

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



# **TEZĂ DE DOCTORAT**

**Cercetări privind dezvoltarea unor produse  
alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea  
potențialului biologic activ al porumbului mov  
(Rezumatul tezei de doctorat)**

**Doctorand,**

**Mioara Gabriela SLAVU (URSU-SLAVU)**

**Conducător științific,**

**Prof. univ. dr. ing. habil. Nicoleta STĂNCIUC**

**Seria I 7: INGINERIA PRODUSELOR ALIMENTARE Nr. 16**

**GALAȚI**

**2022**

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



# TEZĂ DE DOCTORAT

**Cercetări privind dezvoltarea unor produse  
alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea  
potențialului biologic activ al porumbului mov  
(Rezumatul tezei de doctorat)**

Doctorand,

Mioara Gabriela SLAVU (URSU-SLAVU)

Președinte:	Prof. univ. dr. ing. Gabriela Elena BHRIM
Conducător de doctorat:	Prof. univ. dr. ing. habil. Nicoleta STĂNCIUC
Referenți:	Prof. univ. dr. ing. habil. Liviu GACEU
oficiali	Prof. univ. dr. ing. habil. Georgiana CODINĂ
	Prof. univ. dr. ing. habil. Iuliana BANU

Seria I 7: INGINERIA PRODUSELOR ALIMENTARE Nr. 16

GALAȚI

2022

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

Domeniul fundamental **ȘTIINȚE INGINEREȘTI**

- Seria I 1: **Biotehnologii**
- Seria I 2: **Calculatoare și tehnologia informației**
- Seria I 3: **Inginerie electrică**
- Seria I 4: **Inginerie industrială**
- Seria I 5: **Ingineria materialelor**
- Seria I 6: **Inginerie mecanică**
- Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**
- Seria I 8: **Ingineria sistemelor**

Domeniul **ȘTIINȚE SOCIALE**

- Seria E 1: **Economie**
- Seria E 2: **Management**
- Seria SSEF: **Știința sportului și educației fizice**

Domeniul fundamental **ȘTIINȚE UMANISTE ȘI ARTE**

- Seria U 1: **Filologie- Engleză**
- Seria U 2: **Filologie- Română**
- Seria U 3: **Istorie**
- Seria U 4: **Filologie- Franceză**

Domeniul fundamental **MATEMATICĂ ȘI ȘTIINȚE ALE NATURII**

- Seria C: **Chimie**

Domeniul fundamental **ȘTIINȚE BIOLOGICE ȘI BIOMEDICALE**

- Seria M: **Medicină**

## Cuprins

<b>Introducere</b>	7
<b>Introduction</b>	10
<b>I. STUDIUL DOCUMENTAR</b>	13
Aspecte fundamentale referitoare la funcționalitatea tehnologică și nutrițională a compușilor biologic activi	
<b>CAPITOLUL 1. Caracterizarea, componentele și farmacocinetica porumbului mov (Zea mays indurata)</b>	14
1.1. Introducere	14
1.2. Descrierea botanică	14
1.3. Compoziția	15
1.4. Compuși polifenolici	16
1.5. Alți compuși fenolici	17
1.6. Proteine	21
1.7. Acizi organici, carbohidrați, minerale, vitamine	21
1.8. Alți constituenți	21
1.9. Proprietățile bioactive ale compușilor din porumbul mov	22
1.9.1. Proprietăți antimicrobiene	22
1.9.2. Proprietăți hipocolesterolemiante	23
1.9.3. Efect antidiabetic	23
1.9.4. Efect anticancerigen	23
1.9.5. Efect antioxidant	25
1.9.6. Efecte secundare și toxicitate	26
1.10. Bibliografie	26
<b>CAPITOLUL 2. Gluten: structură chimică, implicații tehnologice și pentru sănătate</b>	35
2.1. Aspecte teroretice referitoare la structura chimică a glutenului	35
2.2. Boli asociate consumului de gluten. Recomandări generale referitoare la diete fără gluten.	37
2.3. Tulburări ale bolii celiace	38
2.4. Alte probleme legate de prezența glutenului în alimentație	39
2.5. Recomandări generale referitoare la diete fără gluten	40
2.6. Piața de produse fără gluten	40
2.7. Reglementări legislative	41
2.8. Provocări tehnologice și nutriționale în dezvoltarea produselor fără gluten	43
2.9. Bibliografie	45
<b>II. STUDIUL EXPERIMENTAL</b>	52
<i>Valorificarea compușilor bioactivi din făina de porumb mov: Extracție, profil fitochimic și perspective pentru aplicarea alimentară</i>	
<b>CAPITOLUL 3. Extracția solid-lichid a compușilor biologic activi din făina de porumb mov</b>	53
3.1. Introducere	53
3.2. Obiectivele studiului	54
3.3. Materiale și metode	55
3.4. Metode utilizate pentru analiza comparativă a diferitelor tehnici de extracție	55
3.4.1. Caracterizarea fitochimică a extractelor	57

**Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin  
exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

3.4.2. Metode utilizate în experimentele de optimizare și validare a extracției solid-lichid asistată de ultrasunete	58
3.4.3. Analiza cromatografică a compușilor biologic activi din extractul optimizat	59
3.4.4. Modele matematice utilizate pentru optimizarea extracției	60
3.4.5. Tratamentul termic	60
3.4.6. Cinetica de ordinul I de degradare a compușilor polifenolici	61
3.4.7. Înmulțirea și viabilitatea celulelor de drojdie	61
3.4.8. Dinamica fermentației alcoolice	61
3.4.9. Activitatea de inhibare enzimatică a extractului validat	62
3.4.10. Activitatea de inhibare a activității tirozinazei	62
3.4.11. Activitate de inhibare a activității $\alpha$ -amilazei	62
3.4.12. Activitate de inhibare a activității $\alpha$ -glucozidazei	62
3.4.13. Activitate de inhibare a activității lipazei	62
3.4.14. Prelucrare statistică	63
3.5. REZULTATE ȘI DISCUȚII	63
3.5.1. Analiza comparativă a unor tehnici de extracție a compușilor biologic activi din făina de porumb mov	63
3.5.2. Identificarea și separarea cromatografică a compușilor antioxidanți din extractul de porumb mov	64
3.5.3. Optimizarea condițiilor de extracție a antocianilor din făina de porumb mov la extracția solid-lichid	65
3.5.4. Validarea modelului	69
3.5.5. Profilul fitochimic al extractului optimizat	69
3.5.6. Profilul cromatografic al extractului optimizat	69
3.5.7. Cinetica de degradare termică a antocianilor din extract	71
3.5.8. Cinetica de degradare termică a activității antioxidante a extractului	74
3.5.9. Influența compușilor biologic activi din extractele din făina de porumb mov asupra activității metabolice a drojdiilor	76
3.5.10. Efectul extractului din făină de porumb mov asupra dinamicii fermentației alcoolice	77
3.5.11. Evaluarea unor proprietăți biologice a extractului optimizat prin determinarea potențialului de inhibiție a unor enzime implicate în sindromul metabolic	78
3.6. Concluzii parțiale	79
3.7. Bibliografie	81
<b>CAPITOLUL 4. Aspecte tehnologice privind dezvoltarea unor produse alimentare fără gluten, cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov</b>	87
4.1. Introducere	87
4.2. Obiectivele studiului	88
4.3. Materiale	88
4.4. Metode	88
4.4.1. Proprietățile termo-mecanice ale făinurilor de orez și porumb mov și ale făinurilor compozite	88
4.4.2. Variante tehnologice de obținere a biscuiților	89
4.4.3. Extracția și analiza fitochimică a biscuiților	89
4.4.4. Structura și analiza morfologică a biscuiților	89
4.4.5. Examinarea microbiană a perioadei de valabilitate a biscuiților	89

**Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin  
exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

4.4.6	Teste de determinare a potențialului alergen	90
4.4.7	Analiza senzorială a biscuiților	90
4.4.8	Stabilitatea compușilor fitochimici a biscuiților la depozitare	90
4.4.9	Analiza statistică a rezultatelor	90
4.5.	<b>REZULTATE ȘI DISCUȚII</b>	90
4.5.1	Evaluarea proprietăților termo-mecanice ale făinurilor compozite	90
4.5.2	Formularea unor produse derivate din făinurile compozite	93
4.5.3	Determinarea absenței glutenului prin testul ELISA	93
4.5.4	Analiza structurală și morfologică a produselor fără gluten	94
4.5.5	Analiza senzorială	95
4.5.6	Stabilitatea la depozitarea accelerată a biscuiților	95
4.5.7	Dezvoltarea unor scheme tehnologice generale pentru obținerea biscuiților fără gluten cu adaos de porumb mov	96
4.6.	Concluzii parțiale	97
4.7.	Bibliografie	98
<b>CAPITOLUL 5. Aspecte tehnologice privind dezvoltarea unor produse alimentare cu gluten prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov</b>		100
5.1.	Introducere	100
5.2.	Obiectivele studiului	100
5.3.	Metode	101
5.3.1	Variante tehnologice de obținere a chiflelor	101
5.3.2	Analiza senzorială a chiflelor	101
5.3.3	Extracția și analiza fitochimică a chiflelor	101
5.3.4	Analiza fizicochimică a chiflelor	102
5.3.5	Stabilitatea compușilor fitochimici a chiflelor la depozitare	103
5.3.6	Analiza statistică a rezultatelor	103
5.4.	<b>REZULTATE ȘI DISCUȚII</b>	103
5.4.1.	Profilul fitochimic al chiflelor	103
5.4.2.	Analiza senzorială a chiflelor	105
5.4.3.	Stabilitatea la depozitare a chiflelor	105
5.4.4.	Profilul nutrițional al chiflelor	106
5.4.5.	Dezvoltarea unor scheme tehnologice generale pentru obținerea chiflelor cu adaos de porumb mov	107
5.4.6.	Concluzii parțiale	108
5.4.7.	Bibliografie	110
<b>CAPITOLUL 6. Concluzii finale</b>		113
<b>CAPITOLUL 7. Contribuții originale și perspective de continuare a studiilor</b>		115
<b>CAPITOLUL 8. Valorificarea rezultatelor</b>		116
I.	Articole publicate	116
II.	Articole submise pentru publicare	116
III.	Participare la conferințe naționale	116
IV.	Premii	117
<b>CAPITOLUL 9. Anexe</b>		118
ANEXA 1. Listă figuri		118
ANEXA 2. Listă tabele		120

**Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin  
exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

ANEXA 3. Fișă de analiză senzorială a variantelor experimentale de biscuiți fără gluten cu valoare adăugată	121
ANEXA 4. Fișă de analiză senzorială a variantelor experimentale de chifle cu valoare adăugată	122

## **Introducere**

În ultimii ani, creșterea prevalenței alergiilor, bolii celiace, a bolilor metabolice, și nu numai a dus la nevoia de a dezvolta noi abordări nutriționale care să aducă o îmbunătățire a calității vieții oamenilor, cu accent pe prevenirea apariției diferitelor afecțiuni. Pe de altă parte, consumatorii devin din ce în ce mai conștienți de necesitatea unei alimentații echilibrate, bogate în compuși naturali, cu impact semnificativ în menținerea sau ameliorarea stării de sănătate. În acest context, industria alimentară este confruntată cu o cerere crescută de alimente și băuturi funcționale. Dintre o gamă variată de compuși bioactivi, compușii polifenolici au căpătat un interes semnificativ în rândul cercetătorilor și industriei. Această clasă de compuși este reprezentată de majoritatea metaboliților secundari ai regnului vegetal, cu ajutorul cărora plantele se apără de elementele nocive din mediu. Numeroase studii din literatura de specialitate au demonstrat acțiuni biologice importante pentru această clasă de compuși, de un real folos pentru organismul uman permițând combaterea unor boli precum: cancerul, bolile cardiovasculare, ateroscleroza, diabet etc. (Güneş Bayir și colab. 2019).

Selectarea temei de doctorat **”Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov”** s-a bazat pe oportunitatea de a exploata potențialul funcțional al porumbului mov (*Zea mays* L.) în industria alimentară și pe cererea tot mai mare de produse funcționale, dată de conștientizarea în rândul consumatorilor a importanței unei alimentații sănătoase, de rata de creștere a bolilor metabolice, celiace și nu numai, dar și de progresul tehnologiilor de procesare. În plus, tematica tezei de doctorat se aliniază necesității de a dezvolta produse alimentare din porumb mov, impusă de un operator economic, care cultivă porumb mov pe suprafețe de teren importante în județul Brăila. În acest context, tematica tezei de doctorat se aliniază pe de o parte necesității de a fundamenta științific utilizarea porumbului mov ca o nouă sursă de compuși biologic activi, iar pe de altă parte dezvoltarea de tehnologii de valorificare, care să răspundă cerințelor operatorilor economici, cu potențial de brevetare și transfer tehnologic, care să contribuie la suplimentarea dietei cu noi surse de compuși polifenolici, cu impact în limitarea sau inhibarea proceselor oxidative de la nivel celular, cu rol de prevenire și ameliorare.

Teza de doctorat intitulată **”Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov”** a vizat fundamentarea științifică a profilului fitochimic al extractelor de porumb mov, prin extracția, optimizarea, cuantificarea și evaluarea *in vitro* a potențialului biologic activ și stabilirea unor direcții de valorificare a compușilor biologic activi din porumbul mov (*Zea mays* L.) prin dezvoltarea unor tehnologii de obținere a unor produse alimentare funcționale cu beneficii pentru sănătatea consumatorilor.

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

- profilarea fitochimică a extractelor din porumb mov, prin extracția, optimizarea, identificarea și caracterizarea compușilor polifenolici din făina de porumb mov, în corelație cu proprietățile antioxidante și stabilitatea la procesarea termică, cu scopul de a stabili condițiile optime de obținere și păstrare a produselor bogate în compuși biologic activi;
- evaluarea *in vitro* a potențialului biologic activ a extractului optimizat, prin testarea capacității de a stimula activitatea metabolică a drojdiilor, din perspectiva utilizării făinii de porumb mov ca materie primă în industria alimentară;



## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

- evaluarea *in vitro* a potențialului biologic activ a extractului optimizat, prin determinarea potențialului de inhibiție a unor enzime implicate în sindromul metabolic;
- dezvoltarea unor variante tehnologice de valorificare a făinii de porumb mov ca materie primă pentru obținerea de produse *gluten free*, cu funcționalitate ridicată, caracterizarea produselor obținute din punct de vedere fitochimic, senzorial și a stabilității la depozitarea;
- dezvoltarea unor variante tehnologice de valorificare a făinii de porumb mov ca materie primă pentru obținerea de produse cu funcționalitate ridicată, și caracterizarea produselor obținute din punct de vedere fitochimic, fizico-chimic, senzorial și a stabilității la depozitarea.

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

**I. STUDIUL DOCUMENTAR**, intitulat "**Aspecte fundamentale referitoare la funcționalitatea tehnologică și nutrițională a compușilor biologic activi**" este împărțit în 2 capitole, ce prezintă rezumativ considerații teoretice din literatura de specialitate referitoare la compușii bioactivi din porumbul mov (*Zea mays* L.), subliniind implicațiile asupra sănătății. Este prezentat de asemenea structura glutenului, bolile asociate și provocările tehnologice în realizarea produselor fără gluten.

**II. STUDIUL EXPERIMENTAL**, intitulat "**Valorificarea compușilor bioactivi din făina de porumb mov: Extracție, profil fitochimic și perspective pentru aplicarea alimentară**" cuprinde 3 capitole în care sunt evidențiate rezultatele studiilor de cercetare realizate pe parcursul stagiului de doctorat, prezentate pe scurt după cum urmează:

**CAPITOLUL 3**, intitulat "**Extracția solid-lichid a compușilor biologic activi din făina de porumb mov**" prezintă rezultatele obținute de la extracția, separarea, identificarea și cuantificarea compușilor biologic activi din făina de porumb mov (antociani, polifenoli, flavonoide); optimizarea și validarea extracției antocianilor din făina de porumb mov, utilizând metode spectrofotometrice și tehnici de cromatografie lichidă (HPLC) și evaluarea funcționalității extractului optimizat asupra activității metabolice a drojdiei selectate și a potențialului de inhibiție a acestuia asupra unor enzime implicate în sindromul metabolic. De asemenea, capitolul cuprinde rezultatele obținute de la testarea stabilității termice a compușilor biologic activi și activității antioxidante la diferite combinații de temperatură-timp, modelarea cineticii de degradare cu ajutorul modelelor cinetice de degradare, parametrii cinetici estimați, din perspectiva utilizării făinii de porumb mov în diferite aplicații, care implică utilizarea tratamentului termic.

**CAPITOLUL 4**, intitulat "**Aspecte tehnologice privind dezvoltarea unor produse alimentare fără gluten, cu valoarea adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**" prezintă rezultatele obținute prin elaborarea unei tehnologii care exploatează potențialul funcțional al făinii de porumb mov, respectiv o tehnologie pentru obținerea biscuiților fără gluten pe bază de făină de porumb mov și făină de orez.

**CAPITOLUL 5**, intitulat "**Aspecte tehnologice privind dezvoltarea unor produse alimentare cu gluten prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**" prezintă rezultatele obținute prin elaborarea unei tehnologii care exploatează potențialul funcțional al făinii de porumb mov, respectiv o tehnologie pentru obținerea chiflelor pe bază de făină de porumb mov și făină de grâu tip 650.

## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

Fiecare capitol al studiului experimental cuprinde următoarele subcapitole: Introducere, Obiective, Materiale și metode, Rezultate și discuții, Concluzii parțiale și Bibliografie.

**CAPITOLUL 6, Concluzii finale**, prezintă principalele concluzii rezultate în urma experimentelor realizate.

Teza de doctorat cuprinde 126 pagini, în care sunt incluse **23** figuri și **24** tabele. Studiul documentar reprezintă 25 % iar partea experimentală 75 %.

În final, sunt prezentate **contribuțiile originale** ale tezei de doctorat, cu impact în dezvoltarea cunoașterii în domeniu și perspectivele propuse pentru continuarea cercetărilor, precum și diseminarea rezultatelor obținute în domeniul de cercetare abordat. Astfel, rezultatele cercetărilor au fost valorificate prin elaborarea a **3 articole științifice**, **2** publicate în reviste cotate ISI (*Foods, International Journal of Food Science and Technology*) și **1 articol submit pentru publicare** (*Food ChemistryX*), precum și **7 comunicări** la manifestări științifice reprezentative pentru domeniul ingineriei produselor alimentare, 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 Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați.

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

## **CAPITOLUL 3. Extracția solid-lichid a compușilor biologic activi din făina de porumb mov**

### **3.1. Introducere**

Porumbul mov (*Zea mays* L) a fost denumit recent ca „superaliment”, datorită conținutului său remarcabil în polifenoli, cu potențiale beneficii pentru sănătate (Lee și colab. 2021). Antocianii sunt compuși din porumbul mov, cum ar fi cianidin-3-O-dimalonilglucozidă, cianidin-3-O-glucozid, pelargonidin-3-O-glucozid, peonidin-3-O-glucozid, distribuiți în frunze, știuleți și semințe (Cuevas Montilla și colab. 2011). Pe lângă polifenoli, și în special antociani, porumbul mov este o sursă bogată de acizi fenolici, carotenoide, flavonoide, amidon rezistent, fibre alimentare, minerale (fosfor, potasiu și magneziu), vitamine (A, B, E și K), fitosteroli (Siyuan și colab. 2018). De exemplu, compuși relevanți, cu efecte pozitive pentru sănătate au fost identificați de Lee și colab. (2021), cum ar fi doi alcaloizi (sinomenina și codeina), responsabili pentru o gamă largă de activități biologice, inclusiv proprietăți antiinflamatorii și antispastice. În plus, Lee și colab. (2021) au raportat prezența acizilor cilandelat, linoleic și docosahexaenoic, tiotropiu, bisoprolol, acid glicocolic, 6-gingerol, 4-metilumbelliferonă. Beneficiile asociate sănătății a acestor compuși includ efect neuroprotector, antiinflamator, anti-greață, antioxidant, antidiabetic, anticancerigen, promovarea circulației sanguine și reglarea tensiunii arteriale și controlul nivelului de colesterol etc.

Datorită abundenței de substanțe bioactive, porumbul mov poate fi folosit în diferite aplicații alimentare, farmaceutice, nutraceutice și biotehnologice și, astfel, se deschid perspective de dezvoltare a unor produse funcționale, care pot ajuta la ameliorarea bolilor asociate stilului de viață, cum ar fi obezitatea, diabetul, hiperglicemia, hipertensiunea și bolile cardiovasculare. O etapă considerată critică pentru valorificarea antocianilor din porumbul mov în diferite aplicații este eficiența extracției și stabilitatea compușilor. Prin urmare, în timpul extracției este esențial să se optimizeze raportul solid-lichid, timpul de extracție și temperatura, pentru a maximiza capacitatea de extracție, minimizând în același timp timpul de extracție. În al doilea rând, timpul prelungit de extracție (Zhang și colab. 2014) sau temperaturile ridicate (Piyapanrungrueang și colab. 2016) pot crește randamentul de extracție în antociani, dar aceste condiții reduc, de asemenea, stabilitatea antocianilor. Cu toate acestea, mai mulți factori pot afecta eficiența extracției polifenolilor, cum ar fi tipul de solvent, dimensiunea particulelor de materie primă, raportul lichid/material, concentrația de solvent, viteza de agitare, timpul de extracție, temperatura de extracție etc.

### **3.2. Obiectivele studiului**

Obiectivele studiului aferent acestui capitol au fost:

- Testarea unor tehnici de extracție a compușilor polifenolici din făina de porumb mov din perspectiva obținerii unor extracte de înalt nivel calitativ, în ceea ce privește randamentele de extracție, concentrația și profilul compușilor biologic activi;
- Evaluarea calitativă și cantitativă a profilului fitochimic și antioxidant a extractelor obținute prin tehnici de cromatografie lichidă de înaltă performanță;
- Optimizarea și validarea extracției antocianilor din făina de porumb mov (FPM), prin testarea influenței următorilor patru factori: timpul de extracție, temperatura de extracție, raportul lichid/solid și concentrația de etanol, cu scopul de a optimiza condițiile de extracție a antocianilor din FPM. A fost utilizată matricea Box-Behnken (BBD) cu patru factori și trei niveluri de

## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

semnificație, cu trei replici în punctele centrale. Consecutiv, modelul de extracție validat a fost analizat și ar putea oferi referință pentru aplicarea pe scară largă a extracției polifenolilor din FPM;

- Evaluarea calitativă și cantitativă a profilului fitochimic și antioxidant a extractului optimizat și validat, folosind tehnici de evaluare spectrofotometrice și de cromatografie lichidă de înaltă performanță. Extractul optimizat a fost analizat pentru conținutul de polifenoli totali, flavonoide totale și activitatea antioxidantă, în timp ce profilul avansat s-a stabilit prin analize cromatografice.
- Studiul cineticii de degradare termică a antocianilor din extract în corelație cu activitatea antioxidantă, din perspectiva evaluării comportamentului la procesare și utilizării extractelor ca ingrediente în industria alimentară
- Evaluarea funcționalității prin testarea eficienței extractului validat asupra activității metabolice a drojdiei selectate, din perspectiva utilizării FPM ca materie primă pentru producția de bioetanol și/sau adjuvanți în aplicații alimentare; s-a urmărit efectul concentrațiilor diferite de extract de FPM asupra parametrilor specifici cum ar fi multiplicarea, viabilitatea celulelor de drojdie și dinamica fermentației alcoolice;
- Evaluarea unor proprietăți biologice a extractului optimizat prin determinarea potențialului de inhibiție a unor enzime implicate în sindromul metabolic.

