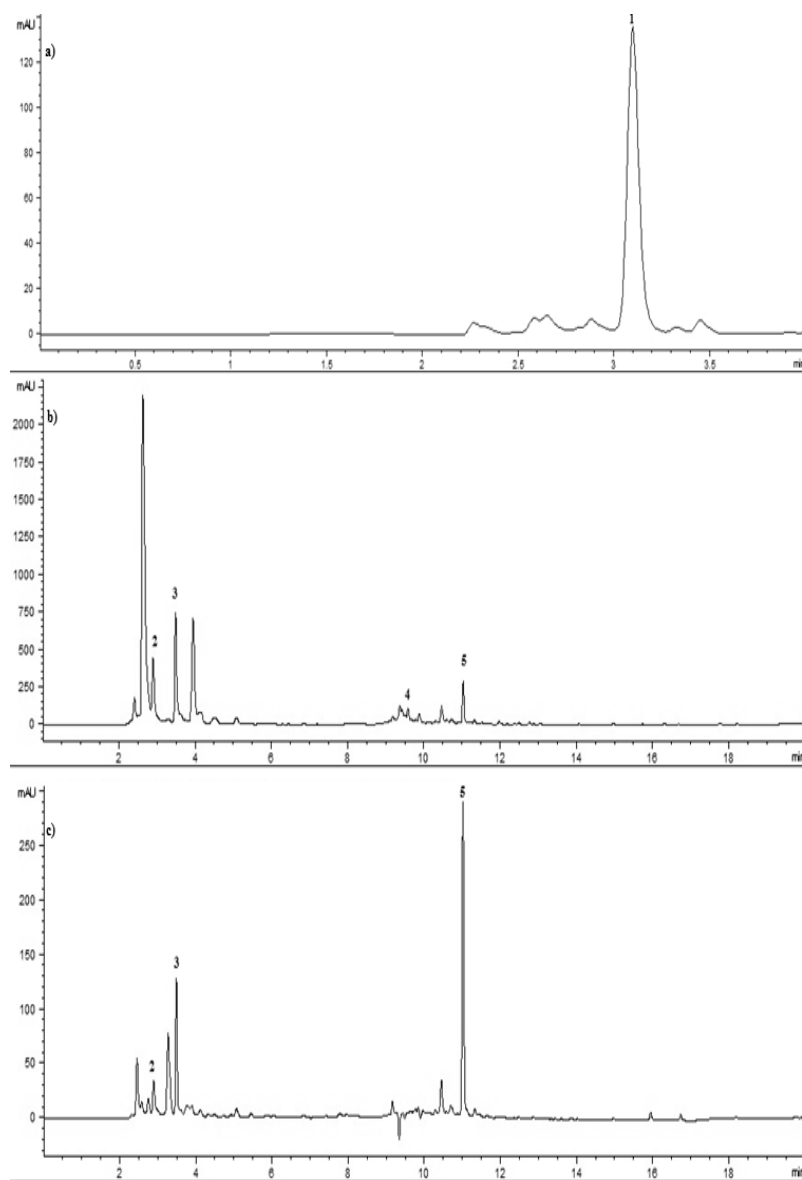


Figura 8.4. Cromatogramele reprezentative ale probelor:

a) $\lambda=246$ nm, b) $\lambda=210$ nm, c) $\lambda=275$ nm.

Peakuri identificate: 1 - vitamina C, 2 – vitamina B3, 3 – vitamina B6, 4 – vitamina B5, 5 – vitamina B2

Extractul metanolic al sucului de legume (Figura 8.5.c) a fost testat calitativ pentru confirmarea betacianinelor. În prezența soluției calde de HCl, culoarea extractului a virat către roz (Figura 8.5.a), în timp ce, prin adăugarea de NaOH, culoarea extractului a devenit galben (Figura 8.5.b). Acest test a validat prezența betalainelor în sucul de legume și nu a antocianilor, deoarece plantele pot sintetiza doar unul dintre cele două tipuri de pigmenți ce se exclud reciproc [297].

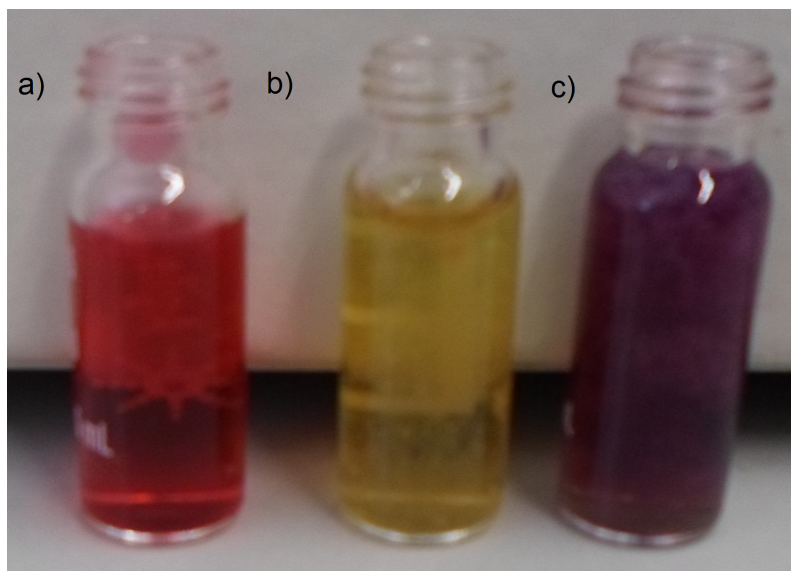


Figura 8.5. Testul calitativ de confirmare a prezenței betacianinelor în sucul de legume

După sterilizare, conținutul de betalaine a fost redus de la 199,66 mg/ 100ml până la 150,84 mg/100ml (Tabelul 8.5.). Cu toate acestea, a fost observată o creștere semnificativă a concentrației beta-carotenului. Studii anterioare arată o creștere a bioaccesibilității și biodisponibilității beta-carotenului după tratamentul termic, în special după cel cu microunde.

