

**Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați**  
**Școala doctorală de Științe fundamentale și ingineresti**



# **TEZĂ DE DOCTORAT**

**Comportamentul cinetic în timpul procesării  
al antocianilor din fructe în sisteme model și  
alimentare**

**(Rezumatul tezei de doctorat)**

**Doctorand,  
Mihaela TURTURICĂ**

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

**Seria I.1: BIOTEHNOLOGII Nr. 7**

**GALAȚI**

**2018**

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

Domeniul **ȘTIINȚE INGINEREȘTI**

Seria I 1: **Biotehnologii**

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

Seria I 3: **Inginerie electrică**

Seria I 4: **Inginerie industrială**

Seria I 5: **Ingineria materialelor**

Seria I 6: **Inginerie mecanică**

Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**

Seria I 8: **Ingineria sistemelor**

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**

<b>Introducere</b> .....	<b>1</b>
<b>I. STUDIUL DOCUMENTAR</b> .....	<b>7</b>
<b>1. Prunele și cireșele – surse importante de compuși bioactivi funcționali</b> .....	<b>8</b>
1.1. Aspecte generale .....	8
1.2. Structurile antocianilor .....	10
1.3. Surse de antociani .....	12
1.4. Proprietățile antocianilor .....	13
1.5. Proprietățile de culoare ale antocianilor .....	13
1.6. Proprietățile de fluorescență .....	14
1.7. Proprietăți biologice ale antocianilor .....	14
1.7.1. Activitatea antioxidantă .....	14
1.7.2. Activitatea de protecție cardiovasculară .....	15
1.7.3. Activitatea antiinflamatorie .....	15
1.7.4. Activitatea asupra sistemul nervos .....	15
1.7.5. Îmbunătățirea acuității vizuale .....	16
1.7.6. Activitatea antitumorală și anticancerigenă .....	16
1.7.7. Activitatea antidiabetică și antiobezitate .....	17
1.7.8. Activitatea antimicrobiană .....	17
1.7.9. Rolul antocianilor în plante .....	18
<b>2. Factorii ce influențează stabilitatea antocianilor</b> .....	<b>18</b>
2.1. pH-ul .....	18
2.2. Temperatura.....	19
2.3. Concentrația .....	21
2.4. Oxigenul .....	21
2.5. Lumina.....	21
2.6. Enzimele.....	21
2.7. Acidul ascorbic și acidul citric .....	22
2.8. Glucidele .....	22
2.9. Sulfiții .....	23
2.10. Copigmentarea.....	23
2.11. Interacțiunea cu ionii metalici.....	25
<b>3. Metode de extracție a antocianilor</b> .....	<b>26</b>
3.1. Tehnici de extracție convenționale .....	26
3.1.1. <i>Extracția Soxhlet</i> .....	26

## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

3.1.2. <i>Procesul de macerare</i> .....	26
3.1.3. <i>Hidrodistilarea</i> .....	26
3.1.4. <i>Extracția cu solvenți</i> .....	27
3.2. Tehnici de extracție neconvenționale .....	28
3.2.1. Extracție lichidă sub presiune (ELP).....	28
3.2.2. Extracția cu fluide supercritice (EFS) .....	28
3.2.3. Extracția asistată de ultrasunete (EAU) .....	28
3.2.4. Extracția asistată de microunde (EAM) .....	29
3.2.5. Extracția în câmp electric pulsatoriu .....	29
3.2.6. Extracția asistată enzimatic .....	29
3.3. Metode de separare și purificare a antocianilor .....	30
3.3.1. <i>Cromatografia în strat subțire și hârtia cromatografică</i> .....	30
3.3.2. <i>Cromatografia lichidă de înaltă performanță</i> .....	31
3.3.3. <i>Electroforeza capilară</i> .....	31
3.4. Metode de identificare a antocianilor .....	31
3.4.1. <i>Spectrofotometrie UV-Vis</i> .....	32
3.4.2. <i>Spectrometria de masă</i> .....	32
3.4.3. <i>Spectroscopie RMN</i> .....	33
3.4.4. <i>Spectroscopie IR, rezonanță Raman și spectroscopie de fluorescență</i> .....	33
<b>Referințe bibliografice</b> .....	<b>34</b>
<b>II. STUDIUL EXPERIMENTAL</b> .....	<b>48</b>
<b>4. Caracterizarea compoziției fenolice a unor matrici derivate din prune și cireșe</b> .....	<b>49</b>
4.1. Introducere .....	49
4.2. Materiale și metode.....	52
4.2.1. Reactivi.....	52
4.2.2. Echipamente .....	52
4.2.3. Pregătirea extractelor.....	53
4.2.4. Pregătirea sucurilor .....	53
4.2.5. Analiza compușilor biologic activi .....	53
4.2.5.1. Conținutul de polifenoli totali (PFT) .....	53
4.2.5.2 Conținutul de flavonoide totale (FT) .....	54
4.2.5.3 Determinarea antocianilor monomerici totali (AMT).....	55
4.2.5.4. Determinarea activității antiradicalice (DPPH RSA).....	55
4.2.5.5. Analiza cromatografică a antocianilor din matricile vegetale .....	56
4.2.6. Analiza statistică .....	57
<b>4.3. Rezultate și discuții</b> .....	<b>57</b>

## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

4.3.1. Analiza compoziției fenolice și a activității antiradicalice a extractului din pielețe de prune .....	57
4.3.2. Analiza compoziției fenolice și a activității antiradicalice a sucurilor de prune .....	59
4.3.3. Analiza compoziției fenolice și a activității antiradicalice a extractului din pielețe de cireșe .....	61
4.3.4. Analiza compoziției fenolice și a activității antiradicalice a sucului natural de cireșe .....	63
<b>4.4. Concluzii parțiale .....</b>	<b>65</b>
<b>Referințe bibliografice .....</b>	<b>66</b>
<b>5. Influența pH-ului asupra comportamentului antocianilor în matrici derivate din prune și cireșe .....</b>	<b>73</b>
5.1. Introducere .....	73
5.2. Materiale și metode.....	74
5.2.1. Reactivi.....	74
5.2.2. Echipamente .....	75
5.2.3. Pregătirea extractelor.....	75
5.2.4. Obținerea sucurilor naturale și simulate .....	75
5.2.5. Analiza prin spectroscopie de fluorescență.....	75
5.2.5.1. Fluorescența intrinsecă.....	76
5.2.5.2. Diagrama de faze.....	77
5.2.6. Analiza statistică .....	77
<b>5.3. Rezultate și discuții.....</b>	<b>77</b>
5.3.1. Influența variației pH-ului asupra comportamentului antocianilor în soluție standard .....	77
5.3.2. Influența pH-ului asupra comportamentului antocianilor din matrici derivate din prune..	83
5.3.2.1. Analiza spectrofluorimetrică a comportamentului antocianilor prezenți în extractul din pielețe de prune.....	83
5.3.2.2. Analiza spectrofluorimetrică a comportamentului antocianilor din suc natural de prune .....	84
5.3.2.3. Analiza spectrofluorimetrică a comportamentului antocianilor din sucuri simulate de prune .....	88
5.4. Influența pH-ului asupra comportamentului antocianilor din extractul din pielețe de cireșe și suc natural de cireșe .....	92
<b>5.5. Concluzii parțiale .....</b>	<b>96</b>
<b>Referințe bibliografice .....</b>	<b>98</b>
<b>6. Comportamentul chimic și cinetic al compușilor bioactivi din matrici derivate din prune și cireșe în urma procesării termice .....</b>	<b>101</b>
6.1. Introducere .....	101
6.2. Materiale și metode.....	104
6.2.1. Reactivi.....	104

## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

6.2.2. Echipamente .....	104
6.2.3 Pregătirea extractelor.....	104
6.2.4. Obținerea sucurilor simulate și naturale .....	104
6.2.5. Tratamentul termic .....	105
6.2.6. Analiza compușilor biologic activi .....	105
6.2.6.1. Metoda de determinare a conținutului de polifenoli totali.....	105
6.2.6.2. Metoda de determinare a conținutului de flavonoide totale .....	105
6.2.6.3. Metoda de determinare a antocianilor monomerici totali .....	105
6.2.6.4. Metoda de determinarea activității antioxidante.....	105
6.2.7. Spectroscopia de fluorescență .....	105
6.2.8. Analiza HPLC.....	105
6.2.9. Modelarea matematică și analiză cinetică a procesului de degradare termică.....	106
6.2.10. Analiza statistică .....	107
<b>6.3. Rezultate și discuții .....</b>	<b>107</b>
6.3.1. Stabilitatea chimică și cinetica de degradare termică a compușilor bioactivi în matrici derivate din prune .....	107
6.3.1.1. Evaluarea comportamentului compușilor polifenolici din punct de vedere spectrofluorimetric.....	107
6.3.1.2. Influența tratamentului termic asupra conținutului de antociani și a activității antioxidante .....	111
6.3.1.3. Cinetica de degradare termică a compușilor bioactivi din matrici derivate din prune .....	117
6.3.2. Stabilitatea chimică și cinetica de degradare termică a compușilor bioactivi în matrici derivate din cireșe .....	125
6.3.2.1. Influența tratamentului termic asupra proprietăților spectrale ale compușilor biologic activi din cireșe .....	125
6.3.2.2. Stabilitatea chimică și cinetica de degradare termică a compușilor biologic activi din extractul din pielețe de cireșe și sucul natural de cireșe .....	130
<b>6.4. Concluzii parțiale .....</b>	<b>137</b>
<b>Referințe bibliografice .....</b>	<b>139</b>
<b>7. Concluzii generale .....</b>	<b>147</b>
<b>8. Contribuții originale și perspective de continuare a cercetărilor .....</b>	<b>149</b>
<b>9. Diseminarea rezultatelor cercetărilor .....</b>	<b>150</b>
<b>Listă figuri .....</b>	<b>152</b>
<b>Listă tabele.....</b>	<b>157</b>

## Introducere

Cunoașterea compoziției chimice și a proprietăților antioxidante ale fructelor prezintă în prezent un interes crescut atât din punctul de vedere al cercetării experimentale, cât și pentru promovarea principiilor alimentației sănătoase și pentru creșterea calității vieții. Consumatorii sunt din ce în ce în ce mai interesați de consumul produselor alimentare bogate în compuși bioactivi, cunoscut fiind faptul că nu toate produsele care au aceeași compoziție chimică sau aceleași proprietăți biologice (Legua și colab., 2016). Este unanim acceptat faptul că o dieta bogată în fructe și legume va avea implicații majore asupra sănătății prin reducerea riscului apariției bolilor coronariene, a cancerului, a accidentului vascular cerebral, etc. Aceste beneficii asupra sănătății umane sunt atribuite compușilor fitochimici, dintre care compușii polifenolici, în principal antocianii (Bors și Michel, 2003; Chaovanalikit și Wrolstad, 2004). Valorificarea potențialului bioactiv al compușilor biologic activi din fructe, cu beneficii asupra sănătății, este în continuă extindere, scopul principal fiind utilizarea în alimente a acestor compuși prin produsele alimentare fortificate de tipul gemurilor, a sucurilor, a vinurilor etc, sau sub formă de suplimente alimentare (Koss-Mikołajczyk și colab., 2015). Sucurile din fructe oferă aceleași beneficii din punct de vedere nutritiv și funcțional ca și fructele proaspete. Consumul de suc este mult mai simplu și mai la îndemână, comparativ cu fructul din care se obține, fiind preferat în special de copii și persoanele în vârstă (Falguera și Ibarz, 2014).

Numeroși factori influențează compoziția și calitatea produselor vegetale procesate, dintre care temperatura, pH-ul, presiunea, condițiile de extracție sunt cei mai importanți și exercită o influență majoră asupra caracteristicilor biochimice, a conținutului de polifenoli și de flavonoide, precum și asupra capacității antioxidante a sucurilor (dos Santos Lima și colab., 2015).

Literatura de specialitate prezintă rezultatele a numeroase studii care fac referire la implicațiile antocianilor în industria alimentară, corelate în special cu originea și condițiile de păstrare și de prelucrare a fructelor, însă cercetătorii consideră că există încă multiple posibilitățile neexploatate de a îmbunătăți procesele de prelucrare și formulare pentru extinderea gamei de produse funcționale. Astfel, studiile privind comportamentul cinetic și stabilirea condițiilor de degradare termică a antocianilor au impact în cercetarea fundamentală și aplicativă și totodată pentru optimizarea etapelor de procesare în vederea păstrării caracterului funcțional al produselor de origine vegetală.

Teza de doctorat intitulată **”Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare”** a vizat studiul comportamentului biochimic și funcțional al pigmentilor vegetali, în principal antocianii, în vederea optimizării parametrilor de procesare. Astfel, prin tehnici moderne de analiză (spectroscopia de fluorescență, cromatografie lichidă de înaltă performanță) și de analiză statistică a datelor experimentale, au fost analizate modificările structurale și funcționale, în sisteme model și sisteme reale (matrici naturale), ale antocianilor din două soiuri de fructe roșii autohtone, prune (*Prunus domestica*) și cireșe (*Prunus avium*). S-a evaluat stabilitatea la temperatură și pH și s-au optimizat tratamentele de procesare pentru menținerea nealterată a proprietăților funcționale în condiții de procesare care să asigure totodată stabilitatea biochimică a produselor finite.

Cercetările derulate pe parcursul studiilor de doctorat au vizat următoarele obiective științifice:

- Separarea, identificarea și cuantificarea antocianilor din pielețe de prune și pielețe de cireșe autohtone, precum și evaluarea comportamentului acestora în timpul procesării, cu

## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

scopul de a determina condițiile optime de obținere și păstrare a produselor bogate în compuși polifenolici.

- Analiza modificărilor structurale ale compușilor polifenolici din pielețele de prune și cireșe, varietățile *Prunus domestica* și *Prunus avium*, prin variația pH-ului și a temperaturii în perspectiva stabilirii unor corelații reale între procesare, modificare structurală și menținerea funcției biologice active.

- Studiul condițiilor fizico-chimice în care are loc modificarea structurală și funcțională a antocianilor din pielețe de prune și pielețe de cireșe, prin modelare cinetică și analiză statistică.

Teza de doctorat este structurată în două părți, după cum urmează:

**I. STUDIUL DOCUMENTAR**, cuprinde trei capitole și este structurat în 22 de subcapitole, în care se prezintă date recente din literatura de specialitate privind caracteristicile biochimice și tehnologice ale antocianilor și impactul acestora în industria alimentară și asupra calității vieții. Sunt descrise date actuale privind cele mai noi informații publicate pe fluxul principal privind caracteristicile și funcțiile biochimice și tehnologice ale antocianilor. Sunt prezentate, de asemenea, tehnicile moderne de extracție, identificare, cuantificare și purificare, asociate procesării produselor vegetale și efectele acestora asupra antocianilor, corelat cu comportamentul biochimic și stabilitatea acestora.

**II. STUDIUL EXPERIMENTAL** prezintă rezultatele investigațiilor originale realizate pe parcursul stagiului doctoral, și este structurat în trei capitole, după cum urmează:

**Capitolul 4**, intitulat "**Caracterizarea compoziției fenolice a unor matrici derivate din prune și cireșe**", prezintă datele obținute privind extracția, separarea, identificarea, cuantificarea și caracterizarea biochimică a antocianilor din pielețele de prune (*Prunus domestica*) și pielețele de cireșe (*Prunus avium*), soiuri autohtone, prin utilizarea metodelor spectrofotometrice și a tehnicilor de cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC). Pentru extracție, s-a utilizat liofilizat de înveliș vegetal al fructelor studiate, iar pentru comparație s-au folosit standarde comerciale de compuși antocianici.

**Capitolul 5**, intitulat "**Influența pH-ului asupra comportamentului antocianilor în matrici derivate din prune și cireșe**", prezintă rezultatele investigațiilor privind comportamentul și stabilitatea antocianilor la diferite valori ale pH-ului, corelate cu prezența altor compuși chimici cu rol de ingrediente alimentare.

**Capitolul 6**, intitulat "**Comportamentul chimic și cinetic al compușilor bioactivi din matrici derivate din prune și cireșe în urma procesării termice**", prezintă rezultatele investigațiilor privind comportamentul chimic și biochimic al antocianilor în funcție de temperatură, în condiții similare cu cele de procesare industrială a fructelor. Mecanismele de degradare termică au fost descrise prin modele cinetice, în principal modelul cinetic de ordinul I și/sau modelul cinetic de conversie fracțională.

Fiecare capitol al studiului experimental este structurat în următoarele subcapitole: *Introducere*, în care se prezintă importanța cercetării și obiectivele studiilor realizate; *Materiale și metode*, unde sunt descrise materialele, reactivii utilizați și metodele de investigare, de prelucrare și interpretare a datelor experimentale; *Rezultate și discuții*, în care sunt conturate rezultatele obținute, precum și compararea acestora cu date din literatura de specialitate; *Concluzii parțiale* și *Referințe bibliografice*.

**Capitolul 7, Concluzii generale**, prezintă principalele concluzii rezultate din investigațiile realizate, ce au vizat studiul antocianilor din matrici derivate din prune și cireșe, prin monitorizarea comportamentului biochimic în diferite condiții de pH și temperatură, cu



## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

identificarea condițiilor de procesare în care degradarea și modificarea funcțiilor biologice ale acestor compuși bioactivi să fie minime.

Teza de doctorat cuprinde 174 pagini, în care sunt incluse 52 figuri și 13 tabele. Studiul documentar reprezintă 30 % iar partea experimentală 70 %.

În final, sunt prezentate **contribuțiile originale** ale tezei de doctorat, cu impact în dezvoltarea cunoașterii în domeniu și perspectivele pentru continuarea cercetărilor, precum și diseminarea rezultatelor obținute în domeniul de cercetare abordat. Astfel, rezultatele cercetărilor au fost valorificate prin elaborarea a **4 articole științifice**, publicate sau în curs de publicare, **3 articole** în reviste cotate ISI (*Journal of Food Engineering, Food and Bioprocess Technology, Chemical Papers*) și **1 articol** indexat în baze de date internaționale (*The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI – Food Technology*) precum și **10 comunicări** la manifestări științifice reprezentative pentru domeniul biotehnologiei, din străinătate și din țară.

Activitățile de cercetare din cadrul tezei de doctorat au fost derulate cu ajutorul infrastructurii moderne de cercetare a *Centrului integrat de cercetare, expertiză și transfer tehnologic (BioAliment-TehnIA)* ([www.bioaliment.ugal.ro](http://www.bioaliment.ugal.ro)), din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați.

Pe parcursul studiilor doctorale, doctoranda a fost implicată în echipa de cercetare a următoarelor proiecte, cu tematici convergente tezei de doctorat, după cum urmează

- IDEI, PN-II-ID-PCE-2012-4-0509/2013-2016 ([www.biostab.ugal.ro](http://www.biostab.ugal.ro)), cu titlul "*Thermal and/or non thermal technology as a tool to increase the health functionality of bioactive compounds in fruit based food*", director de proiect Prof.dr.ing. Gabriela Râpeanu.
- PN-II-RU-TE-2014-4-0115/2015-2017 ([www.funfood.ugal.ro](http://www.funfood.ugal.ro)), cu titlul "*Compozite funcționale pe bază de proteine din zer și extracte vegetale pentru aplicații în industria alimentară*", director de proiect Prof.dr.ing. Nicoleta Stănciuc.

Teza s-a realizat sub coordonarea științifică a Prof.dr.ing. Gabriela-Elena BAHRIM, în calitate de conducător de doctorat și a comisiei de îndrumare alcătuită din: Prof.dr.ing. Gabriela RÂPEANU, Prof.dr.ing. Nicoleta STĂNCIUC și Prof.dr.ing. Iuliana APRODU.

## **4. Caracterizarea compoziției fenolice a unor matrici derivate din prune și cireșe**

În acest capitol sunt prezentate studiile referitoare la analiza compoziției fenolice și a activității antiradicalice din matrici derivate din prune (*Prunus domestica* varietatea *Vanette*) și cireșe (*Prunus avium* varietatea *Uriașă de Bistrița*), utilizând tehnici de spectrofotometrie și de cromatografie lichidă de înaltă performanță.

Rezultatele obținute sunt valoroase din punct de vedere fundamental și aplicativ deoarece oferă numeroase informații asupra compoziției în compuși biologic activi, având un impact deosebit în industria alimentară.

### **4.1. Introducere**

Prezentul studiu a vizat evaluarea conținutului în compuși biologic activi, polifenoli, flavonoide și antociani monomerici totali, din prune (*Prunus domestica* varietatea *Vanette*) și cireșe (*Prunus avium* varietatea *Uriașă de Bistrița*), soiuri românești din suc natural sau după extracție din învelișul fructelor proaspete. S-a evaluat totodată și activitatea antioxidantă a extractelor și a sucurilor. Aceste studii sunt justificate deoarece compușii bioactivi din aceste fructe roșii sunt foarte puțin studiați la noi în țară.

### **4.2. Materiale și metode**

Prunele și cireșele au fost procurate de pe piața locală (Galați, România) și au fost păstrate în stare congelată (-20°C), până în momentul procesării. Reactivii: 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), acidul 6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic (Trolox), acetatul de sodiu, clorura de potasiu, hidroxidul de sodiu, clorura de aluminiu, azotitul de sodiu, etanolul, metanolul și acidul formic (HPLC grade) au fost achiziționați de la Sigma Aldrich Steinheim, Germania. Standardele de cianidină și peonidină au fost achiziționate de la Extrasynthèse (Z.I Lyon Nord, Franța). Enzima Zymorouge a fost achiziționată de la Sodinal (București, România) și a fost utilizată fără alte etape de purificare.

În cadrul studiului s-au urmărit:

- pregătirea extractelor;
- pregătirea sucurilor naturale și simulate;
- analiza compușilor biologic activi:
  - ✓ conținutul de polifenoli totali (PFT);
  - ✓ conținutul total de flavonoide (FT);
  - ✓ determinarea antocianilor monomerici totali (AMT);
  - ✓ determinarea activității antiradicalice (DPPH RSA);
  - ✓ analiza cromatografică a antocianilor din matricile vegetale.

### **4.3. Rezultate și discuții**

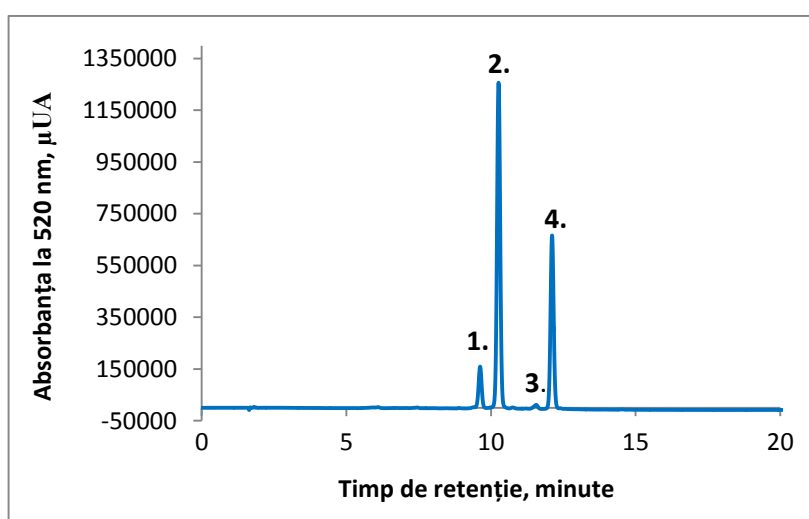
#### **4.3.1. Analiza compoziției fenolice și a activității antiradicalice a extractului din pielețe de prune**

Din punct de vedere compozițional, fructele diferă în funcție de condițiile de dezvoltare, solul pe care au fost cultivate, condițiile geografice și climatice, gradul de maturitate la recoltare, precum și diferențele genetice.

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

Extractul din pulbere liofilizată din pielile de prune a prezentat un conținut de polifenoli totali de  $0,017 \pm 0,001$  mg acid galic (AG)/g substanță uscată (s.u). Cum flavonoidele sunt compuși antioxidanți binecunoscuți, plantele bogate în acești compuși prezintă activitate antioxidantă. Conținutul de flavonoide totale din extractul din pielile de prune a fost de  $2,794 \pm 0,176$  mg echivalenți catehinici (EC)/g s.u. Conținutul de AMT din compoziția prunelor, variază de asemenea în funcție de condițiile climatice, perioada de valabilitate, factorii genetici etc. Conținutul de AMT din extractul din pielile de prune (*Prunus domestica* var. *Vanette*) a fost de  $2,112 \pm 0,168$  mg cianidin 3-glucozid (C3G)/g s.u.