### **3.3. Materiale și metode**

#### *Material vegetal*

Făina de porumb mov (*Zea mays L.*) a fost achiziționată de la un producător local (județul Brăila, România). Făina cu un conținut de apă < 12% a fost păstrată în pungi de hârtie închise la culoare la 4 °C.

#### *Tulpina de drojdie*

Drojdia de panificație liofilizată, *Saccharomyces cerevisiae* (Puratos, Andenne, Belgia) a fost reactivată, prin cultivare staționară în must de malț steril, timp de 24 de ore la temperatura camerei. O concentrație de cultură activată de  $5 \times 10^7$  UFC/mL mediu fermentativ a fost utilizată ca inocul vegetativ atât în probele de multiplicare, cât și de fermentație alcoolică.

### **3.4. Metode utilizate pentru analiza comparativă a diferitelor tehnici de extracție**

Extracția este separarea compușilor biologic activi din plante cu ajutorul solvenților selectivi, folosind proceduri standard ([Handa și colab. 2008](#)). Scopul tuturor extracțiilor este de a separa compușii metabolici solubili ai plantei de părțile celulare insolubile (reziduu). Înainte de extracție unele matrici au nevoie de **pregătire preliminară** ([Azwanida, 2015](#)). Porumbul mov face parte din această categorie, pregătirea preliminară a acestuia fiind reprezentată de măcinare urmată de o mărunțire fină cu scopul de a mări suprafața de contact dintre matrice și solvenți, urmărindu-se o extracție cât mai mare a compușilor polifenolici. Pentru extracția compușilor antioxidanți și pentru determinarea activității antioxidante din făina de porumb mov pregătită în prealabil s-au ales atât tehnici de extracție convenționale: extracția folosind drept solvent apa și extracția cu solvenți organici; dar și tehnici de extracție neconvenționale: extracția asistată de ultrasunete.

#### *Extracția cu solvenți*

Extracția cu solvenți face parte dintr-un proces de extracție cunoscut sub numele de **extracție solid-lichid**. În experimentele efectuate au fost utilizate următoarele variante:

**Varianta experimentală de extracție 1** reprezentată de o extracție în apă distilată. O cantitate de 1 g de făină de porumb mov, pregătită în prealabil prin măcinare la o râșniță de bucătărie, s-a solubilizat în 10 ml apă distilată la pH 4,5. Proba omogenizată a fost centrifugată la 6000 rpm, timp de 15min. Din supernatantul rezultat s-au determinat: conținutul de antociani monomerici, utilizând metoda pH-ului diferențial, conținutul de flavonoide totale, conținutul de polifenoli totali prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu și activitatea antioxidantă.

**Varianta experimentală de extracție 2** reprezentată de o extracție în etanol. O cantitate de 1 g de făină de porumb, pregătită în prealabil prin măcinare la o râșniță de bucătărie, s-a amestecat cu 10 ml (1:10) de etanol (70%). Proba omogenizată a fost centrifugată la 6000 rpm/15min. Din supernatant s-au determinat: conținutul de antociani monomerici utilizând metoda pH-ului diferențial, conținutul de flavonoide totale, conținutul de polifenoli totali prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu și activitatea antioxidantă.

**Varianta experimentală de extracție 3** reprezentată de o extracție în solvenți organici, etanol (70%) și HCl 1N. Aceasta este metoda clasică de extracție a antocianilor din materialele vegetale. Această procedură implică macerarea sau înmuierea materialului vegetal în etanol conținând o concentrație mică de acid mineral (de exemplu, HCl) (Rodriguez-Saona, 2001). Acidul realizează ruperea pereților vegetali ai plantei și eliberarea compușilor. 1 g de făină de porumb, pregătită în prealabil, s-a solubilizat în 9 ml etanol (70%) și 1ml HCl 1N. Proba a fost omogenizată și centrifugată la 6000rpm/15 min. Din supernatant s-au determinat: conținutul de antociani monomerici utilizând metoda pH-ului diferențial, conținutul de flavonoide totale, conținutul de polifenoli totali prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu și activitatea antioxidantă

**Varianta experimentală de extracție 4** reprezentată de o extracție în solvenți organici, etanol și HCl 1N, urmată de o extracție asistată de ultrasunete. O cantitate de 1 g de făină de porumb, pregătită în prealabil, s-a solubilizat în 9 ml etanol și 1ml HCl 1N. Proba a fost omogenizată și supusă ulterior unei extracții cu ultrasunete la 30 min/30°C fiind apoi centrifugată la 6000 rpm/15min. Din supernatant s-au determinat: conținutul de antociani monomerici utilizând metoda pH-ului diferențial, conținutul de flavonoide totale, conținutul de polifenoli totali prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu și activitatea antioxidantă

**Varianta experimentală de extracție 5** reprezentată de o extracție în solvenți organici, etanol și HCl 1N, urmată de o extracție asistată de ultrasunete. O cantitate de 1 g de făină de porumb, pregătită în prealabil, s-a solubilizat în 9 ml etanol și 1ml HCl 1N. Proba a fost supusă ulterior unei extracții cu ultrasunete la 60 min/30°C fiind apoi centrifugată la 6000 rpm/15 min. Din supernatant s-au determinat: conținutul de antociani monomerici utilizând metoda pH-ului diferențial, conținutul de flavonoide totale, conținutul de polifenoli totali prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu și activitatea antioxidantă.

Toate experimentele de extracție s-au realizat în triplicat.

### **3.4.1. Caracterizarea fitochimică a extractelor**

#### **Determinarea conținutului de antociani monomerici prin metoda pH-ului diferențial**

Conținutul de antociani monomerici s-a determinat printr-o metodă bazată pe proprietatea antocianilor de a-și schimba culoarea în funcție de pH, prin metode spectrofotometrice validate și anume metoda pH-ului diferențial, care este o metodă rapidă ce nu necesită o hidroliză prealabilă a materiilor prime. Pigmenții antocianici monomerici își pot schimba în mod reversibil culoarea în funcție de pH, astfel, la pH=1,0 forma predominantă este colorată, în timp ce la pH=4,5 predomină forma incoloră. Diferența dintre absorbanta a pigmenților la 520 nm este proporțională cu

## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

concentrația de pigmenți. Rezultatele sunt exprimate ca cianidin 3-glucozid. Antocianii degradați sub formă polimerică nu sunt influențați de modificarea valorii de pH și nu se ține cont de ei deoarece absorb atât la pH=4,5, cât și la pH=1,0. Concentrația pigmentilor antocianidinici a fost exprimată ca echivalenți cianidin-3-glucozidici (C3G) (ecuația 3.1.):

$$\text{Antociani (mg C3G/g)} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (3.1.)$$

unde:

$A = (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4,5}$ ; MW (masa moleculară) = 449,2 g/mol pentru C3G; DF = factorul de diluție; l = lățimea cuvetei, în cm;  $\epsilon = 26\,900$ , coeficient molar de extincție pentru cianidin-3-glucozid, L/mol-cm,  $10^3$  = factorul de conversie de la g la mg.

### **Determinarea conținutului de flavonoide totale**

Pentru determinarea conținutului de flavonoide totale s-a utilizat metoda colorimetrică, modificată. Peste 0,25 mL extract de porumb mov diluat au fost adăugați 1,25 mL apă distilată și 0,075 mL soluție nitrit de sodiu 5%. Amestecul a fost lăsat la temperatura camerei 5 minute, după care s-au adăugat 0,15 mL soluție clorură de aluminiu 10%. După un repaos de 6 minute se adaugă 0,5 mL hidroxid de sodiu 1M și apă distilată până la volum de 3 mL. Absorbanța amestecului a fost măsurată imediat la 510 nm, conținutul de flavonoide totale fiind exprimat în mg/g pudră liofilizată echivalenți catehinici, prin urmare s-a construit și o curbă etalon folosind catehina.

### **Determinarea conținutului de polifenoli totali prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu**

Pentru determinarea conținutului de compuși fenolici s-a utilizat metoda modificată Folin-Ciocalteu. 200  $\mu$ L de extract a fost diluat în apă distilată (15,8 mL), peste care s-a adăugat 1 mL reactiv Folin-Ciocalteu. După 10 minute s-au adăugat 3 mL de soluție carbonat de sodiu 20 %, iar după alte 60 de minute, în care amestecul a stat la întuneric, s-a determinat absorbanța la lungimea de undă 765 nm. Conținutul de compuși fenolici a fost exprimat ca mg acid galic/ g pudră liofilizată, utilizându-se și o curbă etalon de acid galic.

### **Determinarea activității antioxidante**

Pentru determinarea activității antioxidante s-a utilizat protocolul de măsurare a activității antiradicalice asupra DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) descris de [Ursu și colab. \(2020\)](#). Un volum de 3,9 mL soluție de DPPH• reacționează cu 100  $\mu$ L probă diluată timp de 90 de minute, la temperatura camerei, la întuneric. Absorbanța soluției a fost citită la 515 nm. Activitatea antioxidantă a extractelor s-a exprimat în mMol Trolox/g SU prin raportare la o curba etalon.

### **Identificarea compușilor biologic activi prin tehnici de cromatografie lichidă**

Extractele din făină de porumb mov a fost analizat cu ajutorul unui sistem HPLC Thermo Finnigan Surveyor, controlat de sistemul software Xcalibur (Finnigan Surveyor LC, Thermo Scientific, USA), conform metodei descrise de [Turturică, și colab. \(2016\)](#). Extractul a fost filtrat printr-un cartuș C18 Sep-Pack (Cartridge-Waters, USA) pentru a putea separa antocianii. Profilul de eluare cromatografic a fost realizat cu o coloană de fază staționară Synergi 4u Fusion-RP 80A (150 x 4,6 mm, 4  $\mu$ m) la o temperatură optimă a coloanei de 25°C. Faza mobilă a fost constituită din metanol 100% (A) și acid formic 10% (B). S-a injectat un volum de 10  $\mu$ L de probă la o viteză de curgere de 1 ml/min, în timp ce eluția a fost efectuată în următoarele condiții de gradient: 0-20 min, 9-35% (A); 20-30 min, 35% (A); 30-40 min, 35-50% (A); și 40-55 min, 50-9% (A). Toate probele au fost filtrate printr-un filtru cu seringă de 0,22  $\mu$ m (Bio Basic Canada Inc., ON, Canada) înainte de injectarea în aparat.

### **3.4.2. Metode utilizate în experimentele de optimizare și validare a extracției solid-lichid asistată de ultrasunete**

Condițiile optime de extracție a antocianilor monomerici (TAC) au fost estimate conform [Dumitrașcu și colab. \(2019\)](#), folosind funcția de optimizare a răspunsului, disponibilă în software-ul Minitab 18. Experimentele de validare au fost efectuate în trei exemplare, în condițiile optimizate, rezultatele experimentale fiind comparate cu valorile prezise de model, pe baza coeficientului de variație (CV, %) și a erorilor procentuale. Caracterizarea fitochimică a extractului optimizat a urmărit: determinarea conținutului total de antociani monomerici, determinarea conținutului de polifenoli și activitatea antioxidantă.

**Determinarea conținutului de antociani totali** a urmărit protocolul utilizat de [Lao și Giusti, \(2016\)](#) pentru cuantificarea antocianilor. Pe scurt, antocianii au fost extrași din pulberi de porumb mov folosind un amestec 9:1 (v/v) de etanol 70 % și HCl 1N. După extracție, supernatantul obținut în urma centrifugării la 6000 rpm/15 minute a fost supus operației de măsurare a absorbanței cu ajutorul spectrofotometrului (Spectrofotometru UV-VIS cu fascicul dublu cu software de analiză a datelor, JENWAY) la o lungime de undă de 535 nm. Experimentele au fost realizate în triplicat. TAC a fost calculate cu Ecuația 3.2.:

$$\text{TAC (mg/g)} = \left( \frac{A \times DF \times V}{98,2 \times X} \right) \quad (3.2)$$

În care:

98,2 – unitate de conversie; A - absorbanta probei la 535 nm, DF - factorul de diluție; V – Volum de extract (ml); x – Masa FPM utilizată la extracție (g).

**Determinarea activității antioxidante** a fost efectuată după protocolul descris anterior de [Ursu și colab. \(2020\)](#). Pe scurt, 0,1 ml de soluție de extract (1 mg/ml) au fost amestecați cu 2,9 ml de DPPH 0,1 mM în soluție de metanol și lăsați timp de 60 de minute la întuneric. Absorbanta a fost măsurată la 515 nm folosind un spectrofotometru (Jenway, UK). Activitatea de captare a radicalilor DPPH a fost exprimată ca mMol echivalenți Trolox/g SU utilizând o curbă etalon.

**Determinarea conținutului flavonoide totale (TFC).** Metoda colorimetrică a fost utilizată pentru a determina conținutul total de flavonoide. Conținutul total de flavonoide se determină prin intermediul curbei standard de catehine care este exprimată în mg echivalenți de catehină/g pulbere liofilizată.

**Determinarea conținutului total de polifenoli prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu (TPC).** Pentru determinarea conținutului de compuși fenolici a fost utilizată metoda Folin-Ciocalteu modificată. Metoda se bazează pe reducerea chimică a reactivului Folin-Ciocalteu, un amestec de oxizi de wolfram și molibden.

### **3.4.3. Analiza cromatografică a compușilor biologic activi din extractul optimizat**

Separarea și identificarea compușilor bioactivi din extractul optimizat cu FPM a fost efectuată cu ajutorul unui sistem HPLC Agilent 1200 echipat cu autosampler, degazor, sistem de pompă cuaternară, detector cu lungimi de undă multiple (MWD) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). O coloană Synergi Max-RP-80 Å (250 × 4,6 mm, cu dimensiunea particulei 4 μm, Phenomenex, Torrance, CA, SUA) a fost utilizată pentru separarea compușilor polifenolici. Pentru separarea flavonoidelor și compușilor polifenolici din extractul de FPM, solventul A a fost alcătuit din apă ultrapură:acetonitril:acid formic într-un raport de 87:3:10 (v/v/v), în timp ce solventul B din apă ultrapură:acetonitril: acid formic într-un raport de 40:50:10 (v/v/v) ([Antonioli și colab. 2015](#)). Sistemul a fost spălat cu acești doi solvenți cu un debit de 0,5 ml/min la 30°C folosind un volum

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

de injecție de 20 μL, folosind următorul gradient: 0 min – 94% A; 20 min – 80% A; 35 min – 60% A, 40 min – 40% A, 45 min – 10% A.

Timpul de rulare a metodei a fost de 80 min, cu detecție la lungimea de undă la 280 nm și 320 nm. Pentru detectarea antocianilor, s-a utilizat lungimea de undă de 520 nm în condițiile menționate anterior, folosind un debit de 1,0 ml/min și o durată de funcționare a metodei de 50 de minute. Pentru identificarea compușilor bioactivi din extractul de FPM s-a efectuat o comparație a timpilor de retenție pentru peak-urile obținute cu cele obținute pentru soluții standard, în timp ce cuantificarea s-a realizat prin curbe de calibrare externă folosind aria peak-urilor. Datele au fost prelucrate cu software-ul Chemstation, versiunea B.04.03 (Lao și Giusti, 2015) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SUA). Rezultatele au fost exprimate în mg/100 g SU.

### 3.4.4. Modele matematice utilizate pentru optimizarea extracției

Pentru a optimiza extracția antocianilor din FPM, a fost aplicată metoda suprafeței de răspuns (RSM). A fost folosit un design Box-Behnken (BBD) cu patru factori, trei niveluri, și trei replici în punctele centrale, și anume: timpul (X1), temperatura (X2), raportul lichid/solid (X3) și concentrația de etanol (X4) alese ca variabile independente așa cum se arată în Tabelul 3.1.

**Tabel 3.1.** Codificarea variabilelor independente luate în considerare în proiectarea Box-Behnken

Nivele	Variabile independente			
	Temp (ore) X <sub>1</sub>	Temperatură (°C) X <sub>2</sub>	Raportul lichid/solid (mL/g) X <sub>3</sub>	Concentrația de etanol (%) X <sub>4</sub>
-1	1	20	10	20
0	3	30	20	50
+1	5	40	30	80

O cantitate de 1 g de FPM a fost cântărită și amestecată cu solvenți organici în concentrațiile prezentate în Tabelul 3.1. Probele au fost centrifugate la 6000 rpm timp de 15 minute, iar supernatantul a fost colectat și analizat în continuare pentru conținutul de antociani totali (TAC). Au fost efectuate 27 de experimente, datele experimentale pentru răspuns (Tabelul 3.2) au fost ajustate folosind un model polinom de ordinul doi (Ecuația 3.3.):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_j \sum_{i=2}^k \beta_{ij} x_i x_j \quad (3.3.)$$

unde: Y este răspunsul, x<sub>i</sub>, x<sub>j</sub> sunt variabilele independente (cu i și j variind între 1 și k), β<sub>0</sub> este o constantă, în timp ce β<sub>i</sub>, β<sub>ii</sub> și β<sub>ij</sub> sunt coeficienții de regresie ai termenilor liniari, pătratici și de interacțiune, k este numărul de variabile independente.

### 3.4.5. Tratamentul termic

În comparație cu coloranții sintetici, pigmentii antocianici sunt mai susceptibili la degradarea la tratamentul termic. În studiul de evaluare a stabilității la tratamentul termic, o cantitate de 8 g de probă a fost omogenizată în 80 ml solvent (etanol 70% și HCl 1N în raport de 9:1). Extractul obținut a fost supus unei extracții avansate cu ultrasunete 60min la 30°C fiind apoi centrifugat la 4°C, 5000rpm/ 20 min. Supernatantul a fost concentrat, folosindu-se un concentrator sub vid AVC 2-18, CHRIST. Concentratul obținut a fost solubilizat cu apă acidulată la pH 4,5, realizându-se o nouă extracție asistată cu ultrasunete și centrifugare la aceeași parametri. Din supernatantul obținut s-au realizat următoarele analize: degradare cinetică și identificare a compușilor biologic activi prin tehnici de cromatografie lichidă. Tratamentul termic s-a realizat în următoarele intervale de temperatură și timp: 80°C (0, 10, 20, 30 40 min), 90°C (0,



## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

10, 20, 30 min), 100°C – 110°C (0, 5, 10, 15 min), 120°C - 180°C (0, 2, 5, 7 min). S-a determinat conținutul total de antociani și activitatea antioxidantă. Toate probele s-au realizat în triplicat.

### **3.4.6. Cinetica de ordinul I de degradare a compușilor polifenolici**

Cinetica de degradare a multor compuși din sistemele alimentare poate fi descrisă cu ajutorul modelului cinetic de ordinul I, descrisă în ecuația (3.4.) (Villota și Hawkes, 2007):

$$-\frac{dc}{dt} = k \cdot C \quad (3.4.)$$

unde  $k$  este constanta vitezei de degradare ( $\text{min}^{-1}$ ). Prin integrare, ecuația (3.4.) devine (3.5.):

$$-\ln\left(\frac{C_0}{C}\right) = k \cdot t \quad (3.5.)$$

Timpul de înjumătățire ( $t_{1/2}$ ) este dat de ecuațiile 3.6. și 3.7.:

$$k \cdot t_{1/2} = -\ln(1/2) \quad (3.6.)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (3.7.)$$

Expresiile matematice de mai sus indică faptul că timpul de înjumătățire și constanta vitezei a reacțiilor de ordinul I sunt independente de concentrația inițială. Efectul temperaturii pentru reacțiile de ordinul I este dat ecuația lui Arrhenius (3.8.):

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{R \cdot T} \quad (3.8.)$$

unde  $k_0$  – factor de coliziune,  $E_a$  – energia de activare,  $R$  – constanta universală a gazelor ( $R = 8,314 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$ ),  $T$  – temperatura absolută ( $^{\circ}\text{K}$ ).

Timpul de reducere zecimală ( $D$ ) este timpul necesar pentru degradarea cu 90% a concentrației inițiale de compus. Pentru reacțiile de ordinul I, valoarea lui  $D$  se calculează în funcție de constanta vitezei de reacție (3.9.):

$$D = \frac{\ln(10)}{k} \quad (3.9.)$$

Parametrul  $z$  descrie dependența lui  $D$  în funcție de temperatură și reprezintă temperatura necesară pentru ca valoarea lui  $D$  să se reducă cu 10%.

### **3.4.7. Înmulțirea și viabilitatea celulelor de drojdie**

Pentru aprecierea stadiului de multiplicare a celulelor de drojdie s-au efectuat trei probe, în care s-a adăugat extract concentrat din FPM la 100 mL de mediu steril (must lichid de malț, LMM), în diferite concentrații, astfel: 0,3% (V1), 0,6% (V2) și, respectiv, 1,2% (V3). Densitatea populației de drojdie a fost analizată printr-o metodă directă de numărare a celulelor folosind camera Thoma, timp de 72 de ore (0 h, 8 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h) la 25°C, în condiții de cultivare staționară. Analiza viabilității drojdiei a fost examinată prin microscopie în prezența indicatorului albastru de metilen, pe baza capacității de reducere a indicatorului redox de la forma oxidată albastră (albastru) la forma redusă un leuco-derivat (incolor). A fost efectuat un test de control fără adăugare de extract (MV).

### **3.4.8. Dinamica fermentației alcoolice**

Dinamica de fermentație a celulelor de drojdie a fost determinată folosind aceeași concentrație de extract din FPM ca și pentru studiul de multiplicare, probele fiind codificate cu F. Procesul de fermentație a fost analizat timp de 144 ore (0h, 8h, 12h, 24h, 48h, 72h, 144) la 25°C

## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

În condiții anaerobe pentru cultură staționară. Concentrația de inocul adăugată pentru ambele determinări a fost de 0,32 ml pentru fiecare probă. A fost efectuat un test de control fără extract (MF).