Tabelul 8.5. Evoluția concentrației pigmenților în sucul de legume

Proba	Betalaine (mg/100ml)	Betacianine (mg/100ml)	Betaxantine (mg/100ml)	Beta- caroten (mg/100ml)
Suc proaspăt	199,66±22,45	156,86±7,00	42,80±14,45	1,71±0,03
Suc tratat termic	150,84±7,40	107,02±4,71	43,81±2,68	2,46±0,89
Suc fermentat	126,86±10,57	94,00±2,94	32,86±7,64	2,10±0,04
Suc fermentat ziua 7	91,44±0,35	73,77±1,32	17,68±0,97	1,67±0,01
Suc fermentat ziua 14	75,12±0,17	60,63±1,06	14,60±1,23	1,59±0,01
Suc fermentat ziua 21	60,15±1,55	54,68±1,93	5,47±0,37	1,30±0,02

În timpul perioadei de depozitare, cea mai mare scădere a concentrației pigmenților a apărut în prima săptămână, când pH-ul a scăzut semnificativ de la 4,60 la 3,65. Concentrația beta-carotenului și a betalainelor a înregistrat pierderi mai mici, atunci când pH-ul a fost relativ constant. Studiile anterioare au arătat că un nivel ridicat de acizi organici ar putea crește stabilitatea beta-carotenului în timpul depozitării.

Conținutul de polifenoli și flavonoide nu a fost influențat în mod semnificativ de tratamentul cu microunde (Tabelul 8.6). Activitatea antioxidantă a sucului a scăzut, datorită influenței altor compuși cum ar fi acidul ascorbic.

Tabelul 8.6. Evoluția concentrației compușilor antioxidanți în suc de legume

Proba	Polifenoli (mg/100ml)	Flavonoide (mg/100ml)	Activitate antioxidantă, RSA %
Suc proaspăt	346,45±5,43	91,90±1,37	82,35±4,53
Suc tratat termic	345,18±3,67	91,85±2,00	79,14±3,02
Suc fermentat	463,48±2,21	97,25±1,35	87,80±3,13
Suc fermentat ziua 7	447,79±9,03	98,75±0,95	77,00±4,21
Suc fermentat ziua 14	365,30±4,65	85,96±2,25	60,96±3,78
Suc fermentat ziua 21	343,69±6,08	84,74±5,05	45,99±3,02

O creștere a conținutului de polifenoli și flavonoide a fost observată după fermentarea sucului. Prin degradarea enzimatică a taninurilor sunt eliberați polifenolii. Însă potențialul antioxidant nu este legat numai de compușii fenolici, ci și de eliberarea agliconilor fenolici din diferitele structuri. Pe parcursul perioadei de depozitare, flavonoidele au demonstrat o stabilitate bună. Studiile anterioare au arătat că pH-ul scăzut crește stabilitatea flavonoidelor. Stabilitatea compușilor antioxidanți este influențată atât de condițiile de pH, cât și de microorganismele utilizate în fermentarea produselor.

În suc de legume fermentat activitatea antioxidantă este influențată de mai mulți factori. Astfel, se observă o bună corelație între conținutul de flavonoide, betalaine, β -caroten, acid ascorbic și polifenoli (Tabelul 8.7.). Analiza principalelor componente a arătat că există o corelație negativă între evoluția concentrației vitaminelor B și activitatea antioxidantă (Figura 8.6.)

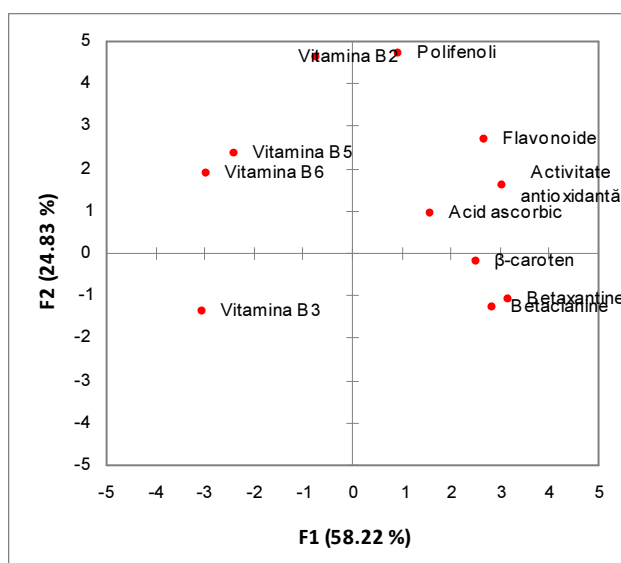


Figura 8.6. Graficul corelației dintre principalele componente cu rol antioxidant