Analiza cromatografică a extractului din pielile de prune analizat în acest studiu a evidențiat prezența a patru peak-uri, la lungimea de undă de 520 nm (figura 4.4), care corespund pentru cinci antociani: cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid (peak-ul 1 – 0,0303 mg/mL), cianidin 3-rutinozid (peak-ul 2 – 0,182 mg/mL), peonidin 3-glucozid (peak-ul 3 – 0,0008 mg/mL) și peonidin 3-rutinozid (peak-ul 4 – 0,069 mg/mL).



**Figura 4.4.** Profilul cromatografic al antocianilor prezente în extractul din pielile de prune ( $\lambda=520$  nm). Peak-urile fiind corespondente pentru: (1) cianidin 3-xilozid și cianidin 3-glucozid; (2) cianidin 3-rutinozid; (3) peonidin 3-glucozid și (4) peonidin 3-rutinozid

Capacitatea reducătoare a unui compus depinde în general de prezența compușilor reducători care au potențial antioxidant prin ruperea lanțului de radicali liberi donând astfel un atom de hidrogen. Procentul de inhibiție a fost măsurat pentru a determina activitatea antiradicalică a extractului din pielile de prune, care a prezentat o valoare a DPPH RSA de  $71,42 \pm 2,31\%$ .

### 4.3.2. Analiza compoziției fenolice și a activității antiradicalice a sucurilor de prune

Conținutul de polifenoli totali din sucurile de prune a variat în funcție de condițiile de obținere, fiind  $1,54 \pm 0,09$ ,  $0,69 \pm 0,025$ ,  $0,70 \pm 0,012$ ,  $0,78 \pm 0,009$  și  $0,14 \pm 0,002$  mg AG/mL suc pentru probele codificate SPA, SPAC, SPG, SPAM și respectiv SNP.

Conținutul de flavonoide totale din sucurile netratate termic SPA, SPAC, SPG, SPAM și SNP a variat după cum urmează:  $1,35 \pm 0,07$ ,  $0,49 \pm 0,015$ ,  $0,48 \pm 0,011$ ,  $0,53 \pm 0,005$  și respectiv  $0,22 \pm 0,006$  mg EC/mL suc.

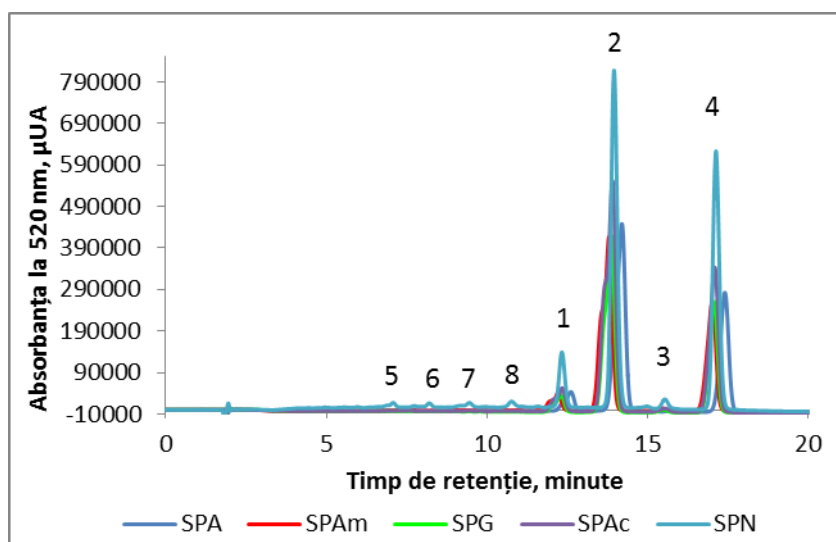
## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

Activitatea antioxidantă a celor cinci sucuri testate a variat de asemenea aceasta fiind  $66,07 \pm 1,22$ ,  $25,00 \pm 0,65$ ,  $30,31 \pm 0,84$ ,  $26,34 \pm 0,31$  și respectiv  $52,57 \pm 2,5$  %, pentru sucurile codificate SPA, SPAC, SPG, SPAm și respectiv SNP.

Conținutul total de antociani din sucurile analizate, codificate SPA, SPAC, SPG, SPAm și SNP, a variat  $0,144 \pm 0,11$ ,  $0,052 \pm 0,01$ ,  $0,053 \pm 0,007$ ,  $0,051 \pm 0,007$  și respectiv  $0,038 \pm 0,01$  mg C3G/mL suc.

Analiza cromatografică a sucurilor de prune cu diferite adaosuri a evidențiat prezența a patru peak-uri (figura 4.5), corespunzând următorilor cinci antociani: cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid (peak-ul 1), cianidin 3-rutinozid (peak-ul 2), peonidin 3-glucozid (peak-ul 3) și peonidin 3-rutinozid (peak-ul 4). Astfel, în sucul de prune cu adaos de apă și în cel cu adaos de glucide s-a evidențiat prezența a trei antociani: cianidin 3-glucozid, cianidin 3-rutinozid și peonidin 3-rutinozid, pe când peonidin 3-glucozid se regăsește sub formă de urme și nu a putut fi cuantificat. Antocianul majoritar din toate sucurile simulate este reprezentat de cianidin 3-rutinozid, acesta prezentând următoarele conținuturi:  $0,435 \pm 0,012$  mg/mL (în cazul sucului cu adaos de apă-SPA),  $0,559 \pm 0,052$  mg/mL (în cazul sucului cu adaos de acid citric-SPAC),  $0,403 \pm 0,014$  mg/mL (în cazul sucului cu adaos de glucide-SPG),  $0,421 \pm 0,016$  mg/mL (în cazul sucului cu adaos de compușii menționați anterior-SPAm).

În cazul sucului natural de prune s-a evidențiat prezența a opt antociani: cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid (peak-ul 1), cianidin 3-rutinozid (peak-ul 2), peonidin 3-glucozid (peak-ul 3) și peonidin 3-rutinozid (peak-ul 4), pe când peak-urile 5 – 8 nu au putut fi identificate. Antocianul majoritar în cazul sucului natural este reprezentat de asemenea de cianidin 3-rutinozid cu un conținut de  $0,526 \pm 0,013$  mg/mL (figura 4.5).



**Figura 4.5.** Profilul cromatografic al antocianilor din sucurile de prune ( $\lambda=520$  nm). Peak-urile fiind reprezentate de: (1) cianidin 3-glucozid; (2) cianidin 3-rutinozid; (3) peonidin 3-glucozid; (4) peonidin 3-rutinozid

Conform rezultatelor obținute în acest studiu adaosul de glucide, acid citric sau amestecul acestora a determinat scăderea valorilor AMT, PFT, FT și DPPH RSA a sucurilor cu aproximativ 50% față de sucul cu adaos de apă, apoi conținuturile se stabilizează.

Wrolstad și colab., (1990) au evidențiat că adaosul de zaharoză prezintă efect protector asupra antocianilor și încetinesc procesul de îmbrunare precum și cel de polimerizare la căpșunile congelate. Explicațiile efectului protector exercitat de zaharoză au fost: inhibarea

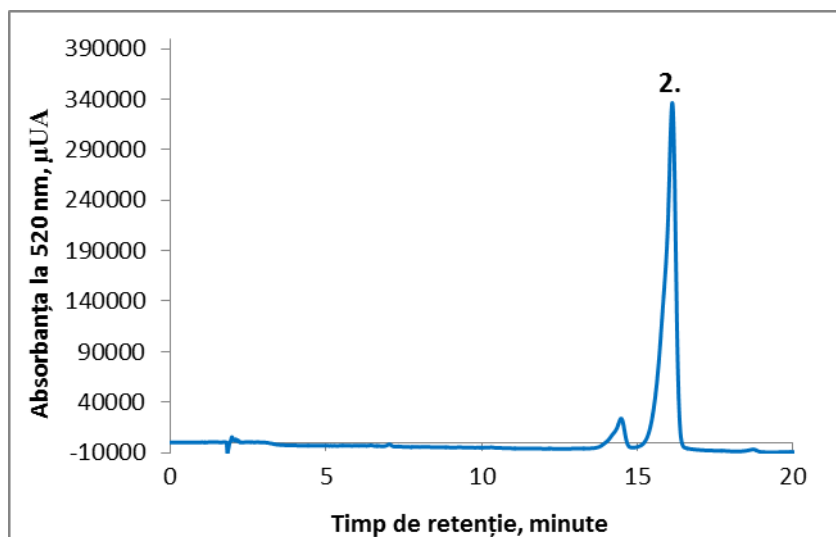
enzimelor degradative ( $\beta$ -glucozidaze, polifenoloxidaze, peroxidaze), reacția de polimerizare dintre antociani-fenol, sau asigurarea unei bariere parțiale față de oxigen. Mecanismul exact ce stă la baza stabilizării antocianilor este dificil de determinat, dar se cunoaște faptul că pe lângă moleculele de glucid și acizi organici, acizii fenolici precum acizii ferulic și siringic pot contribui de asemenea la stabilizarea antocianilor (Shaheer și colab., 2014).

### 4.3.3. Analiza compoziției fenolice și a activității antiradicalice a extractului din pielile de cireșe

Numeroase studii au vizat distribuția antocianilor în fruct și s-a descoperit faptul că majoritatea se află în pielea fructelor, deși în unele cazuri aceștia sunt prezenți și în pulpa fructelor (soiul de cireșe *Bing*) (Chaovanalikit și Wrolstad, 2004). Din acest motiv s-a decis evaluarea conținutului de polifenoli totali, conținutului de flavonoide totale, conținutului de antociani monomerici totali și capacitatea antioxidantă și în învelișul superficial al fructelor de cireș (pielea). Și în acest caz s-a utilizat pentru extracție pulbere liofilizată din pielile de cireșe.

Conținuturile de polifenoli totali, flavonoide totale și de antociani precum și activitatea antioxidantă evidențiate în extractul din pielile de cireșe (*Uriășă de Bistrița*) au fost de  $0,011 \pm 0,001$  mg AG/g s.u,  $2,38 \pm 0,193$  mg EC/g s.u,  $2,44 \pm 0,182$  mg C3G/g s.u și respectiv  $86,86 \pm 0,003$  %.

Conform analizei cromatografice (figura 4.6.) în extractul din pielile de cireșe românești (soiul *Uriășă de Bistrița*) s-au identificat doi antociani: peonidin 3-glucozid și pelargonidin 3-rutinozid.



**Figura 4.6.** Profilul cromatografic al antocianilor prezenti în extractul din pielile de cireșe ( $\lambda=520$  nm). Peak-urile corespund compușilor (1) peonidin 3-glucozid; (2) pelargonidin 3-rutinozid

Se poate observa, de asemenea, că variația compozițională a cireșelor românești se datorează probabil datorită condițiilor de cultivare, solului utilizat, poziției geografice și condițiilor de mediu, gradului de maturitate din momentul recoltării.

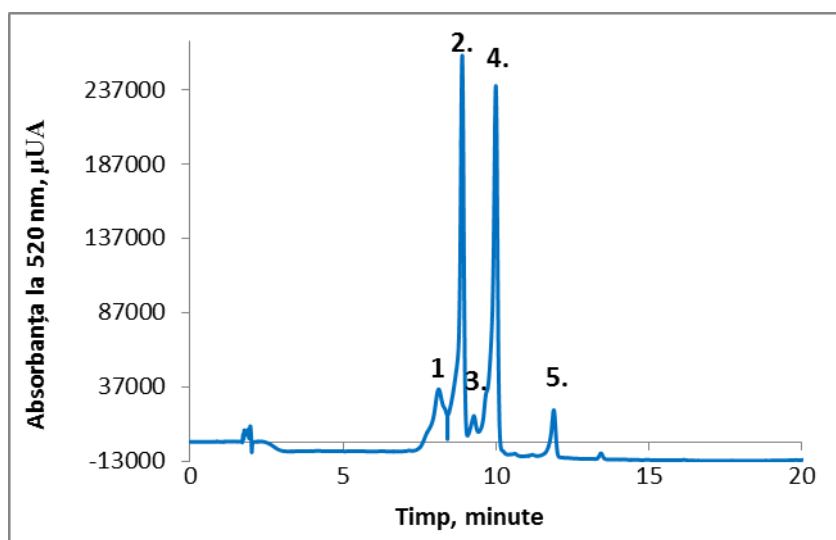
### 4.3.4. Analiza compoziției fenolice și a activității antiradicalice a sucului natural de cireșe

Valorile conținuturilor de polifenoli totali, flavonoide totale, antociani monomerici totali, precum și activitatea antioxidantă determinate în sucule natural de cireșe (*Prunus avium* var.

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

*Uriășă de Bistrița*) au fost de  $0,94 \pm 0,021$  mg AG/mL suc,  $0,63 \pm 0,08$  mg EC/mL suc,  $0,176 \pm 0,0325$  mg C3G/mL suc, și respectiv o activitate antioxidantă de  $87 \pm 0,005$  %.

În urma analizei HPLC a sucului de cireșe studiat (soiul *Uriășă de Bistrița*) s-au identificat cinci antociani: cianidin 3-rutinozid, cianidin 3-glucozid, peonidin 3-rutinozid, peonidin 3-glucozid și pelargonidin 3-rutinozid. Antocianul majoritar fiind cianidin 3-rutinozid ( $0,124 \pm 0,008$  mg/mL), urmat de către cianidin 3-glucozid ( $0,116 \pm 0,003$  mg/mL), pelargonidin-3-rutinozid ( $0,039 \pm 0,002$  mg/mL), peonidin 3-rutinozid ( $0,009 \pm 0,0009$  mg/mL) și peonidin 3-glucozid ( $0,006 \pm 0,0006$  mg/mL) (figura 4.7.).



**Figura 4.7.** Profilul cromatografic al antocianilor prezenți în sucul natural de cireșe ( $\lambda=520$  nm). Peak-urile fiind corespunzătoare compușilor: (1) cianidin 3-rutinozid; (2) cianidin 3-glucozid; (3) peonidin 3-rutinozid; (4) peonidin 3-glucozid; (5) pelargonidin 3-rutinozid

### 4.4. Concluzii parțiale

1. Fructele roșii reprezintă resurse naturale extrem de valoroase prin conținutul ridicat de compuși bioactivi, cu activitate antioxidantă și numeroase beneficii asupra sănătății.
2. La noi în țară fructele roșii autohtone, prunele (*Prunus domestica* var. *Vanette*) și cireșele (*Prunus avium* var. *Uriășă de Bistrița*) sunt puțin studiate în ceea ce privește conținutul în compuși bioactivi, în special compușii fenolici și activitatea lor antioxidantă.
3. Studiile realizate au vizat analiza compozițională a prunelor și cireșelor în extracte concentrate din pielțe, în sucul natural de fructe, precum și în matrici simulate, și s-a demonstrat că potențialul bioactiv este variabil, în funcție de tehnicile de procesare.
4. Extractul din pulbere liofilizată din pielțe de prune a prezentat un conținut de polifenoli totali de  $0,017 \pm 0,001$  mg acid galic/g s.u, un conținut de flavonoide totale de  $2,79 \pm 0,176$  mg echivalenți catehinci/g s.u, un conținut de antociani monomerici totali de  $2,112 \pm 0,168$  mg cianidin 3-glucozid/g s.u și o valoare a activității antioxidante de  $71,42 \pm 2,31$  %.
5. Analiza cromatografică a extractului din pielțe de prune a evidențiat prezența a patru peak-uri, care corespund următorilor cinci antociani: cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid ( $0,0303$  mg/mL), cianidin 3-rutinozid ( $0,182$  mg/mL), peonidin 3-glucozid ( $0,0008$  mg/mL) și peonidin 3-rutinozid ( $0,069$  mg/mL).

## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

6. Conținutul de polifenoli totali s-a evidențiat a fi superior în sucul simulat din prune cu adaos de apă ( $1,54 \pm 0,09$  mg acid galic/mL suc), iar cea mai mare cantitate de flavonoide în extractul din pielețe de prune,  $2,794 \pm 0,176$  mg echivalenți catehinici/g s.u.
7. Antocianul majoritar prezent în sucurile simulate este cianidin 3-rutinozid cu un conținut de:  $0,435 \pm 0,012$  mg/mL (în cazul sucului cu adaos de apă),  $0,559 \pm 0,052$  mg/mL (în cazul sucului cu adaos de acid citric),  $0,403 \pm 0,014$  mg/mL (în cazul sucului cu adaos de glucide),  $0,421 \pm 0,016$  mg/mL (în cazul sucului cu adaos de compușii menționați anterior).
8. În cazul sucurilor simulate din prune, cel mai mare conținut de antociani s-a înregistrat în cazul sucului cu adaos de acid citric ( $0,559 \pm 0,052$  mg cianidin 3-glucozid/mL), cantitate datorată posibil efectului de copigmentare.
9. În cazul sucului natural de prune, antocianul majoritar este reprezentat de cianidin 3-rutinozid cu un conținut de  $0,526 \pm 0,013$  mg/mL.
10. Extractul din pulbere liofilizată din pielețe de cireșe a prezentat un conținut de polifenoli totali de  $0,11 \pm 0,001$  mg acid galic/g s.u, un conținutul de flavonoide totale de  $2,38 \pm 0,193$  mg echivalenți catehinici/g s.u, un conținutul de antociani monomerici totali de  $2,436 \pm 0,182$  mg cianidin 3-glucozid/g s.u și o valoare a activității antioxidante de  $86,86 \pm 0,003$  %.
11. Cu ajutorul tehnicii de cromatografie lichidă de înaltă performanță în extractul din pielețe de cireșe s-au identificat doi antociani, iar în sucul natural de cireșe s-au evidențiat cinci antociani, în cea mai mare concentrație regăsindu-se compusul cianidin 3-rutinozid ( $0,124 \pm 0,009$  mg/mL).
12. Menținerea proprietăților bioactive în timpul prelucrării materiei prime și după extracție, este un deziderat, urmărindu-se obținerea unei bune stabilități a compușilor fenolici în diferite condiții fizico-chimice, precum și din punctul de vedere al potențialului de conservare a proprietăților biochimice și fiziologice.
13. Rezultatele obținute pot fi un bun reper privind înțelegerea comportamentului compușilor biologic activi în sisteme model și alimentare.



## **5. Influența pH-ului asupra comportamentului antocianilor în matrici derivate din prune și cireșe**

În acest capitol sunt prezentate studiile referitoare la o serie de proprietăți conformaționale care descriu comportamentul cinetic al antocianilor din matrici derivate din prune (*Prunus domestica* var. *Vanette*) și cireșe (*Prunus avium* var. *Uriașă de Bistrița*), utilizând tehnici de spectroscopie de fluorescență.

Pentru descrierea comportamentului în funcție de pH al antocianilor au fost realizate diagrame de faze și spectre de emisie.

Rezultatele obținute sunt valoroase din punct de vedere fundamental și aplicativ deoarece oferă numeroase informații asupra comportamentului antocianilor în timpul procesării, având un impact deosebit în industria alimentară.

### **5.1. Introducere**

Prezentul studiu a vizat evaluarea efectului variației de pH (pH 1,0 – 8,0) asupra antocianilor din pielițele soiurilor românești de prune (*Prunus domestica*) și pielițele de cireșe (*Prunus avium*) în diferite medii, cu complexitate diferită. S-a urmărit efectul pH-ului pe extracte din fructe dar și pe sucurile obținute din aceste fructe, iar pentru comparație s-au realizat studii și pe soluții standard de antociani, care se regăsesc în compoziția prunelor și cireșelor românești. În acest sens, s-au utilizat tehnici de spectroscopie de fluorescență care permit descrierea cu acuratețe a modificărilor structurale ale compușilor polifenolici, din perspectiva stabilirii unor relații proces-structură-funcție, prin analiza spectrelor de emisie și stabilirea diagramei de faze. Astfel, spectroscopia de fluorescență, mai puțin utilizată până în prezent, se propune ca o alternativă de analiză avansată a modificărilor induse de pH asupra compușilor polifenolici din matrici vegetale. Aceste cercetări oferă date valoroase, cu valoare științifică și aplicativă, privind condițiile tehnologice de procesare a fructelor roșii (prune și cireșe) în vedere menținerii proprietăților funcționale și asigurării calităților nutritive și senzoriale a produselor finite.

### **5.2. Materiale și metode**

Prunele și cireșele au fost achiziționate de pe piața locală (Galați, România) și au fost păstrate în stare congelată (-20°C) până în momentul procesării. Reactivii utilizați sunt similari cu cei prezentați în subcapitolul 4.2.1. În plus, s-au utilizat o serie de standarde pentru identificarea și cuantificarea antocianilor și anume: cianidin 3-xilozid, cianidin 3-rutinozid, peonidin 3-glucozid și peonidin 3-rutinozid, ce au fost achiziționate de la Extrasynthese (Franța). Acetatul de sodiu, acidul clorhidric, hidroxidul de sodiu, acidul citric, glucoza, fructoza au fost achiziționate de la Sigma (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO). Standardele au fost utilizate ca atare, fără etape de purificare suplimentare. Toți reactivii utilizați au avut puritate analitică.

### **5.3. Rezultate și discuții**

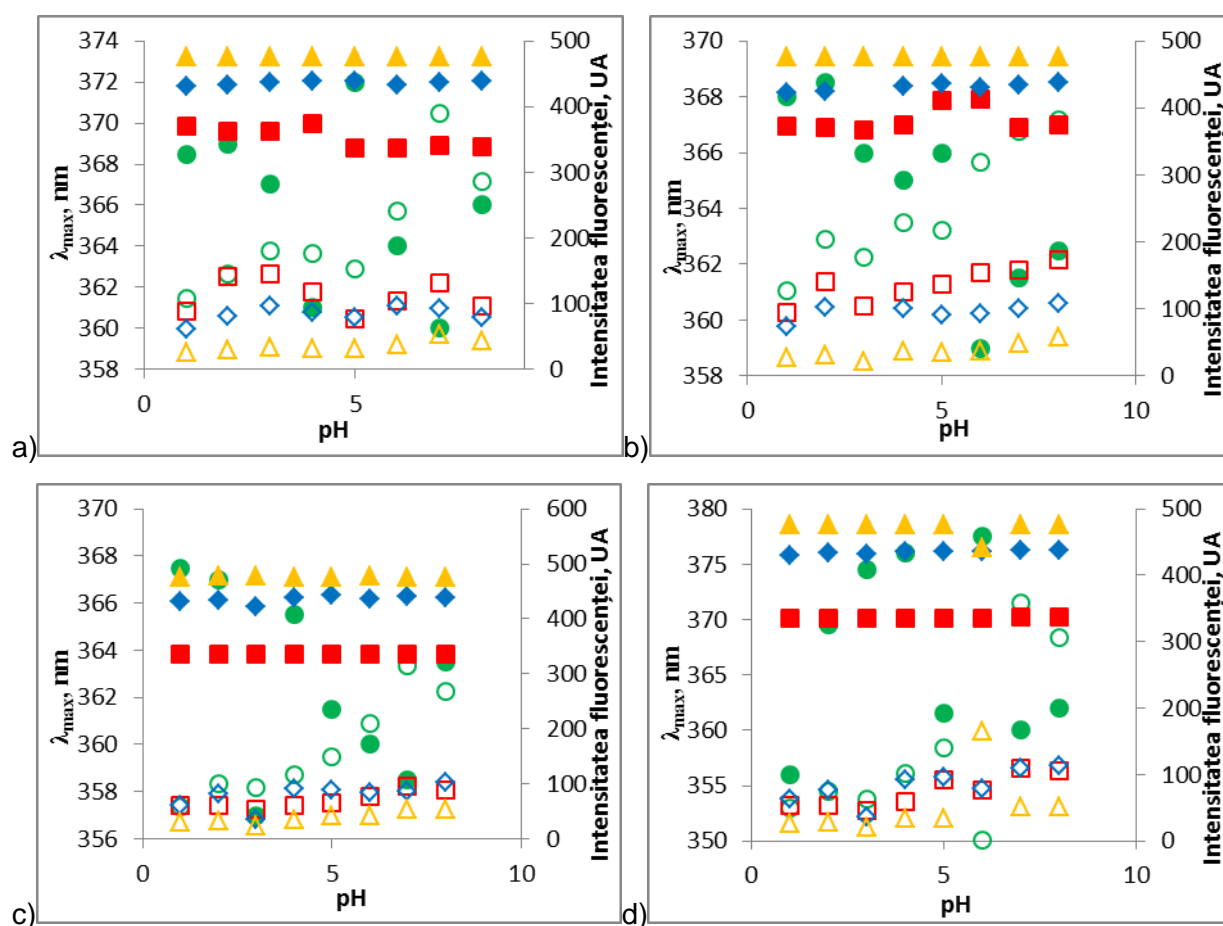
#### **5.3.1. Influența variației pH-ului asupra comportamentului antocianilor în soluție standard**

Inițial a fost studiat comportamentul a patru compuși standard, cianidin 3-xilozid, cianidin 3-rutinozid, peonidin 3-glucozid și peonidin 3-rutinozid.



## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

Figura 5.6. prezintă variația la diferite valori de pH a intensității fluorescenței și a  $\lambda_{max}$  a compușilor antocianici standard. În urma excitației la 270 nm, intensitatea fluorescenței a variat în cazul cianidin 3-xilozid între  $108 \pm 5,28 - 390 \pm 10,11$  UA, în cazul cianidin 3-rutinozid între  $178 \pm 9,25 - 382 \pm 13,42$  UA, între  $57 \pm 2,68 - 314 \pm 12,43$  UA în cazul peonidin 3-glucozid și între  $51 \pm 4,12 - 358 \pm 10,16$  UA în cazul peonidin 3-rutinozid. Când  $\lambda_{ex}$  s-a situat la valoarea de 300 nm standardele cianidin 3-xilozid și cianidin 3-rutinozid nu au prezentat spectre cu structură clară și nu au putut fi analizate, pe când în cazul peonidin 3-glucozid intensitatea fluorescenței a variat între  $53 \pm 3,11 - 97 \pm 8,19$  UA, iar peonidin 3-rutinozid între  $53 \pm 4,13 - 109 \pm 7,01$  UA. În urma excitației la 340 nm, intensitatea fluorescenței a variat în cazul cianidin 3-xilozid între  $61 \pm 1,97 - 97 \pm 8,11$  UA, în cazul cianidin 3-rutinozid între  $74 \pm 4,95 - 108,32 \pm 14,31$  UA, între  $36 \pm 2,73 - 102 \pm 8,14$  UA în cazul peonidin 3-glucozid și între  $37 \pm 1,94 - 112 \pm 10,19$  UA în cazul peonidin 3-rutinozid. Intensitatea fluorescenței înregistrează o scădere semnificativă în urma excitației la lungimea de undă de 410 nm astfel:  $25 \pm 1,05 - 52 \pm 5,64$  UA pentru Kuromanină,  $22 \pm 3,11 - 58 \pm 2,91$  UA pentru Keracianină,  $23 \pm 5,24 - 55 \pm 6,33$  UA pentru peonidin 3-glucozid și respectiv  $20 \pm 1,05 - 52 \pm 6,04$  UA pentru peonidin 3-rutinozid.

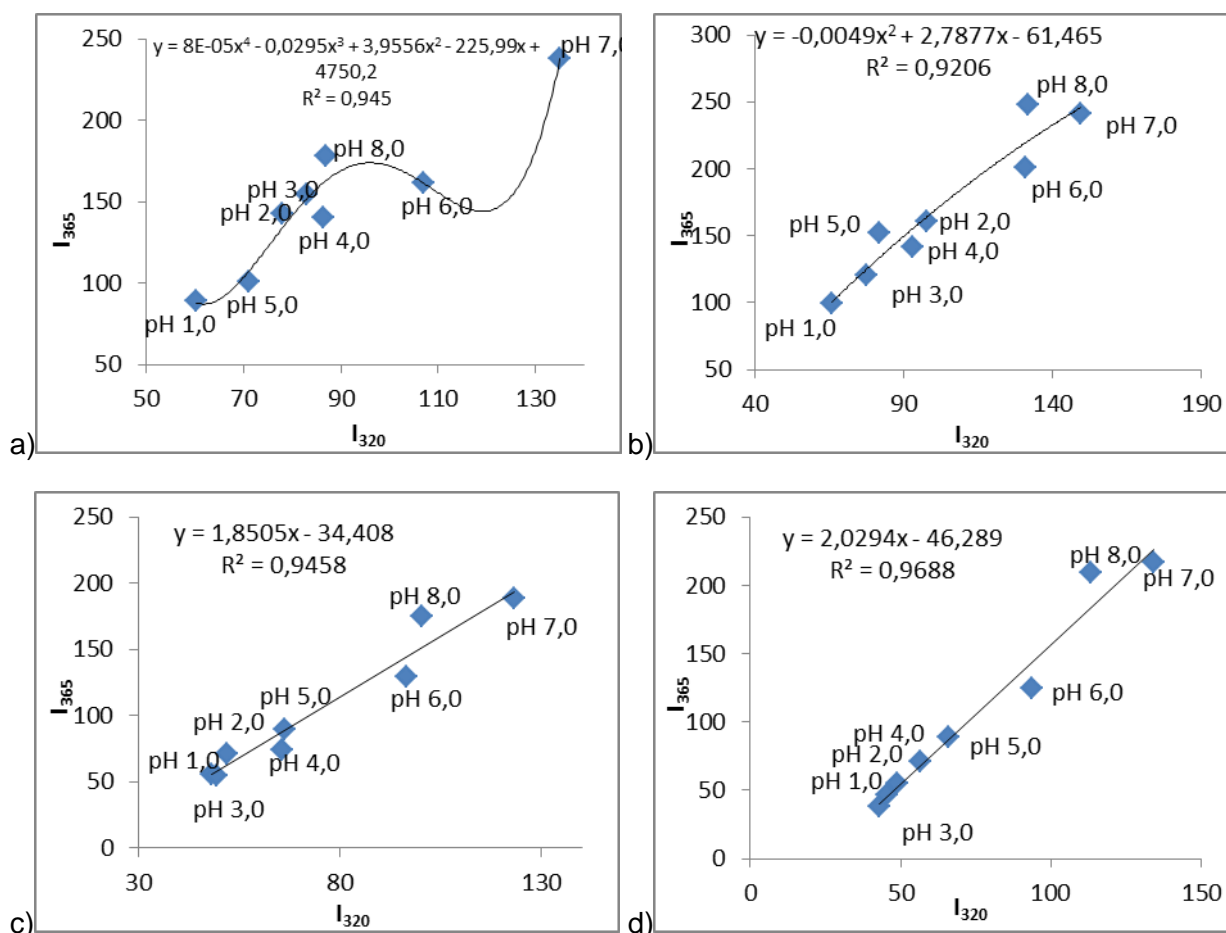


**Figura 5.6.** Variația la diferite valori de pH a intensității fluorescenței (simboluri goale) și a  $\lambda_{max}$  (simboluri pline) a compușilor antocianici standard, care certifică modificările structurale a) cianidin 3-xilozid b) cianidin 3-rutinozid, c) peonidin 3-glucozid, d) peonidin 3-rutinozid; Lungimi de undă la excitație  $\lambda=270$  nm (emisie  $\lambda=310 - 420$  nm; cercuri),  $\lambda=300$  nm (emisie  $\lambda=320 - 420$  nm; pătrate),  $\lambda=340$  nm (emisie  $\lambda=360 - 660$  nm; romburi),  $\lambda=410$  nm (emisie  $\lambda=430 - 800$  nm; triunghiuri)

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

În urma studiilor realizate pe standardele de antociani se poate spune că cea mai adecvată lungime de undă a excitației este cea de 270 nm, deoarece la această lungime de undă intensitatea fluorescenței înregistrată în cazul celor patru antociani studiați este maximă.

În figura 5.7. este prezentată diagrama de faze care descrie modificările conformaționale induse compușilor antociani (standarde), prin variația pH-ului mediului de reacție.



**Figura 5.7.** Diagramele de faze care descriu modificările conformaționale induse de diferite valori ale pH-ului a compușilor standard a) cianidin 3-xilozid, b) cianidin 3-rutinozid, c) peonidin 3-glucozid, și d) peonidin 3-rutinozid

Antocianii peonidin 3-glucozid și peonidin 3-rutinozid (figura 5.7.c,d), prezintă o variație liniară, corelația indicând prezența a minim două specii moleculare. Prin modificarea valorii pH-ului s-a înregistrat o scădere a intensității fluorescenței, în special în domeniul acid (valori de pH mai mici de 6,0). În ceea ce privește standardul cianidin 3-rutinozid (figura 5.7.b) acesta prezintă o variație polinomială de ordinul doi, pe când antocianul cianidin 3-xilozid (figura 5.7.a) prezintă o variație după un model polinomial de ordinul 4, indicând de asemenea prezența a mai mult de două specii moleculare.

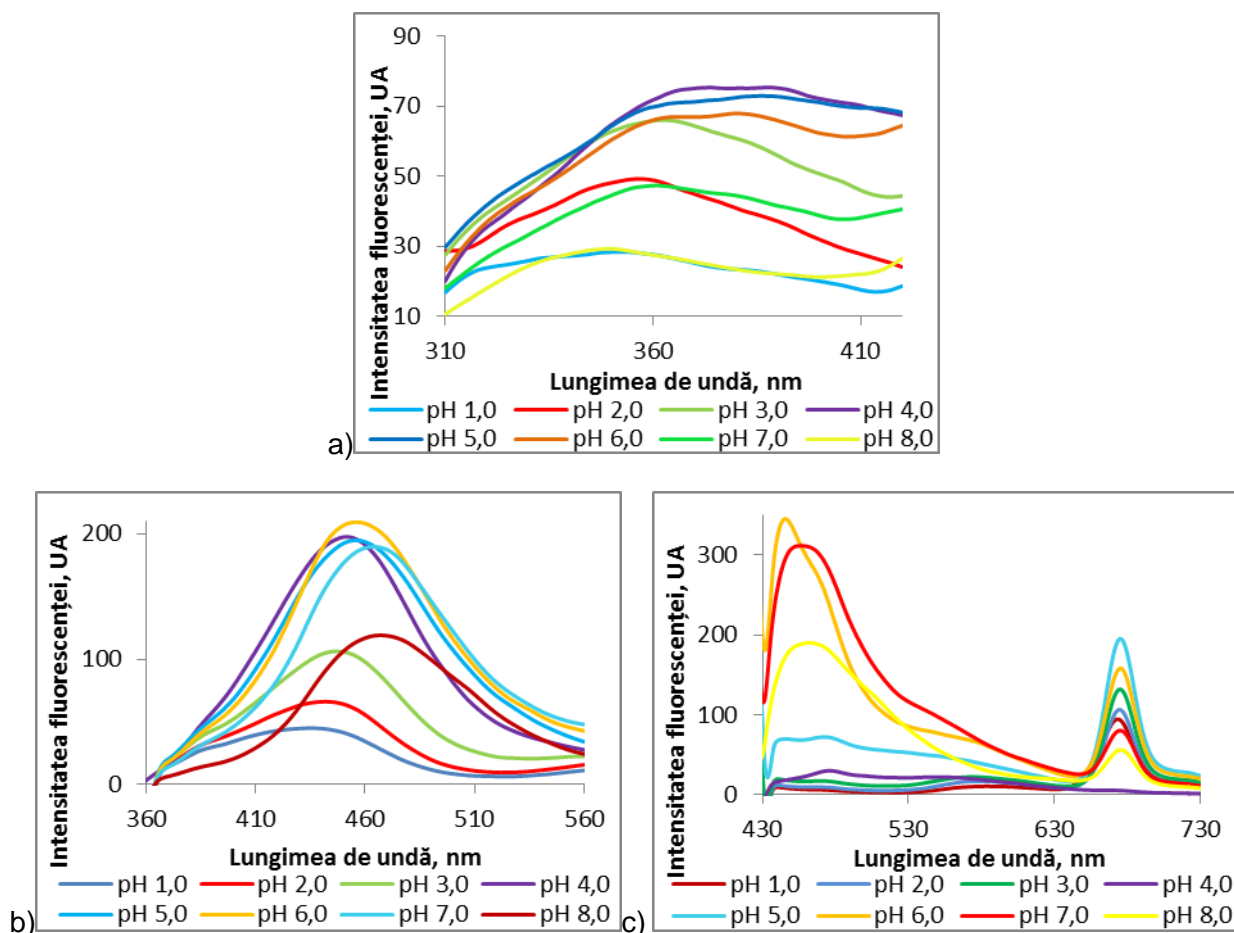
### 5.3.2. Influența pH-ului asupra comportamentului antocianilor din matrici derivate din prune

#### 5.3.2.1. Analiza spectrofluorimetrică a comportamentului antocianilor prezenți în extractul din pielile de prune

Au fost analizate extracte etanolice din pielile de *Prunus domestica*, iar studiile au fost realizate în condiții similare cu cele de analiză a standardelor, utilizând lungimi de undă pentru excitație de 270 nm, 300 nm, 340 nm și 410 nm, cu variația pH-ului în intervalul 1,0-8,0. Spectrele de emisie obținute sunt prezentate în figura 5.8.

Când extractul din pielile de prune a fost supus excitării la lungimea de undă  $\lambda=270$  nm, 340 și 410 nm s-au obținut spectre specifice, poziționate în intervalul de lungimi de undă  $\lambda=350$  - 388 nm, 450 – 470 nm și respectiv 440 – 476 nm, acestea indicând prezența antocianilor cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid, cianidin 3-rutinozid, peonidin 3-glucozid și peonidin 3-rutinozid, compuși identificați și prin analiza HPLC.

În figura 5.8.a) spectrele obținute în intervalul de pH 4,0 – 6,0 prezintă forme diferite deoarece această lungime de undă de excitație indică prezența antocianilor sub formă de pseudobază carbinolică (pH 4,0 – 5,0) precum și bază quinoidală (pH 6,0 – 7,0). Conform studiilor realizate de către [Rakic și colab., \(2015\)](#) se poate afirma că peak-ul este reprezentat de cianidină, compus ce absoarbe în intervalul de lungimi de undă 270-280 nm.



**Figura 5.8.** Spectrele de fluorescență al antocianilor din extractul de prune, la diferite valori de pH: a) excitație la  $\lambda=270$  nm, emisie la  $\lambda=310$  nm – 420 nm; b) excitație la  $\lambda=340$  nm, emisie la  $\lambda=360$  nm– 660; c) excitație la  $\lambda=410$  nm, emisie la  $\lambda=430$  nm – 800 nm.

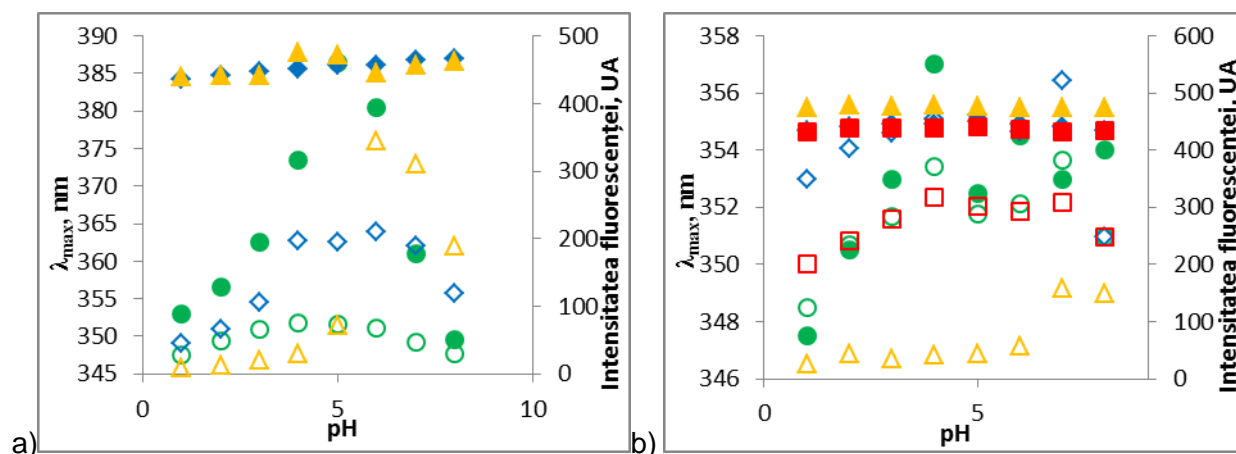
Când extractul din pielețe de prune a fost supus excitării la lungimea de undă de 300 nm nu au fost obținute spectre cu structură clară. Astfel, s-a impus colectarea emisiei între valorile  $\lambda = 280 \text{ nm} - 500 \text{ nm}$ , în vederea obținerii spectrelor complete.

Conform cercetărilor realizate de către [Rakic și colab., \(2015\)](#), la lungimea de undă de excitație  $\lambda = 340 \text{ nm}$  (figura 5.8. b) sunt evidențiate calcone, acești compuși prezentând maximul de intensitate în intervalul de lungimi de undă  $\lambda = 420 - 450 \text{ nm}$ .

Conform datelor din figura 5.8.c) se poate observa prezența unui al doilea peak în intervalul de lungimi de undă  $\lambda = 673,5 - 675,5 \text{ nm}$ , a cărui maxim de intensitate este înregistrat la valoarea de pH 5,0, ceea ce poate sugera existența a două specii moleculare.

### 5.3.2.2. Analiza spectrofluorimetrică a comportamentului antocianilor din suc natural de prune

Analiza spectrală, la diferite valori de pH (pH 1,0-8,0) a fost realizată și în cazul sucului natural, în condiții similare cu cele descrise la analiza antocianilor standard sau a extractului antocianic din pielețe de prune. Rezultatele sunt prezentate în figura 5.10.



**Figura 5.10.** Variații ale lungimilor de undă ce oferă indicații cu privire la modificările antocianilor din a) extractul din pieleță de prune b) suc natural de prune, evidențiate prin intermediul intensității fluorescenței (simboluri goale) și  $\lambda_{max}$  (simboluri pline), la diferite valori de pH; lungimea de undă la excitație: 270 nm (emisie 310 – 420 nm; cercuri), 300 nm (emisie 320 – 420 nm; pătrate), 340 nm (emisie 360 – 660 nm; romburi), 410 nm (emisie 430 – 800 nm; triunghiuri)

În figura 5.10.a) se poate observa că după excitarea extractului din pielețe de prune la 270 nm au rezultat modificări structurale care la rândul lor au condus la o creștere a intensității fluorescenței la pH 4,0, urmată de o scădere la celelalte valori de pH. Valorile lui  $\lambda_{max}$  variază de la 353 nm, la pH 1,0, până la 388 nm, la pH 4,0. Astfel, la celelalte valori de pH se pot observa modificări ale spectrului și implicit prezența blue-shift-urilor. Valoarea de pH 8,0 indică apariția unui blue shift de 38,5 nm (349,5 nm).

Cu toate acestea, forma spectrelor din figura 5.10.a) indică prezența a doi compuși cu proprietăți spectrale diferite, de exemplu cianidin 3-rutinozid și respectiv peonidin 3-rutinozid, identificați de asemenea și prin analiza HPLC a extractului din pielețe de prune.

După excitarea extractului din pielețe de prune la lungimea de undă de excitație de 340 nm au rezultat de asemenea modificări structurale, astfel valorile lui  $\lambda_{max}$  variază de la 442 nm, la pH 1,0 până la 470 nm, la pH 7,0. Astfel, la valoarea pH-ului de 2,0 se poate observa o

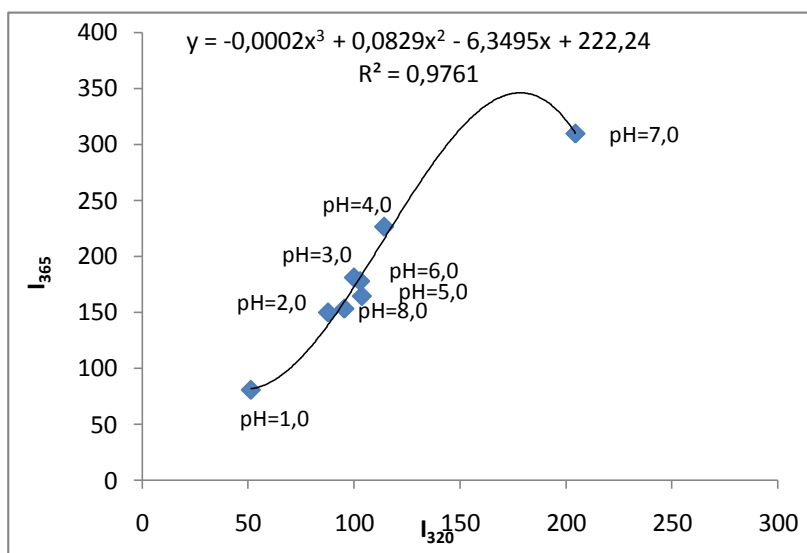
## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

modificare a spectrului și implicit prezența unui red shift de 13 nm (455 nm). Valoarea de pH 3,0 induce de asemenea apariția unui red shift de 8 nm (450 nm). Spectrul de fluorescență la lungimea de undă a excitației de 340 nm, la pH 4,0 prezintă un red shift de 13 nm (455 nm). La pH 5,0, s-a înregistrat un red shift de 18 nm (460 nm), iar la pH 7,0 putem observa prezența unui red shift la o valoare a  $\lambda_{max}$  de 468 nm (26 nm).

Conform datelor prezentate în figura 5.10.b) intensitatea fluorescenței a primului peak variază în funcție de pH, cea mai mare intensitate de fluorescență s-a înregistrat la pH 7,0, la lungimea de undă la emisie de 353 nm ( $384 \pm 22$  UA), iar cea mai mică intensitate de fluorescență s-a evidențiat la pH 1,0, la lungimea de undă la emisie de 347,5 nm ( $125 \pm 10$  UA). În ceea ce privește al doilea peak acesta prezintă cea mai mare intensitate a fluorescenței la valoarea de pH 4,0, la  $\lambda_{em}$  la 426 nm ( $227 \pm 13$  UA), cea mai scăzută la pH 1,0 la  $\lambda_{em}$  la 430 nm ( $139 \pm 11$  UA).

În figura 5.10.b) la lungimea de undă de excitație de 340 nm, se poate observa prezența a două peak-uri la valoarea de pH 8,0, primul fiind prezent la  $\lambda_{max}=383$  nm ( $126 \pm 16$  UA), iar cel de-al doilea peak la lungimea de undă de 474 nm ( $247 \pm 34$  UA).

În figura 5.11. este prezentată diagrama de faze care descrie modificările conformaționale, obținută prin reprezentarea intensității fluorescențe la 320 nm în funcție de intensitatea obținută la 365 nm, modificări induse de diferite valori ale pH-ului sucului natural din prune.



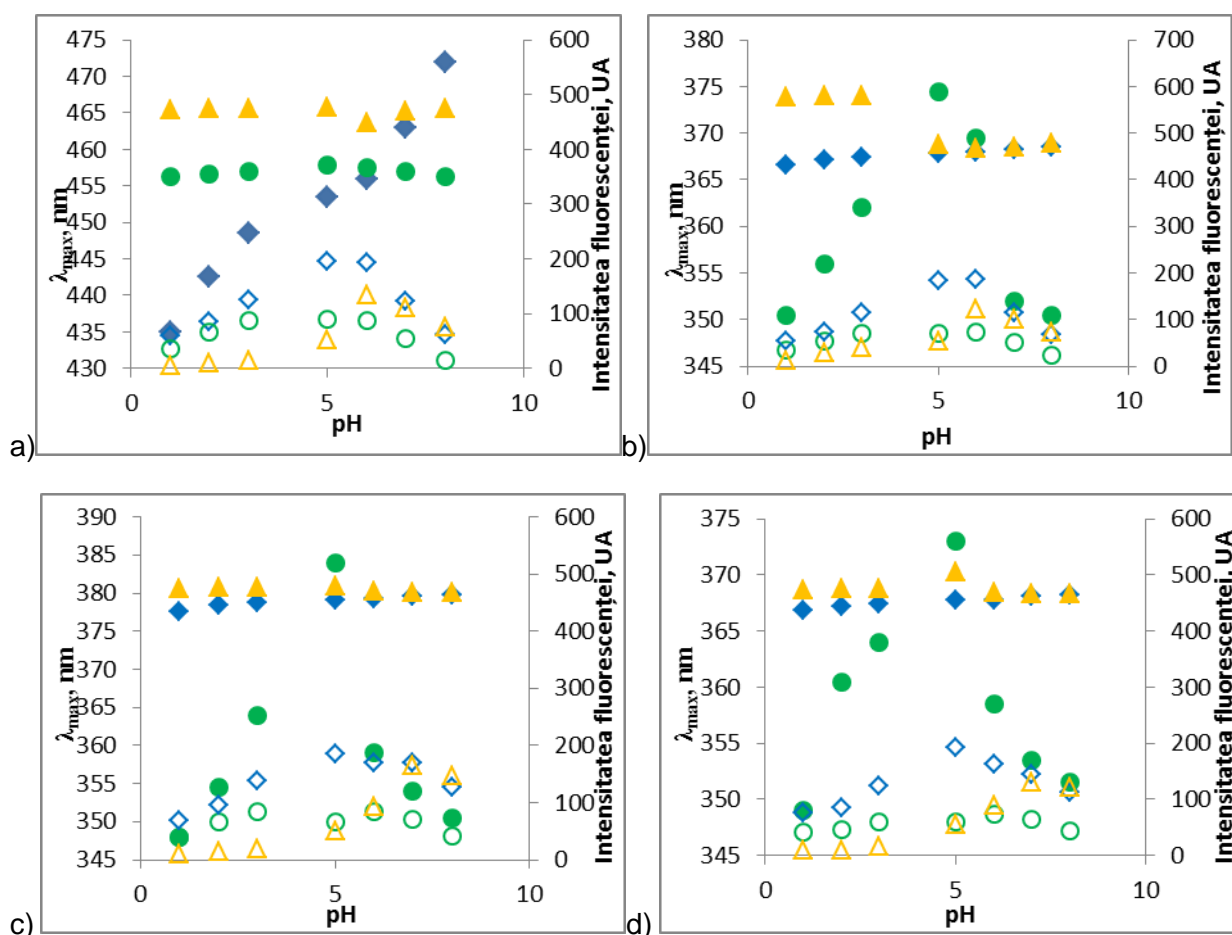
**Figura 5.11.** Diagrama de faze care descrie modificările conformaționale ale antocianilor din suc natural de prune induse de diferite valori ale pH-ului

Variația spectrofluorimetrică a comportamentului sucului natural de prune (figura 5.11.), respectă un model polinomial de ordinul trei, corelația indicând prezența a mai multor specii moleculare în compoziția acestuia, care reacționează specific în condițiile analizate. Prin modificarea valorii de pH a sucului, acesta prezintă o scădere a intensității fluorescenței, în special la valori de pH mai mici de 7,0.