### **3.4.9. Activitatea de inhibare enzimatică a extractului validat**

Extractul optimizat a fost dizolvat în PBS 0,1 M la pH 6,9 la o concentrație de 5 mg/mL, iar din această concentrație s-au efectuat diluții în serie. Rezultatele pentru testele de inhibiție a enzimelor sunt exprimate ca o medie a trei probe, iar concentrația de inhibiție de 50% (IC50) a fost calculată din regresia liniară a activităților inhibitoare (%) față de concentrațiile extractului, folosind următoarea ecuație pentru activitatea inhibitoare (Ecuația 3.10.):

$$\text{Efectul inhibitor (\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \quad (3.10.)$$

unde:  $A_c$  = absorbanta matorului,  $A_s$  = absorbanta probei. În toate experimentele, absorbanta probei mator (amestecul care conține extract și soluție de substrat fără enzima înlocuită cu buffer) au fost înregistrate și scăzute din absorbanta.

### **3.4.10. Activitatea de inhibare a activității tirozinazei**

Capacitatea inhibitoare a tirozinazei (din *Agaricus bisporus*,  $\geq 1000$  unități/mg solid) a extractului optimizat a fost realizată conform protocolului descris de [Meziant și colab. \(2021\)](#), prin amestecarea unui volum de 0,5 ml soluție de extract cu 0,8 mL soluție de tirozinază (46 U/ml), 2,0 mL PBS (0,1 M, pH 6,9) și incubare 15 minute la 37°C. Ulterior, s-a adăugat 1 ml de L-DOPA (2,5 mM în 0,1 M PBS la pH 6,9) pentru a iniția reacția, urmată de incubare timp de 10 minute la 37°C și citirea absorbantei la 492 nm (Jenway, UK). Activitatea inhibitoare a tirozinazei a fost exprimată ca IC50 (mg/ml), utilizând acid kojic ca standard.

### **3.4.11. Activitate de inhibare a activității $\alpha$ -amilazei**

Pentru testul de inhibiție al  $\alpha$ -amilazei, un volum de 100  $\mu$ l soluție extract optimizat cu diferite concentrații, a fost adăugat peste 100  $\mu$ l soluție de enzimă  $\alpha$ -amilază (1 mg/ml PBS) și incubat la temperatura camerei timp de 10 minute. Apoi, a fost adăugat un volum de 100  $\mu$ l soluție de amidon 1%, urmat de incubare la 37 ° C timp de 20 de minute. În cele din urmă, s-au adăugat 0,2 ml de acid dinitro-salicilic și probele au fost menținute pe baie de apă la 98°C timp de 10 minute. Amestecul final a fost diluat în 2 ml de apă distilată și absorbanta a fost citită la 540 nm. Activitatea inhibitoare a  $\alpha$ -amilazei a fost exprimată ca IC50 mg/ml, folosind acarboză ca standard.

### **3.4.12. Activitate de inhibare a activității $\alpha$ -glucozidazei**

Metoda descrisă de [Meziant și colab. \(2021\)](#) a fost folosit pentru a evalua efectul potențial inhibitor al extractului asupra  $\alpha$ -glucozidazei. Pe scurt, 100  $\mu$ L de extract cu diferite concentrații au fost amestecați cu 20  $\mu$ l de soluție de enzimă (1 mg/ml în tampon PBS 0,1 M, pH 6,9), urmat de menținere timp de 10 minute la 37°C. Ulterior, s-a adăugat un volum de 40  $\mu$ l de p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranozidă 5 mM în 0,1 M PBS (pH 6,9), acesta fiind incubat la 37°C timp de 20 min, urmat de citirea absorbantei la 405 nm. Activitatea inhibitoare a  $\alpha$ -glucozidazei a fost exprimată ca IC50 mg/ml, folosind acarboză ca standard.

### **3.4.13. Activitate de inhibare a activității lipazei**

Metoda a implicat hidroliza palmitatului de *p*-nitrofenil la *p*-nitrofenol și cuantificare la lungimea de undă de 400 nm. Soluția de lipază (1,0 mg/ml în PBS, pH 7,0) a fost amestecată cu

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

extractul de FPM la concentrații cuprinse între 0 și 7,2 mg/ml și lăsată pe gheață timp de 5 minute. La amestecul de reacție, s-au adăugat 330  $\mu$ l de substrat, reprezentat 20  $\mu$ l de palmitat de p-nitrofenil 10 mM în PBS 0,1 M (pH 7,0), 0,6% (v/v) Triton X-100 și 0,15% (g/v) gumă arabică. Reacția enzimatică a fost inițiată prin adăugarea a 50  $\mu$ l de soluție de extract de lipază/FPM în amestecul de substrat și incubare la 37°C timp de 20 de minute. Activitatea inhibitoare a lipazei a fost exprimată în IC50 (mg/ml), utilizând orlistat ca standard

### 3.4.14. Prelucrare statistică

Rezultatele sunt exprimate ca valori medii. Analiza de regresie în trepte a fost efectuată utilizând software-ul Minitab 18. Semnificația statistică a ecuației polinomiale (pe baza valorii  $p$ ) a fost evaluată folosind ANOVA, precum și coeficienții de regresie ai termenilor individuali liniari și pătratici. Precizia și validitatea modelului au fost evaluate în termeni de coeficient de determinare ( $R^2$ ), în timp ce testul care verifică adecvarea modelului de regresie și testul F au fost considerate semnificative la valoarea  $p < 0,05$ .

## 3.5. REZULTATE ȘI DISCUȚII

### 3.5.1. Analiza comparativă a unor tehnici de extracție a compușilor biologic activi din făina de porumb mov

În Tabelul 3.2. este prezentat profilul fitochimic global al celor 5 variante de extracte.

**Tabel 3.2.** Conținutul în antociani, flavonoide, polifenoli totali și activitatea antioxidantă a extractelor din porumb mov

Compuși fitochimici	Varianta 1	Varianta 2	Varianta 3	Varianta 4	Varianta 5
Antociani, C3G, mg/g SU	1,48 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	2,96 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	2,38 $\pm$ 0,38 <sup>ab</sup>	2,33 $\pm$ 0,65 <sup>ab</sup>	2,09 $\pm$ 0,24 <sup>ab</sup>
Flavonoide, mg EC/ g SU	0,77 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,67 $\pm$ 0,10 <sup>ab</sup>	0,66 $\pm$ 0,05 <sup>ab</sup>	0,58 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,51 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>
Polifenoli, mg EAG/g SU	0,93 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>	1,48 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	1,12 $\pm$ 0,70 <sup>bc</sup>	1,22 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	1,22 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>
Activitate antioxidantă, mM Trolox/g SU	3,03 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	5,35 $\pm$ 0,41 <sup>a</sup>	4,76 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	4,92 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>	4,82 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>

\* valorile din același rând care nu împărtășesc o literă (a, b) sunt diferite din punct de vedere statistic ( $p < 0,05$ ) conform metodei Anova, testul Tukey (nivel de încredere 95%)

Din Tabelul 3.1. se observă că profilul fitochimic global al celor 5 variante de extracte variază. De exemplu, cantitatea totală de antociani (TAC) variază între 1,48 mg C3G/g (varianta 1) și 2,96 mg C3G/g (varianta 2), iar conținutul total de polifenoli (TPC) variază între 0,93 mg EAG/g și 1,48 mg EAG/g. Într-un studiu realizat de [Zhang și colab. \(2019\)](#), pe 20 genotipuri de porumb mov, conținutul fenolic total (TPC) al porumbului mov a variat de la 69,1 la 225,1 mg EAG/g SU, iar conținutul total de antociani (TAC) a fost de la 12,8 la 93,5 mg echivalenți C3G / g SU. [Cuevas-Montilla și colab. \(2011\)](#) au raportat că TPC și TAC din nouă soiuri de porumb mov bolivian au prezentat concentrații variabile, între 3,1–8,2 mg EAG / g porumb, respectiv 0,02–0,7 mg C3G/g porumb. Niveluri similare de TPC au fost observate în șase genotipuri de porumb mov (4,5-10,5 mg EAG/g porumb), dar s-au înregistrat valori mai mici de TAC (0,003–0,7 mg C3G/g porumb) ([Žilić și colab. 2012](#)).

În prezentul studiu, conținutul total de flavonoide (TFC) variază între 0,51 mg EC/g (varianta 5) și 0,77 mg EC/g (varianta 1), iar activitatea antioxidantă variază între 3,03 $\pm$ 0,12 mM Trolox/g SU și 5,35 $\pm$ 0,41 mMol Trolox/g SU. [Yang și Zhai \(2010\)](#), au realizat un studiu comparativ al activității antioxidante între știuletele de porumb mov și boabele de porumb mov prin mai multe metode de investigație, inclusiv DPPH. DPPH-ul este redus de polifenoli și antociani prin donare

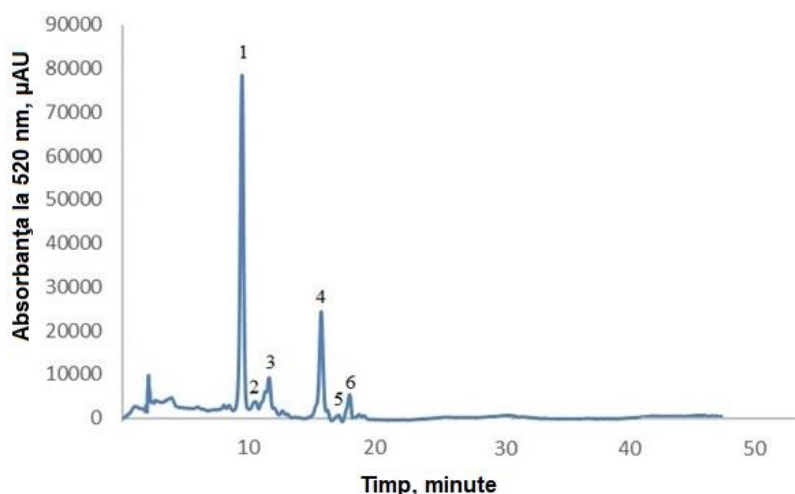
## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

de hidrogen, formând DPPH-H\* redus. Schimbările de culoare de la violet la galben după reducere pot fi cuantificate prin scăderea absorbției sale la lungimea de undă 515 nm (Bondet și colab. 1997; Chang și colab. 2007). Știuletele de porumb mov a prezentat o activitate antioxidantă, exprimată prin inhibiție, mai mare de 98,3% decât boabele de porumb mov (95,7%), la concentrații de 1,0 mg/ml. Pentru a cuantifica în continuare activitatea antioxidantă, a fost calculat IC50. La măsurarea activității antioxidante folosind diferite sisteme de extracție s-a observat că adăugarea în procente diferite a metanolului are o influență semnificativă asupra activității antioxidante. Cel mai bun răspuns, ținând cont de sistemul de extracție aplicat pentru testul DPPH, a fost 80:20, metanol : apă acidulată cu HCl 1% (1 N), care a arătat un răspuns mai bun cu un IC50 de 66,3 μg/ml. Valorile DPPH, IC50 observate la extractele de porumb violet sunt semnificativ mai mici comparativ cu cele ale altor specii de plante (Ramos-Escudero și colab. 2012). De exemplu, Benvenuti și colab. (2004) au raportat valori IC50 pentru mure (*R. fruticosus* L.) între 4,6 și 9,5 mg/ml, zmeură (*R. idaeus* L.) între 5,5 și 10,9 mg/ml pentru coacăz negru (*R. nigrum* L.) între 1,0 și 4,2 mg/ml, coacăz roșu (*R. rubrum* L.) între 4,3 și 5,9 mg/ml și aronia negru (*A. melanocarpa* Elliot) de 1,8 mg/ml.

Din datele experimentale prezentate în Tabelul 3.2. se poate concluziona extracția hidroalcoolică (etanol 70%) a permis obținerea unui extract cu un profil fitochimic global superior.

### 3.5.2. Identificarea și separarea cromatografică a compușilor antioxidanți din extractul de porumb mov

Profilul HPLC-DAD al extractului din făină de porumb mov obținut prin extracția asistată de ultrasunete la 30°C/60 min a permis identificarea a șase compuși principali (Figura 3.1.), după cum urmează: cianidin-3-O-glucozid, pelargonidin-3-O-glucozid, peonidin-3-O-glucozid, cianidin-3-O-(6"-malonilglucosid), pelargonidin-3-O-(6"-malonilglucosid) și peonidin-3-O-(6"-malonilglucosid). Cei doi compuși majoritari au fost cianidin-3-O-glucozid și forma sa acilată cianidin-3-O-(6"-malonilglucosid). Compusul care a înregistrat cel mai mic conținut a fost forma acilată de pelargonidin-3-O-glucozid.



**Figura 3.1.** Profilul cromatografic al extractului de făină de porumb mov – Peak 1 - cianidin-3-O-glucozid; Peak 2 - pelargonidin-3-O-glucozid; Peak 3 - peonidin-3-O-glucozid; Peak 4 - cianidin-3-O-(6"-malonilglucosid); Peak 5 - pelargonidin-3-O-(6"-malonilglucosid) și Peak 6 - peonidin-3-O-(6"-malonilglucosid)

Yang și colab. (2010) au raportat că profilul HPLC al porumbului mov este reprezentat de antociani ca cianidin-3-glucozid, pelargonidin-3-glucozid și peonidin-3-glucozid. Mai mult,

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

Pascual-Teresa și colab. (2002) și Aoki și colab. (2002) au determinat și prezența cianidin-3-O-(6"-malonilglucozid), pelargonidin-3-O-(6"-malonilglucozid), peonidin-3-O-(6"-malonilglucozid), cianidin-3-O-(6"-etilmalonilglucozid), pelargonidin-3-O-(6"-etilmalonilglucozid) și peonidin-3-O-(6"-etilmalonilglucozid). Deci porumbul mov prezintă o fracțiune importantă de antociani acilați, forma acilată fiind reprezentată de acidul malonic. Antocianii cu forma acilată etil - malonil au fost, de asemenea, identificați în extracte de porumb mov, considerându-se că extracția acestor forme ale antocianilor se obțin prin extracție în etanol de concentrație 60% cu adaos de 1% acid citric, timp de 3 ore la 60<sup>0</sup> C (Pascual-Teresa și colab. 2002).

### 3.5.3. Optimizarea condițiilor de extracție a antocianilor din făina de porumb mov la extracția solid-lichid

În acest studiu, a fost utilizată matricea BBD cu trei niveluri și patru factori pentru a evalua efectul diferitelor variabile independente asupra recuperării TAC din FPM. Datele experimentale sunt prezentate în Tabelul 3.3. Parametrii ANOVA prezentați în Tabelul 3.4. au indicat că regresia de ordinul doi a fost semnificativă ( $p < 0,05$ ) și modelul polinomial de ordinul II s-a potrivit cu rezultatele experimentale. Testul care verifică adecvarea modelului de regresie nu a arătat o influență semnificativă, indicând o acuratețe ridicată a modelului pentru predicția TAC. Coeficientul de determinare R<sup>2</sup> a sugerat că modelul este capabil să explice 79% din variația TAC.

**Tabel 3.3.** Matricea de proiectare Box–Behnken (BBD) cu variabile independente și date experimentale pentru conținutul total de antociani (TAC) din FPM

Nr. ordine	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	TAC (mg/100g)
1	3	30	10	50	14,14
2	1	30	20	20	6,25
3	1	40	20	50	15,1
4	5	30	20	20	7,77
5	3	20	20	80	11,74
6	1	30	30	50	11,75
7	3	40	20	80	11,81
8	5	40	20	50	15,87
9	1	30	10	50	15,61
10	5	30	20	80	13,50
11	3	40	10	50	19,02
12	3	30	20	50	13,60
13	3	30	10	20	8,95
14	3	30	20	50	13,46
15	3	20	20	20	7,52
16	3	30	30	20	8,29
17	5	30	30	50	13,18
18	3	40	20	20	11,32
19	3	20	30	50	9,54
20	3	30	30	80	13,60
21	3	30	10	80	14,40
22	3	40	30	50	10,84
23	5	20	20	50	12,48
24	3	30	20	50	15,09

**Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

25	3	20	10	50	13,72
26	1	30	20	80	15,60
27	1	20	20	50	11,23

<sup>a</sup> valorile a sunt exprimate ca valoarea medie a trei determinări

Din Tabelul 3.4. se poate observa că în termeni liniari, temperatura, raportul lichid/solid și concentrația de etanol au prezentat un efect semnificativ asupra TAC, în timp ce în termeni polinomiali doar raportul lichid/solid a prezentat un efect semnificativ. Modelul de regresie rezultat în urma eliminării termenilor nesemnificativi a fost exprimat cu ajutorul ecuației 3.11.:

$$TAC = 0,45 + 0,14X_2 - 0,16X_3 + 0,39X_4 - 0,003 X_4^2 \quad (3.11)$$

unde:  $X_2$  este temperatura ( $^{\circ}C$ ),  $X_3$  este raportul lichid/solid (mL/g) și  $X_4$  este concentrația de etanol (%).

**Tabel 3.4.** Analiza varianței și estimarea coeficienților modelului polinom de ordinul doi pentru conținutul total de antociani (TAC) din făina de porumb mov

Sursă	DF	Adj SS	Adj MS	F-valoare	p-valoare
Model	4	183,20	45,80	20,75	0,000
Liniar	3	132,91	44,30	20,07	0,000
$X_2$	1	26,19	26,19	11,87	0,002
$X_3$	1	28,97	28,97	13,12	0,002
$X_4$	1	77,74	77,74	35,22	0,000
Pătrat	1	50,29	50,29	22,78	0,000
$X_4^2$	1	50,29	50,29	22,78	0,000
Eroare	22	48,56	2,20		
Nepotrivire	20	46,93	2,34	2,87	0,290
Eroare pură	2	1,63	0,81		
Total	26	231,77			
$R^2$			0,79		
Adj $R^2$			0,75		

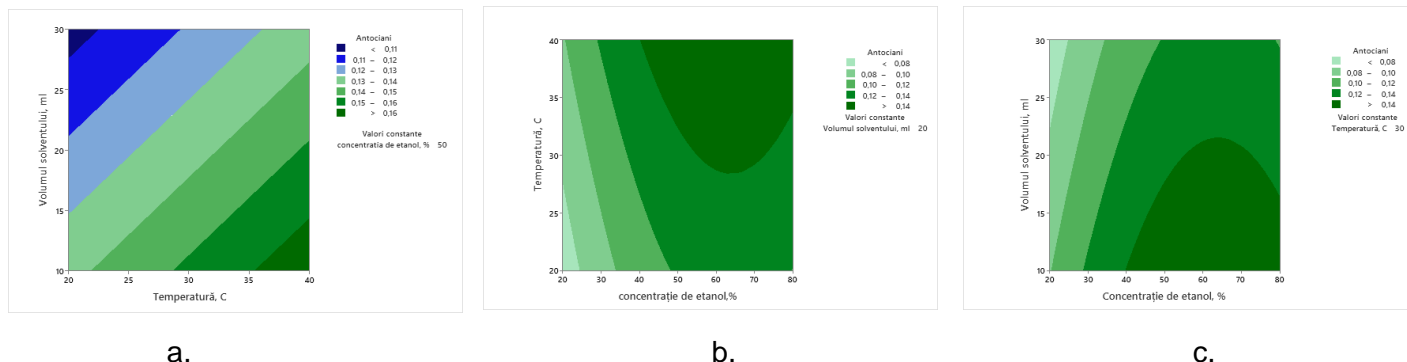
Din ecuația de regresie se poate observa un efect pozitiv exercitat de temperatură și concentrația de etanol asupra recuperării TAC și un efect negativ exercitat de raportul lichid/solid atât în termeni liniari cât și polinomiali. Pentru a obține randamente mari de extracție, trebuie acordată o atenție sporită intervalului parametrilor aleși pentru extracție. Raportul lichid-solid are un efect semnificativ asupra randamentului de extracție a compușilor bioactivi. De exemplu, [Cristianini și Sanchez \(2020\)](#) au raportat că două dintre cele mai semnificative variabile în extracția antocianilor din porumb mov sunt raportul solid/lichid și pH-ul. Într-un studiu realizat de [Rafael \(2017\)](#) s-au optimizat condițiile de extracție la un raport lichid/solid de 20 ml/g, fiind raportat un conținut de antociani de 7,43 mg C3G/g. Pe lângă raportul solid-lichid, temperatura este o altă variabilă importantă care poate afecta randamentul de extracție. Difuzia compușilor bioactivi, în principal antociani, poate fi accelerată la temperatură mai mare, totuși o temperatură peste 40 $^{\circ}C$  poate duce la degradarea antocianilor ([Timberlake, 2009](#)).

Pentru a demonstra relația dintre variabilele independente și dependente și pentru a determina nivelurile optime ale acestora au fost reprezentate și diagramele de contur (Figura 3.2.). Graficele au fost obținute prin reprezentarea grafică a răspunsului TAC folosind axa z față de două variabile independente, menținând în același timp cealaltă variabilă independentă la un nivel constant. Conținutul de antociani crește odată cu creșterea temperaturii și scăderea

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

raportului lichid/solid. [Blackhall și colab. \(2018\)](#) au demonstrat același lucru la utilizarea unui raport lichid/solid de până la 10 ml/g, rezultate similare fiind raportate și de [Dumitrașcu și colab. \(2019\)](#), o creștere suplimentară ducând la scăderea recuperării antocianilor.

În Figura 3.2.b. este descris efectul temperaturii și concentrației de etanol asupra extracției TAC la un raport lichid/solid constant de 10 mL/g. Se poate observa că TAC a crescut odată cu creșterea atât a temperaturii, cât și a concentrației de etanol și a atins un maxim atunci când se folosește o concentrație de etanol de 80% și o temperatură de extracție de 40°C.



**Figura 3.2.** Diagrame de contur ale TAC din FPM în funcție de temperatură și raport lichid/solid (a); temperatura și concentrația de etanol (b); raportul lichid/solid și concentrația de etanol (c)

Pe de altă parte, luând în considerare efectul raportului solid/lichid și al concentrației de etanol asupra extracției de antociani (Figura 3.2.c), se poate observa că se obțin valori mai mari ale TAC atunci când concentrația de etanol variază între 40 și 80%, în timp ce raportul lichid/solid a variat între 10 și 20 ml/g. [Ali și colab. \(2018\)](#) au raportat că utilizarea solvenților cu caracteristici similare matricei favorizează solubilizarea compușilor din matrice.

### 3.5.4. Validarea modelului

Condițiile optime de extracție propuse de model au fost aplicate pentru a valida ecuația modelului. Condițiile optime pentru recuperarea maximă a TAC au fost: timp de extracție de 5 ore, temperatură 39°C, raport lichid/solid de 30 ml/g și concentrație de etanol de 73 %. În aceste condiții, răspunsul maxim prezis pentru TAC a fost de 13,77 mg C3G/g SU. Rezultatele experimentale obținute în condițiile optime de extracție prezise pentru TAC au confirmat modelul de extracție validat (Tabelul 3.5.). Validarea este susținută și de erori procentuale mai mici de 10% și de coeficient de variație (CV) scăzut.