Tabelul 8.7. Matricea de corelație Pearson (*n*) pentru compușii antioxidanți

Variabilele	Activitate antioxidantă	Polifenoli	Flavonoide	Betacianine	Betaxantine	β-caroten	Vitamina B3	Vitamina B6	Vitamina B5	Vitamina B2	Acid ascorbic
Activitate antioxidantă	1	0,5418	0,9482	0,6879	0,8231	0,7400	-0,9341	-0,7259	-0,4393	0,0373	0,5902
Polifenoli	0,5418	1	0,7381	0,0238	0,0832	0,1702	-0,5363	0,1108	0,1578	0,8486	0,2194
Flavonoide	0,9482	0,7381	1	0,5401	0,6947	0,6674	-0,8700	-0,5137	-0,3047	0,2703	0,4733
Betacianine	0,6879	0,0238	0,5401	1	0,8800	0,4063	-0,7117	-0,8690	-0,8476	-0,3825	0,5599
Betaxantine	0,8231	0,0832	0,6947	0,8800	1	0,7873	-0,8281	-0,9479	-0,8258	-0,4190	0,3558
β-caroten	0,7400	0,1702	0,6674	0,4063	0,7873	1	-0,7266	-0,7232	-0,4731	-0,2725	0,0210
Vitamina B3	-0,934	-0,5363	-0,8700	-0,7117	-0,8281	-0,7266	1	0,7716	0,6039	-0,0992	-0,4096
Vitamina B6	-0,7259	0,1108	-0,5137	-0,8690	-0,9479	-0,7232	0,7716	1	0,8366	0,5462	-0,3787
Vitamina B5	-0,4393	0,1578	-0,3047	-0,8476	-0,8258	-0,4731	0,6039	0,8366	1	0,4534	-0,0474
Vitamina B2	0,0373	0,8486	0,2703	-0,3825	-0,4190	-0,2725	-0,0992	0,5462	0,4534	1	-0,0557
Acid ascorbic	0,5902	0,2194	0,4733	0,5599	0,3558	0,0210	-0,4096	-0,3787	-0,0474	-0,0557	1

Analiza FTIR s-a realizat pentru probele de suc utilizând echipamentul IR Spectrometer 350, prin înregistrarea spectrelor de la 4000 la 1000 cm^{-1} cu o rezoluție spectrală de 2 cm^{-1} , utilizând tehnica ATR – Atenuator Total Reflectance. Pentru interpretarea rezultatelor s-au avut în vedere frecvențele caracteristice ale principalelor clase de compuși organici preluate din literatura de specialitate.

Rezultatele obținute au pus în evidență prezența grupărilor funcționale din structura moleculelor biologic active prezente în probe. Tehnica FTIR a furnizat informații certe despre grupările funcționale care pot fi întâlnite în compușii bioactivi din sucul fermentat.

Analiza FTIR a probelor de suc a evidențiat prezența mai multor benzi caracteristice, intense, medii sau slabe, specifice diferitelor grupări funcționale și caracterizate de frecvențele specifice acestora (Figura 8.7.). În toate probele, intensitatea benzilor este similară pentru toate probele analizate, nefiind diferențe majore. La o primă analiză se poate distinge o abundență mai mare a benzilor de absorbție în cazul probelor sucului după 7 respectiv 14 zile de la fermentare, unde se observă apariția mai multor frecvențe caracteristice care nu sunt identificate în celelate probe (Tabelul 8.8.).

Analizând rezultatele în scopul identificării compușilor bioactivi din care fac parte grupările funcționale evidențiate în spectrele FT-IR, se poate considera că, pentru banda largă de $\nu 3330 \text{ cm}^{-1}$, grupările funcționale aflate în această regiune fac parte din diverse clase de compuși bioactivi cum ar fi compușii polifenolici, vitaminele, acizii carboxilici și derivații lor precum și biomolecule de tip carbohidrați, proteine, lipide prezente din abundență în vegetale. În cazul benzilor intense caracteristice frecvenței din jurul valorilor $\nu 1636 \text{ cm}^{-1}$, acestea sunt specifice grupărilor funcționale specifice compușilor polifenolici care prezintă tautomerie ceto-fenolică, vitaminelor, proteinelor, lipidelor. Banda caracteristică frecvenței de aproximativ $\nu 1400 \text{ cm}^{-1}$ este reprezentată de prezența grupărilor funcționale alifatiche. Banda identificată la frecvența de aproximativ $\nu 1040 \text{ cm}^{-1}$ este caracteristică prezenței în probe a grupărilor funcționale din glicozide conținând drept aglicon polifenolii și din carbohidrați, lipide și proteine.

Pe baza analizei frecvențelor de absorbție IR, benzile cele mai evidente aparțin frecvențelor $\nu 3330 \text{ cm}^{-1}$, $\nu 1636 \text{ cm}^{-1}$ și $\nu 1050 \text{ cm}^{-1}$, specifice grupărilor din compuși precum polifenoli, carbohidrați, acizi grași și proteine.