**5.3.2.3. Analiza spectrofluorimetrică a comportamentului antocianilor din sucuri simulate de prune**

În figura 5.15. sunt redate modificările structurale, la diferite valori de pH, ale antocianilor din sucurile simulate, evidențiate prin intermediul intensității fluorescenței și lungimea de undă la excitație.

În urma excitării la lungimea de undă  $\lambda=270$  nm, compușii polifenolici din sucurile de prune prezintă un maxim de emisie la lungimea de undă ( $\lambda_{max}$ ) de 372 nm la sucul SPA pH 5,0, 358,5 nm la sucurile SPAc și SPAm, SPAm și 359 nm la sucul SPG, în cazul valorii de pH 6,0. Creșterea valorii pH-ului în cazul sucului cu adaos de apă, de la 1,0 la 3,0 a determinat apariția unui red shift de 9 nm a valorii  $\lambda_{max}$ , urmat de un red shift de 21 nm, la scăderea pH-ului de la valoarea 8,0 la 5,0 (figura 5.15.a). Reducerea pH-ului sucului cu adaos de acid citric și glucide de la 5,0 la 3,0 a indus apariția unui red shift de 6 nm, pe când în cazul ajustării pH-ului la valoarea 8,0, rezultă un blue shift de 7 nm.



**Figura 5.15.** Variații ale lungimilor de undă ce oferă indicații cu privire la modificările antocianilor din sucurile a) SPA, b) SPAc, c) SPG și d) SPAm, evidențiate prin intermediul intensității fluorescenței (simboluri goale) și a  $\lambda_{max}$  (simboluri pline); lungimea de undă la excitație  $\lambda=270$  nm, emisie  $\lambda= 310\text{nm} - 420$  nm; cercuri),  $\lambda=340$  nm, emisie  $\lambda=360$  nm – 660 nm; romburi),  $\lambda=410$  nm, emisie  $\lambda= 430$  nm – 800 nm; triunghiuri)

Comparativ cu rezultatele obținute în urma excitării la lungimea de undă la 270 nm, se poate observa că excitând la  $\lambda=340$  nm, intensitatea maximă în cazul sucului cu adaos de acid



## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

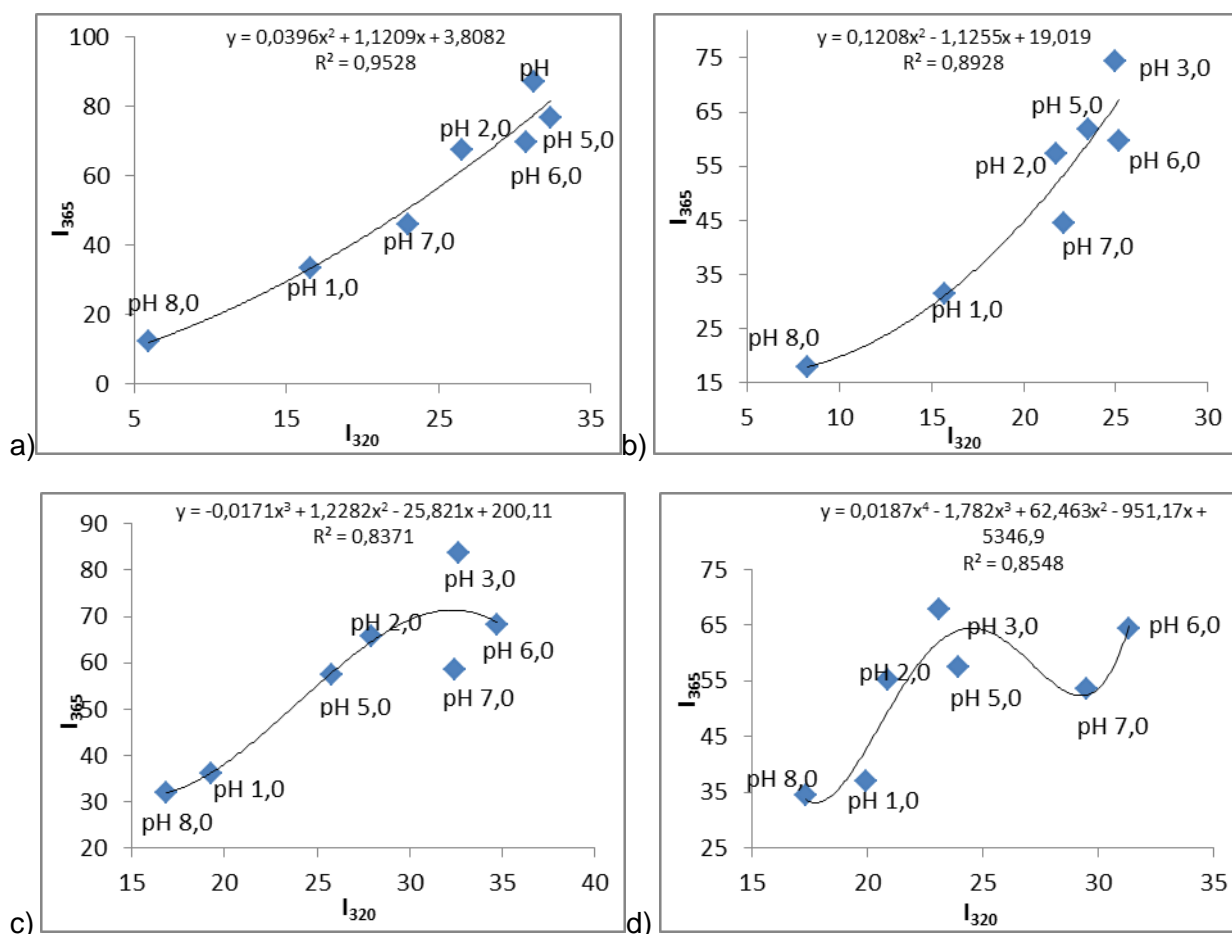
citric s-a înregistrat la valoarea de pH 6,0, pe când la celelalte sucuri simulate intensitatea maximă s-a înregistrat la pH 5,0. Valorile lui  $\lambda_{max}$  în cazul sucului SPA variază de la 435 nm ( $58 \pm 3$  UA), la pH 1,0, până la 472 nm ( $62 \pm 12$  UA) la pH 8,0.

Modificări există și în cazul sucului SPAC, unde este prezent un red shift de 10 nm (465 nm) și 15 nm (470 nm), cu o intensitate maximă înregistrată la pH 6,0 ( $187 \pm 21$  UA –  $458 \pm 44$  nm).

În urma excitării la  $\lambda=410$  nm a sucului cu adaos de apă, s-au evidențiat modificări structurale corelate cu creșterea intensității fluorescenței, prin variația pH-ului în intervalul de pH 1,0-6,0. În cazul sucului cu adaos de acid citric se poate observa prezența celui de-al doilea peak, la valorile de pH 1,0 ( $13 \pm 0,6$  UA – 579 nm), 2,0 ( $29 \pm 2$  UA – 580 nm) și 3,0 ( $40 \pm 21$  UA – 580 nm).

Sucul simulat cu adaos de glucide și cel cu amestec de glucide și acid citric au același comportament din punct de vedere al fluorescenței prezentând maximul intensității fluorescenței la valoarea de pH 7,0, în cazul primului peak și respectiv la pH 5,0, în cazul celui de-al doilea peak.

În figura 5.16. este redată diagrama de faze obținută pentru sucurile simulate, obținută prin reprezentarea grafică a intensității matricilor derivate din prune la lungimea de undă 320 nm versus lungimea de undă 365 nm (Yang Jr. și colab., 2006).



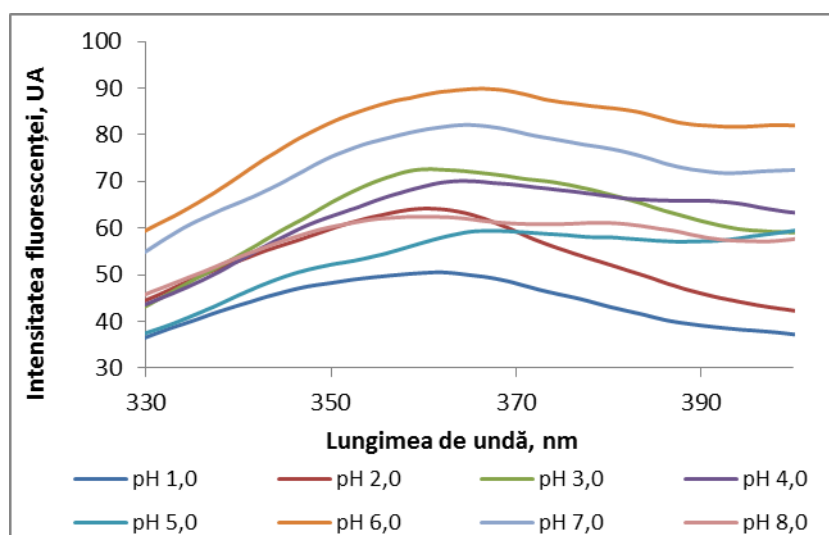
**Figura 5.16.** Diagramele de faze care descriu modificările conformaționale ale antocianilor, induse de modificarea pH-ului în: a) sucul simulat cu adaos de apă, b) sucul simulat cu adaos de acid citric, c) sucul simulat cu adaos de glucoză și d) sucul simulat cu adaos de acid citric și glucoză

Se poate observa o dependență neliniară, descrisă de o ecuație polinomială de ordinul 2 în cazul sucurilor SPA și SPAc, o ecuație polinomială de ordinul 3 în cazul sucului SPG și de ordinul 4 în cazul sucului SPAm. Aceste ecuații sugerează prezența mai multor specii moleculare distincte induse de modificarea valorilor de pH, cu un comportament chimic diferit (figura 5.16.).

### 5.4. Influența pH-ului asupra comportamentului antocianilor din extractul din pielile de cireșe și sucul natural de cireșe

În acest subcapitol s-a urmărit comportamentul compușilor biologic activi din extractul din pielile de cireșe și sucul natural de cireșe în funcție de pH. Studiul stabilității la diferite valori ale pH-ului a compușilor bioactivi prezintă importanță deosebită pentru industria alimentară pentru a putea fi folosiți eventual la obținerea de noi produse alimentare sau ca suplimente în produsele alimentare.

Studiile au demonstrat modificările structurale apărute la nivelul antocianilor din compoziția extractului din pielile de cireșe, la diferite valori ale pH-ului. Astfel, extractul supus excitației la o lungime de undă  $\lambda=250$  nm (figura 5.17.) a prezentat un maxim de emisie la valoarea lungimii de undă  $\lambda=353$  nm.

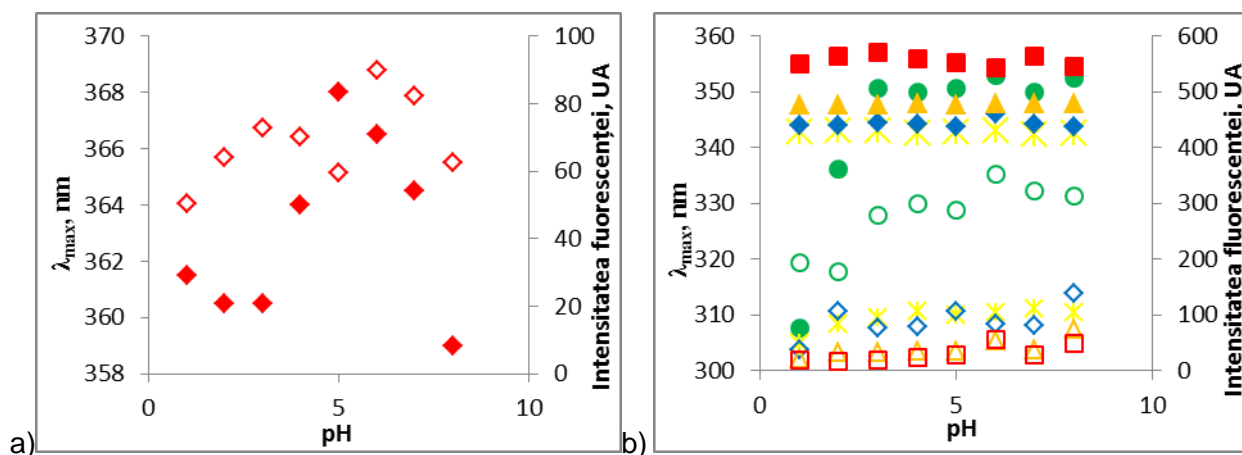


**Figura 5.17.** Spectrele de fluorescență ale antocianilor prezenți în extractul din pielile de cireșe, la diferite valori de pH; excitație la  $\lambda=250$  nm, emisie la  $\lambda=270 - 600$  nm

Profilul spectrelor obținute (figura 5.17.) indică faptul că valoarea pH-ului determină modificări structurale ale antocianilor. Când extractul din pielile de cireșe a fost supus excitației la lungimea de undă de 250 nm, s-au obținut spectre cu alură specifică, poziționate în intervalul de lungimi de undă de 350 - 370 nm, ceea ce sugerează prezența antocianilor, care emit diferit în funcție de pH.

În figura 5.19. sunt redată modificările structurale ale antocianilor din extractul din pielile de cireșe și din sucul natural de cireșe, analizate prin intermediul intensității fluorescenței și  $\lambda_{max}$  în intervalul de pH 1,0-8,0.





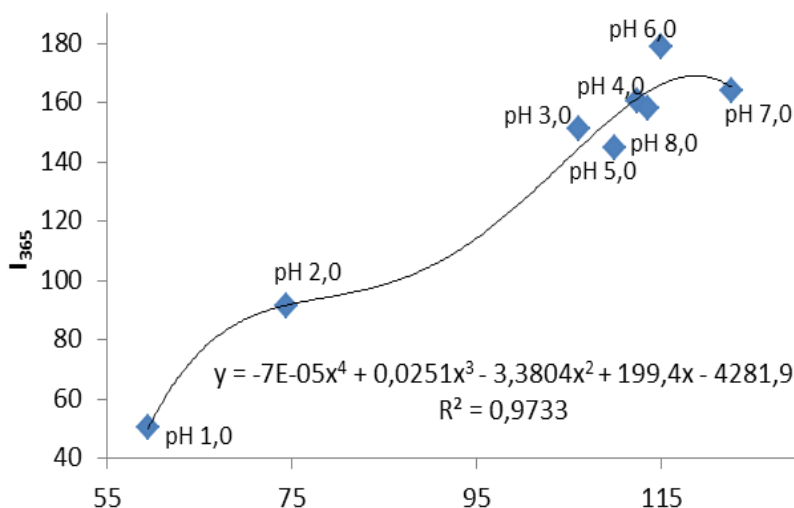
**Figura 5.19.** Variații ale lungimilor de undă ce oferă indicații cu privire la modificările antocianilor din a) extractul din pielețe de cireșe și b) suc natural de cireșe, analizate prin intermediul intensității fluorescenței (simboluri goale) și  $\lambda_{max}$  (simboluri pline) la diferite valori de pH. Lungimea de undă la excitație a fost 250 nm (emisie 270 – 420 nm, romb roșu), 270 nm (emisie 310 – 420 nm; cercuri), 300 nm (emisie 320 – 420 nm, asterix), 340 nm (emisie 360 – 660 nm; romburi), 410 nm (emisie 430 – 800 nm; triunghiuri), 500 nm (emisie 520 – 800 nm, pătrate)

În urma excitării extractului din pielețe de cireșe (figura 5.19.a) cu pH variabil, la lungimea de undă de excitație  $\lambda=250$  nm, au rezultat modificări structurale, care la rândul lor au condus la o creștere a intensității fluorescenței, cea mai mică valoare a  $\lambda_{max}$  fiind înregistrată la pH 1,0 ( $\lambda=361$  nm), iar cea mai mare valoare fiind înregistrată la pH 6,0 ( $\lambda=366$  nm). Un red shift de 18 nm (379 nm) poate fi observat la valoarea de pH 8,0. La valoarea de pH 5,0 se poate observa un red shift de 4 nm ( $\lambda=365$  nm).

Se poate observa în figura 5.19.b) prezența a două peak-uri diferite, în funcție de pH, peak-ul 1 având o variație slabă. În cazul primului peak, cea mai mică intensitate de fluorescență s-a obținut la pH 1,0, fiind urmată de o creștere a intensității de fluorescență la pH 2,0. Creșterea intensității fluorescenței concomitent cu creșterea pH-ului este corelată cu procesul de copigmentare, lucru observat cel mai bine în cazul celui de-al doilea peak, la valorile de pH 2,0, 5,0 și 8,0. În cazul celui de-al doilea peak, cea mai scăzută intensitate de fluorescență s-a obținut la pH 1,0, la lungimea de undă 439 nm. În ceea ce privește peak-ul obținut la valoarea de pH 5,0 acesta prezintă un red shift de 3 nm (de la 439 nm la 436 nm). La pH 8,0 putem observa prezența a trei peak-uri (I – 386 nm; II – 420 nm și III – 436 nm).

Valoarea redusă a intensității fluorescenței antocianilor în urma excitației la lungimea de undă 500 nm, indică faptul că acești pigmenti există sub formă monomerică în suc de cireșe.

În figura 5.20. este prezentată diagrama de faze care descrie modificările conformaționale ale antocianilor, induse de diferite valori ale pH-ului sucului natural de cireșe.



**Figura 5.20.** Diagrama de faze care descrie modificările conformaționale ale antocianilor, induse de diferite valori ale pH-ului sucului natural de cireșe

Sucul natural de cireșe (figura 5.20.), prezintă un model polinomial de ordinul 4, corelația indicând prezența a mai multor specii moleculare. Acest suc natural prezintă o scădere a intensității de fluorescență, prin modificarea valorii de pH în special la valori mai mici de 3,0

## 5.5. Concluzii parțiale

1. Antocianii au un rol important în calitatea culorii produselor procesate pe bază de fructe și legume. Antocianii diferă de alți compuși flavonoidici datorită abilității acestora de a forma diferite structuri în funcție de pH-ului mediului.
2. Studiul realizat a urmărit investigarea stabilității la pH a antocianilor extrași din pielețe de prune și cireșe, din diferite sucuri simulate din prune, precum și din sucurile naturale din fructe, utilizând spectroscopia de fluorescență.
3. Inițial a fost studiat comportamentul a patru compuși standard, cianidin 3-xilozid, cianidin 3-rutinozid, peonidin 3-glucozid și peonidin 3-rutinozid, identificați anterior prin tehnici de cromatografie lichidă de înaltă performanță în prunele și cireșele românești. S-au obținut spectre de fluorescență în corelație cu variația pH-ului, în urma excitării probelor la lungimile de undă de 270, 300, 340 și 410 nm.
4. În urma excitării standardelor de antociani la lungimea de undă de 270 nm,  $\lambda_{max}$  a fost înregistrată la valoarea de 362,5 nm pentru cianidin 3-rutinozid, la 360 nm pentru cianidin 3-xilozid, la 358,5 nm pentru peonidin 3-glucozid și la 360 nm pentru peonidin 3-rutinozid. Rezultatele obținute la lungimea de undă de excitație 300 nm, în cazul standardelor cianidin 3-xilozid (Kuromanin) și cianidin 3-rutinozid (Keracianin) nu s-au obținut spectre bine definite. În cazul soluțiilor standard de peonidin 3-glucozid și peonidin 3-rutinozid  $\lambda_{max}$  variază în intervalul de lungimi de undă cuprins între 335-337 nm. În urma excitării la  $\lambda = 340$  nm s-au înregistrat două benzi de emisie pentru fiecare antociani standard, benzi reprezentate prin prezența a două peak-uri distincte cu

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

---

intensități fluorescente diferite, în intervalul de lungimi de undă cuprins între 336 – 340 nm (peak 1) și 423 - 442 nm (peak 2).

5. Cu ajutorul tehnicii de spectroscopie de fluorescență în extractele din pielețe de prune și sucurile din prune, în urma excitației la 270 nm s-a confirmat prezența antocianilor sub formă monomerică, precum și prezența compușilor polifenolici (acid ferulic, cumaric, galic, cumarine, etc.) și a flavonoidelor. La lungimea de undă de excitație de 300 nm a fost evidențiată prezența polifenolilor totali. La lungimea de undă de excitație 340 nm, emit antocianii sub formă de chalconă, iar la lungimea de undă de 410 nm emite quercetina, precum și vitaminele din grupul E.
6. Când extractul din pielețe de prune a fost supus excitării la lungimea de undă  $\lambda=270$  nm, 340 și 410 nm s-au obținut spectre specifice, poziționate în intervalul de lungimi de undă  $\lambda=350 - 388$  nm, 450 – 470 nm și respectiv 440 – 476 nm, acestea indicând prezența antocianilor cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid, cianidin 3-rutinozid, peonidin 3-glucozid și peonidin 3-rutinozid, compuși identificați și prin analiza HPLC.
7. Antocianii din matricile derivate din prune și cireșe prezintă sensibilitate la variațiile de pH. Rezultatele obținute pentru diagrama de fază și spectrele de fluorescență sugerează un proces de deglicozilare și clivare, acompaniat de o creștere a intensității fluorescenței în domeniul de pH bazic.
8. Când sucul de prune a fost supus excitării la lungimea de undă  $\lambda=270$  nm, s-au obținut spectre specifice, poziționate în intervalul de lungimi de undă  $\lambda=350 - 360$  nm, acestea indicând prezența antocianilor, compuși identificați și prin analiza HPLC în sucul analizat. Peak-ul poziționat la lungimea de undă  $440 \pm 10$  nm este caracteristic unui număr variat de compuși polifenolici, printre care se numără acizii hidroxicinamici, cumarinele, stilbenele, izoflavonele, etc.
9. Variația spectrofluorimetrică a comportamentului sucului natural de prune, respectă un model polinomial de ordinul trei, corelația indicând prezența a mai multor specii moleculare în compoziția acestuia, care reacționează specific în condițiile analizate.
10. În urma excitării la lungimea de undă  $\lambda=270$  nm, compușii polifenolici din sucurile simulate de prune prezintă un maxim de emisie la lungimea de undă ( $\lambda_{max}$ ) de 372 nm la sucul cu adaos de apă pH 5,0, 358,5 nm la sucurile cu adaos de acid citric și cu adaos de compuși în amestec și 359 nm la sucul cu adaos de glucide, în cazul valorii de pH 6,0.
11. Indiferent de valorile de pH studiate, diagrama de fază în cazul sucurilor simulate din prune nu are o evoluție liniară, indicând prezența mai multor specii moleculare distincte, cu un comportament diferit, datorită mediului de reacție diferit. Rezultatele sugerează că sucurile sunt sisteme complexe, pentru care diagramele de fază au evoluții ce corespund unor modele polinomiale de ordinul 2, 3 sau 4.
12. În cazul reducerii pH-ului extractului din pielețe de cireșe la valoarea 1,0, putem observa prezența unui blue-shift de 28 nm (307,5 nm). Această modificare a spectrului poate fi atribuită prezenței clorofilei, dar și a formei hemicetal care este dominantă când are loc o excitație în intervalul de lungimi de undă  $\lambda= 260$  nm-280 nm.
13. Rezultatele obținute pot contribui la o mai bună înțelegere a comportamentului chimic al antocianilor în funcție pH, pentru stabilirea corelațiilor structură-funcție, cu impact pozitiv în obținerea de produse derivate din prune și cireșe cu funcționalitate sporită.