**Tabel 3.5.** Date experimentale de validare a valorilor prezise pentru conținutul total de antociani (TAC) în condiții optime de extracție

Variabilă	Valoare estimate	95 % Intervale optime	Valoare experimentală	CV (%)	Eroare (%)
TAC (mg C3G/g SU)	13.77	12.19 – 15.36	14.04±0.02	1.08	1.95

[Fan și colab. \(2008\)](#) au obținut cea mai mare recuperare a antocianilor din cartofii dulci violet la o temperatură de 80° C timp de 60 de minute, în timp ce [Gorriti-Gutierrez și colab. \(2009a și 2009b\)](#) au raportat cel mai mare conținut de antociani din porumbul mov la 75°C, pentru un timp de extracție de 120 min și 240 min. Rezultatele obținute de acești autori au sugerat corelația negativă dintre temperatură și timpul aplicat pentru extracție, demonstrându-se că o temperatură mai mare determină un coeficient de difuzie mai bun și o solubilitate mai bună a compușilor.

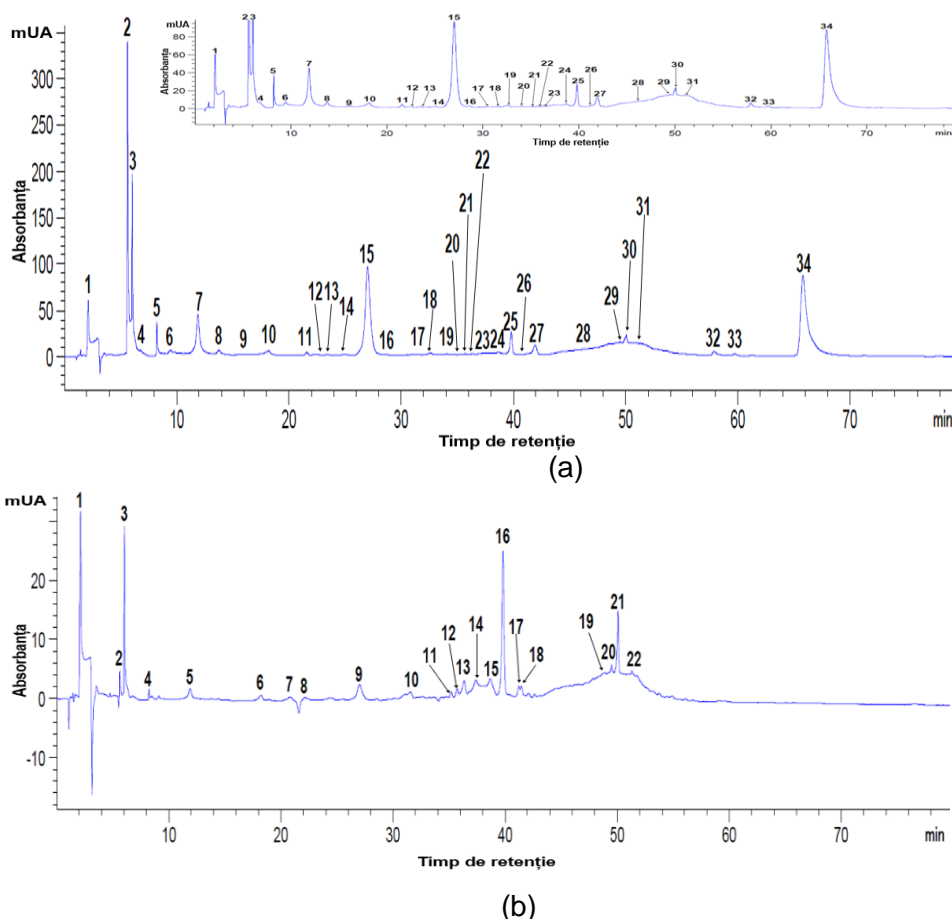
### 3.5.5. Profilul fitochimic al extractului optimizat

Extractul optimizat a fost analizat din punct de vedere fitochimic și a prezentat TAC de  $14,04 \pm 0,01$  mg C3G/g SU, un conținut de flavonoide totale de  $1,37 \pm 0,05$  mg CE/g SU și activitate antioxidantă de  $55,613 \pm 0,001$  mM Trolox/g SU.

Un alt studiu a avut ca scop optimizarea extracției de antociani din porumbul mov când s-a obținut un randament maxim de antociani de 5,90 mg/g SU (Yang și colab. 2007). Într-un studiu anterior, Slavu (Ursu) și colab. (2021) au urmărit profilul fitochimic al FPM și au raportat un conținut total de antociani monomerici TAC de  $14,94 \pm 0,68$  mg C3G / g SU, TFC de  $0,35 \pm 0,03$  mg CE / g SU și o activitate antioxidantă de  $15,40 \pm 0,16$  M Trolox/ g SU. Rajha și colab. (2020) au obținut un conținut optim de polifenoli din porumbul mov de 78 mg GAE/g SM și antociani de 36 mg C3G/g SM.

### 3.5.6. Profilul cromatografic al extractului optimizat

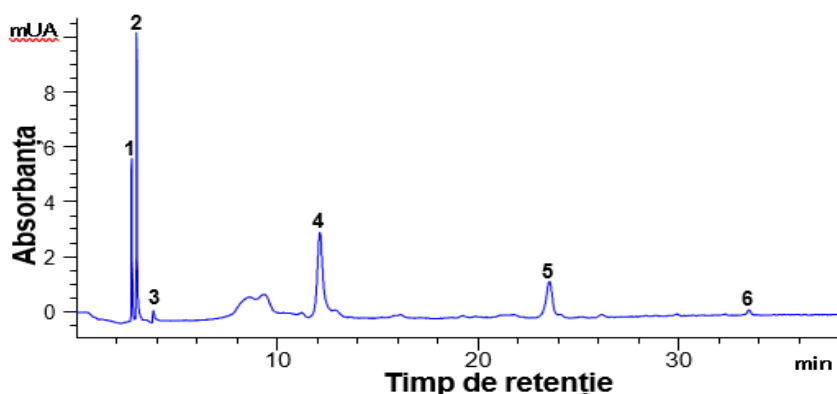
Profilul cromatografic al extractului optimizat este prezentat în Figura 3.3. și în rezumat în Tabelul 3.6.



**Figura 3.3.** Cromatogramele pentru determinarea flavonoidelor și polifenolilor din extractul de făina de porumb mov la 280 nm (a) și 320 nm (b). Identificarea peak-urilor: (a) 2 – Acid galic, 4 – acid cafeic, 8 – acid vanilic, 25 – miricetina, 28 – quercetin 3- $\beta$ -D-glucozid, 31 – kaempferol, 1, 3, 5 – 7, 9 – 24, 26, 27, 29, 30, 32 – 34 – peak-uri neidentificate; (b) 2 – Acid galic, 7 – acid *p*-coumaric, 16 – miricetina, 22 – kaempferol, 1, 3 – 6, 8 – 15, 17 – 21 – peak-uri neidentificate.



## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov



**Figura 3.4.** Cromatogramele pentru determinarea antocianilor din extractul de făină de porumb mov la 520 nm. Identificarea peakurilor: 4 – Cianidin 3-O-glucozid, 6 – Clorură de malvidină, 1 – 3, 5 – peakurile identificate.

Din Figura 3.3. se poate observa că, folosind diferite lungimi de undă s-au separat 34 de compuși, în timp ce numai acidul galic ( $349,00 \pm 4,39$  mg/100 g SU), acid *p*-cumaric ( $260,01 \pm 1,90$  mg/100 g SU), acid cafeic ( $19,73 \pm 1,89$  mg/100 g SU) și acid vanilic ( $245,46 \pm 8,00$  mg/100 g SU) au fost identificați și cuantificați. Principalele flavonoide identificate au fost miricetina ( $722,89 \pm 2,70$  mg/100 g SU), quercetină 3- $\beta$ -D-glucozidă ( $688,16 \pm 5,00$  mg/100 g SU) și kaempferol ( $512,72 \pm 9,99$  mg/100 g SU). Au fost separați șase antociani (Figura 3.4.) și anume cianidin 3-O-glucozid ( $395,66 \pm 1,26$  mg/100 g SU) și clorură de malvidină ( $159,30 \pm 0,04$  mg/100 g SU).

**Tabel 3.6.** Cuantificarea compușilor bioactivi din extractul de făină de porumb mov

Compuși	Concentrație, mg/100 g SU	
	280 nm	320 nm
Acid galic	$349.00 \pm 4.39$	$6.83 \pm 0.00$
Acid <i>p</i> -cumaric	ND	$260.01 \pm 1.90$
Acid cafeic	$19.73 \pm 1.89$	ND
Acid vanilic	$245.46 \pm 8.00$	ND
Miricetină	$722.89 \pm 2.70$	$698.18 \pm 0.62$
Quercitină	$688.16 \pm 5.00$	ND
Kaempferol	$512.72 \pm 9.99$	$15.81 \pm 4.91$
<b>Antociani</b>	<b>520 nm</b>	
Cianidin 3-O-glucozid	$395.66 \pm 1.26$	
Clorură de malvidină	$159.30 \pm 0.04$	

Hong și colab. (2020) au identificat optsprezece compuși antocianici diferiți, constând din cianidin-, peonidin- și pelargonidin-glucozid, în porumbul dulce și porumbul pigmentat. De exemplu, acești autori au raportat un conținut în cianidin 3-O-glucozid variind de la 72,4 la 137,1 mg/100g material vegetal în porumbul mov.

### 3.5.7. Cinetica de degradare termică a antocianilor din extract

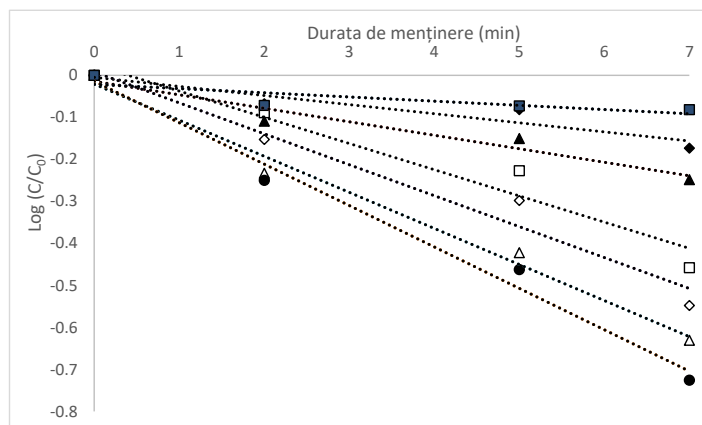
În urma tratamentului termic, din analiza TAC prin metoda pH-ului diferențiat, s-au obținut rezultatele din Tabelul 3.7., în intervalul de temperatura 80-110°C. Din acestea se poate observa că tratamentul termic între 80-110°C nu influențează conținutul în antociani monomerici.

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

**Tabel 3.7.** Conținutul de antociani (mg C3G/G SU) din extractul de porumb mov după tratamentul termic între 80-110° C

Durata de menținere (min)	Temperatura (°C)			
	80	90	100	110
0	2,24±0,10	2,68±0,04	2,44±0,05	2,39±0,25
2	nd	nd	nd	nd
5	nd	nd	2,46±0,20	2,40±0,01
7	nd	nd	nd	nd
10	2,37±0,15	2,44±0,05	2,47±0,11	2,42±0,07
15	nd	nd	2,47±0,04	2,46±0,11
20	2,37±0,15	2,48±0,20	nd	nd
30	2,44±0,04	2,43±0,02	nd	nd
40	2,60±0,08	nd	nd	nd

În continuare, a fost realizat un studiu în detaliu al cineticii de degradare a antocianilor în funcție de temperatură și timp. Cinetica de degradare termică a antocianilor monomerici din extract a fost studiată pentru temperaturi cuprinse între 120 și 180°C. Rezultatele obținute au fost liniarizate prin logaritmare și s-a verificat aplicabilitatea modelului cinetic de ordinul I cu ajutorul metodei de regresie liniară (Figura 3.5.).



**Figura 3.5.** Cinetica de degradare termică a antocianilor monomerici totali în apă acidulată la pH 4.5 la temperaturi cuprinse între 120 și 180°C (■ 120°C, ◆ 130°C, ▲ 140°C, □ 150°C, ◇ 160°C, Δ 170°C, ● 180°C)

Rezultatele prezentate în Figura 3.5. arată o scădere liniară a conținutului de TAC, la temperatură constantă și timp de menținere diferit, rezultate care susțin ipoteza degradării termice pe baza modelului cinetic de ordinul I. Regresia liniară aplicată pentru ecuația 2 conduce la estimarea valorilor D. Constantele de viteză de inactivare și timpul de reducere decimală au fost estimate și sunt prezentate în Tabelul 3.7. Așa cum era de așteptat, timpul de reducere decimală scade cu creșterea temperaturii. Din Tabelul 3.7 se poate observa că valorile constantelor vitezei de degradare cresc odată cu creșterea temperaturii. La 180°C, timpul de reducere decimală este mai mic, de circa 10 min, în timp ce pentru a degrada antocianii la 120°C sunt necesare mai mult de 100 de minute.

Valorile parametrilor cinetici obținute și prezentate în Tabelul 3.8. și Figura 3.5., care demonstrează că antocianii din FPM, responsabili de culoarea și unele proprietăți biologice ale alimentelor au o termostabilitate mai mare comparativ cu cea pentru spori sau celule vegetative ( $z = 5-12^{\circ}\text{C}$ ).

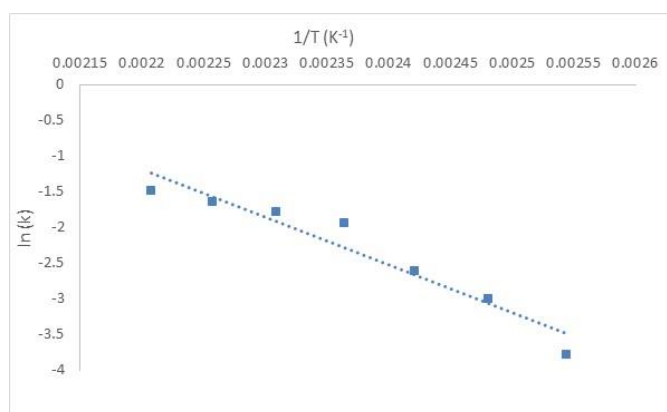
## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

**Tabel 3.8.** Constantele vitezelor de degradare și valorile  $D$  pentru degradarea termică a antocianilor din extractul de făină de porumb mov

Temperatură (°C)	$k \times 10^{-2}$ (1/min)	Valori $D$ (min)	$t_{1/2}$ (min)
120	2,28 ± 0,024*	101,01 ± 2,66	30,40 ± 1,24
130	4,99 ± 0,035	46,08 ± 3,72	13,86 ± 1,98
140	7,39 ± 0,125	31,15 ± 0,61	9,37 ± 0,97
150	14,37 ± 0,17	16,02 ± 0,39	4,82 ± 0,67
160	16,95 ± 0,23	13,58 ± 0,19	4,08 ± 0,45
170	19,29 ± 0,12	11,93 ± 0,25	3,59 ± 0,22
180	22,68 ± 0,20	10,15 ± 0,14	3,05 ± 0,12
$E_a = 55,75 \text{ kJ/mol} \pm 6,83 (R^2 0,93)$		$Z_T = 61,72 \pm 2,28 (R^2 0,90)^\circ\text{C}$	

Prin urmare, constantele vitezelor de degradare termică a antocianilor sunt mult mai puțin dependente de temperatură (Holdsworth, 1985). Referitor la mecanism, este cunoscut faptul că degradarea termică a antocianilor începe cu deschiderea inelului central urmată de hidroliza moleculei, și formarea unor compuși incolori. Yang și colab. (2008) au studiat degradarea termică a antocianilor din porumbul mov la 70, 80 și 90°C. Ei au arătat că viteza de degradare a antocianilor a crescut odată cu creșterea temperaturii. Aceleași rezultate au fost înregistrate și de Kirca și colab. (2006). Valorile timpului de înjumătățire au variat de la 11,6 la 7,5 pentru extractele apoase la pH 4,0 la 70, 80 și respectiv 90°C. Wang și colab. (2007) au raportat valori de 8,8, 4,7 și 2,9 ore ale timpului de înjumătățire, în cazul degradării antocianilor la temperaturi de 70, 80, 90°C. Față de antocianii din mure, antocianii din porumb mov au fost mai puțin sensibili la temperaturi ridicate. Principalii antociani din porumbul mov sunt cianidin-3-O-glucozid, pelargonidin-3-O-glucozid și peonidin-3-O-glucozid (Pascual-Teresa și colab. 2002). Principalii antociani din mure sunt cianidin-3-glucozid și o cantitate mică de cianidin-3-O-rutinozid, cianidin-3-O-malonyl-glucozid (FanChiang și Wrolstad, 2005). Prin urmare, susceptibilitățile diferite la încălzire s-ar putea datora compoziției lor variate de antociani. Într-un alt studiu Busso-Casati și colab. (2017) arată că, conținutul total de compuși polifenolici din coacăzul negru și afine supuse unui tratament termic între 70–90°C își menține nivelul după tratament.

Dependența de temperatură a constantelor vitezelor de degradare termică este prezentă în Figura 3.6.

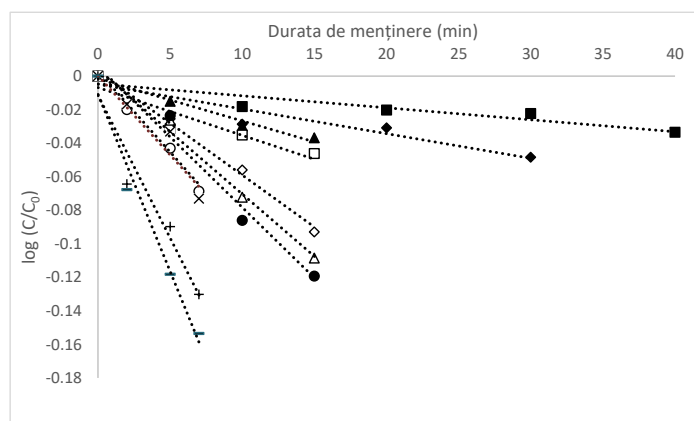


**Figura 3.6.** Corelația Arrhenius care descrie dependența de temperatură a constantelor vitezelor de degradare termică a antocianilor din extractul de porumb mov în intervalul de temperatură 120-180°C

Peron și colab. (2017) au sugerat valori pentru energia de activare de  $99,77 \pm 0,87 \text{ kJ/mol}$  în extractul de juçara (o specie de palmier) și  $93,62 \pm 0,44 \text{ kJ/mol}$  pentru degradarea antocianilor în extractul de struguri "Italia", în timp ce Heldman (2011) a sugerat că energia de activare pentru degradarea antocianilor variază între 35 și 125 kJ/mol.

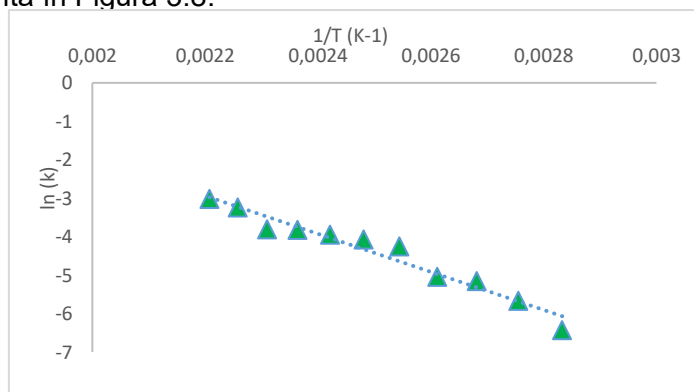
### 3.5.8. Cinetica de degradare termică a activității antioxidante a extractului din făină de porumb mov

Activitatea antioxidantă a porumbului mov este dată de toți compușii polifenolici (antociani, acizi fenolici, flavonoide nonantocianice) care sunt termolabili. Acest lucru a fost demonstrat prin evaluarea comportamentului la tratamentul termic (Figura 3.7.). În tot intervalul de temperatură studiat, activitatea antioxidantă a înregistrat o ușoară scădere, sugerând implicarea și a altor compuși cu termostabilitate diferită. Astfel, după tratamentul termic la 120°C, timp de 30 de minute s-a înregistrat o scădere a activității antioxidante cu 20%, în timp ce după 7 minute de menținere la 180°C, activitatea antioxidantă scade cu circa 30%. Scăderea activității antioxidante în extractul de porumb mov tratat termic poate fi atribuită combinațiilor sinergice sau interacțiunilor mai multor tipuri de reacții chimice, difuziei compușilor solubili în apă și formării sau descompunerii acestora, așa cum este explicat de [Harakotr și colab. \(2014\)](#).



**Figura 3.7.** Cinetica de degradare termică a activității antioxidante în apă acidulată la pH 4.5 la temperaturi cuprinse între 80 și 180°C (■ 80°C, ◆ 90°C, ▲ 100°C, □ 110°C, ◇ 120°C, Δ 130°C, ● 140°C, ○ 150°C, × 160°C, + 170°C, - 180°C)

Degradarea termică a activității antioxidante a extractului de făină de porumb mov a urmat și în acest caz un model cinetic de ordin I (Figura 3.7.). Prin urmare, valorile  $k$  au variat de la  $1,61 \pm 0,01 \cdot 10^{-3}$  1/min la 80°C, crescând semnificativ la  $4,85 \pm 0,29 \cdot 10^{-2}$  1/min la 180°C (Tabelul 3.9.). Diferențe semnificative pot fi observate în Tabelul 3.8. la analiza valorilor  $D$ , care demonstrează diferențe clare de sensibilitate termică la temperaturi diferite. Prin creșterea temperaturii cu 10°C de la 80 la 90°C, valoarea  $D$  a fost de 2 ori mai mică, în timp ce creșterea la 120°C a cauzat o reducere de aproape 10 ori. Dependența de temperatură a constantelor vitezelor de degradare termică este prezentă în Figura 3.8.



**Figura 3.8.** Corelația Arrhenius care descrie dependența de temperatură a constantelor vitezelor de degradare termică a activității antioxidante din extractul de porumb mov în intervalul de temperatură 80-180°C

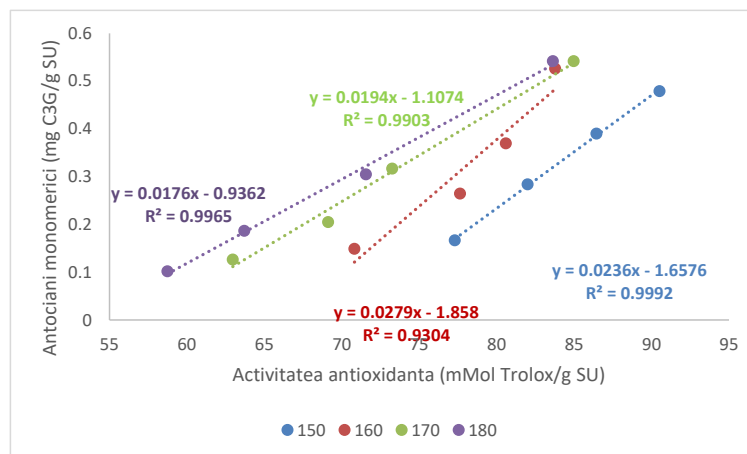
## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

Valorile  $E_a$  estimate pentru degradarea activității antioxidante din extractul de făină de porumb mov a fost  $41,12 \pm 3,00$  kJ/mol, ceea ce sugerează că este necesară o energie mai mare pentru a degrada termic activitatea antioxidantă, aspect care poate fi explicat prin termostabilitatea diferită a compușii din extractul responsabili pentru activitatea antioxidantă.