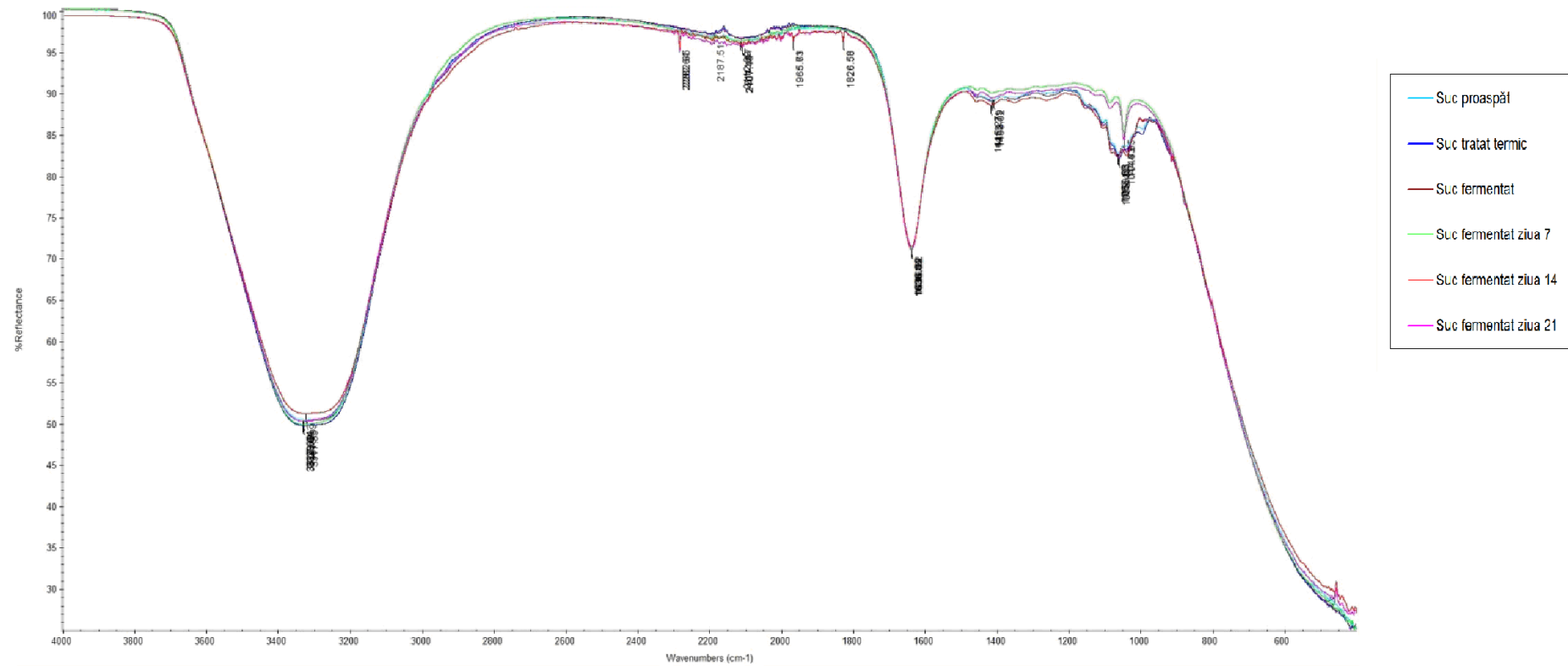


Figura 8.7. Spectrul IR al sucului de legume

Tabelul 8.8. Frecvențele și grupările posibile prezente în suc de legume

Gruparea funcțională		Suc proaspăt	Suc tratat termic	Suc fermentat	Suc fermentat ziua 7	Suc fermentat ziua 14	Suc fermentat ziua 21
Grupări –O-H (alcooli fenoli) și legături de hidrogen –O-H... -O-H, bandă amidică specifică proteinelor și acizilor nucleici	Frecvența (v, cm-1)	3317,35	3326,92	3325,94	3329,34	3320,27	3327,29
	Tipul benzii	largă	largă	largă	largă	largă	largă
Grupări nesaturate , triplă legătură	Frecvența (v, cm-1)	2112,39	2187,51	2112,64	2282,64	2282,65	2112,89
	Tipul benzii	slabă	slabă	slabă	slabă	slabă	slabă
Grupări nesaturate , triplă legătură	Frecvența (v, cm-1)	-	2111,57	-	2107,15	2107,30	-
	Tipul benzii	-	slabă	-	slabă	slabă	-
Grupări carbonil în general, C=O	Frecvența (v, cm-1)	-	-	-	1826,58	1826,58	-
	Tipul benzii	-	-	-	slabă	slabă	-
Grupări aldehidice si cetonice cu caracter saturat, C=O, Duble legături conjugate C=C-C=C	Frecvența (v, cm-1)	1636,32	1636,46	1636,62	1636,81	1636,44	1636,62
	Tipul benzii	intensă	intensă	intensă	intensă	intensă	intensă
Grupări nesaturate -C=C-H, aromatice	Frecvența (v, cm-1)	1408,02	1412,19	1413,31	-	1415,29	-
	Tipul benzii	slabă	slabă	slabă	-	slabă	-
Grupări esterice –COOR, Grupări aminice, C-N polizaharide	Frecvența (v, cm-1)	1059,33	1058,4	1061,63	1044,83	1062,09	1044,85
	Tipul benzii	medie	medie	medie	medie	medie	medie

Anumite modificări în compoziția moleculară a probei pot fi puse în evidență prin analiza spectrului Raman, făcând astfel spectroscopia Raman un obiect interesant pentru caracterizarea și identificarea probelor vegetale.