## **6. Comportamentul chimic și cinetic al compușilor bioactivi din matrici derivate din prune și cireșe în urma procesării termice**

În acest capitol sunt prezentate studiile referitoare la comportamentul biochimic al compușilor polifenolici din matrici derivate din prune (*Prunus domestica* var. *Vanette*) și cireșe (*Prunus avium* var. *Uriașă de Bistrița*), utilizând tehnici de spectroscopie de fluorescență și studii de degradare cinetică în vederea descrierii modificărilor conformaționale și structurale induse la diferite valori de temperatură.

Studiile au vizat descrierea, utilizând modele cinetice de degradare termică, a comportamentului compușilor polifenolici din matricile menționate la diferite combinații temperatură-timp din perspectiva optimizării relației proces-structură-funcție. Adicional, pentru a aduce informații suplimentare referitoare la comportamentul termic al compușilor polifenolici, s-au utilizat diferite tehnici de spectroscopie de fluorescență, în principal diagrama de faze, spectre de emisie și spectre tridimensionale.

Rezultatele obținute sunt valoroase din punct de vedere fundamental și aplicativ deoarece oferă numeroase informații asupra comportamentului compușilor polifenolici în timpul procesării, în corelație cu funcționalitatea lor, având un impact deosebit în industria alimentară.

### **6.1. Introducere**

Procesarea și formularea de produse noi poate afecta substanțial calitatea și proprietățile funcționale ale compușilor bioactivi din fructe (Nicoli și colab., 1999; Paixao și colab., 2007; Seruga și colab., 2011), iar studiul acestor efecte prezintă importanță fundamentală și aplicativă în vederea optimizării proceselor, îmbunătățirii calității și diversificării gamei de alimente funcționale.

Cercetările prezentate în acest capitol au vizat evaluarea impactului tratamentului termic asupra compușilor bioactivi (antociani monomerici totali, polifenoli totali, flavonoide totale), din matrici derivate de prune și cireșe, precum în corelație cu impactul procesării termice asupra capacității antioxidante. Pentru fundamentarea comportamentului și mecanismelor de degradare termică a compușilor polifenolici menționați, studiile au vizat evaluarea cineticii de degradare în sistem simplu (extracte), sisteme model (sucuri simulate) și matrici reale (sucuri). Prin analiză spectrofluorimetrică, modelare matematică și analiză cinetică s-au studiat modificările induse de tratamentul termic în intervalul de temperatură 50 - 120°C.

Elucidarea mecanismelor de degradare survenite în urma procesării conduce la stabilirea unor parametri cinetici, care pot fi utilizați pentru previzionarea comportamentului cinetic al compușilor țintă în condițiile vizate. Astfel, studiul cineticii de degradare poate fi de real folos în stabilirea influenței procesării asupra calității produselor alimentare, în special în degradarea compușilor cu valoare nutritivă și funcțională.

### **6.2. Materiale și metode**

Prunele și cireșele au fost cumpărate de pe piața locală (Galați, România) și au fost păstrate în stare congelată (-20°C) până în momentul procesării. O serie de reactivi, cum ar fi 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), acid 6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxil (Trolox), acetat de sodiu, clorură de potasiu, hidroxid de sodiu, clorură de aluminiu, azotit de sodiu, etanol, metanol și acid formic (HPLC grade) au fost achiziționați de la Sigma Aldrich Steinheim, Germania. Standardele de cianidină și peonidină au fost achiziționate de la firma Extrasynthèse

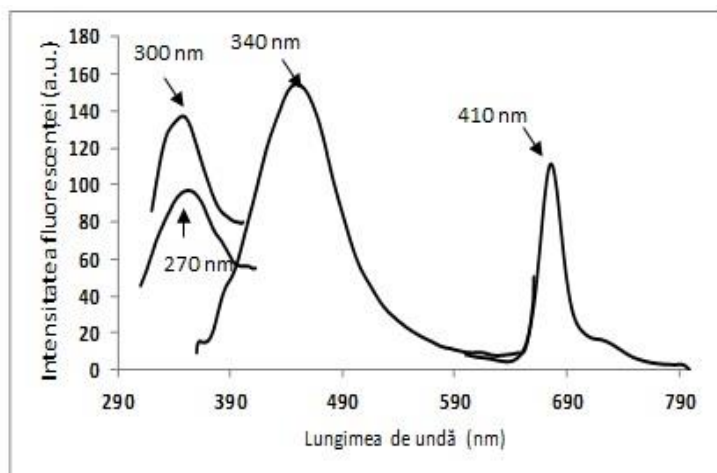
(Z.I Lyon Nord, Franța). Enzima Zymorouge a fost achiziționată de la Sodinal ( București) și a fost utilizată fără alte etape de purificare. Toți reactivii au avut puritate analitică.

### 6.3. Rezultate și discuții

#### 6.3.1. Stabilitatea chimică și cinetica de degradare termică a compușilor bioactivi în matrici derivate din prune

##### 6.3.1.1. Evaluarea comportamentului compușilor polifenolici din punct de vedere spectrofluorimetric

Doar câțiva compuși polifenolici emit fluorescență naturală, printre care se numără și izoflavonele ce nu prezintă o grupare OH în poziția 5, precum și flavonoidele ce au o grupare OH în poziția 3, cum ar fi catechina și flavonele sub formă metoxilată (Lamuela-Raventos și colab., 2014). Spectrele de fluorescență ale speciilor moleculare din extractul din pielițe de prune au fost analizate excitând la diferite lungimi de undă de 270 nm, 300 nm, 340 nm și 410 nm (figura 6.1.). Poziția spectrului și intensitatea fluorescenței au variat în funcție de lungimea de undă la excitație.

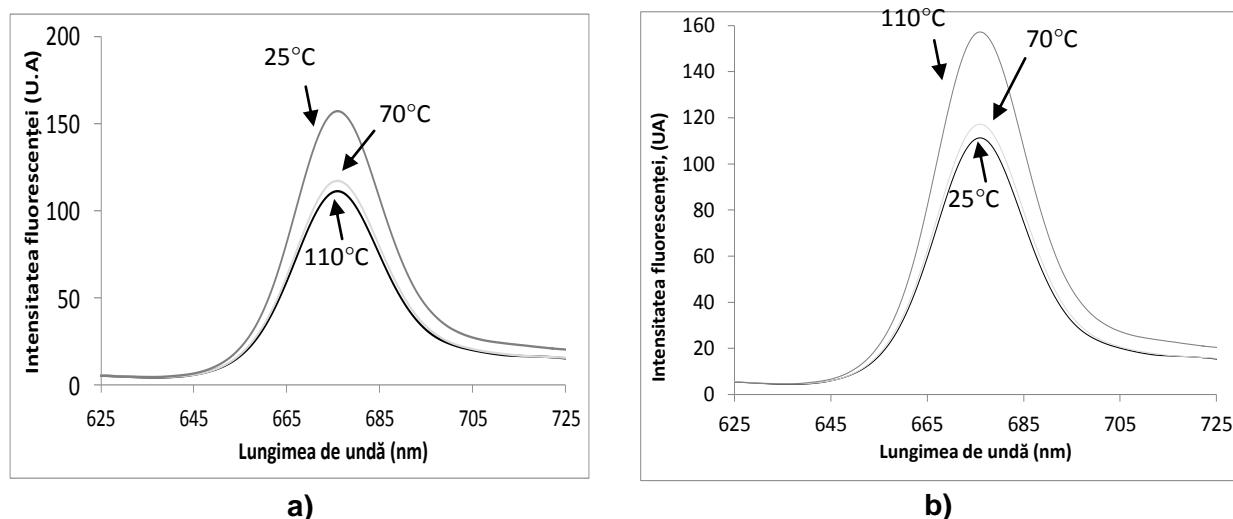


**Figura 6.1.** Spectrele de fluorescență a extractului din pieliță de prune, fără tratament termic, la diferite lungimi de undă de excitație (Turturică și colab., 2016a)

Datele prezentate în figura 6.1. indică faptul că extractul din prune este un sistem multicomponent, ce conține diferite specii moleculare. Rezultatele experimentale obținute sugerează faptul că în extractul din pieliță de prune analizat sunt prezente cel puțin patru specii moleculare fluorescente. Aceste date au permis de asemenea, localizarea maximelor de absorbție după cum urmează: fracțiunea I se caracterizează printr-un spectru centrat la lungimea de undă  $\lambda=353 \pm 1$  nm, fracțiunea II la  $\lambda=358 \pm 1$  nm, fracțiunea III la  $\lambda=448 \pm 1$  nm și fracțiunea IV la  $\lambda=678 \pm 0,5$  nm.

Tratamentul termic aplicat extractului din pieliță de prune a condus la apariția unor modificări structurale cu o scădere a intensității fluorescenței (IF), la valori ridicate de temperatură, în urma excitației la lungimea de undă  $\lambda=300$  nm (figura 6.2.a). Valoarea  $\lambda_{max}$  a variat de la  $\lambda=358$  nm, la temperatura de 25°C, până la  $\lambda=361$  nm, la temperatura de 70°C. Creșterea temperaturii la valori de 100°C a determinat apariția unui blue-shift de 2 nm ( $\lambda=356$  nm), urmat de un red-shift de 3 nm, la temperatura de 110°C ( $\lambda=359$  nm). Atunci când extractul este excitat la lungimea de undă de 410 nm (figura 6.2.b), rezultă o creștere a intensității

fluorescenței în intervalul de temperatură 70°C - 110°C, în timp ce valorile  $\lambda_{\max}$  rămân constante la lungimea de undă  $\lambda=676$  nm.



**Figura 6.2.** Spectrele de fluorescență ale extractului din pielețe de prune tratat termic la diferite temperaturi. Lungimea de undă a excitației 300 nm (a) și 410 nm (b) (Turturică și colab., 2016a)

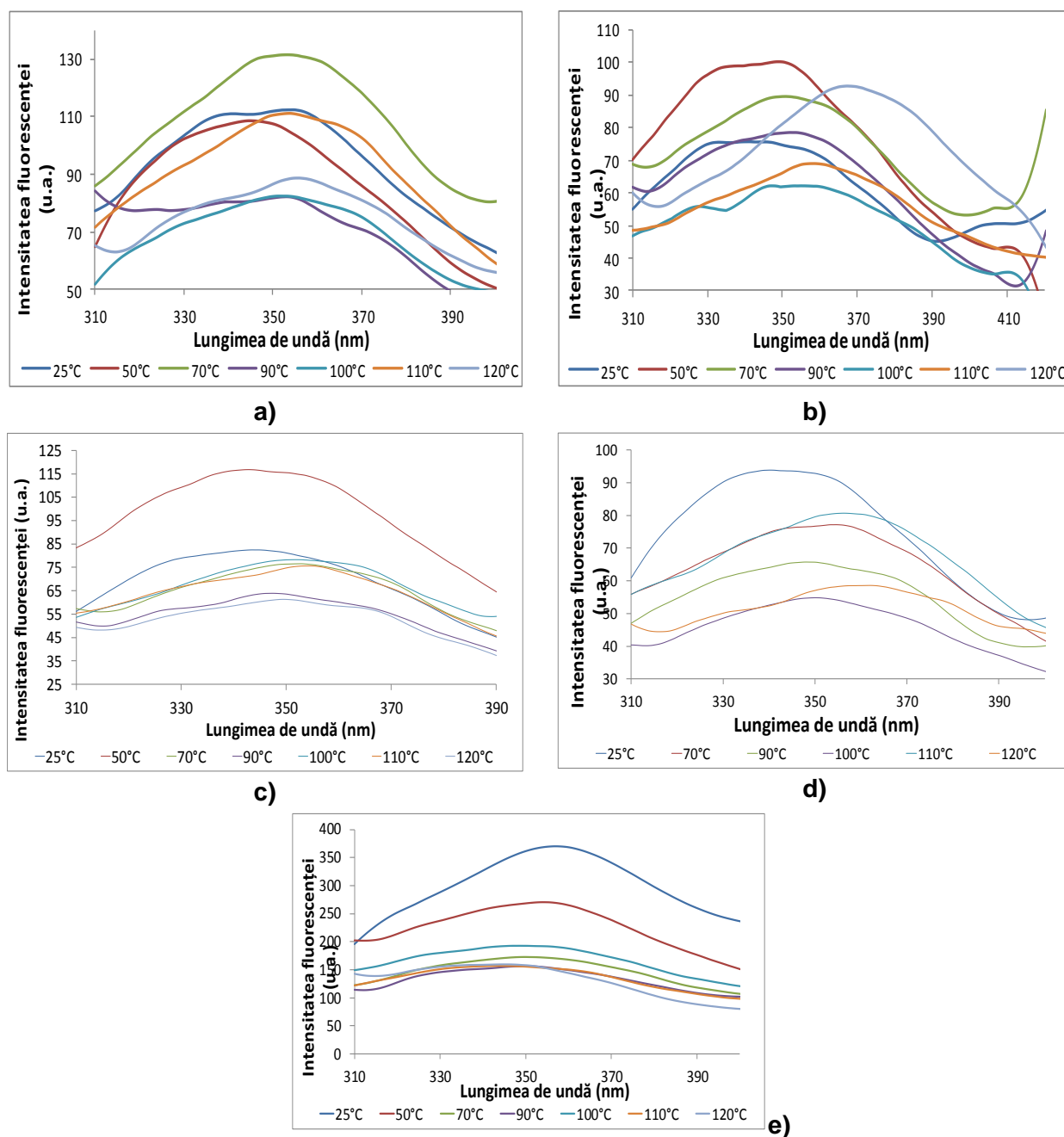
Figura 6.3. prezintă spectrele de fluorescență ale sucurilor tratate termic în urma excitației la lungimea de undă de 270 nm. Pentru SPA spectrele au fost dominate de benzi de emisie la  $\lambda_{\max}$  342 nm, la temperatura de 25°C, în timp ce tratamentul termic la temperaturi de 110-120°C a determinat apariția unor red-shift-uri semnificative, de 12-14 nm (figura 6.3.a).

În cazul SPAC,  $\lambda_{\max}$  s-a situat în jurul valorii de 341 nm, la proba netratată termic, în timp ce după tratamentul la temperatura 110°C s-a evidențiat un red shift de 17 nm, iar la temperatura de 120°C un red-shift de 26 nm (figura 6.3. b). Pentru SPG, spectrele au fost caracterizate de benzi de emisie cu maximum la 344 nm, în timp ce tratamentul termic la temperatura de 90°C a condus la apariția unui red-shift de 7 nm. În intervalul de temperatură 100°C - 120°C, s-a putut observa apariția unui blue-shift de 6 nm și respectiv un red-shift de 3 nm (figura 6.3. c).

Modificări structurale importante s-au putut observa în cazul SPAm (figura 6.3. d). Spectrul de fluorescență la temperatura de 25°C a prezentat maximum de emisie la valoarea de 340 nm. Modificarea temperaturii la valoarea de 70°C a indus apariția unui red-shift de 14 nm. La valori de temperatură între 90 și 100°C, s-a observat prezența unor blue-shift-uri de 6 nm și respectiv 4 nm, urmate de un red-shift de 6 nm și unul de 12 nm la valori mai ridicate de temperatură (110°C - 120°C). Prin excitarea SNP la lungimea de undă de 270 nm, spectrul de emisie a prezentat un maxim la lungimea de undă 357 nm, la temperatura de 25°C. Creșterea temperaturii a indus apariția modificărilor structurale caracterizate prin apariția unor blue-shift-uri între 3 nm, la temperatura de 50°C și 13 nm, la temperatura de 110°C.



## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare



**Figura 6.3.** Spectrele de fluorescență ale sucurilor SPA (a), SPAC (b), SPG (c), SPAM (d) și SNP (e) la diferite temperaturi. Excitare la lungimea de undă 270 nm. Experimentele s-au realizat în triplicat iar deviația standard a fost mai mică de 3,5%

Variațiile semnificative ale  $\lambda_{max}$  observate în prezentul studiu indică caracterul secvențial ale modificărilor structurale induse de tratamentul termic în structura compușilor polifenolici.

Rezultatele obținute în acest studiu sugerează faptul că antocianii sunt instabili la temperatură ridicată, lucru ce conduce la o creștere a intensității fluorescenței și apariția red- și blue-shift-urilor, fenomene datorate probabil copolimerizării și copigmentării compușilor polifenolici.

### 6.3.1.2. Influența tratamentului termic asupra conținutului de antociani și a activității antioxidante

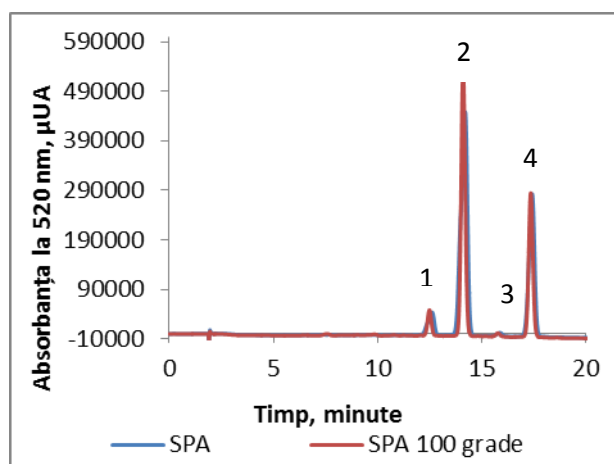
Calitatea produselor alimentare este, evident, o problemă importantă și condiționează satisfacerea așteptărilor consumatorului; cu alte cuvinte, experiența calității livrate de un produs alimentar trebuie să corespundă așteptărilor de calitate ale unui consumator.

Modificările chimice, biochimice, microbiene și fizice în ceea ce privește calitatea, pot fi evaluate prin studii cinetice. Modelele cinetice sunt utile pentru a putea cuantifica pierderea cantitativă în timpul procesării. Aceste modele descriu degradarea compușilor țintă, formarea de compuși nedorii, cinetica formării de agregate, cinetica de inactivare enzimatică (polifenoloxidază) și a microorganismelor, precum și cinetica procesului de cristalizare. Produsele alimentare sunt sisteme complexe în interiorul cărora pot avea loc interacțiuni în timpul procesării și păstrării (Ahmed și colab., 2012).

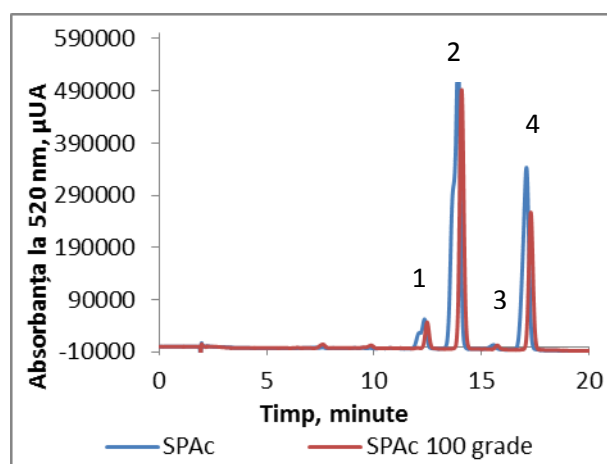
Așa cum s-a prezentat în capitolul 4, conținutul total de antociani (AMT) al sucurilor netratate termic SPA, SPAc, SPG, SPAm și SNP a variat după cum urmează: 0,144, 0,052, 0,053, 0,051 și respectiv 0,038 mg C3G/mL. Tratând termic sucul SPAc în domeniul de temperatură 50 - 90°C, cu o durată a tratamentului de până la 45 minute s-a observat o creștere a concentrației de AMT. Tratamentul termic prezintă un impact asupra conținutului de antociani, evidențiat printr-o descreștere de 85%, 53%, 61%, 50% și respectiv 86%, după 60 minute de tratament termic la temperatura de 120°C. S-a demonstrat faptul că acidul citric, glucoza și combinația dintre acestea două prezintă un efect stabilizator asupra antocianilor în timpul tratamentului termic, efect ce este în concordanță cu studiile anterioare (Hubbermann și colab., 2006, Kopjar și colab., 2009).

Analiza cromatografică a sucurilor simulate de prune (figura 6.4.) realizată la lungimea de undă de 520 nm a evidențiat prezența a patru peak-uri care corespund compușilor: cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid (peak 1), cianidin 3-rutinozid (peak 2), peonidin 3-glucozid (peak 3) și peonidin 3-rutinozid (peak 4). Conținutul fiecărui antocian în parte, corespunzător fiecărui suc studiat, tratat termic sau nu este prezentat în tabelul 6.1.

În sucul natural din prune netratat termic s-a evidențiat prezența a opt antociani și anume: cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid (C3G) (peak 1) cu un conținut de 87,05 μg/mL, cianidin 3-rutinozid (C3R) (peak 2) cu 525,88 μg/mL, peonidin 3-glucozid (P3G) (peak 3) cu 16,36 μg/mL și peonidin 3-rutinozid (P3R) (peak 4) cu un conținut de 415,54 μg/mL, în timp ce compușii corespunzători peak-urilor 5 - 8 nu au putut fi identificați.



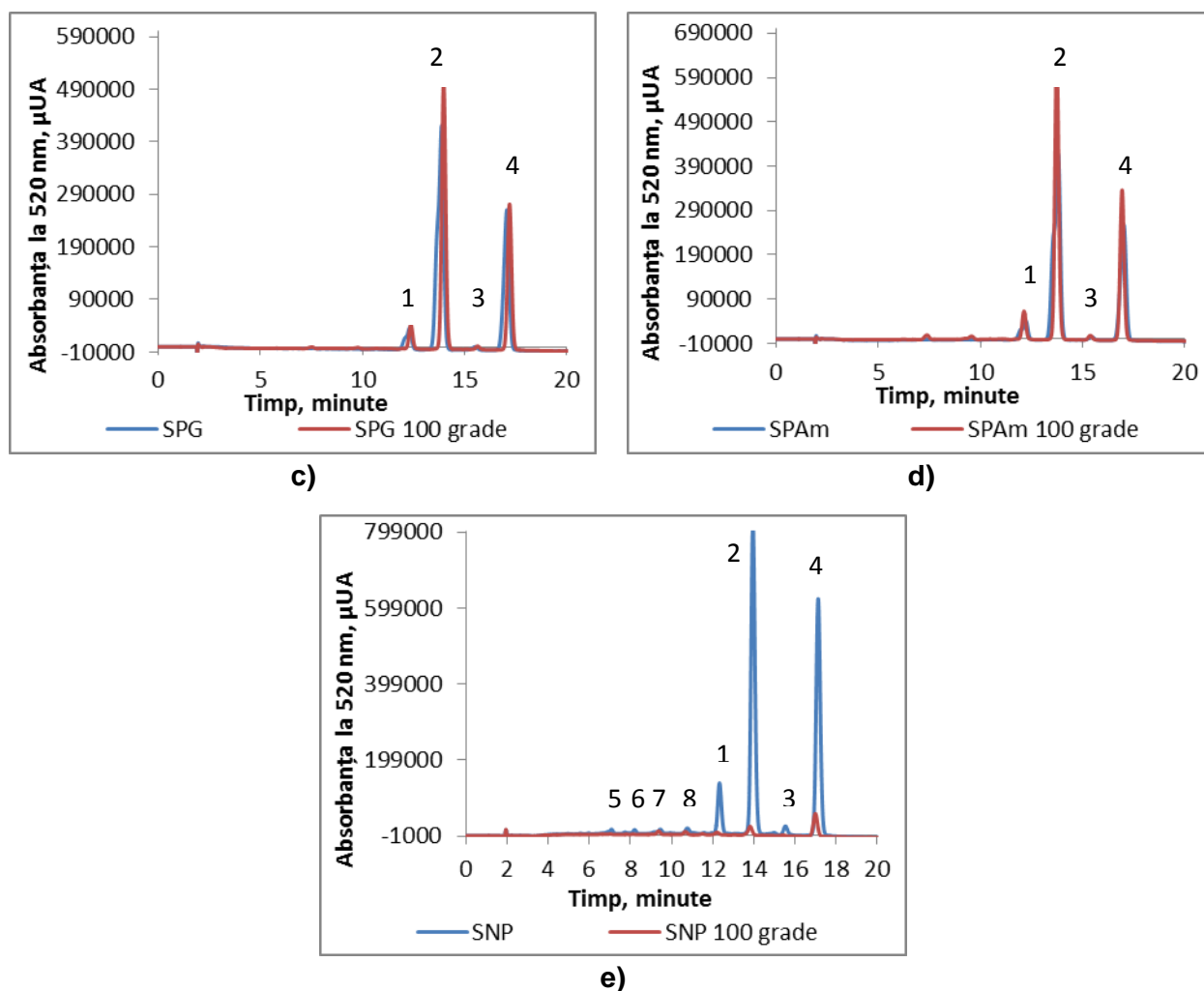
a)



b)



## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare



**Figura 6.4.** Profilul cromatografic al antocianilor din sucurile de prune (a) suc cu adaos de apă, (b) suc cu adaos de acid citric, (c) suc cu adaos de glucide, (d) suc cu adaos de compuși în amestec și (e) suc natural de prune, tratate (100°C, 20 minute) și netratate termic, la lungimea de undă de 520 nm. Peak-urile fiind reprezentate de: (1) cianidin 3-xilozid și cianidin 3-glucozid; (2) cianidin 3-rutinozid; (3) peonidin 3-glucozid și (4) peonidin 3-rutinozid

După cum se poate observa în tabelul 6.1., în toate sucurile de prune studiate antocianul predominant este cianidin 3-rutinozidul (C3R). În urma tratamentului termic la 100°C timp de 20 de minute conținutul de antociani scade (tabelul 6.1). Rezultatele obținute evidențiază un lucru interesant și anume că conținutul de C3G crește cu 8% în cazul sucului cu adaos de glucide în urma tratamentului termic la 100°C, în timp ce concentrația celorlalți doi compuși scade cu 19-21%. O creștere semnificativă a conținutului de C3G și P3G de aproximativ 44% și respectiv 162% are loc în sucul cu compuși în amestec, în timp ce conținutul de C3R și P3R scade cu 5,72% și respectiv 4,33%. Astfel se poate afirma că amestecul dintre acidul citric, glucoză și fructoză prezintă cel mai bun efect protector împotriva degradării termice a antocianilor.