**Tabel 3.9.** Constantele vitezelor de degradare și valorile  $D$  pentru degradarea termică a antocianilor din extractul de făină de porumb mov

Temperatură (°C)	$k \times 10^{-2}$ (1/min)	Valori $D$ (min)	$t_{1/2}$ (min)
80	$0,16 \pm 0,01^*$	$1428,57 \pm 25,67$	$429,96 \pm 13,45$
90	$0,34 \pm 0,02$	$666,66 \pm 17,59$	$200,65 \pm 11,26$
100	$0,57 \pm 0,10$	$400 \pm 19,35$	$120,39 \pm 16,78$
110	$0,64 \pm 0,09$	$357,14 \pm 8,89$	$107,49 \pm 11,27$
120	$1,42 \pm 0,28$	$161,29 \pm 7,66$	$48,54 \pm 2,24$
130	$1,70 \pm 0,26$	$135,13 \pm 3,82$	$40,67 \pm 2,87$
140	$1,93 \pm 0,25$	$119,04 \pm 4,61$	$35,83 \pm 2,98$
150	$2,18 \pm 0,27$	$105,26 \pm 2,39$	$31,68 \pm 1,97$
160	$2,23 \pm 0,13$	$103,09 \pm 2,19$	$31,02 \pm 2,67$
170	$3,91 \pm 0,18$	$58,82 \pm 1,12$	$17,70 \pm 1,43$
180	$4,85 \pm 0,29$	$47,39 \pm 1,14$	$14,26 \pm 1,82$
<b><math>E_a = 41,12</math> kJ/mol <math>\pm 3,00</math> (0.95)</b>		<b><math>z_T = 75,75 \pm 2,87</math> (0.93)°C</b>	

Așa cum era de așteptat, valoarea  $z$  denotă că rezistența termică a compușilor responsabili de activitatea antioxidantă ( $75,75 \pm 2,87^\circ\text{C}$ ) este mai mare decât cea pentru spori sau celule vegetative, ceea ce sugerează că ratele de distrugere termică a compușilor biologic activi din extractul de porumb mov sunt mult mai puțin dependente de temperatură. O analiză comparativă a cineticii de degradare a antocianilor versus activitate antioxidantă este prezentată în Figura 3.9., în intervalul de temperatura 150-180°C.



**Figura 3.9.** Corelație între activitatea antioxidantă și conținutul de antociani monomerici la diferite temperaturi, pentru timpi de menținere între 0-7 minute

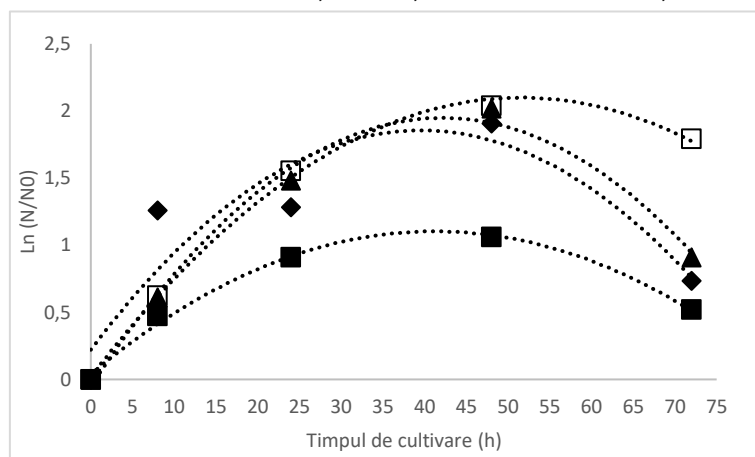
Din Figura 3.9. se poate observa că activitatea antioxidantă scade odată cu scăderea concentrației de antociani, indiferent de temperatură și timpul de menținere, între cele două variabile existând o dependență liniară.

### 3.5.9. Influența compușilor biologic activi din extractele din făina de porumb mov asupra activității metabolice a drojdiilor

În studiul de față, extractul de FMP a fost testat ca adjuvant în mediul de cultură de fermentație al drojdiilor de panificație, pentru a studia efectul asupra activității metabolice a drojdiei, în ceea ce privește multiplicarea, viabilitatea celulelor și dinamica fermentației alcoolice.

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

Din Figura 3.10., se poate observa că cea mai mare rată de multiplicare a fost obținută după 48 de ore de cultivare, fiind corelată cu cea mai mare cantitate adăugată de extract din FPM (1,2 mg/100 ml), comparativ cu proba martor. Numărul de generație ( $n$ ) a celulelor de drojdie crește semnificativ de la  $2,88 \pm 0,76$  în cazul probelor martor la  $6,72 \pm 0,88$  în cazul V1,  $7,52 \pm 0,16$  și  $7,68 \pm 0,56$  în cazul V2 și, respectiv, V3. Rata de creștere ( $v$ , 1/h) crește semnificativ de la  $5,23 \pm 0,97$  în cazul MV la  $1,91 \pm 0,11$  la V1 și  $1,44$  și  $1,40$  în cazul V2 și, respectiv, V3.



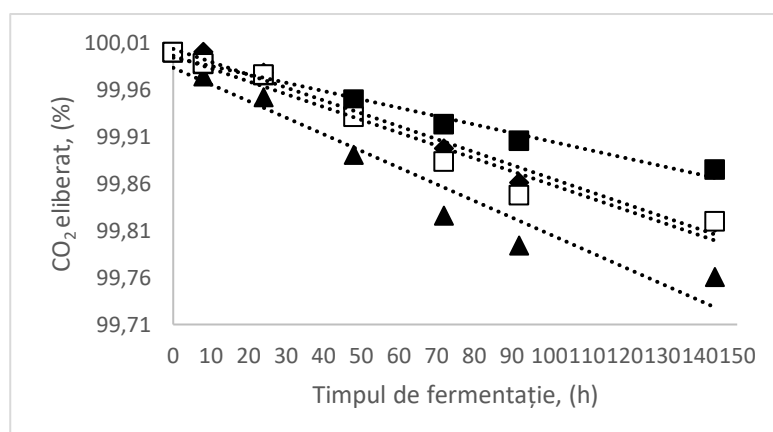
**Figure 3.10.** Dinamica înmulțirii drojdiilor prin cultivare în mediu lichid suplimentat cu extract de făină de porumb mov: (■) probă martor – MV; (◆) probă cu extract 0,3% (▲) probă cu extract 0,6%; (□) probă cu extract 1,2%.

Prin urmare, se poate aprecia că nu s-au observat diferențe semnificative atunci când s-au luat în considerare diferite concentrații din extractul optimizat de FPM între 0,6 și 1,2%. Efectul semnificativ al extractului adăugat a fost observat când s-a ținut cont de timpul de generare, intervalul de timp pentru ca celulele de drojdie să își dubleze populația a fost de  $1,81 \pm 0,23$  h pentru proba MV și a scăzut semnificativ la  $0,28 \pm 0,01$  h pentru V1,  $0,19 \pm 0,01$  h pentru V2 și  $0,18 \pm 0,01$  h pentru V3. Din Figura 3.10., se poate observa că autoliza celulelor a început după 48 de ore de cultură, atingând un maxim după 72 de ore. Rezultatele au arătat că în absența extractului de făina de porumb mov, autoliza a fost mai rapidă, procentul de celule autolizate față de numărul total de celule din cultură este vizibil redus după 72 de ore de cultivare în probele martor ( $8,4 \times 10^7$  UFC/ml), în comparație cu V1 ( $10,4 \times 10^7$  UFC/ml), V2 ( $12,4 \times 10^7$  UFC/ml), în timp ce, cel mai mare număr de celule a fost determinat în V3 ( $30 \times 10^7$  UFC/ml). Rezultatele susțin ipoteza efectului de protecție al extractului de antociani față de celula de drojdie, în mod dependent de doză. Rezultatele obținute sunt în acord cu [Râpeanu și colab. \(2008\)](#), care au folosit extracte polifenolice din struguri roșii pentru a studia influența asupra cineticii de înmulțire a drojdiei precum și asupra capacității de fermentație alcoolică. Acești autori au sugerat că prezența polifenolilor în mediul fermentativ influențează pozitiv activitatea metabolică și stabilitatea celulelor de drojdie, în funcție de tipul de extract (acidul tartric a fost mai eficient decât acidul citric).

### 3.5.10. Efectul extractului din făină de porumb mov asupra dinamicii fermentației alcoolice

Dinamica fermentației a fost evaluată în funcție de  $\text{CO}_2$  eliberat timp de 6 zile. Pierderea totală mai mare de  $\text{CO}_2$  a fost observată în V2 în comparație cu proba de control VM (Figura 3.11.). [Li și colab. \(2020\)](#) au arătat că proantocianidinele derivate din struguri ar putea acționa ca un protector împotriva diferitelor cerințe de mediu pentru *Saccharomyces cerevisiae* în timpul fermentației vinului, rezultând o activitate fiziologică crescută, eficiență a fermentației și o calitate îmbunătățită a vinului.

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov



**Figura 3.11.** Viteza de eliberare a CO<sub>2</sub> în fermentațiile alcoolice ale mediului lichid suplimentat cu extract de făină de porumb mov: (■) probă martor – MV; (◆) probă cu extract 0,3% (▲) probă cu extract 0,6%; (□) probă cu extract 1,2%.

### 3.5.11. Evaluarea unor proprietăți biologice a extractului optimizat prin determinarea potențialului de inhibiție a unor enzime implicate în sindromul metabolic

#### Activitatea de inhibare a tirozinazei

Activitatea tirozinazei este asociată cu boli precum hiperpigmentarea, melanomul și Parkinson. Prin urmare, potențialii inhibitori ai activității tirozinazei pot reprezenta o alternativă pentru tratamentul acestor boli, cum ar fi acizii fenolici, flavonoidele și antocianinele (Koyu și colab. 2018). În studiul efectuat, capacitatea de inhibare a extractului de FPM a fost comparată cu acidul kojic, ca medicament de referință. IC<sub>50</sub> pentru extractul din FPM obținut în condiții optime de extracție a fost de 1,15±0,01 mg/ml. Valoarea de referință pentru acidul kojic a fost de 4,8 μg/mL, sugerând, prin urmare, că extractul a fost mai puțin eficient în inhibarea tirozinazei.

Koyu și colab. (2018) au determinat valoarea IC<sub>50</sub> pentru activitatea inhibitoare a tirozinazei de 166 μg/ml pentru un extract optimizat de fructe *Morus nigra*. Meziant și colab. (2021) au sugerat că extractele bogate în flavonoide obținute din cojile diferitelor soiuri de smochin (*Ficus carica L.*) au prezentat o inhibare a tirozinazei cu valori IC<sub>50</sub> cuprinse între 95,08 și 447,49 μg/mL. S-a raportat că quercetina poate inhiba activitatea tirozinazei (Fan și colab. 2017), în timp ce acidul cinamic s-a dovedit că are un impact inhibitor asupra enzimelor legate de melanină (Garcia-Jimenez și colab. 2018).

#### Activitatea de inhibare a α-amilazei, α-glucozidaza și lipazei

La ora actuală, se folosesc diferite strategii în inhibarea enzimelor implicate în digestia carbohidraților, pentru a controla hiperglicemia, diabetul zaharat și tulburările lipidice, prin inhibarea α-glucozidazei și α-amilazei cu acarboză. În lucrarea de față s-a studiat potențialul extractului de FPM de a inhiba α-glucozidaza și α-amilaza și, prin urmare, utilizarea potențială a acestuia ca alternativă pentru administrarea medicamentelor. Valorile IC<sub>50</sub> pentru α-glucozidază și α-amilază au fost 2,30±0,14 mg/ml și 0,65±0,01 mg/ml, în timp ce valorile corespunzătoare pentru acarboză au fost 3,79±0,62 mg/mL și 2,98±0,13 mg/mL. La o concentrație de 3,6 mg/mL, extractul de FPM a redus activitatea α-glucozidazei cu 95%, în timp ce la aceeași concentrație a extractului, α-amilaza a fost inhibată cu 41%. Valoarea IC<sub>50</sub> corespunzătoare pentru inhibarea lipazei a fost de 0,20±0,03 mg/mL, cu o valoare corespunzătoare pentru orlistat de 1,23±0,09 mg/mL. S-a sugerat că extractele bogate în flavonoide au fost inhibitori mai puternici ai enzimelor digestive decât extractele bogate în antociani (Kim, 2020; Siegień și colab. 2021). Prin urmare, este corect să se considere că flavonoidele din extractul de FPM pot fi responsabile pentru

## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

activitatea inhibitoare, deși este posibil și un efect cumulativ. Studiile anterioare au sugerat că flavonoidele au efecte inhibitoare excelente asupra  $\alpha$ -glucozidazei (Semaan și colab. 2018). Derivații de quercetină și kaempferolul sunt cei mai predominanți flavonoizi în extractul de FPM, prezentând un efect inhibitor excelent asupra  $\alpha$ -glucozidazei,  $\alpha$ -amilazei și lipazei, în bună concordanță cu Hamed și colab. (2021). Din rezultatele obținute, se pare că extractul de FPM este mai eficient în inhibarea lipazei, urmată de  $\alpha$ -amilază, tirozinază și  $\alpha$ -glucozidază.

### **3.6. Concluzii parțiale**

Obiectivele studiului au fost îndeplinite, astfel:

- ❖ Au fost testate comparativ 5 tehnici de extracție din perspectiva conținutului în compuși biologic activi și activitate antioxidantă. Tehnicile de extracție aplicate au fost atât convenționale (extracția cu apă, extracția cu solvenți organici) cât și asistate (extracția asistată de ultrasunete). Fiecare extract a fost analizat comparativ în ceea ce privește conținutul total de antociani, polifenoli, flavonoide și activitatea antioxidantă.
- ❖ Extractul obținut prin extracția asistată de ultrasunete la 30°C/60 min a fost considerat superior în ceea ce privește concentrația de compuși biologic activi și utilizat în analizele ulterioare, pentru identificarea și separarea cromatografică a compușilor antioxidanți și degradarea cinetică în vederea stabilirii comportamentului antocianilor la tratamentul termic.
- ❖ În urma identificării și separării cromatografice a extractului din porumb mov cei doi compuși majori au fost cianidin-3-O-glucozid și forma acilată a acesteia cianidină 3-O-(6"-malonilglucozid). Compusul care a înregistrat cel mai mic conținut a fost forma acilată de pelargonidin-3-O-glucozid.
- ❖ Condițiile optime de extracție pentru recuperarea maximă a antocianilor din făina de porumb mov au fost: timp de extracție 5 ore, la temperatură de 39°C, raport lichid/solid de 30 mL/g și concentrație de etanol de 73%, obținând un răspuns maxim prezis și valori experimentale de 13,77 și, respectiv 14,04±0,02 mg C3G/g SU. Analiza cromatografică a extractului optimizat a evidențiat o concentrație ridicată de flavonoide, compușii majoritari fiind miricetina și quercitina, iar antocianii majoritari au fost cianidin 3-O-glucozid și clorura de malvidină.
- ❖ Rezultatele au evidențiat efectul semnificativ al temperaturii, al raportului lichid/solid și al concentrației de etanol asupra extracției de antociani în termeni liniari, în timp ce în termeni polinomiali doar raportul lichid/solid a avut un efect semnificativ. Ecuația de regresie obținută a arătat un efect pozitiv exercitat de temperatură și concentrația de etanol asupra recuperării antocianilor și un efect negativ exercitat de raportul lichid/solid atât în termeni liniari cât și polinomiali.
- ❖ Studiile cinetice de degradare termică în intervalul de temperatură 80-180°C, fiind evidențiată o termostabilitate ridicată a antocianilor în intervalul de temperatură 80-110°C.
- ❖ În intervalul de temperatură 120-180°C, degradarea termică a antocianilor din extractul de porumb mov a urmat o cinetică de degradare de ordinul I, ceea ce a permis estimarea parametrilor de degradare termică, cum ar fi constantele vitezelor de degradare, timpul de reducere decimală, timpul de înjumătățire, valoarea lui z și energia de activare;



## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

---

- ❖ În intervalul de temperatură 80-180°C, degradarea termică a activității antioxidante din extractul de porumb mov au urmat o cinetică de degradare de ordinul I, ceea ce a permis estimarea parametrilor de degradare termică.
- ❖ S-a remarcat faptul că parametrii de degradare termică aferenți activității antioxidante au fost semnificativ mai mici comparativ cu cei estimați pentru degradarea termică a antocianilor, fapt care denotă o termostabilitate diferită a compușilor biologic activi din extract.
- ❖ S-a stabilit o corelație pozitivă între degradarea antocianilor din extract și scăderea activității antioxidante.
- ❖ Extractul obținut în condițiile optime de extracție (5 ore, la 39°C, raport lichid/solid de 30 mL/g și concentrație de etanol de 73%) a fost utilizat pentru a testa efectul asupra activității metabolice a *Saccharomyces cerevisiae*. S-au adăugat concentrații diferite de extract de FPM optimizat în mediul de cultură de fermentație. Cea mai mare rată de multiplicare a fost observată pentru cea mai mare cantitate adăugată de extract de FPM (1,2 mg/100 ml), în timp ce efectele autolizei au fost observate după 72 de ore. Rezultatele au arătat un proces continuu de fermentare, datorită eliberării de CO<sub>2</sub>.
- ❖ Extractul a fost eficient pentru inhibarea activității enzimelor metabolice selectate, cum ar fi tirozinaza,  $\alpha$ -amilaza,  $\alpha$ -glucozidaza și lipaza, la niveluri mai mari decât medicamentele recomandate. Efectul inhibitor a fost corelat mai ales cu conținutul de flavonoide din extract; cu toate acestea, a fost sugerat un efect cumulativ comun al compușilor asupra enzimelor asociate sindromului metabolic. Prin urmare, extractul a prezentat efect inhibitor, sugerând potențiale efecte antidiabetice, hipocolesterolemice și preventive împotriva bolii Parkinson și a melanomului.
- ❖ Rezultatele obținute confirmă potențiala utilizare a făinii de porumb mov pentru dezvoltarea alimentelor funcționale și nutraceutice, cu potențial de inhibare a unor enzime implicate în sindromul metabolic.

## CAPITOLUL 4. Aspecte tehnologice privind dezvoltarea unor produse alimentare fără gluten, cu valoarea adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

### 4.1. Introducere

La ora actuală, se manifestă o cerere crescută de produse fără gluten, după cum raportează Transparency Market Research, cu o piață globală evaluată la 2,84 miliarde de dolari în 2014 și 4,89 miliarde de dolari în 2021 (<http://www.transparencymarketresearch.com/GF-products-market.html>). Necesitatea unei piețe globale a produselor fără gluten este dată de faptul că o parte semnificativă a populației globale trebuie să evite consumul de cereale, deoarece nu tolerează proteinele glutenului (Drabińska și colab. 2016). Dieta fără gluten este singurul tratament eficient pentru boala celiacă (Midhagen și Hallert, 2003) și alergiile la grâu, necesitând astfel noi perspective pentru identificarea făinurilor fără gluten ca alternativă la făinurile tradiționale de grâu, cu funcționalitate și eficiență similară. Necesitatea pieței produselor fără gluten este dată de creșterea semnificativă a bolii celiace, care a crescut de două până la patru ori în ultimii 50 de ani, după cum au raportat Rubio-Tapia și colab. (2009). Cu toate acestea, utilizarea înlocuitorilor fără gluten a fost asociată cu unele deficiențe nutriționale, care pot fi atribuite obiceiurilor alimentare și scăderii calității nutriționale a produselor alimentare derivate în comparație cu omologii care conțin gluten (Giuberti și Gallo, 2018). Făina de porumb mov poate fi utilizată în dezvoltarea produselor alimentare fără gluten deoarece aduce beneficii semnificative în creșterea proprietăților funcționale în ceea ce privește conținutul de substanțe fitochimice, cum ar fi polifenoli și antociani. O dietă bogată în antociani prezintă efecte protectoare împotriva cancerului, a bolilor cardiovasculare și a bolilor vârstei a 3-a. Efectele benefice ale antocianilor asupra sănătății, inclusiv efectele antiinflamatorii, anticancerigene și antioxidante, au fost raportate atunci când s-au desfășurat atât studii *in vivo*, cât și *in vitro* (Yang și Shin, 2017).

Prin urmare, scopul acestui studiu a constat în exploatarea rezultatelor obținute anterior pentru dezvoltarea unei tehnologii de obținere a unor produse noi, fără gluten, îmbogățite în antociani și polifenoli, cu valoare adăugată semnificativă, în ceea ce privește activitatea antioxidantă prin utilizarea făinii de porumb mov. Au fost testate în primul rând proprietățile termomecanice ale făinii compozite din făină de orez și porumb mov. Făinurile compozite care includ diferite cantități de făină de porumb mov au fost utilizate în cele din urmă pentru a obține biscuiți. Aceste produse s-au caracterizat din punct de vedere senzorial, fitochimic și al activității antioxidante, structural și morfologic, dar și din punct de vedere al încărcăturii microbiene, și stabilității compușilor fitochimici la depozitare.

### 4.2. Obiectivele studiului

Studiul a avut următoarele obiective specifice:

- Testarea proprietăților termomecanice ale unor făinuri compozite, constituite din făina de porumb mov și făina de orez, în vederea stabilirii raportului optim din punct de vedere tehnologic pentru realizarea unui produs alimentar funcțional cu destinație specială, care să prezinte proprietăți biologice active;
- Analiza fitochimică și structural-morfologică a produsului;
- Evaluarea caracterului de gluten free;
- Evaluarea stabilității microbiene și la depozitare a caracteristicilor fitochimice.
- Stabilirea criteriilor de acceptabilitate de către consumatori;

- Dezvoltarea unei scheme tehnologice generale.

#### **4.3. Materiale**

##### *Material vegetal*

Făina de porumb mov (*Zea mays L.*) a fost achiziționată de la producător local (județul Brăila, România). Făina de orez integral din comerț (Uzina Solaris, București, România) a fost folosită ca bază pentru producerea biscuiților fără gluten. Făinurile cu un conținut de apă < 12% au fost ambalate în pungi închise la culoare și ținute la 4 °C până la următoarele analize. Făina de porumb mov folosită pentru extracția fitochimică a fost cernută preliminar printr-o sită cu ochiuri de 10 mm.