Fiind o metodă non-distructivă, rapidă și selectivă chimic, spectroscopia Raman oferă o alternativă la metodele optice de identificare și caracterizare chimică care implică și o etapă de purificare și care poate denatura proba. Figura 8.8. ilustrează imaginile obținute la microscopul Raman. Din examinarea imaginilor obținute se observă picăturile de apă în probele liofilizate.

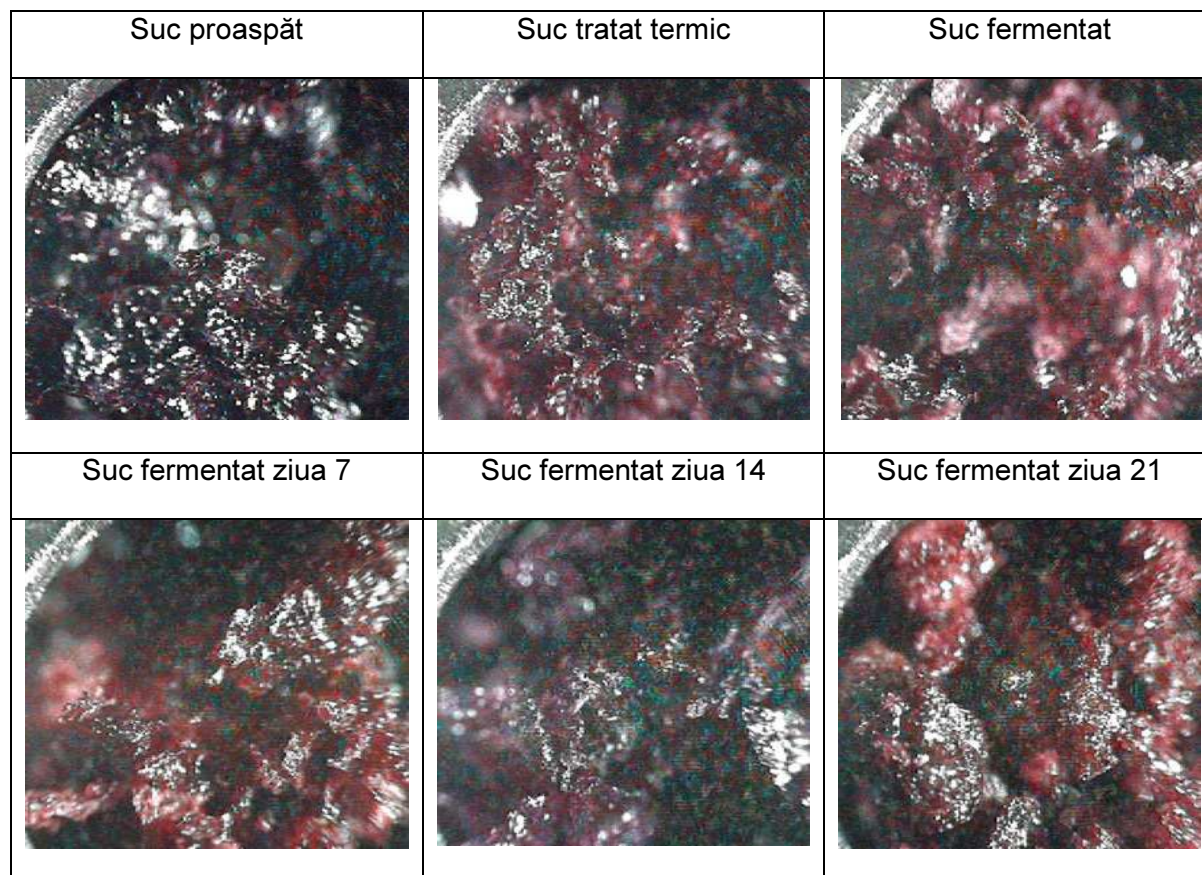


Figura 8.8. Imaginile probelor liofilizate obținute cu ajutorul microscopului Raman

O examinare detaliată a caracteristicilor spectrale indică prezența compușilor carbonilici (1515 cm^{-1}), a esterilor (1517 cm^{-1}) și a aminoacizilor cu banda amidică la 1874 cm^{-1} (Figura 8.9.). Benzile intense de la aproximativ 3000 cm^{-1} , respectiv 2900 cm^{-1} , sunt specifice frecvențelor de vibrație caracteristice legăturilor C-H, respectiv =C-H, prezente în moleculele compușilor organici din probele analizate.