Doar patru antociani au putut fi identificați în sucul natural din prune în urma tratamentului termic la 100°C și anume: cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid (peak 1), cianidin 3-rutinozid (peak 2) și peonidin 3-rutinozid (peak 4), în timp ce compușii corespunzători peak-urilor 3, 5, 6, 7 și 8 au fost degradați în totalitate. În cazul antocianilor cianidin 3-xilozid/cianidin

## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

3-glucozid, cianidin 3-rutinozid și peonidin 3-rutinozid, gradul de degradare a fost de 91,67%, 96,52% și respectiv de 91,22%.

Valoarea activității antioxidante a celor cinci sucuri testate netratate termic a fost după cum urmează:  $66,07 \pm 1,22$  %,  $25,00 \pm 0,65$  %,  $30,31 \pm 0,84$  %,  $26,34 \pm 0,31$  % și respectiv  $52,57 \pm 2,5$  % în sucurile SPA, SPAc, SPG, SPAm și respectiv SNP. Tratamentul termic a condus la o creștere a valorii inhibiției până la valoarea de 83,14%, 39,70% și 45,02%, după o durată a tratamentului termic de 15 minute, la temperatura de 50°C. Creșterea valorii activității antioxidante se poate datora degradării antocianilor în floroglucinaldehidă și acid protocatehuic, ultimul prezentând cea mai mare activitate antioxidantă (Sadilova și colab., 2007). La valori ridicate de temperatură, în cazul tratamentului termic, acesta induce o scădere a concentrației de antociani, acest lucru având impact negativ asupra activității antioxidante. Cu toate acestea, la temperaturi înalte, o descreștere cu 8% în cazul sucului codificat SPA și de 94,38% în cazul sucului codificat SPAm s-a înregistrat după 60 minute de tratament termic la temperatura de 120°C. S-a observat un efect protector a matricilor alimentare în cazul sucului codificat SNP, în acest caz reducerea DPPH RSA fiind de doar 24%.

**Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

**Tabelul 6.1.** Conținutul de antociani din sucurile simulate SPA, SPAc, SPG, SPAm și suc natural din prune (SNP) exprimate în  $\mu\text{g/mL}$

Suc	SPA		SPAc		SPG		SPAm		SNP	
	25°C	100°C	25°C	100°C	25°C	100°C	25°C	100°C	25°C	100°C
C3G	37,89±2,87	28,17±1,78	32,30±1,25	27,02±1,78	21,47±1,99	23,16±1,54	24,62±1,41	35,40±1,24	87,05±4,25	7,25±0,6
C3R	434,61±11,54	336,42±15,98	559,55±52,21	309,08±11,78	403,36±14,32	316,47±17,56	421,07±16,27	396,99±5,01	525,89±13,06	18,29±1,11
P3G	Nc	Nc	0,93±0,12	0,65±0,10	Nc	Nc	1,58±0,45	4,16±1,01	16,36±0,8	Nc
P3R	236,78±14,54	183,36±10,24	300,71±11,24	166,22±2,36	217,21±10,87	174,65±9,47	224,87±11,47	215,12±14,21	415,54±10,52	36,47±0,98

C3G - cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid; C3R - cianidin 3-rutinozid; P3G - peonidin 3- glucozid; P3R - peonidin 3-rutinozid.

Nc – nu a putut fi cuantificat

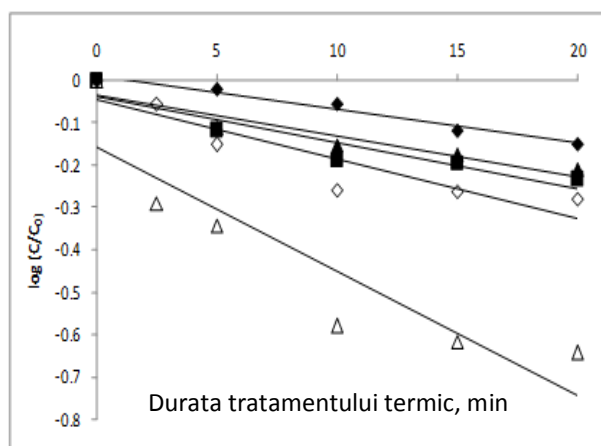
### 6.3.1.3. Cinetica de degradare termică a compușilor bioactivi din matrici derivate din prune

În urma tratamentului termic, în intervalul de temperatură studiat (70-110°C), după 5 minute de tratament s-a observat o pierdere semnificativă a compușilor fenolici. Prin urmare, la valorile de temperatură 70-90°C, s-a putut observa o scădere a conținutului de compuși polifenolici totali (PFT) între 4 – 23%, în timp ce între valorile de temperatură 100-110°C degradarea s-a realizat în proporții de 43 - 72% (figura 6.5.a). Mărind durata tratamentului termic la 20 minute conținutul de PFT scade cu 29 - 41% în intervalul de temperatură 70-90°C și respectiv cu 48 - 77%, în intervalul 100 - 110°C, comparativ cu extractul netratat termic. Rezultatele obținute conduc la ipoteza că tratamentul termic facilitează solubilizarea compușilor polifenolici, ceea ce conduce la reducerea conținutului de PFT.

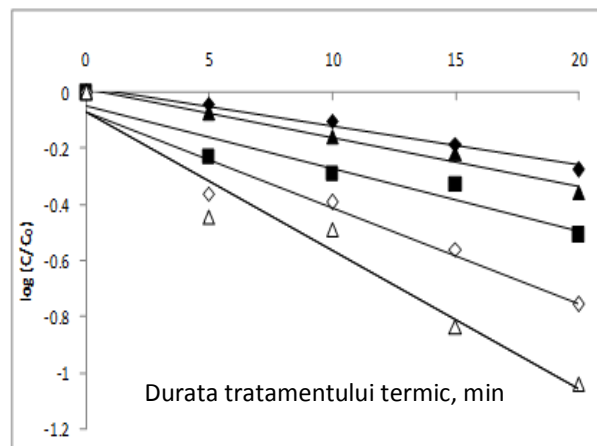
Rezultatele obținute demonstrează că, după 5 minute de tratament termic, procesul de degradare pornește și se intensifică rapid, cu o scădere rapidă a conținutului de AMT de la 47% la temperatura de 70°C și respectiv 91%, la temperatura de 110°C, după o durată a tratamentului termic de 20 de minute (figura 6.5.b).

Conținutul FT a prezentat un trend similar în tot domeniul de temperatură studiat. Astfel, o reducere cu 36%, 46%, 59%, 64% și 67% s-a putut observa ca rezultat al tratamentului termic în intervalul de temperatură 70 - 110°C, după 15 minute de tratament. Procesul de degradare a continuat până la 20 de minute de tratament, însumând o pierdere totală cuprinsă între 43% - 71% din conținutul inițial de FT (figura 6.5.c).

Efectul tratamentului termic asupra activității antioxidante a extractului din pielețe de prune este prezentat în figura 6.5.(d). După cum se poate observa, tratamentul termic influențează activitatea antioxidantă. Similar conținutului fitochimic, în domeniul de temperaturi 70-90°C, după 5 min de tratament termic, are loc reducerea cu 3% până la 12% a activității antiradicalice.

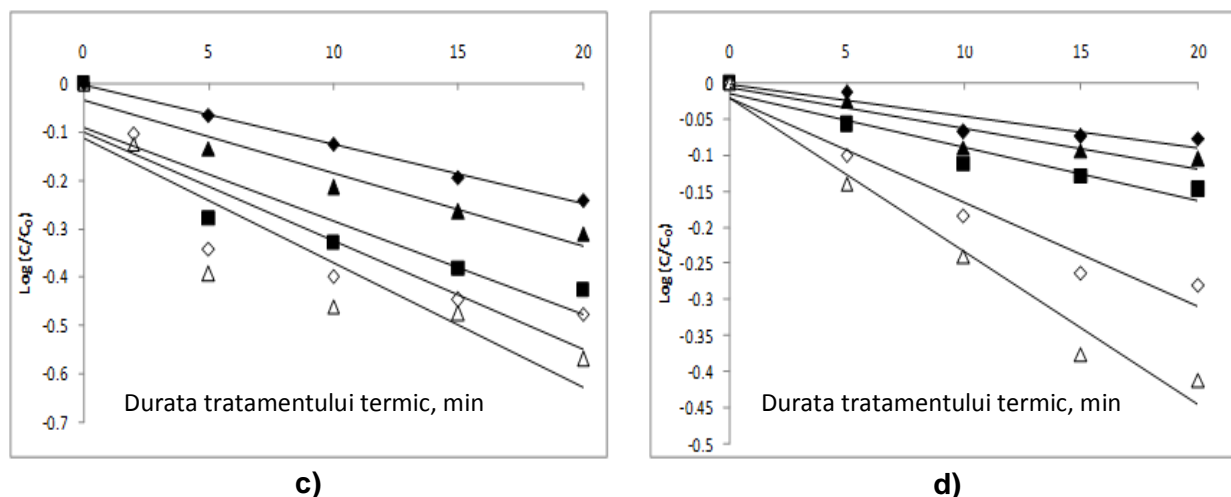


a)



b)

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare



**Figura 6.5.** Influența tratamentului termic asupra stabilității compușilor bioactivi (PFT-a; AMT-b; FT-c) și a activității antioxidante (d) din extractul din pielile de prune, la diferite temperaturi (◆ 70°C, ▲ 80°C, ■ 90°C, ◇ 100°C și △ 110°C) (Turturică și colab., 2016a)

Prin analiza regresiei liniare s-a confirmat faptul că degradarea termică a compușilor biologic activi din extractul din pielile de prune a urmat o evoluție după un model cinetic de ordinul întâi.

Rezultatele sugerează că FT au prezentat cea mai mare stabilitate la tratamentul termic. Având în vedere valorile  $k$  obținute se poate aprecia că antocianii monomerici se degradează cu cea mai mare rapiditate, datorită procesului de oxidare, a ruperii legăturilor covalente sau a intensificării reacțiilor de oxidare datorită procesării termice (Zhang și colab., 2012).

În urma tratamentului la temperatura de 70°C conținuturile de PFT, AMT, FT și pentru activitatea antioxidantă au fost de  $99,02 \pm 5,60$ ,  $53,31 \pm 4,30$ ,  $57,76 \pm 3,90$  și respectiv  $173,28 \pm 11,23$  minute. Datele din tabelul 6.2. relevă faptul că degradarea compușilor polifenolici are loc la temperaturi mai mari de 90°C, iar antocianii sunt mai susceptibili la degradarea termică comparativ cu compușii flavonoidici, în timp ce cea mai mare scădere a  $t_{1/2}$  a fost observată pentru activitatea antioxidantă.

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

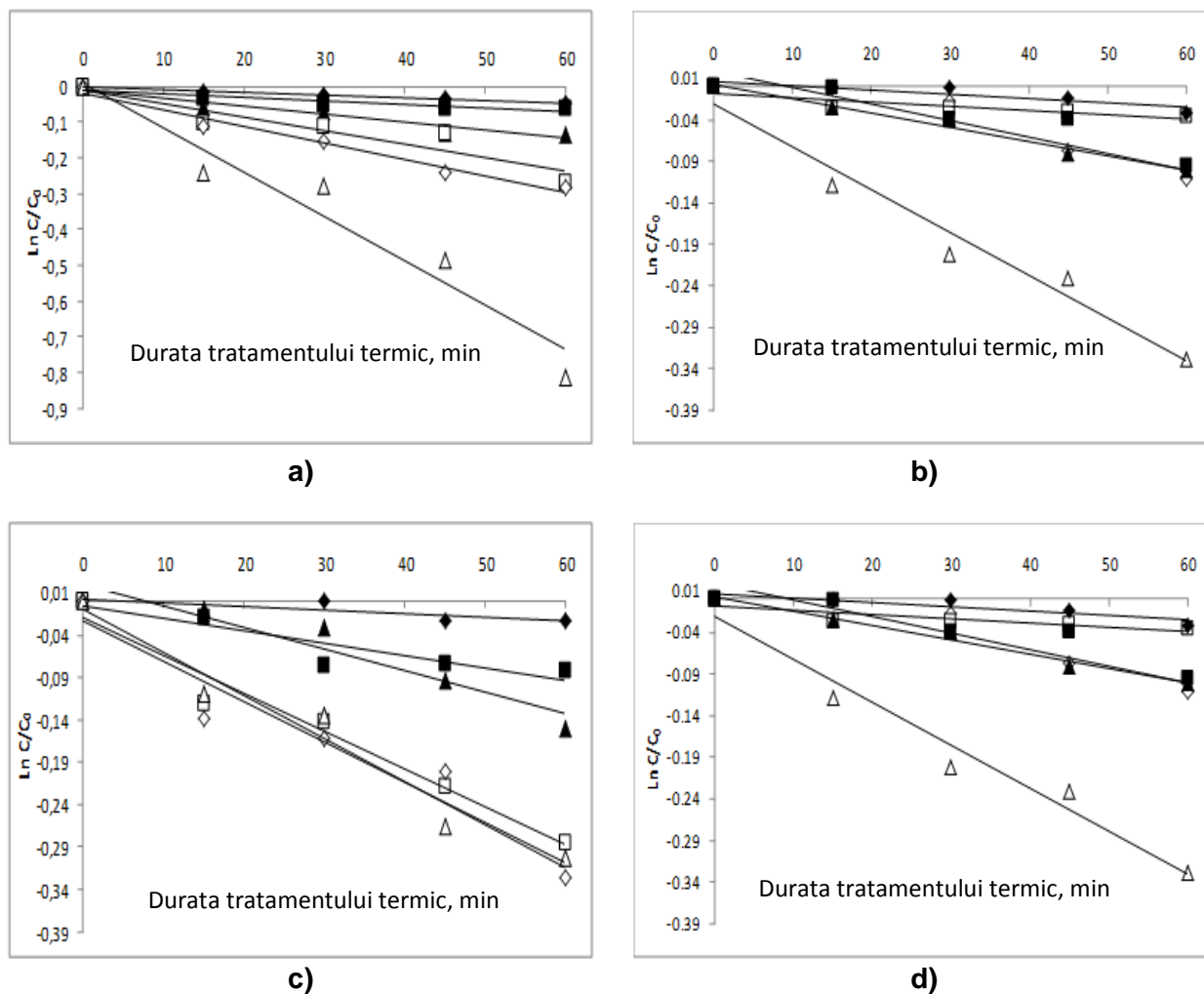
**Tabelul 6.2.** Parametrii cinetici estimați (constanta vitezei de degradare –  $k$ , energia de activare -  $E_a$  și timpul de înjumătățire –  $t_{1/2}$ ) a compușilor fitochimici în urma tratamentului termic al extractului din pielețe din prune (Turturică și colab., 2016a)

Parametru	Temperatură°C	$k$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$	$t_{1/2}$	$E_a$ (kJ/mol)	$R^2$
PFT	70	$0,007 \pm 0,001^a$	0,97	$99,02 \pm 5,60$	$35,50 \pm 7,77$	0,88
	80	$0,009 \pm 0,001$	0,90	$77,01 \pm 3,46$		
	90	$0,01 \pm 0,005$	0,88	$69,31 \pm 4,87$		
	100	$0,014 \pm 0,003$	0,96	$49,51 \pm 2,65$		
	110	$0,029 \pm 0,007$	0,98	$23,90 \pm 3,23$		
AMT	70	$0,013 \pm 0,003$	0,98	$53,31 \pm 4,30$	$36,42 \pm 2,89$	0,98
	80	$0,017 \pm 0,001$	0,98	$40,77 \pm 4,50$		
	90	$0,022 \pm 0,007$	0,93	$31,50 \pm 3,67$		
	100	$0,034 \pm 0,006$	0,94	$20,38 \pm 2,56$		
	110	$0,049 \pm 0,008$	0,96	$14,14 \pm 2,34$		
FT	70	$0,012 \pm 0,001$	0,99	$57,76 \pm 3,90$	$17,99 \pm 1,92$	0,97
	80	$0,015 \pm 0,002$	0,95	$46,20 \pm 4,51$		
	90	$0,019 \pm 0,004$	0,81	$36,48 \pm 3,49$		
	100	$0,022 \pm 0,008$	0,80	$33,00 \pm 3,45$		
	110	$0,025 \pm 0,006$	0,80	$30,12 \pm 2,23$		
Activitatea antioxidantă	70	$0,004 \pm 0,002$	0,85	$173,28 \pm 11,23$	$47,22 \pm 5,78$	0,96
	80	$0,005 \pm 0,002$	0,88	$138,62 \pm 10,97$		
	90	$0,007 \pm 0,001$	0,93	$99,02 \pm 7,89$		
	100	$0,014 \pm 0,002$	0,96	$49,51 \pm 6,78$		
	110	$0,021 \pm 0,001$	0,97	$33,00 \pm 2,56$		

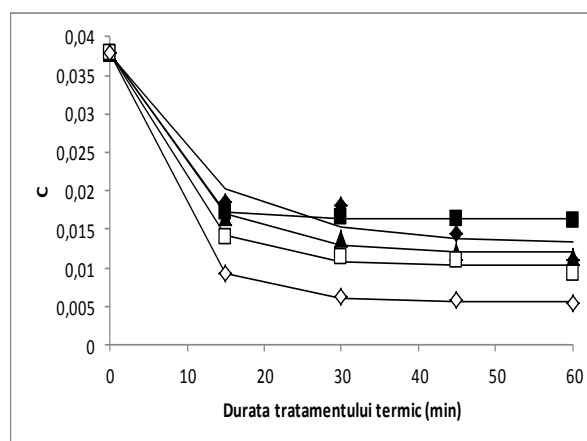
<sup>a</sup> Deviația standard

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

Cinetica de degradare termică a AMT a fost studiată și în cazul sucurilor de prune (codificate SPA, SPAc, SPG și SPAm), utilizând de asemenea un model cinetic de ordinul întâi (ec. 6.1.) (figura 6.6.). În cazul sucului codificat SNP, degradarea termică a urmat un model cinetic de degradare tip fracțional (ec. 6.6.) (figura 6.7.).



**Figura 6.6.** Degradarea izotermă a antocianilor din sucurile codificate SPA (a), SPAc (b), SPG (c) și SPAm (d) la diferite temperaturi  $\blacklozenge$  50 °C,  $\blacksquare$  70 °C,  $\blacktriangle$  90 °C,  $\square$  100 °C,  $\diamond$  110 °C și  $\triangle$  120 °C



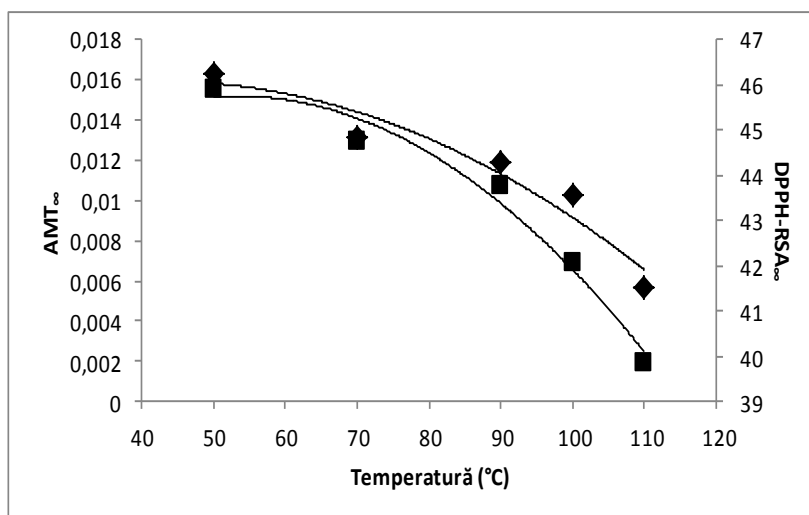
**Figura 6.7.** Degradarea izotermă a antocianilor din sucul codificat SNP la diferite temperaturi

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

◆ 50 °C, ■ 70 °C, ▲ 90 °C, □ 100 °C și ◇ 110°C. Liniile reprezintă datele predicționate care se pliază pe cele experimentale

Parametrii cinetici ce descriu degradarea termică a antocianilor din sucurile din prune analizate sunt prezentați în tabelul 6.3.

În cazul sucului SNP, utilizarea modelului cinetic prin conversie fracțională a permis predicționarea conținutului de antociani cât și a activității antioxidante după prelungirea tratamentului termic la diferite temperaturi ( $C_{\infty}$ ), indicând astfel că gradul final de degradare termică este dependent de temperatură (figura 6.9.).



**Figura 6.9.** Corelații între AMT și DPPH după prelungirea duratei tratamentului termic ( $AMT_{\infty}$ ) (în sucul codificat SNP)

Parametrii cinetici estimați în acest studiu pentru sucurile simulate din prune au evidențiat o sensibilitate crescută a antocianilor prezenți în sucul natural din prune la temperatură. Deoarece o valoare a energiei de activare ridicată indică o sensibilitate mai mare a vitezei de reacție în funcție de temperatură, antocianii din sucul SPAC par a fi mai puțin sensibili la degradare. Acest lucru indică o protecție față de degradare a antocianilor din sucul cu adaos de acid citric.



## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

**Tabelul 6.3.** Parametrii cinetici estimați (constanta vitezei de degradare –  $k$ , energia de activare  $E_a$  și timpul de înjumătățire –  $t_{1/2}$ ) ce descriu degradarea termică a antocianilor din sucurile simulate și sucul natural de prune

Matrice (cod)	Temperatură °C	$k \cdot 10^2 (min^{-1})$	$R^2$	$t_{1/2} (h)$	$E_a (kJ/mol)$	$R^2$
SPA	50	$0,18 \pm 0,01^a$	0,99	$6,27 \pm 1,15$	$42,40 \pm 6,87$	0,90
	70	$0,23 \pm 0,02$	0,85	$5,01 \pm 0,57$		
	90	$0,52 \pm 0,05$	0,94	$2,18 \pm 0,23$		
	100	$0,87 \pm 0,11$	0,85	$1,32 \pm 0,10$		
	110	$1,08 \pm 0,07$	0,98	$1,06 \pm 0,16$		
	120	$2,87 \pm 0,47$	0,94	$0,40 \pm 0,02$		
SPAc	50	$0,04 \pm 0,01$	0,75	$25,08 \pm 1,28$	$40,0 \pm 4,25$	0,99
	70	$0,11 \pm 0,01$	0,97	$10,03 \pm 0,98$		
	90	$0,23 \pm 0,02$	0,87	$5,01 \pm 0,57$		
	100	$0,34 \pm 0,05$	0,76	$3,34 \pm 1,04$		
	110	$0,46 \pm 0,04$	0,89	$2,50 \pm 0,69$		
	120	$1,17 \pm 0,11$	0,9	$0,98 \pm 0,15$		
SPG	50	$0,36 \pm 0,01^a$	0,93	$3,13 \pm 0,15$	$23,03 \pm 3,53$	0,91
	70	$0,46 \pm 0,08$	0,92	$2,50 \pm 0,15$		
	90	$0,59 \pm 0,11$	0,85	$1,92 \pm 0,10$		
	100	$1,05 \pm 0,12$	0,96	$1,09 \pm 0,09$		
	110	$1,35 \pm 0,17$	0,93	$0,85 \pm 0,06$		
	120	$1,54 \pm 0,12$	0,88	$0,74 \pm 0,09$		
SPAm	50	$0,11 \pm 0,08^a$	0,74	$10,03 \pm 0,38$	$35,99 \pm 3,60$	0,96
	70	$0,34 \pm 0,07$	0,83	$3,34 \pm 0,16$		
	90	$0,57 \pm 0,05$	0,91	$2,00 \pm 0,23$		
	100	$1,03 \pm 0,12$	0,96	$1,11 \pm 0,09$		
	110	$1,10 \pm 0,14$	0,93	$1,04 \pm 0,08$		
	120	$1,17 \pm 0,25$	0,96	$0,98 \pm 0,04$		
SNP	50	$8,21 \pm 3,49$	0,96	$0,14 \pm 0,003$	$14,19 \pm 2,39$	0,92
	70	$10,93 \pm 1,69$	0,99	$0,10 \pm 0,006$		
	90	$13,04 \pm 1,39$	0,99	$0,08 \pm 0,001$		
	100	$14,64 \pm 2,09$	0,99	$0,07 \pm 0,005$		
	110	$20,92 \pm 0,50$	0,99	$0,05 \pm 0,002$		

<sup>a</sup>Deviația standard

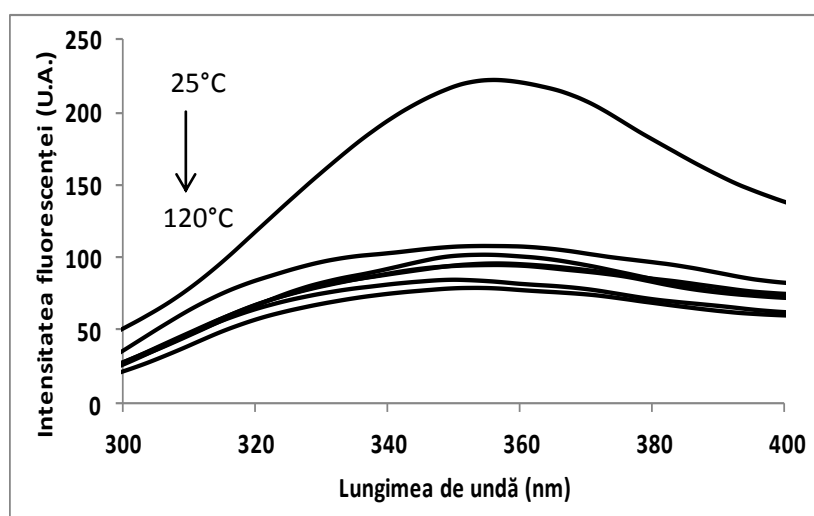
### 6.3.2. Stabilitatea chimică și cinetica de degradare termică a compușilor bioactivi în matrici derivate din cireșe

#### 6.3.2.1. Influența tratamentului termic asupra proprietăților spectrale ale compușilor biologic activi din pielile de cireșe

În mod similar, pentru evidențierea proprietăților structurale ale compușilor polifenolici din pielile de cireșe, au fost realizate studii combinate care au vizat influența tratamentului termic asupra proprietăților spectrale și concentrației în compuși biologic activi, pe baze cinetice.

Într-o primă etapă, studiile s-au axat pe evaluarea proprietăților fluorescente ale extractului din pielile de cireșe și evaluarea efectului tratamentului termic, la diferite temperaturi, timp de 30 minute (figura 6.10).

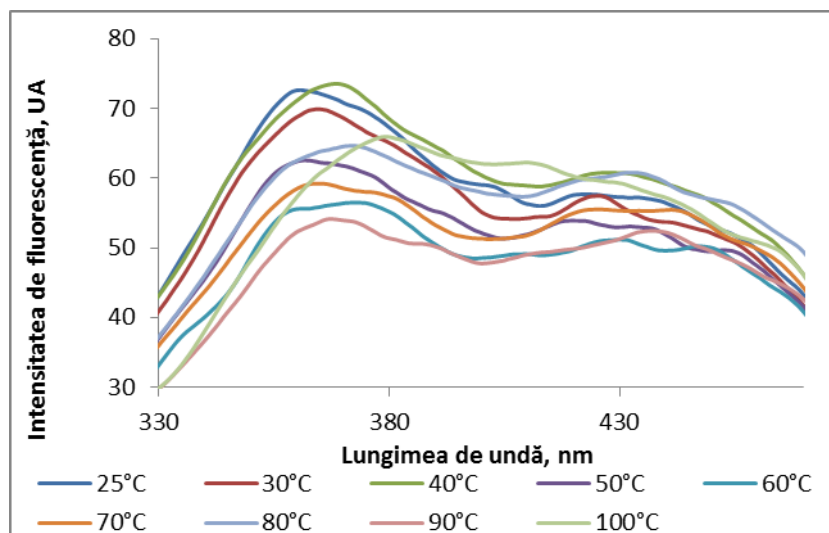
Din figura 6.10. se poate observa că extractul din pielile de cireșe a prezentat spectre bine definite, cu o valoare de maxim la lungimea de undă de 356 nm. Aceste benzi sugerează prezența a cel puțin două specii moleculare fluorescente.



**Figura 6.10.** Spectrele de fluorescență ale antocianilor prezenți în extractul din pielile de cireșe la diferite temperaturi de menținere (excitare la  $\lambda=250$  nm; emisie  $\lambda=270$  nm – 600 nm) (Turturică și colab., 2016b)

Figura 6.10. ilustrează spectrele de fluorescență a extractului din pielile de cireșe tratat termic în intervalul 25 – 120°C obținute prin excitație la lungimea de undă  $\lambda=250$  nm. Tratatând termic extractul din pielile de cireșe (figura 6.10.) au fost evidențiate modificări structurale care au condus la o scădere a intensității fluorescenței. Maximumul intensității fluorescenței ( $\lambda_{\max}$ ) a variat între 356 nm, la temperatura de 25°C, și 353 nm, la temperatura de 70°C. O creștere a temperaturii a condus la apariția unui red-shift la temperaturile 90°C și 100°C (la  $\lambda_{\max}=356$  nm.), urmată de apariția unui blue-shift de 6 nm la temperatura de 110°C ( $\lambda=350$  nm) și un red-shift de 4 nm, la temperatura de 120°C. Variații ale  $\lambda_{\max}$  indică modificări structurale ale antocianilor, modificări induse de tratamentul termic.

A doua etapă a constat în evaluarea proprietăților fluorescente ale sucului natural din cireșe și evaluarea efectului tratamentului termic, la diferite temperaturi, timp de 30 minute (figura 6.11).



**Figura 6.11.** Spectrele de fluorescență ale sucului natural de cireșe la diferite temperaturi după excitarea la  $\lambda=250$  nm, iar emisia a fost colectată între  $\lambda=270$  nm – 480 nm

Din figura 6.11. se poate observa că sucul natural din cireșe a prezentat spectre bine definite, cu două valori de maxim, unul la o lungime de undă de 368,5 nm, de intensitate mai mare, și cel de al doilea la 428 nm de intensitate de mică. Cele două peak-uri sugerează prezența a cel puțin două specii moleculare fluorescente.

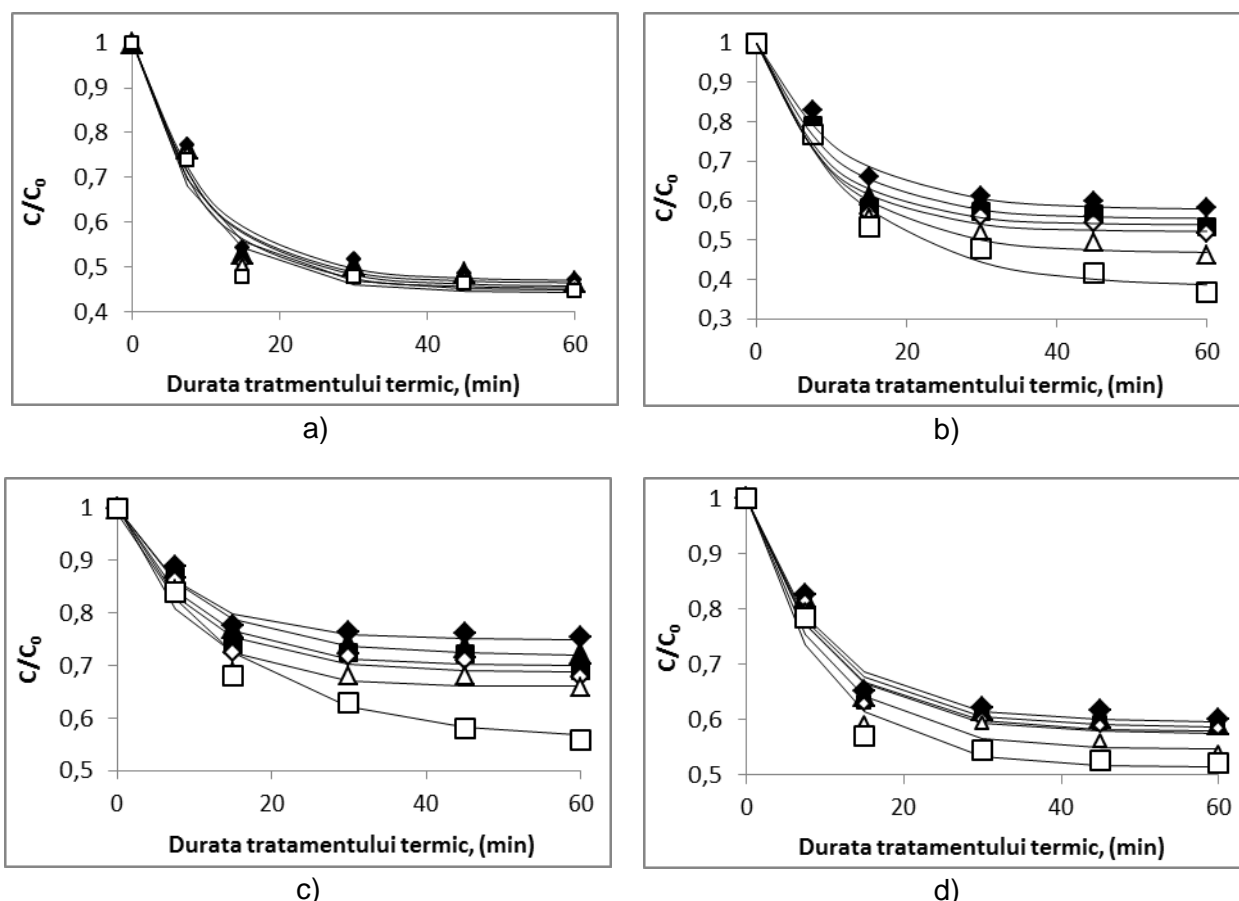
### **6.3.2.2. Stabilitatea chimică și cinetica de degradare termică a compușilor biologic activi din extractul din pielețe de cireșe și sucul natural de cireșe**

Modificările induse prin tratament termic în condițiile creșterii duratei tratamentului termic până la 60 minute, determină o reducere a conținutului de AMT cu 46% în intervalul 70-90°C și respectiv între 47% și 63%, până la 100-120°C, atunci când rezultatele sunt comparate cu extractul netratat termic (figura 6.14. b).

Modificările induse prin tratament termic în cazul conținutului de FT în extractul din pielețe de cireșe sunt prezentate în figura 6.14(c). Valorile obținute pentru FT au demonstrat un trend similar în domeniul de temperatură studiat. Cu toate acestea, s-a observat o scădere cantitativă, cuprinsă între 39% și 48%, prin tratament în domeniul de temperaturi 50 - 120°C după un tratament termic de 60 min. În domeniul de temperaturi 50-100°C s-a înregistrat o scădere de 22 - 27% a activității antioxidante (DPPH RSA), după o durată a tratamentului termic de până la 15 min (figura 6.14. d). Viteza de degradare crește odată cu mărirea duratei tratamentului termic. Acest lucru se poate datora pierderii sau degradării anumitor tipuri de compuși fenolici sau a altor compuși responsabili de activitatea antioxidantă în timpul tratamentului termic.

Tratamentul termic a indus o scădere a conținutului în PFT, în întregul interval de temperatură studiat, după cum urmează: pornind de la 28%, după 5 min de tratament, la temperatura de 50°C și până la 56% după 60 min la temperatura de 120°C (figura 6.14.a).

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare



**Figura 6.14.** Degradarea izotermă a PFT (a), AMT (b), FT (c) și DPPH RSC (d) în extractul din pielețe de cireșe la diferite temperaturi (◆ 70°C, ▲ 80°C, ■ 90°C, ◇ 100°C și △ 110°C) (Turturică și colab., 2016b)

Modificările induse de tratamentul termic asupra PFT, AMT, FT și a DPPH RSA au fost descrise în funcție de viteza de degradare termică ( $\text{min}^{-1}$ ) și energia de degradare ( $E_a$ ). Pentru AMT, valoarea lui  $k$  a fost de 1,4 ori mai mare, prin tratament la temperatura de 120°C, sugerând o termostabilitate scăzută a antocianilor la temperaturi ridicate. Constantele de degradare în cazul FT nu au suferit modificări semnificative în domeniul de temperatură studiat. Valorile lui  $k$  ce corespund DPPH RSA cresc odată cu creșterea temperaturii.

Astfel, pe baza valorilor lui  $k$  se poate afirma că cei mai termolabili compuși din extractul din pielețe de cireșe românești sunt antocianii, pe când cei mai termostabili sunt flavonoidele. Tratamentul termic conduce la o scădere a conținutului de antociani și a conținutului de compuși polifenolici, având un impact negativ asupra activității antioxidante. Procesul de degradare a antocianilor monomerici se datorează oxidării, ruperii legăturilor covalente sau grăbirea reacțiilor de oxidare datorită procesării termice.

După cum se poate observa în tabelul 6.6., în urma prelungirii duratei tratamentului termic la diferite temperaturi ( $C^\infty$ ), se confirmă faptul că modificarea conținutului fitochimic și a capacității antioxidante este dependentă de temperatură.

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

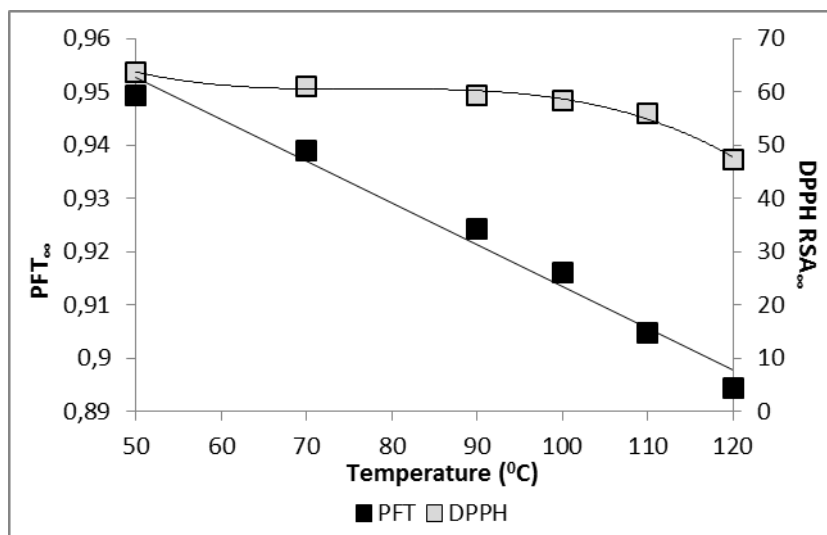
**Tabelul 6.6.** Parametrii cinetici estimați (constanta vitezei de degradare –  $k$ , energia de activare  $E_a$  și timpul de înjumătățire –  $t_{1/2}$ ) ce descriu degradarea termică a compușilor bioactivi și a activității antioxidante din extractul din pielțe de cireșe (*Turturică și colab., 2016b*)

Compuși	Temperatura °C	$k \cdot 10^2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$t_{1/2}$	$C_\infty$	$E_a$ (kJ/mol)	$R^2$
PFT	50	$9,86 \pm 2,12^a$	$7,02 \pm 0,63$	$0,94 \pm 0,05$	$1,95 \pm 0,39$	0,86
	70	$10,14 \pm 2,27$	$6,83 \pm 0,97$	$0,93 \pm 0,05$		
	90	$10,27 \pm 2,17$	$6,74 \pm 1,02$	$0,92 \pm 0,05$		
	100	$10,74 \pm 2,48$	$6,45 \pm 0,63$	$0,91 \pm 0,06$		
	110	$10,76 \pm 2,52$	$6,44 \pm 0,46$	$0,90 \pm 0,06$		
	120	$11,41 \pm 2,92$	$6,07 \pm 0,53$	$0,89 \pm 0,06$		
AMT	50	$7,56 \pm 1,64$	$9,16 \pm 1,23$	$0,10 \pm 0,003$	$5,35 \pm 0,58$	0,95
	70	$9,00 \pm 2,58$	$7,70 \pm 1,09$	$0,10 \pm 0,005$		
	90	$9,26 \pm 2,68$	$7,48 \pm 0,98$	$0,09 \pm 0,004$		
	100	$9,89 \pm 2,64$	$7,00 \pm 0,75$	$0,09 \pm 0,005$		
	110	$10,80 \pm 1,95$	$6,41 \pm 0,58$	$0,08 \pm 0,005$		
	120	$10,87 \pm 1,57$	$6,37 \pm 1,37$	$0,06 \pm 0,006$		
FT	50	$10,02 \pm 2,12$	$6,91 \pm 1,97$	$1,52 \pm 0,05$	$0,62 \pm 0,06$	0,96
	70	$10,10 \pm 2,16$	$6,86 \pm 0,88$	$1,49 \pm 0,05$		
	90	$10,20 \pm 2,25$	$6,79 \pm 0,79$	$1,47 \pm 0,05$		
	100	$10,29 \pm 2,21$	$6,73 \pm 1,04$	$1,46 \pm 0,05$		
	110	$10,37 \pm 2,57$	$6,68 \pm 0,94$	$1,39 \pm 0,06$		
	120	$10,44 \pm 2,31$	$6,63 \pm 0,73$	$1,30 \pm 0,06$		
DPPH RSA	50	$6,31 \pm 2,42$	$10,98 \pm 1,23$	$63,58 \pm 1,15$	$8,56 \pm 1,42$	0,90
	70	$9,27 \pm 1,76$	$7,47 \pm 0,71$	$61,13 \pm 1,14$		
	90	$9,98 \pm 2,46$	$6,94 \pm 0,65$	$59,34 \pm 1,54$		
	100	$10,29 \pm 2,63$	$6,73 \pm 0,57$	$58,45 \pm 1,64$		
	110	$10,65 \pm 2,83$	$6,50 \pm 0,43$	$56,04 \pm 1,73$		
	120	$12,13 \pm 2,84$	$5,71 \pm 0,56$	$47,36 \pm 4,90$		

<sup>a</sup> Deviația standard

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

Activitatea antioxidantă (figura 6.15.) în acest caz se poate datora prezenței polifenolilor rămași în formă legată.

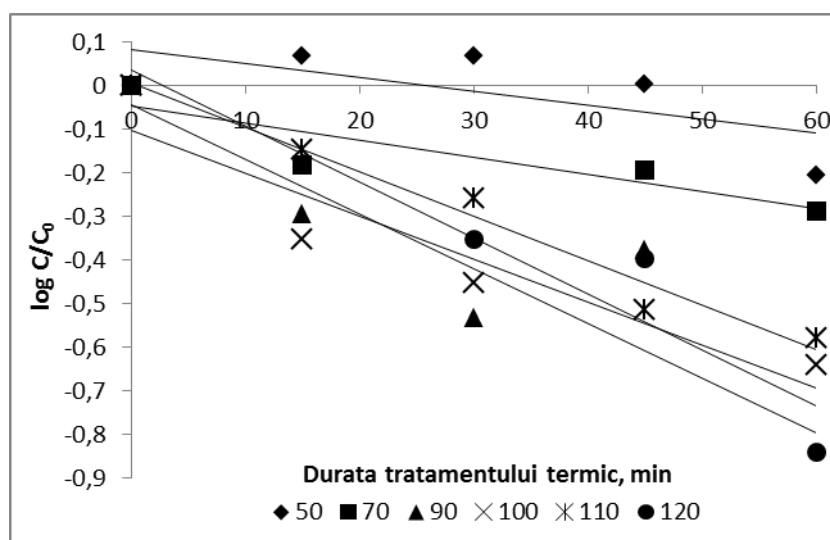


**Figura 6.15.** Corelațiile dintre PFT după prelungirea duratei tratamentului termic ( $PFT_{\infty}$ ) și activitatea antioxidantă corespondentă ( $DPPH\ RSA_{\infty}$ ) (Turturică și colab., 2016b)

Valorile obținute ale  $E_a$  sunt mult mai mici comparativ cu cele raportate în literatura de specialitate, valori ce semnifică o stabilitate termică a compușilor fitochimici în timpul procesării termice a extractelor din pielețe de cireșe.

În urma studierii comportamentul cinetic al degradării termice a extractelor din pielețe de cireșe românești s-a observat că parametrii cinetici indică o sensibilitate termică crescută în cazul conținutului de antociani monomerici și a activității antioxidante, comparativ cu conținutul de polifenoli totali și de flavonoide.

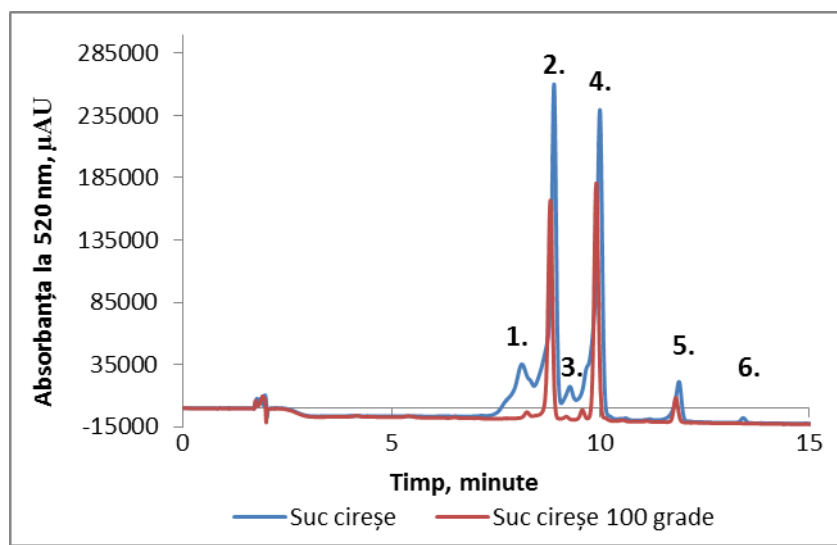
În figura 6.16. sunt prezentate curbele de degradare ale antocianilor din suc natural din cireșe prin tratament termic la temperaturi între 50-120°C. Se poate observa un proces de degradare rapidă, urmând un model cinetic de ordinul I.