#### **4.4. Metode**

##### **4.4.1 Proprietățile termo-mecanice ale făinurilor de orez și porumb mov și ale făinurilor compozite**

Echipamentul Mixolab (Chopin Technology, Villeneuve La Garenne, Franța) a fost folosit pentru a determina proprietățile termo-mecanice ale făinii de orez și de porumb mov și a făinii compozite constând din 75% făină de orez și 25% făină de porumb mov. S-a folosit protocolul Chopin+ cu greutatea aluatului modificată de la 75 la 90 g. Au fost înregistrați următorii parametri ai curbelor Mixolab: consistența maximă a aluatului în timpul amestecării la temperatură constantă de 30°C (C1), destabilizarea proteinelor în timpul amestecării și încălzirii (C2), gelatinizarea amidonului (C3), stabilitatea gelului la cald (C4) și retrogradarea amidonului (C5). Aceste valori au fost utilizate pentru a calcula viteza de gelatinizare a amidonului (C3-C2), degradarea (C3-C4) și rata de retrogradare a amidonului (C5-C4).

Proprietățile termo-mecanice ale probelor de aluat au fost măsurate la diferite valori a capacității de hidratare, (CH), niveluri care au inclus și nivelul la care a fost atinsă consistența maximă standard de 1,1 Nm. În cazul FPM, consistența maximă a fost înregistrată la CH de 66%, în timp ce în cazul făinii de orez (FO) la 68%.

##### **4.4.2 Variante tehnologice de obținere a biscuiților**

Pentru proiectarea biscuiților fără gluten s-au folosit două tipuri de făinuri compozite și anume combinație formată din 25% FPM și 75% FO (C1), 75% FPM și 25% FO (C2). Proba de control (C) a constat din 100% FO. Celelalte ingrediente au fost identice pentru toate tipurile de biscuiți.

##### **4.4.3 Extracția și analiza fitochimică a biscuiților**

O cantitate de 10 g de biscuiți (mărunțiți) a fost supusă procesului de extracție cu 90 ml etanol 70% și 10 ml HCl 1N. S-a realizat o extracție prin ultrasonare la 40 °C timp de 30 de minute, urmată de centrifugare la 5000xg timp de 10 minute la 4°C. Supernatantul a fost caracterizat din punct de vedere al conținutului fitochimic și a profilului antioxidant folosind diferite tehnici. Metoda pH-ului diferențial a fost utilizată pentru determinarea conținutului total de antociani monomerici (TAC). Absorbanța probelor a fost măsurată la lungimi de undă de 520 și 700 nm la ambele valori ale pH-ului de 1,0 și 4,5 utilizând un spectrofotometru (Jenway, Marea Britanie). TAC a fost exprimat ca mg de cianidin 3-O-glucozidă (C3G)/g substanță uscată (SU).

Activitatea antioxidantă a fost măsurată conform protocolului ușor modificat pentru măsurarea activității antiradicale asupra DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazil) așa cum este descris de [Ursu și colab. \(2020\)](#). Rezultatele au fost exprimate ca mMol Trolox per g SU (mg TE/g SU). Pentru conținutul total de flavonoide (TFC) s-a folosit metoda colorimetrică modificată, bazată pe

## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

proprietatea clorurii de aluminiu de a forma complecși acizi stabili cu grupările ceto C-4 și grupările hidroxil C-3 sau C-5 ale flavonelor sau flavonolilor. Rezultatele au fost exprimate ca miligrame de echivalenți de catehine (CE)/g SU. Metoda Folin-Ciocalteu modificată a fost utilizată pentru a determina conținutul total de compuși polifenolici (TPC) și exprimat ca miligrame de echivalenți de acid galic (GAE)/g SU.

### **4.4.4 Structura și analiza morfologică a biscuiților**

Pentru a determina microstructura probelor, a fost efectuată o analiză microscopică cu scanare laser cu un sistem de scanare Zeiss Confocal Laser (LSM 710). Sistemul este echipat cu mai multe tipuri de lasere, un laser cu diodă (405 nm), laser Ar (458, 488, 514 nm), laser DPSS (diodă pompată în stare solidă – 561 nm) și laser HeNe (633 nm). Imaginile au fost evaluate cu Black Edition a software-ului ZEN 2012 SP1. Probele au fost observate atât în starea lor nativă pentru autofluorescența naturală, cât și colorate cu fluoroforul Red Congo.

### **4.4.5 Examinarea microbiană a perioadei de valabilitate a biscuiților**

Enterobacteriaceae, drojdiile și mucegaiurile au fost determinate și numărate prin folosirea standardelor [ISO 21528-2:2017](#) și [ISO 21527-2:2008](#).

### **4.4.6 Teste de determinare a potențialului alergen**

Prezența prolaminelor recunoscute de anticorpii R5 a fost verificată folosind RIDASCREEN® Gliadin (Biopharm AG, Darmstadt, Germania). În acord cu recomandările producătorului, probele de biscuiți (0,25 g) au fost supuse extracției timp de 40 min la 50 °C folosind amestecul patentat (2,5 ml), urmat de adăugarea de soluție de etanol 80% (7,5 ml) și amestecare timp de 60 de minute la 25 °C. Supernatantul (100 μL) obținut prin centrifugare timp de 10 minute la 2500xg a fost utilizat pentru a testa legarea specifică de către anticorpii R5 acoperiți pe godeuri. Al doilea anticorp specific R5 conjugat cu peroxidază a fost apoi adăugat pentru a permite obținerea complexelor anticorp-antigen anticorp. Conversia asistată de peroxidază a substratului a fost utilizată în cele din urmă pentru a cuantifica prolaminele recunoscute de anticorpii R5. Standardul de gliadină a fost utilizat pentru calibrare și cititorul de microplăci Stat Fax 4200 (Awareness Technology, SUA) pentru măsurarea absorbției probelor.

### **4.4.7 Analiza senzorială a biscuiților**

Evaluarea senzorială a biscuiților a fost realizată prin metoda punctajului, prin aprecierea intensității percepției pentru fiecare atribut pe o scară care variază de la 1 (foarte scăzut) la 7 (foarte mare). Participanții panelului de testare au fost informați cu privire la scopul general al studiului și procedurile necesare pentru manipularea datelor cu caracter personal. Toți participanții și-au dat consimțământul în scris înainte de participare.

Au fost selectați zece membri experimentați instruiți (au primit instruire suplimentară specifică cu privire la atributele senzoriale relevante pentru producerea biscuiților dezvoltată în acest studiu). Probele au fost prezentate paneliștilor în plăci codificate, din plastic transparent și au fost rugați să-și clătească gura înainte de prima probă și între probe folosind apă. Atributele senzoriale analizate au fost: uniformitatea și intensitatea culorii, mirosul, aspectul, gustul, aroma, consistența, senzația în gură și impresia generală.

### **4.4.8 Stabilitatea compușilor fitochimici a biscuiților la depozitare**

Biscuiții au fost păstrați timp de 21 de zile la temperatura camerei în condiții de întuneric. Biscuiții au fost analizați din punct de vedere a stabilității proprietăților fitochimice și microbiologice.

#### 4.4.9 Analiza statistică a rezultatelor

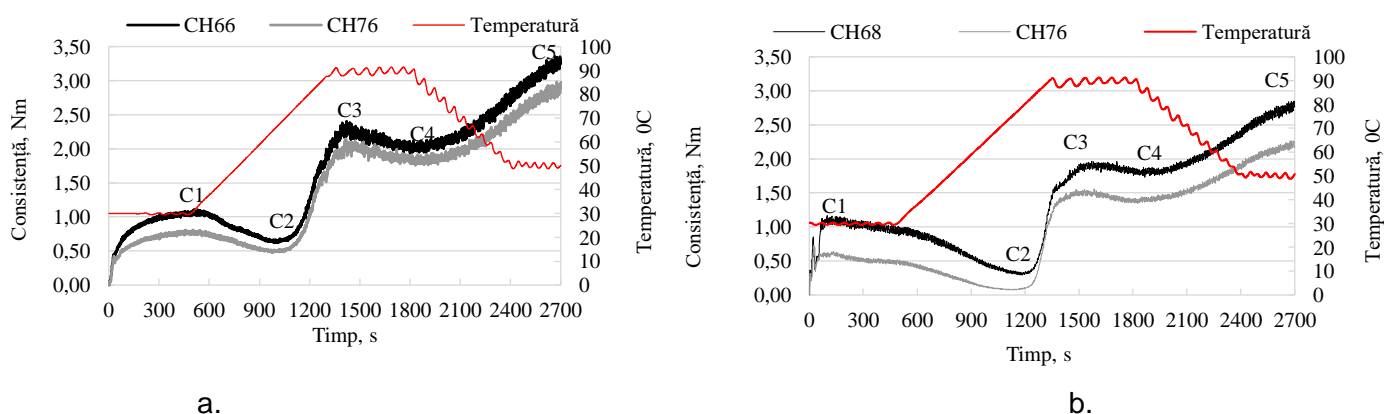
Rezultatele din cadrul acestui studiu reprezintă valori medii  $\pm$  deviația standard a mediei, reprezentând media aritmetică a analizelor realizate în triplicat. Analiza statistică a datelor s-a realizat prin intermediul soft-ului Minitab.

### 4.5. REZULTATE ȘI DISCUȚII

#### 4.5.1 Evaluarea proprietăților termo-mecanice ale făinurilor compozite

Protocolul Chopin+ modificat și dispozitivul Mixolab au fost utilizate pentru măsurarea și compararea profilului termo-mecanic al făinii de orez, FPM și făinii compozite obținute prin amestecarea a 75% făină de orez și 25% FPM. FPM a fost testată privind gradul de absorbție a apei obținându-se valori mai mari decât 66%, ceea ce asigură atingerea consistenței standard de 1,1 Nm. Testele efectuate la CH de 100% au fost menite să culegă informații preliminare utile despre comportamentul amidonului. La o hidratare atât de mare, C1 și C2 a aluatului cu FPM erau aproape de zero, cel mai probabil din cauza lipsei de coeziune a rețelei proteice. În același timp, nu trebuie neglijat faptul că apa din sistem este în exces, rezultând valori scăzute ale gelatinizării amidonului (C3 de 0,97 Nm), stabilității gelului la cald (C4 de 0,80 Nm) și retrogradării amidonului (C5 de 1,24) Nm). [Dubat și Boinot \(2012\)](#) au studiat proprietățile termo-mecanice ale făinii de porumb în diferite stări ale CH și au raportat valori de 2,50-3,00 Nm pentru C3 și C4 și 4,00 Nm pentru C5, când valoarea de hidratare a făinii este mai mică (CH de 60%, umiditatea făinii de 14%) a fost utilizat, comparativ cu C3 de 1,2 Nm, C4 în intervalul 0,80-1,00 Nm și C5 peste 1,2 Nm, când s-a folosit hidratare mai mare (CH 115%, umiditate făinii de 14%).

Niveluri mai mari de hidratare a făinii sunt adesea folosite la coacerea produselor fără gluten în comparație cu cele pe bază de făină de grâu. Prin urmare, având în vedere aceste observații preliminare, testele ulterioare asupra făinurilor investigate au fost efectuate la CH mai mari față de nivelurile necesare pentru obținerea C1 de 1,1 Nm. S-a luat în considerare în special CH de 76%, deoarece nu afectează semnificativ coeziunea aluatului, așa cum este indicat de prima zonă a curbei Mixolab, și oferă în același timp suficientă apă pentru gelatinizarea amidonului. Curbele Mixolab ale FPM și ale făinii de orez la diferite niveluri de absorbție a apei sunt prezentate în Figura 4.1.



**Figura 4.1.** Curbele Mixolab ale făinii de porumb mov (a) și făinii de orez (b) la diferite niveluri de absorbție a apei (CH)

În Figura 4.1. (a) sunt prezentate curbele Mixolab ale FPM la diferite niveluri ale CH. Profilul tipic al curbelor Mixolab a fost observat pentru probele cu CH de 66% și 76%. În timpul amestecării la 30°C, s-a observat o creștere până la o valoare C1 maximă de 1,11 Nm, respectiv 0,61 Nm. După o perioadă de stabilitate de 8,3 min, respectiv 4,5 min, consistența aluatului a

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

scăzut. Pentru intervalul de temperatură 30 - 60°C, se înregistrează o valoare minimă C2 de 0,31 Nm și, respectiv, 0,08 Nm. Nivelul CH a influențat comportamentul amidonului în timpul încălzirii și răcirii. Astfel, viteza de gelatinizare a amidonului și rata de retrogradare a amidonului au scăzut de la 1,60 la 1,43 Nm și, respectiv, de la 0,98 la 0,84 Nm, odată cu creșterea nivelului CH, în timp ce descompunerea a crescut de la 0,11 la 0,13 Nm. Cu toate acestea, gelatinizarea maximă și retrogradarea amidonului FPM la CH de 66% (1,91 și, respectiv, 2,78 Nm) au fost mult mai mari decât la CH de 76% (1,51 și, respectiv, 2,22 Nm).

În Figura 4.1. (b) sunt prezentate curbele Mixolab ale făinii de orez înregistrate pentru CH de 68 și 76%. Cele două curbe au profiluri similare, dar scăderea destabilizării proteinelor de la 0,28 la 0,25 Nm și a vitezei de retrogradare a amidonului de la 1,27 la 1,09 Nm s-au înregistrat odată cu creșterea nivelurilor CH, în timp ce viteza de gelatinizare a amidonului nu s-a modificat (1,64 Nm). Conform [Cappa și colab. \(2013\)](#), în cazul formulelor fără gluten nu este necesar să se atingă consistența de 1,1 Nm în timpul amestecării la 30°C, fiind de preferat o consistență mai mică a aluatului. O explicație pentru aceasta ar fi prezența în formulele fără gluten a ingredientelor cu afinitate mare pentru apă, dar o altă explicație ar fi proprietățile proteinelor. Unele proteine din făina fără gluten, cum ar fi făina de orez, au un nivel de absorbție de apă mai scăzut decât proteinele din gluten. Prin urmare, C1 în timpul amestecării la 30°C este mai mic de 1,1 Nm, apa din sistem fiind utilizată în principal de amidon în etapa de gelatinizare. Pentru comparație, proprietățile termo-mecanice ale probelor de aluat preparate cu făina compozită (75FO + 25FPM) și FO (martor) la 76% CH sunt prezentate în Tabelul 4.1. Adăugarea de FPM la FO modifică atât funcționalitatea proteinei, cât și comportamentul amidonului. Proteinele din FO au reținut mai multă apă decât proteinele din FPM și au format aluat cu un C1 mai mare (Tabelul 4.1). O explicație a acestor rezultate ar putea fi diferențele de mărime a particulelor dintre cele două făinuri. [Moreira și colab. \(2015\)](#) au raportat o scădere a C1 de la 1,05 la 0,25 Nm pentru aluatul de porumb mov atunci când diametrul mediu al particulelor a crescut de la 93 la 184 Nm.

**Tabel 4.1.** Proprietăți termo-mecanice ale aluatului preparat cu făină de orez (FO) și făină compozită (75FO + 25FPM) la CH de 76%

Parametri Mixolab	Probe	
	FO	75FO + 25FPM
C1, Nm	0,77±0.01 <sup>a</sup>	0,67±0.02 <sup>b</sup>
C2, Nm	0,50±0.01 <sup>a</sup>	0,34±0.01 <sup>b</sup>
C3, Nm	2,14±0.03 <sup>a</sup>	1,68±0.01 <sup>b</sup>
C4, Nm	1,89±0.02 <sup>a</sup>	1,67±0.01 <sup>b</sup>
C5, Nm	2,98±0.02 <sup>a</sup>	2,82±0.02 <sup>b</sup>
C3-C2, Nm	1,64±0.03 <sup>a</sup>	1,34±0.01 <sup>b</sup>
C3-C4, Nm	0,25±0.04 <sup>a</sup>	0,01±0.00 <sup>b</sup>
C5-C4, Nm	1,09±0.03 <sup>b</sup>	1,15±0.02 <sup>a</sup>

\* valorile medii de pe aceeași linie care nu au o literă superscriptă sunt semnificativ diferite la  $p < 0.05$

Scăderea C2 de la 0,50 la 0,34 Nm a fost observată la adăugarea FPM la FO (Tabelul 4.1). Aceste rezultate sugerează că rețeaua formată din proteinele FO a fost mai rezistentă în timpul frământării și încălzirii, comparativ cu rețeaua obținută la amestecarea proteinelor FPM și FO. Amestecarea celor două făinuri a determinat modificarea raportului dintre principalele fracții proteice, rezultând o rețea mai slabă în timpul frământării și încălzirii aluatului. S-a raportat că făinurile de orez sunt deosebit de bogate în gluteline și albumine, în timp ce fracțiile proteice predominante în porumb sunt gluteline și prolamine. Prin urmare, înlocuirea a 25% FO cu FPM a determinat reducerea cantității de albumine solubile în apă și creșterea concomitentă a prolaminelor solubile în soluții alcoolice. Aceste modificări ale profilului de solubilitate a proteinei

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

ar putea explica variația parametrilor termo-mecanici corespunzători primelor zone ale curbei Mixolab, în ceea ce privește aluatul pe bază de FO.

În ceea ce privește comportamentul amidonului, rezultatele din Tabelul 4.1 indică scăderea gelatinizării amidonului (C3), a stabilității gelului fierbinte (C4) și a retrogradării amidonului (C5) atunci când FPM a fost adăugat la FO. Rezultatele pot fi explicate prin diferențele dintre proprietățile amidonului ale orezului și porumbului. Mai mult, conform rezultatelor din Tabelul 4.1, adăugarea FPM la FO a determinat scăderea vitezei de gelatinizare a amidonului (C3-C2) și creșterea ratei de retrogradare a amidonului (C5-C4). Pe de altă parte, defalcarea (C3-C4) a fost redusă semnificativ, ceea ce conform [Dubat și Boinot \(2012\)](#) se consideră că îmbunătățește stabilitatea la cald, concurând deci cu efectul indus de untul introdus în sistemul de aluat pentru a obține biscuiți.

### 4.5.2 Formularea unor produse derivate din făinurile compozite

Făina compozită, constând din FO și FPM a fost utilizată pentru a prepara biscuiți fără gluten, cu un conținut ridicat de compuși biologic activi. Cele trei mostre de biscuiți au fost testate pentru conținutul fitochimic, în ceea ce privește conținutul de antociani, polifenoli, flavonoide și activitate antioxidantă. Conținutul de TAC a variat, de la 0 în proba de control C până la  $2,01 \pm 0,19$  mg C3G/100 g SU în C1 și  $6,99 \pm 0,20$  mg C3G/100 g SU în C2. Datorită conținutului mai mare de antociani, C2 a prezentat cea mai mare activitate antioxidantă de  $18,46 \pm 0,18$  mM Trolox/g SU. TPC a variat de la  $74,32 \pm 5,81$  mg GAE/100 g SU la proba martor C,  $79,24 \pm 1,30$  mg GAE/100 g SU în C1 la  $100,99 \pm 1,97$  mg GAE/100 g SU în C2. Conținutul mai mare de FPM în C2 nu a avut o influență semnificativă asupra TFC (Tabelul 4.2).

Fabricarea brișelor fără gluten din porumb alb, galben și violet este descrisă [Trehan și colab. \(2018\)](#), care au sugerat un TPC inițial variabil între  $1223 \mu\text{g GAE/g}$  și  $1843 \mu\text{g GAE/g}$ .

**Tabel 4.2.** Profilul fitochimic și activitatea antioxidantă pentru biscuiți la depozitare

Profil fitochimic și activitate antioxidantă	VARIANTE TEHNOLOGICE					
	C		C1		C2	
	T0	T21	T0	T21	T0	T21
Conținutul total de antociani, C3G, mg/100 g SU	-	-	$2,01 \pm 0,19^{a*}$	$2,52 \pm 0,28^a$	$6,99 \pm 0,20^b$	$8,53 \pm 0,82^a$
Conținutul total de flavonoide, mg CE/100 g SU	$33,51 \pm 0,75^a$	$33,99 \pm 0,96^a$	$33,15 \pm 0,20^a$	$34,36 \pm 2,25^a$	$33,87 \pm 1,36^a$	$35,30 \pm 1,67^a$
Conținutul total de polifenoli, mg GAE/100 g SU	$74,32 \pm 5,82^a$	$82,52 \pm 1,42^a$	$79,24 \pm 7,70^b$	$105,91 \pm 4,62^a$	$100,99 \pm 1,97^b$	$111,46 \pm 4,19^a$
Activitatea antioxidantă, mM Trolox/g SU	$18,09 \pm 0,13^a$	$16,48 \pm 0,58^b$	$18,33 \pm 0,11^a$	$16,79 \pm 0,26^b$	$18,46 \pm 0,18^a$	$17,16 \pm 0,04^b$

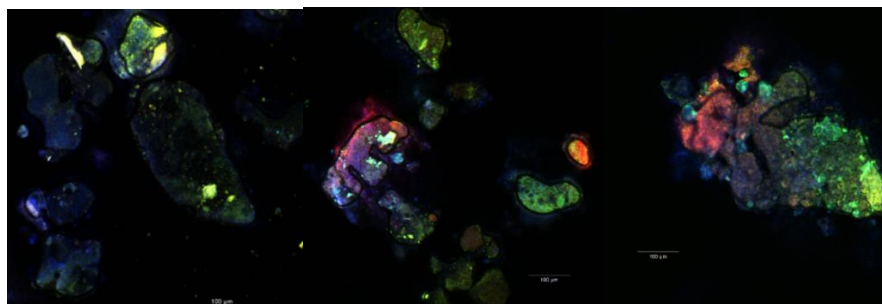
\* În cadrul unei linii, valorile medii corespunzătoare aceluiași eșantioane care nu au o literă superscriptă sunt semnificativ diferite la  $p < 0,0$

### 4.5.3 Determinarea absenței glutenului prin testul ELISA

În studiul de față, ELISA a fost utilizată pentru a confirma absența prolaminelor recunoscute de anticorpurile monoclonale R5 în biscuiți. Rezultatele obținute au evidențiat absența prolaminelor din compoziția biscuiților.