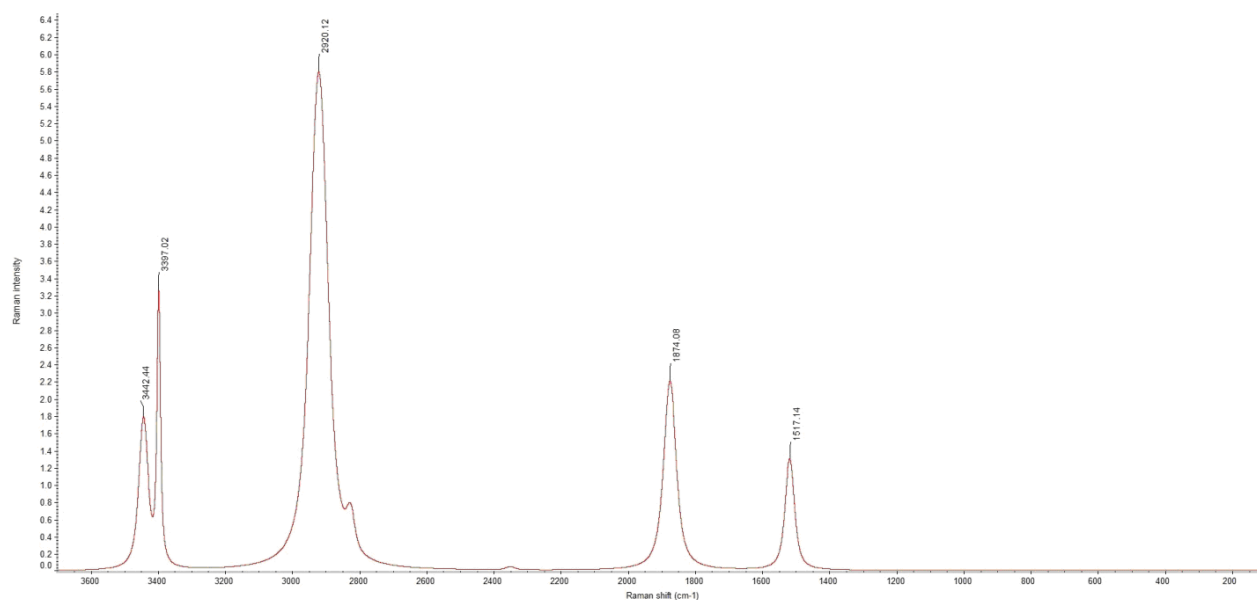


Figura 8.9. Spectru reprezentativ pentru probele de suc fermentat

Concluzii parțiale

❖ Sucul de legume îmbogățit cu miere și pulpă de legume reprezintă o sursă importantă de compuși nutriționali, în special glucide și fibre.

❖ Tratamentul cu microunde nu a avut un impact negativ semnificativ asupra compușilor nutriționali. Conversia acidului ascorbic în acid dehidroscorbic este o reacție reversibilă. În probele noastre s-a constatat revenirea concentrației vitaminei C la valoarea apropiată de cea inițială. Acest fapt se poate datora fie reconversiei acidului ascorbic din acid dehidroascorbic, fie eliberării acestui compus din structura produsului. Concentrația β -carotenului a crescut, datorită creșterii bioaccesibilității.

❖ Fermentarea a îmbunătățit calitatea nutritivă a sucului de legume prin creșterea conținutului de vitamine B, polifenoli și flavonoide. Sucul de legume fermentat a demonstrat o capacitate antioxidantă bună pe toată perioada de depozitare.

❖ Spectrele FT-IR și Raman au pus în evidență rezultatele obținute cu ajutorul metodelor fizico-chimice.

Contribuții la dezvoltarea cunoașterii și perspective de continuare a cercetărilor

Scopul acestui studiu a fost obținerea și caracterizarea unui produs sinbiotic pe bază de legume fermentate.

În prima etapă a cercetărilor au fost optimizați parametrii procesului de fermentare. Astfel, s-a obținut un mix probiotic unic pe bază de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* și *Saccharomyces boulardii*. Utilizând analiza statistică pentru modelele realizate, în vederea optimizării condițiilor biotehnologice de obținere a produsului sinbiotic, s-au constatat următoarele:

- ❖ Cei doi factori utilizați în primul model, concentrația inoculului și raportul dintre culturile de drojdii și bacterii, au un impact semnificativ asupra viabilității microorganismelor.
- ❖ Sucul de legume reprezintă un mediu favorabil pentru dezvoltarea microorganismelor starter utilizate, datorită compoziției nutriționale și a pH-ului.
- ❖ Datorită competiției pentru nutrienți, viabilitatea probioticelor scade semnificativ după prima săptămână de depozitare.

Cea de-a doua etapă a optimizării a presupus îmbogățirea sucului de legume cu nutrienți, astfel încât să se mențină caracterul probiotic al produsului pe toată perioada de valabilitate. Mierea polifloră și pulpa de legume liofilizată au fost utilizate ca sursă de glucide, respectiv fibre. În urma realizării celui de-al doilea model s-a constatat că:

- ❖ Adaosul de nutrienți are un impact pozitiv semnificativ asupra viabilității microorganismelor probiotice. Astfel, cu creșterea concentrației se constată o stabilitate mai bună a concentrației probioticelor.
- ❖ Concentrația de drojdii și bacterii lactice a avut valori de peste 10^7 ufc/ml pe toată perioada termenului de valabilitate.

Prin compararea sucului de legume fermentat (*P1*) cu cel îmbogățit cu nutrienți (*P2*), în vederea stabilirii impactului nutrienților asupra stabilității produsului, s-au stabilit următoarele concluzii:

- ❖ Prin simularea condițiilor gastrointestinale, *in vitro*, s-a constatat că băutura *P2* prezintă o bună stabilitate microbiologică.
- ❖ Analiza reologică a pus în evidență creșterea vâscozității produselor pe perioada de depozitare. În cazul probei *P2*, vâscozitatea a crescut semnificativ datorită unei concentrații mai mari a exopolizaharidelor.