**Figura 6.16.** Cinetica de degradare termică a sucului natural din cireșe la diferite temperaturi ( $C$  este concentrația sucului la timpul  $t$ ,  $C_0$  este concentrația inițială a sucului)

## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

Analiza cromatografică a sucului natural de cireșe netratat termic (figura 6.17.) a evidențiat prezența a șase peak-uri corespunzând următorilor șapte antociani: cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid (peak-ul 1 – 0,393 mg/mL), cianidin 3-rutinozid (peak-ul 2 – 0,124 mg/mL), peonidin 3-glucozid (peak-ul 3 – 0,009 mg/mL), peonidin 3-rutinozid (peak-ul 4 – 0,116 mg/mL), peak-ul 5 (nedeterminat - 0,006 mg/mL) și peak-ul 6 (nedeterminat – sub formă de urme). Cromatograma sucului de cireșe tratat termic (figura 6.17.) a evidențiat prezența a șase antociani: cianidin 3-rutinozid (peak-ul 2 – 0,527 mg/mL), peonidin 3-rutinozid (peak-ul 4 – 0,565 mg/mL) și peak-ul 5 (nedeterminat - 0,0004 mg/mL) trei dintre ei regăsindu-se sub formă de urme.



**Figura 6.17.** Profilul cromatografic al antocianilor din suc natural de cireșe tratat și netratat termic. Peak-urile fiind reprezentate de: (1) cianidin 3-xilozid și cianidin 3-glucozid; (2) cianidin 3-rutinozid; (3) peonidin 3-glucozid, (4) peonidin 3-rutinozid, (5) și (6) nedeterminați

În urma tratamentului termic aplicat sucului natural din cireșe, rezultatele obținute în cazul conținutului de polifenoli totali nu s-au putut modela cu ajutorul nici unui model matematic. După cum se poate observa în tabelul 6.7. conținutul de polifenoli totali a înregistrat o creștere în intervalul de temperatură studiat.

**Tabelul 6.7.** Variația cantitativă a polifenolilor totali (mg AG/mL) din suc natural din cireșe (SNC) în timpul tratamentului termic

T/t	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min
25°C	0,94±0,021	0,94±0,021	0,94±0,021	0,94±0,021	0,94±0,021
50°C	0,94±0,021	1,28±0,006	1,26±0,097	1,21±0,032	1,18±0,058
70°C	0,94±0,021	1,27±0,091	1,21±0,078	1,19±0,065	1,1±0,052
90°C	0,94±0,021	1,22±0,019	1,2±0,071	1,18±0,013	1,09±0,039
100°C	0,94±0,021	1,21±0,084	1,15±0,006	1,11±0,039	1,08±0,052
110°C	0,94±0,021	1,18±0,058	1,12±0,039	1,11±0,006	1,06±0,071
120°C	0,94±0,021	1,12±0,032	1,1±0,019	1,07±0,019	1,04±0,006

Același comportament se poate observa și în cazul flavonoidelor din suc natural din cireșe tratat termic. Comportamentul acestor compuși nu se încadrează în nici un model cinetic, deoarece s-a observat o creștere a conținutului de flavonoide totale în urma tratamentului



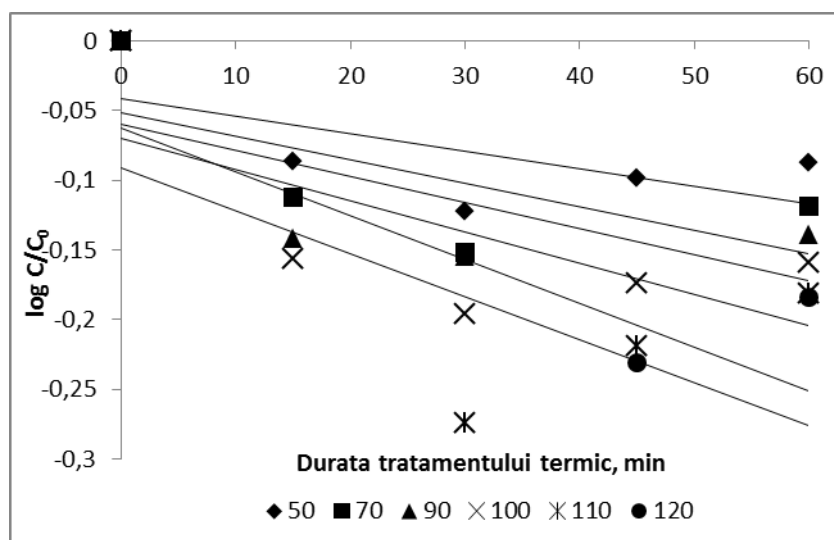
## Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare

termic în intervalul 50-70°C. În schimb, prin tratamentul termic la temperaturi mai mari de 90°C se observă o diminuare a conținutului de flavonoide (tabel 6.8).

**Tabelul 6.8.** Variația cantitativă flavonoidelor (mg EC/mL) din suc natural din cireșe (SNC) în timpul tratamentului termic

T/t	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min
25°C	0,63±0,080	0,63±0,080	0,63±0,080	0,63±0,08	0,63±0,080
50°C	0,63±0,080	0,68±0,004	0,66±0,023	0,65±0,03	0,60±0,061
70°C	0,63±0,080	0,68±0,011	0,65±0,011	0,61±0,015	0,59±0,019
90°C	0,63±0,080	0,61±0,004	0,57±0,084	0,56±0,069	0,48±0,034
100°C	0,63±0,080	0,53±0,034	0,51±0,072	0,48±0,110	0,42±0,100
110°C	0,63±0,080	0,52±0,038	0,51±0,091	0,46±0,011	0,41±0,023
120°C	0,63±0,080	0,51±0,046	0,47±0,004	0,44±0,061	0,39±0,053

În figura 6.18. sunt prezentate curbele de degradare termică a activității antioxidante din suc natural din cireșe la diferite temperaturi.



**Figura 6.18.** Cinetica de degradare termică a activității antioxidante a sucului natural din cireșe la diferite temperaturi (C este concentrația sucului la timpul t, C₀ este concentrația inițială a sucului)

Conform modelului cinetic de ordin I, viteza de degradare (k) a activității antioxidante (DPPH RSA), prezintă valori mai mari la temperatura de 120°C, comparativ cu cea înregistrată la temperatura de 50°C. Energia de activare calculată prezintă valori reduse comparativ cu datele similare din literatura de specialitate. Această valoare indică o termostabilitate crescută în cazul activității antioxidante.

### 6.4. Concluzii parțiale

1. Studiul realizat a urmărit investigarea stabilității la temperatură a compușilor biologic activi din diferite sucuri din prune simulate și suc natural utilizând spectroscopia de fluorescență, analiza cromatografică și modelarea cineticii de degradare termică.

## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

2. Indiferent de complexitatea matricei studiate, tratamentul termic induce modificări semnificative ale intensității fluorescenței, fapt ce denotă degradarea acestor compuși biologic activi.
3. În urma tratamentului termic la temperatura de 100°C, timp de 20 de minute, conținutul de antociani scade după cum urmează: în sucul cu adaos de apă, concentrația de antociani scade cu aproximativ 22-25%, în timp ce în sucul cu adaos de acid citric, concentrația de cianidin 3-glucozid scade cu aproximativ 17% comparativ cu ceilalți trei antociani, care se degradează în proporție mult mai mare de 45%.
4. În sucul natural din prune în urma tratamentului termic la 100°C, timp de 20 de minute, a fost evidențiată prezența a 4 antociani: cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid, cianidin 3-rutinozid și peonidin 3-rutinozid. În cazul antocianilor cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid, cianidin 3-rutinozid și peonidin 3-rutinozid, gradul de degradare a fost de 91,67%, 96,52% și respectiv de 91,22%.
5. Valoarea activității antioxidante a sucurilor testate: suc cu adaos de apă, suc cu adaos de acid citric, suc cu adaos de glucide, tratate termic la temperatura de 50°C timp de 15 minute a fost după cum urmează: 83,14%, 39,70% și 45,02%, creșterea valorii activității antioxidante datorându-se degradării antocianilor în floroglucinaldehidă și acid protocatehuic, ultimul prezentând cea mai mare activitate antioxidantă.
6. După 5 minute de tratament termic, procesul de degradare a conținutului de antociani monomerici totali pornește și se intensifică rapid, cu o scădere rapidă a conținutului la 47% la temperatura de 70°C și respectiv 91%, la temperatura de 110°C, după o durată a tratamentului termic de 20 de minute.
7. Timpii de înjumătățire necesari pentru a degrada 50% din conținutul de antociani monomerici totali la temperaturile de 70°C, 80°C, 90°C, 100°C și 110°C au fost de 21,31 minute, 17,87 minute, 14,53 minute, 12,13 minute și respectiv 11,00 minute.
8. Din punct de vedere cinetic, în urma tratamentului termic, antocianii din extractul din pielețe de prune se degradează după un model cinetic de ordinul I.
9. Valoarea estimată a energiei de activare în cazul extractului din pielețe de prune a fost de  $E_a = 47,22 \pm 5,78$  kJ/mol, și a indicat că activitatea antioxidantă prezintă cea mai mare dependență de temperatură. În cazul compușilor bioactivi, valorile  $E_a$  calculate au fost de:  $36,42 \pm 2,89$  kJ/mol, pentru antociani,  $35,50 \pm 7,77$  kJ/mol, pentru polifenoli totali și  $17,99 \pm 1,98$  kJ/mol, pentru flavonoide.
10. Degradarea termică a antocianilor din extractul din pielețe de prune, cât și în sucurile simulate, a fost descrisă cu un model cinetic de ordinul întâi și de un model cinetic tip conversie fracțională, în cazul sucului natural de prune.
11. Valorile parametrilor cinetici calculați indică o sensibilitate crescută la temperatură a antocianilor din sucul natural de prune. Degradarea antocianilor, în prezența acidului citric, este mai redusă la valori ridicate ale temperaturii decât în cazul celorlalte sucuri, deoarece adaosul de acid citric are un efect protector asupra antocianilor.
12. Efectul stabilizator evidențiat prin adaosul de glucide, în urma tratamentului termic, a fost pus în evidență prin cromatografie HPLC. Astfel, în cazul sucului cu adaos de glucide s-au putut identifica cinci antociani: cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid (0,003 mg/mL), cianidin 3-rutinozid (0,099 mg/mL), peonidin 3-glucozid (sub formă de urme) și peonidin

## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

3-rutinozid (0,064 mg/mL), pe când în cazul sucului cu adaos de apă, s-au evidențiat patru antociani, iar în cazul sucului cu adaos de acid citric, doar doi compuși.

13. Degradarea termică a antocianilor din extractul obținut din pielițe de cireșe a fost modelată aplicând modelul cinetic tip conversie fracțională, iar din sucul natural de cireșe a urmat un model cinetic de ordinul I.
14. În cazul extractului din pielițe de cireșe tratat termic, s-a observat că activitatea antioxidantă prezintă cea mai mare dependență de temperatură ( $E_a = 8,56 \pm 1,42$  kJ/mol), iar cea mai redusă dependență de temperatură a fost evidențiată în cazul flavonoidelor ( $E_a = 0,62 \pm 0,06$  kJ/mol).
15. Efectul tratamentului termic asupra conținutului total de antociani din sucul natural de cireșe a fost descris de un model cinetic ordinul întâi, în timp ce valorile obținute în urma procesului de degradare a polifenolilor și flavonoidelor, din sucul natural de cireșe, nu a putut fi asociat niciunui model matematic.
16. Cu ajutorul cromatografiei HPLC s-a evidențiat că trei dintre antociani se regăsesc doar sub formă de urme, iar compusul cianidin 3-xilozid/cianidin 3-glucozid s-a degradat complet, prin tratament termic. Astfel, se poate afirma că un tratament termic în intervalul de temperaturi 70-90°C, timp de 30 de minute, poate facilita extracția compușilor bioactivi din pielea de cireșe, iar o durată mai îndelungată a tratamentului termic la valori de temperatură ridicate pot exercita un efect distructiv asupra acestor compuși.
17. Conform modelului cinetic de ordin I, viteza de degradare ( $k$ ) a activității antioxidante la sucul natural de cireșe, prezintă valori de  $2,81 \pm 0,019 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ , la temperatura de 120°C, comparativ cu  $0,37 \pm 0,04 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ , la temperatura de 50°C, având o energie de activare de  $E_a = 29,02 \pm 3,43$  kJ/mol.
18. Înțelegerea detaliată și completă a stabilității biochimice a antocianilor și a compușilor polifenolici din surse vegetale rămâne încă dificilă, din cauza structurii chimice și complexe pe care le formează cu alți compuși chimici din diferite matrici.
19. Rezultatele obținute sunt date de referință pentru cercetările viitoare, referitoare la înțelegerea modificărilor ce au loc la nivelul structurii compușilor bioactivi în timpul procesării, pentru a obține produse de calitate.

## **7. Concluzii generale**

Teza de doctorat a vizat studiul compușilor polifenolici din fructe (prune și cireșe), din perspectiva caracterizării chimice și biochimice dar și a stabilității în matrici naturale și în sisteme alimentare, precum și evaluarea comportamentului cinetic și molecular în condiții similare cu cele de procesare. Pe baza rezultatelor experimentale obținute și a concluziilor parțiale prezentate la finalul fiecărui capitol din partea experimentală, sunt evidențiate sumativ o serie de concluzii generale, după cum urmează:

- Fructele studiate din soiuri românești, prune (*Prunus domestica* var. *Vanette*) și cireșe (*Prunus avium* var. *Urișă de Bistrița*), sunt bogate în compuși fenolici cu potențial fiziologic deosebit. Este important ca activitatea fiziologică a acestor compuși să se mențină și după separarea din matricea naturală sau după procesare. Astfel, cunoașterea potențialului bioactiv și mai ales conservarea acestuia pe parcursul procesării prezintă o importanță deosebită pentru calitatea produselor comerciale derivate din fructe.
- Extracția și caracterizarea compușilor fenolici bioactivi din pielețele de fructe studiate au demonstrat potențialul acestora de a fi utilizate ca resurse naturale cu impact deosebit asupra calității vieții. Prin conținutul ridicat de compuși polifenolici (în principal flavonoide și antociani) și activitatea antioxidantă, prunele și cireșele autohtone pot concura cu fructele consacrate, și trebuie mai mult promovate în acest sens, prin publicații, brevete și produse comerciale derivate ce trebuie să aibă un impact mai mare pe piață.
- Pentru a demonstra stabilitatea compușilor bioactivi din prune și cireșe în matricea naturală și în diferite sisteme simulate cu cele alimentare, s-au utilizat metode moderne de investigare precum spectroscopia de fluorescență și cromatografia lichidă de înaltă performanță, prin care s-au monitorizat modificările structurale și s-a demonstrat că au loc o serie de transformări moleculare ce includ în cazul antocianilor o serie de procese de deglicozilare și clivare, subliniind astfel prezența mai multor specii moleculare sensibile la transformări induse prin variația pH-ului și a temperaturii.
- Adaosul unor aditivi, precum acid citric, glucoză și fructoză, poate contribui la creșterea stabilității conținutului de compuși biologic activi, în principal a antocianilor monomerici. Astfel, s-a demonstrat că degradarea antocianilor în prezența acidului citric este mult mai lentă, acesta exercitând un efect protector. Efectul stabilizator indus prin adaosul de glucide poate fi explicat prin reducerea activității apei, fapt demonstrat și de literatura de specialitate, unele studii raportând că activitatea apei influențează stabilitatea antocianilor.
- Procesarea fructelor poate influența substanțial stabilitatea compușilor bioactivi și calitatea funcțională a produselor obținute. Astfel, s-a demonstrat că polifenolii bioactivi studiați, în special antocianii au cea mai mare stabilitate în medii cu pH acid. La valoarea de pH 4,0 acești compuși prezintă cea mai mare stabilitate, regăsindu-se sub toate cele patru forme: cation flavilium, bază chinoidală, chalconă și pseudobază. Degradarea termică a antocianilor extrași din matrici naturale și în sisteme cu compoziție simulată respectă modelul cinetic de ordinul întâi și modelul prin conversie fracționată, corelat cu compoziția chimică a mediului în care se află compusul bioactiv.

## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

- Pentru a analiza modificările compușilor bioactivi în diferite condiții de pH și de temperatură au fost evaluați o serie de parametri cinetici specifici, pentru cele două tipuri de modele identificate, în vederea validării modelelor. Valorile obținute pentru energia de activare au demonstrat faptul că antocianii prezintă o termostabilitate ridicată în domeniul de temperaturi 50...120°C. Totodată, tratamentul termic la temperaturi cuprinse între 50...120°C poate conduce la o creștere a extractabilității compușilor polifenolici și a flavonoidelor în mediul de reacție. Procesul de degradare termică se intensifică odată cu creșterea temperaturii cât și a duratei tratamentului termic, astfel încât cel mai mare grad de degradare a fost observat după 20 minute de tratament, la temperatura de 110°C.
- Datele obținute sunt importante pentru procesorii de fructe în vederea stabilirii parametrilor tehnologici care să garanteze calitatea produselor finite și valoarea nutritivă și funcțională a acestora.
- Deși numeroși specialiști studiază în prezent comportamentul structural și funcțional al compușilor bioactivi din surse vegetale, sub formă complexă sau în combinație cu alți compuși naturali, care au o largă variabilitate în funcție de specie, caracter genetic, areal geografic etc. Totodată clarificarea acestor aspecte necesită studii aprofundate datorită diversității matricilor naturale dar și a caracteristicilor structurale și compoziționale.

### **8. Contribuții originale și perspective de continuare a cercetărilor**

Contribuțiile originale ale tezei de doctorat derivă din următoarele aspecte:

1. S-a analizat compoziția în compuși biologic activi și activitatea antioxidantă a două categorii de fructe autohtone, prune și cireșe, cu importanță majoră pentru sănătate și calitatea vieții. Originalitatea derivă din faptul că până în prezent în țara noastră nu au mai fost caracterizate aceste soiuri.
2. S-a utilizat analiza spectrofluorimetrică pentru evaluarea comportamentului molecular al compușilor polifenolici din pielea prunelor și cireșelor, soiuri românești, și studiul parametrilor cinetici de degradare în perspectiva corelației structură-funcție-proces, în vederea menținerii proprietăților biochimice în produsele finite procesate. Această tehnică, deși puțin utilizată până în prezent, în evaluări de acest tip oferă numeroase avantaje precum: rapiditate, reproductibilitate și eficiență economică.
3. S-a demonstrat efectul condițiilor de procesare asupra proprietăților bioactive ale compușilor fenolici și s-au elaborat recomandări practice pentru operarea în condiții de pH, temperatură și timp, astfel încât să se mențină din punct de vedere cantitativ și calitativ potențialul bioactiv al compușilor fenolici, în principal al antocianilor, în produsele comerciale derivate din fructe.
4. Datele obținute au importanță aplicativă dar totodată și valoare științifică, contribuind la dezvoltarea cunoștințelor fundamentale privind biochimia compușilor fenolici *in vitro*, pentru intensificarea valorii funcționale *in vivo*.

În perspectivă, studii similare pot fi dezvoltate pentru alte resurse vegetale insuficient studiate până în prezent, cu beneficii majore pentru creșterea calității vieții. De asemenea, pot fi dezvoltate studii de modelare cinetică atât în medii simulate cât și în matrici alimentare cu

compoziție simplificată sau complexă.

Aceste studii vor contribui totodată la creșterea nivelului de cunoaștere atât în domeniul biotehnologiei cât și în domeniul științei și ingineriei alimentelor și a nutriției, deopotrivă pentru procesatori și consumatori, cu impact major în domeniile strategice de cercetare, dezvoltare și inovare promovate în prezent în bioeconomie și sănătate.

## **9. Diseminarea rezultatelor cercetărilor**

Diseminarea rezultatelor cercetărilor efectuate pe întreaga durată a studiilor doctorale s-au concretizat în următoarele lucrări științifice publicate sau comunicate la conferințe naționale și internaționale după cum urmează:

### **A. Articole publicate în reviste cotate ISI**

1. **Turturică, Mihaela**, Stănciuc, Nicoleta, Râpeanu, Gabriela, 2017. *Thermal degradation of plum anthocyanins: comparasion of kinetics from simple to natural systems*. Submis la revista Chemical Papers, CHPA-D-16-00290.
2. **Turturică, Mihaela**, Stănciuc, Nicoleta, Bahrim, Gabriela, Râpeanu, Gabriela, 2016. *Effect of thermal treatment on phenolic compounds from plum (*Prunus domestica*) extracts – A kinetic study*. Journal of Food Engineering, 171, 200-207. Factor de impact: 3,199.
3. **Turturică, Mihaela**, Stănciuc, Nicoleta, Bahrim, Gabriela, Râpeanu, Gabriela, 2016. *Investigations on Sweet Cherry Phenolic Degradation During Thermal Treatment Based on Fluorescence Spectroscopy and Inactivation Kinetics*. Food and Bioprocess Technology, 9(10): 1706-1715. Factor de impact: 2,574.

### **B. Articole publicate în reviste indexate în baze de date internaționale**

1. **Turturică, Mihaela**, Oancea, Ana Maria, Râpeanu, Gabriela, Bahrim, Gabriela, 2015. *Anthocyanins: naturally occuring fruit pigments with functional properties*. The Annals Of The University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI – Food Technology, 39(1), 9-24.

### **C. Lucrări comunicate la manifestări științifice internaționale**

1. **Turturică Mihaela**, Stănciuc Nicoleta, Bahrim Gabriela, Râpeanu Gabriela, 2016. *Thermal stability of anthocyanins from red plums (*Prunus domestica*)*, 18th IUFoST – "World Congress of Food Science and Technology", 21 - 25 August, Dublin, Irlanda.
2. **Turturică Mihaela**, Stănciuc Nicoleta, Bahrim Gabriela, Râpeanu Gabriela, 2016. *Characterisation and thermal degradation of anthocyanins from red plums*, 8th Congress Pigments in Food "Coloured food for health benefits", 28 Iunie – 1 Iulie, Cluj-Napoca, România.
3. **Turturică Mihaela**, Stănciuc Nicoleta, Bahrim Gabriela, Râpeanu Gabriela, 2016. *Thermal degradation kinetics of anthocyanins extracted from sweet cherries*, 8th Congress Pigments in Food "Coloured food for health benefits", 28 Iunie – 1 Iulie, Cluj-Napoca, România.



## **Comportamentul cinetic în timpul procesării al antocianilor din fructe în sisteme model și alimentare**

---

4. **Turturică Mihaela**, Stănciuc Nicoleta, Bahrim Gabriela, Râpeanu Gabriela, 2016. *Degradation of phenolic compounds from cherries during thermal treatment - a kinetic study*, European Biotechnology Congress, 5 – 7 mai, Riga, Latvia.
5. **Turturică Mihaela**, Cazacu Gabriela, Râpeanu Gabriela, Stănciuc Nicoleta, Aprodu Iuliana, Bahrim Gabriela, 2015. *Thermal degradation kinetics of polyphenols extracted from cherries*, International Symposium EuroAliment, 24-26 septembrie, Galați, Romania.
6. **Turturică Mihaela**, Râpeanu Gabriela, Stănciuc Nicoleta, Bahrim Gabriela, 2015. *Fluorescence spectroscopy investigation on pH and heat changes of cherries anthocyanin extracts*, "European Biotechnology Congress", 7 – 9 mai, București, România.
7. **Turturică Mihaela**, Bahrim Gabriela, Râpeanu Gabriela, Stănciuc Nicoleta, Aprodu Iuliana, 2014. *Effect of thermal treatment on phenolic compounds from plums*, 13<sup>th</sup> International Symposium Prospects for the 3<sup>rd</sup> Millennium Agriculture, 25-28 septembrie, Cluj Napoca, Romania.

### **D. Lucrări comunicate la manifestări științifice naționale**

1. **Turturică Mihaela**, Bahrim Gabriela, Stănciuc Nicoleta, Râpeanu Gabriela, 2017. *The Analysis of Anthocyanins from Simulated Plum Juices*. Conferința Științifică a Școlilor Doctorale din UDJ – Galați CSSD-UDJG 2017, 8-9 iunie, Galați, România.
2. **Turturică, Mihaela**, Râpeanu, Gabriela, Stănciuc, Nicoleta, Aprodu, Iuliana, Bahrim, Gabriela, 2016. *Kinetic and fluorescence spectroscopy investigations on heat induced changes of sweet cherries phenolic extracts*. Conferința Științifică a Școlilor Doctorale din UDJ – Galați CSSD-UDJG 2015, 2-3 iunie, Galați, România.
3. **Turturică, Mihaela**, Oancea, Ana Maria, Bahrim, Gabriela, Râpeanu, Gabriela, Stănciuc, Nicoleta, Aprodu, Iuliana, 2014. *Evaluation of phenolic potential from regional fruits*. Conferința Științifică a Școlilor Doctorale din UDJ – Galați CSSD-UDJG 2014, 15-16 mai, Galați, România.