### 4.5.4 Analiza structurală și morfologică a produselor fără gluten

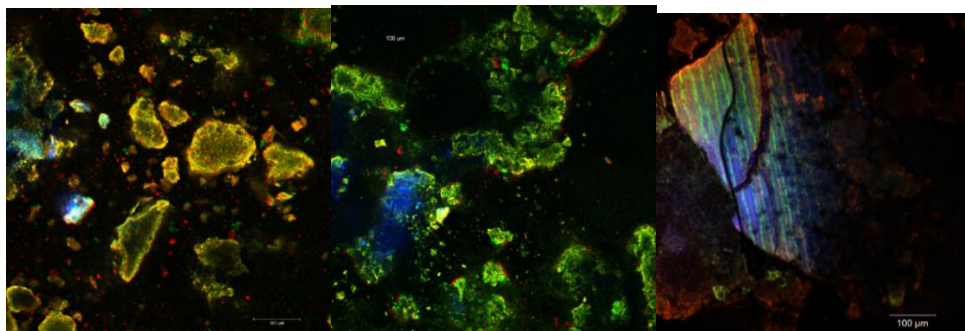
Microstructura biscuiților a fost observată de CLSM. În probele necolorate (Figura 4.2.), s-au observat agregate complexe mari ( $> 100 \mu\text{m}$ ), în care s-au identificat și granule mici, poligonale, neregulate, de amidon ( $5-15 \mu\text{m}$ ), prinse în matricea proteică, împreună cu antocianii care prezentau o emisie predominantă în câmpul verde.



a b c

**Figura 4.2.** Structura variantelor de biscuiți ((a – control, b – biscuiți cu 75% făină de orez și 25% făină de porumb violet și c - biscuiți cu 25% făină de orez și 75% făină de porumb mov)

Deshidratarea în timpul procesului de coacere a intensificat procesul de agregare. Granulele de amidon de orez negru (Figura 4.2., a) sunt mici (majoritatea au 3-6  $\mu\text{m}$ ), adesea cu un hil invizibil, fără dungii concentrice și cu o tendință mai mare de agregare. În schimb, granulele de amidon de porumb sunt mai mari (10-20  $\mu\text{m}$ ), cu margini mai puțin ascuțite între fațete și adesea cu hilul vizibil, stelat sau punctat. Cu cât este mai mare proporția de FPM, cu atât agregatele sunt mai mari și mai bogate în antociani (Figura 4.2., c).



a b c

**Figura 4.3.** Imaginile microscopiei de scanare laser confocală (CLSM) ale variantelor de biscuiți colorați cu fluorofor (a – control, b – biscuiți cu 75% făină de orez și 25% făină de porumb mov și c - biscuiți cu 25% făină de orez și 75% făină de porumb mov)

Probele colorate (Figura 4.3.) au evidențiat mult mai bine ultrastructura agregatelor. În eșantionul de control pe bază de FO (Figura 4.3., a), s-au observat agregate medii, cu un interval de emisie a antocianilor la valori de 560-580 nm, rezultate similare cu cele obținute de [Croitoru și colab. \(2018\)](#). Adăugarea de FPM (Figura 4.3., b) în compoziția biscuiților a îmbogățit produsul în antociani și a schimbat domeniul de emisie la verde (520-550 nm). Cu adăugarea de 75% FPM (Figura 4.3., c), biscuiții au prezentat o structură texturată, sub formă de straturi succesive de granule de amidon agregat (în albastru) și antociani (în verde).

Formula complexă de preparare a biscuiților, a adus amestecul de făină într-o matrice complexă alături de proteine, diverși carbohidrați și lipide din celelalte ingrediente (unt, zahăr, ouă conform rețetei), prin urmare a fost dificil de făcut distincția între compuși. Cu toate acestea, deși procesul de coacere în sine provoacă interacțiuni complexe între amidonul gelatinizat sau expandat și proteinele denaturate, abundența de compuși biologic activi în amestecul de făină este evidentă și adaugă o valoare nutritivă mai mare produsului.

#### 4.5.5 Analiza senzorială

Testul de acceptare rămâne una dintre cele mai utilizate evaluări ale produsului final de către industria alimentară pentru a testa noi formulări, după cum reflectă gradele de preferință ale



## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

consumatorilor față de produs. Prin urmare, analiza senzorială a fost efectuată urmărind diferitele caracteristici senzoriale, precum: uniformitatea și intensitatea culorii, mirosul, gustul, aroma, consistența, senzația în gură și impresia generală. Din Tabelul 4.3. sunt prezentate valorile medii ale caracteristicilor analizate pentru biscuiți și se poate observa că pentru uniformitatea culorii, cea mai apreciată probă a fost C, în timp ce biscuiții din făină de porumb mov au prezentat valori similare.

**Tabel 4.3.** Valorile medii ale atributelor evaluate pe eșantion în testul de acceptare a biscuiților

Probe	Caracteristici							
	Uniformitate culoare	Intensitate culoare	Aspect	Gust	Miros	Consistență	Mouthfeel	Impresie generală
<b>C</b>	6,50±0,97 <sup>a</sup>	1,70±1,25 <sup>b</sup>	6,00±0,66 <sup>a</sup>	5,90±0,87 <sup>a</sup>	5,30±0,67 <sup>a</sup>	5,70±1,15 <sup>a</sup>	5,50±1,35 <sup>a</sup>	5,90±0,73 <sup>a</sup>
<b>C1</b>	5,30±2,00 <sup>a</sup>	3,20±1,22 <sup>b</sup>	5,80±0,91 <sup>a</sup>	5,70±0,82 <sup>a</sup>	5,00±0,94 <sup>a</sup>	4,70±1,49 <sup>a</sup>	4,80±1,39 <sup>a</sup>	5,40±0,69 <sup>a</sup>
<b>C2</b>	5,50±1,71 <sup>a</sup>	5,60±1,07 <sup>a</sup>	6,10±0,73 <sup>a</sup>	5,40±1,17 <sup>a</sup>	4,70±1,33 <sup>a</sup>	4,70±1,56 <sup>a</sup>	4,70±1,56 <sup>a</sup>	5,20±1,31 <sup>a</sup>

\* valorile medii de pe aceeași coloană care nu au o literă superscriptă sunt semnificativ diferite la  $p < 0.05$

Pentru intensitatea culorii, așa cum era de așteptat, biscuiții cu cel mai mare adaos de FPM (C2) au fost mai bine evaluați, în timp ce proba martor a avut cel mai scăzut punctaj. Pentru miros, C și C2 au fost evaluate similar, în timp ce C1 a avut cel mai mic rezultat. Biscuiții cu FPM au fost apreciați în special datorită culorii, dar au fost declassați cel mai probabil din cauza granularității FPM, adăugând astfel mai multă duritate și fragilitate biscuiților. La aprecierea impresiei de ansamblu, s-a demonstrat că înlocuirea FO cu FPM nu a avut nicio influență semnificativă asupra rezultatelor de acceptabilitate, mediile reflectând în general profilul culorii, gustului și aromei, conducând aceste atribute senzoriale să devină cele mai influente atribute la obținerea rezultatelor.

### 4.5.6 Stabilitatea la depozitarea accelerate a biscuiților

Rezultatele termenului de valabilitate efectuate pe probele de biscuiți păstrați 21 de zile la temperatura camerei s-au prezentat în Tabelul 4.2. Din Tabelul 4.2. se poate observa că nu s-a constatat o variație semnificativă a TAC pentru C1, în timp ce o creștere de aproximativ 18% a fost observată pentru C2. O ușoară creștere a TFC a fost observată pentru ambele tipuri de biscuiți fără gluten, în timp ce TPC a arătat o creștere semnificativă cu 25% în C1 și cu 9% în C2. Aceste variații ale compușilor fitochimici au afectat activitatea antioxidantă, care a înregistrat o scădere ușoară în ambele probe, până la aproximativ 9%. Rezultatele sunt similare cu [Milea și colab. \(2020\)](#), care au raportat o creștere a valorilor compușilor biologic activi în timpul păstrării timp de 14 zile a biscuiților cu antociani microîncapsulați din orez negru și uleiuri esențiale de lavandă.

În Tabel 4.4. și 4.5. sunt prezentate valorile obținute la testul microbiologic al biscuiților.

**Tabel 4.4.** Drojdii și mucegaiuri numărate în timpul depozitării, UFC/g

Probe	Perioada de depozitare, zile			
	0	7	14	21
<b>C</b>	<100	<100	<100	<100
<b>C1</b>	<100	<100	<100	<100
<b>C2</b>	<100	<100	<100	<100

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

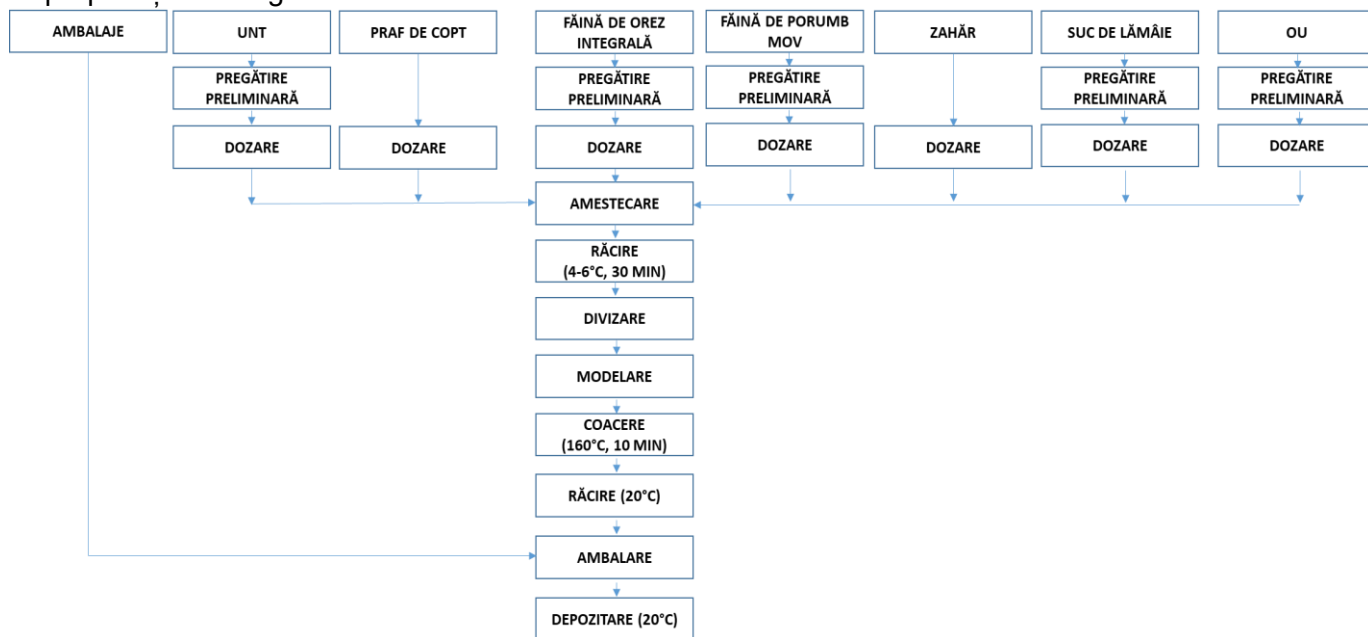
**Tabel 4.5.** *Enterobacteriaceae* numărate în timpul depozitării, UFC/g

Probe	Perioada de depozitare, zile			
	0	7	14	21
<b>C</b>	<10	<10	<10	<10
<b>C1</b>	<10	<10	<10	<10
<b>C2</b>	<10	<10	<10	<10

Testul microbiologic a arătat că biscuiții au prezentat valori satisfăcătoare din punct de vedere microbiologic în timpul perioadei de păstrare (Tabel 4.4. și 4.5.).

### 4.5.7 Dezvoltarea unor scheme tehnologice generale pentru obținerea biscuiților fără gluten cu adaos de porumb mov

În urma rezultatelor experimentale prezentate, au fost elaborate două scheme tehnologice de obținere a biscuiților fără gluten, prezentate în Figura 4.4. În vederea realizării biscuiților fără gluten se recomandă utilizarea făinurilor compozite, în raport de 25% FPM și 75% FO, 2% de praf de copt, 30% zahăr, acidifiant (5%), unt și ou. Aluatul obținut trebuie răcit la 4°C timp de 30 minute, iar tratamentul termic implică o temperatură de 160°C, timp de 10 minute. Se recomandă ca după răcire, biscuiții să fie ambalați în pungi de hârtie, închise la culoare, pentru păstrarea proprietăților biologice active.



**Figura 4.4.** Schema tehnologică propusă pentru obținerea biscuiților fără gluten (făină compozită 25% făină de porumb mov și 75% făină de orez)

### 4.6. Concluzii parțiale

În acest capitol, s-a testat proprietățile termomecanice ale făinurilor compozite, făină de orez și făină de porumb mov în vederea dezvoltării unor tehnologii de obținere a unor produse alimentare cu funcționalitate ridicată și fără gluten.

Rezultatele obținute în acest capitol au permis formularea următoarelor concluzii parțiale:

- ❖ Ca urmare a analizei profilului termo-mecanic al făinii de porumb mov, făinii de orez și al unor făinuri compozite s-au obținut trei variante de biscuiți (25% făină de porumb violet și 75% făină de orez (C1), 75% făină de porumb mov și 25% făină de orez (C2) și 100% făină de orez).

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

---

- ❖ Analiza senzorială a arătat că înlocuirea făinii de orez și a făinii de grâu cu făina de porumb mov nu a avut nici o influență semnificativă asupra acceptabilității generale.
- ❖ Variantele de biscuiți C1 și C2 au prezentat un conținut de antociani și polifenoli superior probei martor C, datorită adaosului de făină din porumb mov astfel: valorile antocianilor au variat de la 0 în proba martor C,  $2,01 \pm 0,19$  mg C3G/100 g SU pentru varianta de biscuiți care a utilizat 25% făină din porumb mov (C1) și  $6,99 \pm 0,20$  mg C3G/100 g SU pentru varianta de biscuiți care a utilizat 75% făină din porumb mov (C2); conținutul de polifenoli a variat de la  $74,32 \pm 5,81$  mg GAE/100 g SU la proba martor C,  $79,24 \pm 1,30$  mg GAE/100 g SU în C1 la  $100,99 \pm 1,97$  mg GAE/100 g SU în C2.
- ❖ Conținutul de făină din porumb mov în ambele variante de biscuiți, C1 și C2, nu a avut o influență semnificativă asupra conținutului de flavonoide.
- ❖ Activitatea antioxidantă a variantei de biscuiți C2 este mai mare ( $18,46 \pm 0,18$  mM Trolox/g SU) datorită conținutului mai mare de adaos.
- ❖ Testul ELISA indică absența prolaminelor antigene, din variantele de biscuiți obținute, deci aceștia pot fi considerați produse fără gluten.
- ❖ În urma analizei stabilității la păstrare a biscuiților s-a ajuns la concluzia că biscuiții au o bună stabilitate la păstrare, iar profilul fitochimic a variat în sensul unei creșteri pentru conținutul de polifenoli (cu 25% în C1 și cu 9% în C2) și flavonoide, în timp ce pentru conținutul de antociani nu a suferit modificări majore pentru ambele tipuri de biscuiți fără gluten. Aceste modificări ale profilului fitochimic al biscuiților fără gluten au dus la o scădere ușoară a activității antioxidante pentru ambele probe cu adaos de făină de porumb mov (9%).
- ❖ Analiza morfologică și funcțională a evidențiat microstructura biscuiților. În probele necolorate s-a observat că, cu cât procentul de făină din porumb mov crește cu atât agregatele sunt mai mari și mai bogate în antociani, fapt pus în evidență prin culoarea verde preponderentă. Probele colorate au reliefat mai bine ultrastructura agregatelor; pentru variantele de biscuiți cu 75% făină din porumb mov s-a observat o structură texturată, sub formă de straturi succesive de granule de amidon agregat și antociani.
- ❖ Testul microbiologic al biscuiților în timpul păstrării a prezentat valori satisfăcătoare.
- ❖ A fost propusă o schemă tehnologică de obținere a biscuiților fără gluten pe bază de făină de porumb mov care poate contribui la îmbogățirea dietei bolnavilor celiaci.

## CAPITOLUL 5. Aspecte tehnologice privind dezvoltarea unor produse alimentare cu gluten prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

### 5.1. Introducere

În mod tradițional, majoritatea oamenilor preferă porumbul alb pentru hrană și în special pentru pâine. Cu toate acestea, porumbul colorat conține compuși polifenolici care prezintă o importanță deosebită în dezvoltarea unor produse de panificație cu valoare biologică ridicată (Kean și colab. 2008; Perichart-Pereira și colab. 2010). Porumbul mov este considerat un *superaliment* care promovează sănătatea, cu proprietăți antibacteriene, anti-îmbătrânire, anticancerigene, neuro-protectoare, cardiovasculare și antidiabetice ( Bento-Silva, 2018).

Din rezultatele experimentale anterioare, s-a observat influența pozitivă a compușilor polifenolici din extractul optimizat de porumb mov asupra activității metabolice a drojdiei (*Saccharomyces cerevisiae*). Prin urmare, în acest studiu s-a urmărit exploatarea acestor rezultate în procesul tehnologic de obținere a unor produse de panificație (chifle). În plus, acest studiu vine în întâmpinarea cerințelor operatorului economic furnizor de făina de porumb mov și dorința acestuia de a dezvolta tehnologii de valorificare a făinii de porumb mov.

### 5.2. Obiectivele studiului

Ținând cont de rezultatele obținute și prezentate în capitolele anterioare, studiul prezentat în acest capitol răspunde cerințelor agentului economic, care a furnizat făină de porumb mov supusă studiului și care și-a manifestat intenția de a dezvolta tehnologii de valorificare a făinii de porumb mov. Prin urmare, acest capitol are ca obiectiv principal valorificarea potențialului bioactiv al porumbului mov prin dezvoltarea de produse de panificație, îmbogățite în antociani și polifenoli, cu valoare adăugată semnificativă. Făina de porumb mov a fost utilizată în combinație cu făina de grâu pentru a obține chifle. Aceste produse s-au analizat privind influența timpului de fermentație și al procentului de făină de porumb mov asupra profilului senzorial, fitochimic și al activității antioxidante și nutrițional. În plus, ținând cont de efectul de stimulare a activității metabolice a făinii de porumb mov asupra drojdiei de panificație, s-a urmărit efectul adaosului de făină de porumb mov asupra timpului de fermentare (un aspect important în industrie). Studiul a permis dezvoltarea unor scheme tehnologice pentru obținerea chiflilor și evidențierea avantajelor derivate din utilizarea făinii de porumb mov.

### 5.3. Metode

#### 5.3.1 Variante tehnologice de obținere a chiflilor

Pentru realizarea chiflilor s-au folosit două tipuri de făină: făina de porumb mov și făina alba de grâu, tip 650. S-au realizat două experimente. Probele derivate au fost codificate astfel:

**A. Primul experiment a urmărit influența duratei de fermentație asupra caracteristicilor senzoriale, nutriționale și asupra profilului fitochimic al chiflilor.** În acest scop s-au realizat trei tipuri de chifle, la care timpul de fermentație a variat (1 h sau 2 h), codificate astfel:

- a. chifle cu făină alba de grâu, tip 650, 100%, folosită ca probă martor – cu fermentare 1 h cod M1, cu fermentare 2 h – cod M2;
- b. chifle cu făină de porumb mov 25% și făină albă de grâu 75% cu fermentare 1 h (P1) și cu fermentare 2 h (F1);

## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

- c. chifle cu făină de porumb mov 75% și făină albă de grâu 25%, cu fermentare 1 h (P2) și cu fermentare 2 h (F2).

**B. Al doilea experiment a urmărit influența compușilor polifenolici ai făinii de porumb mov asupra activității drojdiei, implicit asupra timpului de fermentație.** S-au conceput în acest scop trei tipuri de chifle la care s-a variat cantitatea de drojdie:

- a. chifle cu făină albă de grâu, tip 650, 100%, folosită ca probă martor (M - cantitate standard de drojdie – 2,5%);
- b. chifle cu făină de porumb mov 25% și făină albă de grâu 75% (A- cantitate de drojdie redusă la jumătate – 1,25%); la aceste chifle s-a urmărit greutatea aluatului l-a sfârșitul perioadei de fermentație (1h).
- c. chifle (B) obținute din făină de porumb mov 25% și făină albă de grâu 75%, cantitate standard de drojdie, s-a urmărit timpul necesar de fermentație pentru care bucata de aluat atinge greutatea obținută în cazul probei A.

În aceste condiții, s-a evaluat dacă rezultatele obținute în capitolele anterioare prezintă importanță practică la obținerea produselor de panificație.

### **5.3.2 Analiza senzorială a chiflor**

Un panel format din 10 paneliști a evaluat caracteristicile senzoriale ale chiflor conform unei scale hedonice în șapte puncte (1- displace extrem de mult până la 7- place extrem de mult). Parametrii evaluați au fost, aspect exterior, aspect în secțiune, consistență, miros, gust, aromă, consistență, elasticitate, mouthfeel, after taste și impresia generală. Probele au fost codificate și servite paneliștilor pe hârtie albă. A fost folosită apă pentru clătirea gurii înainte și între probe.

### **5.3.3 Extracția și analiza fitochimică a chiflor**

S-au utilizat metode de extracție convenționale și cu ultrasunete. Extracția compușilor biologic activi s-a realizat utilizând solvenții: etanol 70% și HCl 1N această extracție fiind suplimentată cu extracția cu ultrasunete timp de 30 min la 30°C. Determinarea conținutului de antociani monomerici a chiflor s-a realizat similar cu determinarea antocianilor extractului optimizat. Pentru determinarea conținutului de polifenoli și flavonoide s-au utilizat protocoalele descrise de [Ursu și colab. \(2020\)](#).

**Activitatea antioxidantă** a fost măsurată prin utilizarea testului de decolorare a radicalului ABTS [2,20 azinobis (acid 3-etilbenzotiazol-6-sulfonic)]. Determinarea activității antioxidante s-a realizat utilizând metoda radicalului cation ABTS•+.

### **5.3.4 Analiza fizicochimică a chiflor**

Determinarea caracteristicilor nutriționale s-a realizat conform metodelor și standardelor de analiză prezentate în Tabelul 5.1.

**Tabel 5.1.** Analiza fizicochimică a chiflor

<b>Caracteristici fizico-chimice</b>	<b>Uniformitate culoare</b>
Sare*, %	SR 91:2007
din care sodiu*, %	Calcul (R 1169/2011)
Cenușa*, %	SR 91:2007, Calcinare
Umiditate* %	SR EN ISO 712:2010
Aciditate, grade	SR 91:2007
Grăsimi*, %	Metoda etero-clorhidrică
Proteine*, %	Metoda Kjeldahl

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

Glucide*, % din care, Zaharuri*, %	Prin diferență, Metoda iodometrică
Volum	Metoda cu aparatul tip Fomet SR 91:2007
Porozitate	SR 91:2007
Elasticitate	SR 91:2007
Valoarea energetică*, %: kcal, kj	Prin calcul, Regulamentul 1169/2011

### 5.3.5. Stabilitatea compușilor fitochimici a chiflilor la depozitare

Chiflele codificate M, A, B au fost păstrate timp de 48 ore la temperatura camerei în condiții de întuneric, ambalate în pungi de polietilenă. Chiflele au fost analizate din punct de vedere a stabilității proprietăților fitochimice.

### 5.3.6. Analiza statistică a rezultatelor

Rezultatele din cadrul acestui studiu reprezintă valori medii  $\pm$  deviația standard a mediei, reprezentând media aritmetică a analizelor realizate în triplicat. Analiza statistică a datelor s-a realizat prin intermediul soft-ului Minitab.