Cercetări biotehnologice de obținere a unui produs sinbiotic cu rol funcțional destinat alimentației copiilor

- ❖ Prin analiza colorimetrică s-a constatat că proba P2 conține o concentrație mai mare de pigmenți, având valori mai ridicate ai parametrilor colorimetrici. Nu există diferențe semnificative, din punct de vedere statistic, pentru evoluția acestor parametri pe perioada de depozitare a produsului.
- ❖ Prin analiza senzorială s-a constatat că adaosul de pulpă de legume nu a influențat atributele senzoriale ale sucului de legume fermentat. Singurele diferențe remarcate de paneliști au fost în cazul gustului dulce, mai pregnant la proba P2.
- ❖ Proba P2 a demonstrat o mai bună stabilitate și acceptabilitate pe perioada de depozitare.

Prin analiza produsului finit din punct de vedere fizico-chimic s-au stabilit următoarele concluzii:

- ❖ Băutura conține o cantitate importantă de fibre solubile și insolubile, cu rol prebiotic.
- ❖ Tratamentul cu microunde, utilizat pentru inhibarea microflorei patogene, nu a afectat în mod semnificativ compoziția nutrițională existentă în suc de legume.
- ❖ Fermentarea a îmbunătățit calitățile nutriționale ale sucului de legume, prin creșterea concentrației vitaminelor B și a compușilor antioxidanți.

În perspectiva cercetărilor viitoare se propune:

- Efectuarea de studii clinice pentru stabilirea efectelor pe care le are băutura sinbiotică asupra organismului uman.
- Analiza influenței diverselor ambalaje asupra stabilității caracteristicilor fizico-chimice și microbiologice ale produsului.
- Obținerea de noi băuturi pe bază de produse vegetale.

Diseminarea rezultatelor cercetării

A. Articole științifice publicate în reviste cotate ISI:

Alina Georgiana Profir, Camelia Viorica Neagu, Camelia Vizireanu. *Impact of nutrients on the probiotic survival and sensory properties of vegetables juice*, Romanian Biotechnological Letters –acceptat pentru publicare.

B. Articole științifice publicate în reviste indexate în baze de date internaționale

1. **Alina Georgiana Profir**, Cristian Teodor Buruiană, Camelia Vizireanu. *Effects of S. cerevisiae var. boulardii in gastrointestinal disorders*, Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, 2015, 21 (2) – acceptat pentru publicare.

2. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Viorica Neagu, Daniela Istrati, Camelia Vizireanu. *Influence of refrigerated storage on viability of microorganisms in fermented vegetables juice*, Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, 2014, 20(2), 128-132.

3. Cristian Teodor Buruiană, **Alina Georgiana Profir**, Camelia Vizireanu. *Effects of probiotic Bacillus species in aquaculture – An overview*, The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI – Food Technology, 2014, 38(2), 9-17.

4. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Vizireanu. *Sensorial analysis of a functional beverage based on vegetables juice*, Acta Biologica Szegediensis, 2013, 57(2), 145-148.

5. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Vizireanu. *Effect of the preservation processes on the storage stability of juice made from carrot, celery and beetroot*, Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, 2013, 19(1), 99-104.

6. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Vizireanu. *Evolution of antioxidant capacity of bland juice made from beetroot, carrot and celery during refrigerated storage*, The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI – Food Technology 2013, 37(2), 93-99.

C. Lucrări științifice comunicate la manifestări internaționale

1. **Alina Georgiana Profir**, Thomas Ters, Ingrid Steiner, Camelia Vizireanu. *Evolution of B vitamins content in fermented vegetables juices*, The 7th International Symposium EuroAliment, Galati, Romania, 2015.

2. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Viorica Neagu, Gherghina Aldea, Camelia Vizireanu. *Impact of nutrients on the probiotic survival and sensory properties of vegetables juice*, International Scientific Congress - Life sciences, a challenge for the future, Iași, Romania, 2014.

3. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Viorica Neagu, Camelia Vizireanu. *Development of a functional beverage based on lactic fermentation of vegetables juice using central*

Cercetări biotehnologice de obținere a unui produs sinbiotic cu rol funcțional destinat alimentației copiilor *composite design*, The 8th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists, Opatija, Croatia, 2014.

4. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Vizireanu. *Influence of refrigerated storage on viability of microorganisms in fermented vegetables juice*, The 5th International Conference on Food Chemistry, Engineering & Technology, Timișoara, Romania, 2014.

5. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Vizireanu. *Sensorial analysis of a functional beverage based on vegetables juice*, International Conference on Science and Technique based on Applied and Fundamental Research: ICoSTAF, Szeged, Hungary, 2014.

6. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Vizireanu. *Evolution of Antioxidant Capacity of Blend Juice Made from Beetroot, Carrot and Celery During Refrigerated Storage*, The 6th International Symposium EuroAliment, Galati, Romania, 2013.

7. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Vizireanu. *Effect of the preservation processes on the storage stability of juice made from carrot, celery and beetroot*, The 4th International Conference on Food Chemistry, Engineering & Technology, Timișoara, Romania, 2013.

D. Lucrări științifice comunicate la manifestări naționale

1. **Alina Profir**, Ingrid Steiner, Camelia Vizireanu. *Betalains Stability in Vegetables Fermented Juice*, Scientific Conference of Doctoral Schools from University „Dunarea de Jos”, Third edition, Galati, Romania, 2015.

2. **Alina G. Profir**, Oana E. Constantin, Camelia Vizireanu, *Effect of Honey and Lyophilized Vegetables Pulp on the Survival Rate of Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei and Saccharomyces boulardii in Simulated Gastrointestinal Conditions*, Scientific Conference of Doctoral Schools from University „Dunarea de Jos”, Second edition, Galati, Romania, 2014.

3. **Alina Georgiana Profir**, Camelia Vizireanu. *Study of the Influence of Different Preservation Processes on the Storage Stability of Juice Made from Carrot, Celery and Beetroot*, Scientific Conference of Doctoral Schools from University „Dunarea de Jos”, First Edition, Galati, Romania, 2013.

Bibliografie selectivă

- [1] FAO/WHO. *Guidelines for the evaluation of probiotics in food*, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Groups Report (2001).
- [2] Tripathi, M.K., Giri, S.K. *Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage*, *Journal of functional foods*, 9 (2014), 225–241
- [3] Feizizadeh, S., Salehi-Abargouei, A., Akbari, V. *Efficacy and Safety of Saccharomyces boulardii for Acute Diarrhea*, *Pediatrics*, 134(1) (2014), 176-191.
- [4] Bull, M., Plummer, S., Marchesi, J., Mahenthiralingam, E. *The life history of Lactobacillus acidophilus as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success*, *FEMS Microbiol. Lett.*, 349 (2013), 77–87.
- [5] Peng, M., Reichmann, G., Biswas, D. *Lactobacillus casei and its byproducts alter the virulence factors of foodborne bacterial pathogens*, *Journal of Functional Foods*, 15 (2015), 418-428.
- [6] Beckett, E.L., Yates, Z., Veysey, M., Duesing, K., Lucock, M. *The role of vitamins and minerals in modulating the expression of microRNA*, *Nutrition Research Reviews*, 27(2014), 94-106.
- [7] Sung, H.J., Kang, D.H. *Effect of a 915 MHz microwave system on inactivation of Escherichia coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, and Listeria monocytogenes in salsa*. *LWT - Food Science and Technology*, xxx (2014), 1-6.
- [8] Wootton-Beard, P.C., Moran, A., Ryan, L. *Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods*, *Food Research International*, 44 (2011), 217–224.
- [9] Vrolijk, M.F., Opperhuizen, A., Jansen, E.H.J.M., Godschalk, R.W., Van Schooten, F.J., Bast, A., Haenen, G.R.M.M. *The shifting perception on antioxidants: The case of vitamin E and β -carotene*, *Redox Biology*, 4 (2015), 272-278.
- [10] Anderson, J.J.B. *Nutrition of Minerals in Relation to Human Function*, Reference Module in Biomedical Sciences, 2014.

- [11] Lopes, A.F., Alfaia, C.M.M., Partidário, A.M.C.P.C., Lemos, J.P.C., Prates, J.A.M. *Influence of household cooking methods on amino acids and minerals of Barrosã-PDO veal*, Meat Science, 99 (2015), 38-43.
- [12] Yangilar, F. *The Application of Dietary Fibre in Food Industry: Structural Features, Effects on Health and Definition, Obtaining and Analysis of Dietary Fibre: A Review*, Journal of Food and Nutrition Research, 1 (3) (2013), 13-23.
- [13] Klewicka, E., Nowak, A., Zduńczyk, Z., Cukrowska, B., Błasiak, J. *Protective effect of lactofermented beetroot juice against aberrant crypt foci formation and genotoxicity of fecal water in rats*, Experimental and Toxicologic Pathology, 64 (6) (2012), 599-604.
- [14] Mehta, B.M., Kamal-Eldin, A., Iwanski, R.Z., *Fermentation Effects on Food Properties*, CRC Press, New York, 2012.
- [15] Gonçalves, L.C.P., Di Genova, B.M., Dorr, F.A., Pinto, E., Bastos, E.L. *Effect of dielectric microwave heating on the color and antiradical capacity of betanin*, Journal of Food Engineering, 118 (2013), 49–55.
- [16] Sapeia, L., Hwa, L. *Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices*, Procedia Chemistry, 9 (2014), 62 – 68.
- [17] Fikselová, M., Kačániová, M., Hleba, L., Mellen, M., Vukovič, N., Džugan, M. *Antimicrobial and Antioxidant Activity of Natural Honeys of Different Origin*, Animal Science and Biotechnologies, 47 (2) (2014), 218-224.
- [18] Gil-Chávez, G.J., Villa, J.A., Ayala-Zavala, J.F., Heredia, J.B., Sepulveda, D., Yahia, E.M., Gonzalez-Aguilar, G.A. *Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview*, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12(2013), 5-23.
- [19] Thannoun, A.M., Younis, K.W. *Extraction and evaluation of total dietary fibres from some vegetables*, Mesopotamia J. of Agric., 41(4) (2013), 318-327.
- [20] Zaccari, F., Cabrera, M.C., Ramos, A. Saadoun, A. *In vitro bioaccessibility of β -carotene, Ca, Mg and Zn in landrace carrots (*Daucus carota*, L.)*, Food Chemistry, 166 (2015), 365–371.
- [21] Yu, L.J., Rupasinghe, H.P. *Effect of acidification on quality and shelf-life of carrot juice*, Can. J. Plant Sci., 92 (2012), 1113-1120.