## 5.4. REZULTATE ȘI DISCUȚII

### 5.4.1. Profilul fizico-chimic și fitochimic al chiflilor

În Tabelul 5.2. este prezentat profilul fitochimic al chiflilor, la care s-a analizat influența timpului de fermentație asupra compușilor polifenolici și activității antioxidante. Din Tabelul 5.2. se poate observa că în cazul probelor obținute din 25% FPM și 75% făină de grâu cu o durată de fermentare de 1 h, conținutul de compuși polifenolici crește liniar cu conținutul de adaos de FMP. Astfel, conținutul de TAC este de circa 3 ori mai mare în probele codificate P1 și de 5 ori mai mare în cazul înlocuirii făinii de grâu cu 75%. Conținutul de flavonoide este mai mare în proba martor, în timp ce conținutul de TPC este superior în cazul probei P2, care a prezentat și cea mai mare activitate antioxidantă ( $137,02 \pm 0,06$  mM Trolox/100 g SU). Putem afirma, în acest caz, că antocianii din probele P2 sunt principalii responsabili de creșterea activității antioxidante.

În cazul produselor obținute prin prelungirea timpului de fermentare, valorile corespunzătoare conținutului de polifenoli sunt net superioare probelor martor, cu o creștere a conținutului de TAC de 2,6 ori (F1) și respectiv 4,22 ori (F2). Conținutul de TFC și TPC crește odată cu creșterea conținutului de FPM, fapt care determină obținerea unor valori semnificativ mai mari pentru activitatea antioxidantă în cazul probelor F2 ( $155,07 \pm 0,03$  mM Trolox/100 g SU).

**Tabel 5.2.** Profilul polifenolic al chiflilor

Profil fitochimic (mg/100 g SU) și activitate antioxidantă	VARIANTE TEHNOLOGICE					
	M1	P2	P3	M2	F2	F3
Conținutul total de antociani, mg C3G	1,39 $\pm$ 0,002 <sup>f</sup>	4,08 $\pm$ 0,001 <sup>d</sup>	7,18 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	1,98 $\pm$ 0,00 <sup>e</sup>	5,25 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>	8,36 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
Conținutul total de flavonoide, mg CE	54,15 $\pm$ 0,03 <sup>ab</sup>	46,13 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	52,51 $\pm$ 0,05 <sup>ab</sup>	52,63 $\pm$ 0,03 <sup>ab</sup>	55,96 $\pm$ 0,07 <sup>ab</sup>	65,00 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>
Conținutul total de polifenoli, mg GAE	144,6 $\pm$ 0,34 <sup>bc</sup>	117,1 $\pm$ 0,05 <sup>bc</sup>	155,3 $\pm$ 0,19 <sup>ab</sup>	105,2 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>	155,2 $\pm$ 0,09 <sup>ab</sup>	198,8 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
Activitatea antioxidantă, mM Trolox/100g SU	70,64 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>	100,07 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	137,02 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	75,34 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>	119,83 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	155,07 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>

\* valorile din același rând care nu împărtășesc o literă (a, b) sunt diferite din punct de vedere statistic ( $p < 0,05$ ) conform metodei Anova, testul Tukey (nivel de încredere 95%)

Analiza influenței timpului de fermentare (Tabelul 5.2.) arată un profil fitochimic net superior pentru probele obținute după 2 h. În cazul variantelor experimentale, se observă o creștere a conținutului de TAC de la  $4,08 \pm 0,001$  mg C3G/ 100 g la  $5,25 \pm 0,00$  mg C3G/ 100 g,

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

ceea ce coincide cu o creștere de aproximativ 30%, în timp ce pentru probele în care FPM este majoritară, creșterea a fost de doar 16%. Conținutul de TFC crește cu circa 20% în variantele cu 25% înlocuire cu FPM și 23% în variantele cu 75% FPM. O creștere semnificativă se înregistrează și pentru conținutul de TPC, cu 30% și respectiv, 28%. În urma acestor rezultate se poate concluziona că, creșterea timpului de fermentație influențează pozitiv atât profilul fitochimic, cât și activitatea antioxidantă a chiflelor.

În vederea analizei influenței compușilor polifenolici asupra activității metabolice a drojdiilor, după operația de frământare bucățile de aluat au fost cântărite înainte și după perioada de fermentație. Ambele bucăți de aluat au prezentat aceeași diferență de greutate, fiind astfel demonstrat efectul de stimulare a activității metabolice a drojdiei de panificație obținut anterior. Prin urmare, în cazul variantelor experimentale codificate B, timpul de fermentare a fost redus cu 35 min, fapt determinat prin cântărirea bucății de aluat până la obținerea unei diferențe de greutate identică cu chiflele codificate A. Din Tabelul 5.3. se poate observa că, odată cu reducerea timpului de fermentație, scade și conținutul de antociani de la  $9,34 \pm 0,001$  C3G/100 g SU pentru probele A la  $7,68 \pm 0,001$  C3G/100 g SU pentru probele B, dar și de flavonoide de la  $63,58 \pm 0,01$  mg CE/100 g SU pentru A la  $56,76 \pm 0,01$  mg CE/100 g SU pentru B. Cantitatea de polifenoli a crescut, chiar dacă timpul de fermentație a scăzut, de la  $140,8 \pm 0,04$  mg GAE/100 g SU pentru A la  $143,8 \pm 0,19$  mg GAE/100 g SU pentru B, ceea ce a dus la o creștere a activității antioxidante de la  $88,97 \pm 0,04$  mM Trolox/100 g SU pentru A la  $95,12 \pm 0,03$  mM Trolox/100 g SU.

**Tabel 5.3.** Profilul polifenolic al chiflelor și stabilitatea la depozitare

Profil fitochimic și activitate antioxidantă	VARIANTE TEHNOLOGICE					
	M		A		B	
	T0	T48	T0	T48	T0	T48
Conținutul total de antociani, C3G, mg/100 g SU	$5,11 \pm 0,003^{bC}$	$5,78 \pm 0,001^a$	$9,34 \pm 0,001^{aA}$	$8,83 \pm 0,00^{bA}$	$7,68 \pm 0,001^{aB}$	$7,42 \pm 0,002^{aB}$
Conținutul total de flavonoide, mg CE/100 g SU	$44,35 \pm 0,005^{bC}$	$54,94 \pm 0,02^{aB}$	$63,58 \pm 0,01^{aA}$	$68,42 \pm 0,03^{aA}$	$56,76 \pm 0,01^{aB}$	$54,41 \pm 0,05^{aB}$
Conținutul total de polifenoli, mg GAE/100 g SU	$99,5 \pm 0,06^{aB}$	$107,7 \pm 0,03^{aB}$	$140,8 \pm 0,04^{aA}$	$136,2 \pm 0,08^{aA}$	$143,8 \pm 0,08^{aA}$	$128,4 \pm 0,01^{bA}$
Activitatea antioxidantă, mM Trolox/100g SU	$42,02 \pm 0,05^{aB}$	$46,94 \pm 0,01^{aB}$	$88,97 \pm 0,04^{bA}$	$94,99 \pm 0,01^{aA}$	$95,12 \pm 0,03^{aA}$	$94,45 \pm 0,01^{aA}$

\* valorile din același rând care nu împărtășesc o literă (a, b – variația timpului, A, B – variația probei) sunt diferite din punct de vedere statistic ( $p < 0,05$ ) conform metodei Anova, testul Tukey (nivel de încredere 95%)

Pasqualone și colab. (2019) a investigat efectul timpului de fermentație asupra activității antioxidante și a profilului polifenolic al pâinii îmbogățite cu struguri și semințe de rodie. Au observat că, conținutul total de compuși polifenolici și activitatea antioxidantă s-au îmbunătățit prin timpul prelungit de fermentație. Profilul polifenolic din aluatul martor a variat de la 280 la 376 mg echivalent acid galic (GAE)/kg; cel din aluatul care conține semințe de rodie a variat între 402 și 466 mg GAE/kg; iar conținutul de compuși polifenolici din aluatul care conține semințe de struguri a variat între 551 și 591 mg GAE/kg. Valoarea capacității antioxidante a probelor martor a crescut de la 525 la 1.017  $\mu\text{mol}$  Trolox, cea a probelor care conțin semințe de rodie a crescut de la 1.059 la 2.575  $\mu\text{mol}$  Trolox, iar valoarea activității antioxidante a probelor care conțin semințe de struguri a crescut de la 1.992 la 2.950  $\mu\text{mol}$  Trolox, (Meral și Köse, 2019)

### 5.4.2. Analiza senzorială a chiflelor

În Tabelul 5.4. sunt prezentate valorile medii ale caracteristicilor analizate de paneliști pentru chifle. Caracteristicile senzoriale reprezintă una dintre cele mai importante proprietăți ale alimentelor, deoarece determină acceptabilitatea consumatorului. Dintre toate caracteristicile evaluate de paneliști, aspectul în secțiune, gustul, aroma și senzația lăsată la sfârșit au fost cele

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

mai apreciate atribute evaluate, deoarece timpul mare de fermentare a avut un impact pozitiv asupra mirosului, gustului și aromei produselor.

**Tabel 5.4.** Scorurile medii ale atributelor evaluate pe eșantion în testul de acceptare a chiflelor

Probe	Caracteristici									
	Aspect exterior	Aspect în secțiune	Miros	Gust	Aromă	Consistență	Elasticitate	Mouthfeel	After taste	Impresie generală
<b>M1</b>	6,7±0,48 <sup>a</sup>	6,3±0,67 <sup>a</sup>	6,4±0,69 <sup>a</sup>	6±0,66 <sup>a</sup>	6,2±0,78 <sup>ab</sup>	6,6±0,69 <sup>a</sup>	6,5±0,70 <sup>a</sup>	6,7±0,48 <sup>a</sup>	6,7±0,48 <sup>ab</sup>	5,9±0,56 <sup>b</sup>
<b>P1</b>	5,6±0,51 <sup>b</sup>	6,8±0,42 <sup>a</sup>	6,7±0,48 <sup>a</sup>	6,4±0,96 <sup>a</sup>	6,4±0,69 <sup>ab</sup>	6,6±0,69 <sup>b</sup>	6,6±0,51 <sup>a</sup>	6,6±0,51 <sup>a</sup>	6,6±0,69 <sup>ab</sup>	6,5±0,7 <sup>ab</sup>
<b>P2</b>	5,5±0,52 <sup>b</sup>	6,4±0,51 <sup>a</sup>	6,9±0,31 <sup>a</sup>	6,1±0,56 <sup>a</sup>	6±0,47 <sup>b</sup>	6,7±0,48 <sup>a</sup>	6,4±0,51 <sup>ab</sup>	5,9±0,56 <sup>b</sup>	5,9±0,31 <sup>c</sup>	6±0,0 <sup>b</sup>
<b>M2</b>	6,6±0,51 <sup>a</sup>	6,7±0,48 <sup>a</sup>	6,9±0,31 <sup>a</sup>	5,8±0,42 <sup>a</sup>	6,9±0,31 <sup>a</sup>	6±0,47 <sup>b</sup>	6,8±0,42 <sup>a</sup>	6,7±0,48 <sup>a</sup>	6,8±0,42 <sup>ab</sup>	6,1±0,31 <sup>b</sup>
<b>F1</b>	6,6±0,51 <sup>a</sup>	6,7±0,48 <sup>a</sup>	6,6±0,51 <sup>a</sup>	6,5±0,52 <sup>a</sup>	6,7±0,48 <sup>ab</sup>	7±0,0 <sup>a</sup>	6,5±0,52 <sup>a</sup>	7±0,0 <sup>a</sup>	7±0,0 <sup>a</sup>	6,9±0,31 <sup>a</sup>
<b>F2</b>	5,6±0,69 <sup>b</sup>	6,5±0,70 <sup>a</sup>	6,4±0,51 <sup>a</sup>	6,5±0,52 <sup>a</sup>	6,7±0,48 <sup>ab</sup>	6,8±0,42 <sup>a</sup>	5,8±0,42 <sup>b</sup>	6,8±0,42 <sup>a</sup>	6,3±0,48 <sup>bc</sup>	6,4±0,51 <sup>ab</sup>

\* valorile din același rând care nu împărtășesc o literă (a, b) sunt diferite din punct de vedere statistic ( $p < 0,05$ ) conform metodei Anova, testul Tukey (nivel de încredere 95%)

Paneliștii au acordat un scor mai mare la impresia generală pentru chiflele P1, respectiv F1. Acest lucru se datorează procentului optim de făină compozită care a dus la obținerea unor produse bune din punct de vedere al aspectului exterior, elasticității dar și al aromei în special pentru chiflele F1.

### 5.4.3. Stabilitatea la depozitare a chiflelor

Rezultatele termenului de valabilitate efectuate pe probele de chifle codificate M, A, B, păstrate 48 de ore la temperatura camerei sunt prezentate în Tabelul 5.3. Pentru probele codificate A nu s-a constatat o variație semnificativă a cantității de antociani și polifenoli, în timp ce conținutul de flavonoide a înregistrat o creștere de  $63,58 \pm 0,01$  mg CE/100 g SU la  $68,42 \pm 0,01$  mg CE/100 g SU, fapt ce a dus la o creștere a activității antioxidante de la  $88,97 \pm 0,04$  mM Trolox/100 g SU la  $94,99 \pm 0,01$  mM Trolox/100 g SU. În schimb, pentru probele codificate B, s-a observat o scădere ușoară a compușilor polifenolici, deci și a activității antioxidante.

### 5.4.4. Profilul nutrițional al chiflelor

În Tabelul 5.5 este prezentat profilul nutrițional al chiflelor.

**Tabel 5.5.** Profilul nutrițional al chiflelor

Caracteristici fizico-chimice	M1	P1	P2	M1	F1	F2
Sare*, %	1,2	1,1	1,12	1,24	1,18	1,16
din care Sodiu*, %	0,48	0,44	0,44	0,49	0,47	0,46
Cenușă*, %	1,54	1,42	1,44	1,55	1,44	1,46
Umiditate* %	44,1	44,5	43,10	44,6	42,3	42,4
Aciditate, grade	1,84	2,61	3,39	1,17	2,92	3,51
Grăsimi*, %	0,11	0,22	0,31	0,11	0,21	0,32
Proteine*, %	9,3	9,5	9,7	9,3	9,4	9,6
Glucide*, %	44,95	44,76	45,45	44,44	46,75	46,22
Volum	316,48	253,51	220,43	288,04	277,04	198,83
Porozitate	76,09	70,71	-	75,50	72,26	-
Elasticitate	93,22	78,94	-	89,09	78,33	-
Valoarea energetică*, kcal	223,44	224,5	228,99	221,35	232,16	231,83

Din Tabelul 5.5. se poate observa că nu au existat variații semnificative în ceea ce privește conținutul de sare, și respective sodiu, acestea variind de la 1,1% (P1) la 1,2% (M1). Timpul de fermentație nu are o influență semnificativă asupra conținutului de sare și cenușă. Rezultatele prezentate de [Enyisi și colab. \(2014\)](#), [Osman, \(2011\)](#) și [Assohoun și colab. \(2013\)](#) au raportat o creștere a conținutului de cenușă odată cu creșterea timpului de fermentație în intervalul 1,4-3,3%, 1,79 – 1,80% și, respectiv, 1,94-1,95%. Creșterea conținutului de cenușă duce la creșterea conținutului de substanțe minerale și reprezintă o indicație a procentului de substanțe minerale



## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

existent pe substraturi (Ntuli și colab. 2013). Această constatare sugerează eficacitatea adaosului de făină de porumb mov pentru îmbunătățirea compoziției minerale a substraturilor (Ogodo și colab. 2017).

Dacă se compară umiditatea probelor, se observă o scădere odată cu creșterea procentului de făină de porumb mov. Timpului de fermentație influențează semnificativ umiditatea probelor, astfel că se observă o scădere de la 44,5% (P1) la 42,3% (F1), respectiv de la 43,10% (P2) la 42,4% (F2). Aciditatea crește cu adaosul de FPM din compoziția chiflelor (de la 1,84 grade în M1 la 3,39 grade în P2; de la 1,17 grade în M2 la 3,51 grade în F2), dar nu depinde semnificativ de durata de fermentație (2,61 grade în P1, 2,92 grade în F1; 3,39 grade în P2 și 3,51 grade în F2).

Cantitatea de grăsime crește odată cu înlocuirea unei părți din făina de grâu cu făină de porumb mov și creșterea procentului de făină de porumb mov în intervalul 0,11% (m1) - 0,31% (P2), respectiv 0,33% în F2. Timpul de fermentație nu influențează semnificativ procentul de grăsime pentru nici una din chiflele studiate. Cantitatea de proteine crește odată cu adaosul de făină de porumb. Astfel, în cazul probelor cu adaos de FPM, procentul de proteine rămâne constat în jurul valorii medii de 9,5%, indiferent de durata de fermentație. Conținutul de lipide crește proportional cu cantitatea de FPM adăugată, însă timpul de fermentație nu influențează semnificativ conținutul în lipide. Creșterea conținutului de lipide se datorează conținutul de grăsime mai mare din FPM comparativ cu făina de grâu. Cea mai evidentă creștere este în conținutul de glucide, cu impact asupra valorii energetice. Astfel, se pare că un conținutul mai mare de FPM adăugată și prelungirea duratei de fermentare determină o creștere a conținutului de glucide în probele analizate, fapt care poate fi explicat prin biodisponibilitatea diferită a compușilor din cele două matrici. În făinurile diferitelor cereale matricea glucidică este mai simplă decât matricea chiflelor, compușii prezentând o disponibilitate mult mai mare pentru procesele enzimatice și microbiologice.

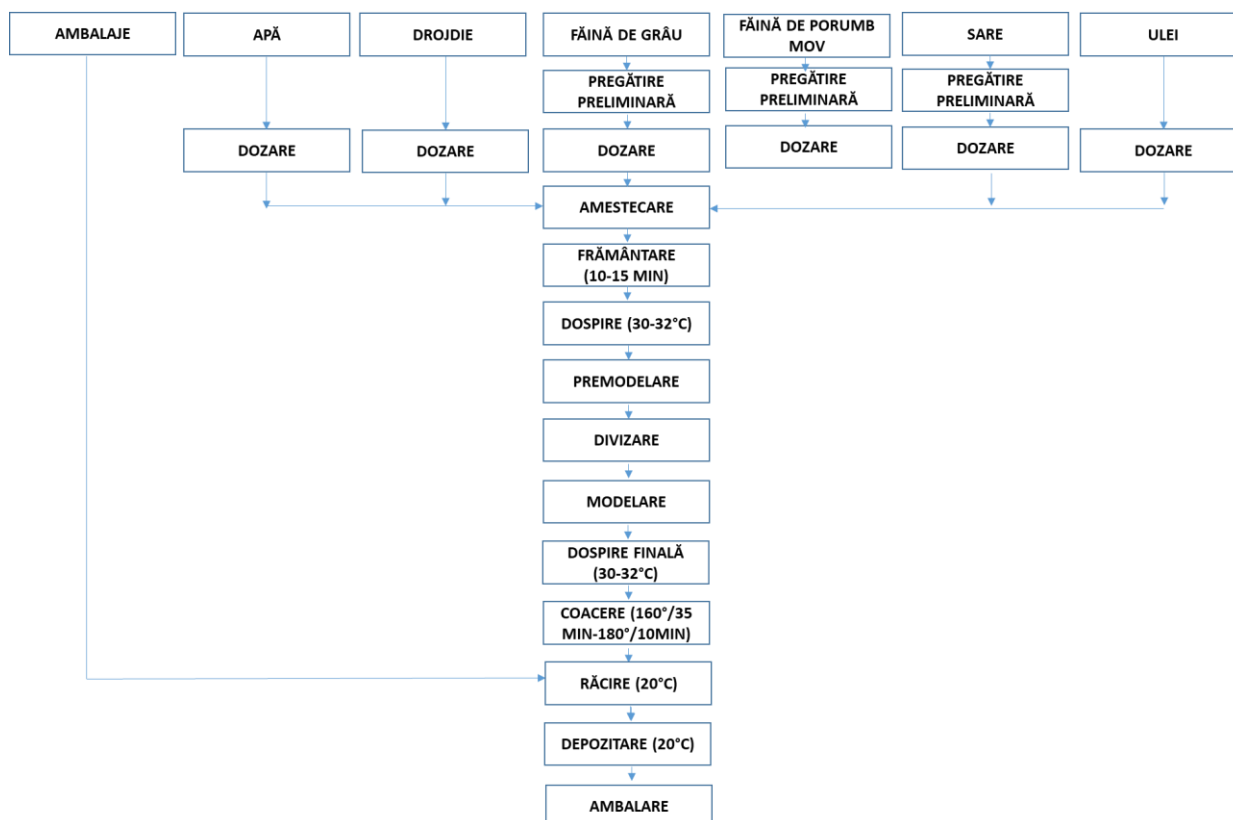
Volumul, porozitatea și elasticitatea chiflelor obținute din făinuri compozite (făină de grâu și făină de porumb mov în procente diferite) prezintă o reducere semnificativă. Volumul probelor P1 prezintă o reducere cu 20% față de proba martor, în timp ce probele P2 prezintă o reducere a volumului de 31% față de proba martor. Același aspect se observă și în cazul produselor F1, volumul scăzând cu 14%, respectiv cu 32% în cazul probelor F2, comparativ cu martor M2. Pe de altă parte, timpul de fermentare influențează diferit volumul chiflelor: pentru F1 se observă o creștere cu 9%, iar la F2 o scădere cu 10% comparativ cu probele M2. Acest aspect poate fi explicabil datorită acțiunii compușilor polifenolici asupra ratei de multiplicare a drojdiilor; cu cât cantitatea de compuși polifenolici este mai mare (respectiv cantitatea de făină de porumb mov) cu atât rata de multiplicare este mai mare, iar un timp mai lung de fermentație duce la o modificare semnificativă a proprietăților structurale ale aluaturilor. Datorită absenței unei rețele naturale, cum ar fi gliadinele de grâu și gluteninele, necesare pentru reținerea dioxidului de carbon eliberat în timpul procesului de fermentație, pâinea de porumb nu poate atinge textura spongioasă a pâinii de grâu. Conform rezultatelor lui Simić și colab. (2018), probele de pâine cu 30% făină de porumb au prezentat o reducere de volum cu 20% comparativ cu pâinea de grâu. Din Tabelul 5.5 se poate observa că atât porozitatea cât și elasticitatea probelor codificate P1 și F1, care prezintă un procent de 25% făină de porumb mov au valori mai mici decât probele martor (M1 și M2); iar în cazul chiflelor cu un procent de 75% FPM, porozitatea și elasticitatea au valori mai mici decât standardul. Timpul de fermentație a avut o influență pozitivă în cazul porozității probelor F1 (72,26) față de probele P1 (70,71). Nu există diferențe semnificative statistic în ceea ce privește valoarea energetică a probelor obținute prin fermentare timp de 1 oră. În cazul chiflelor care au prezentat o durată de fermentare de 2 ore, valoarea energetică cea mai mare o reprezintă probele

## Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov

codificate F2 (232,16 kcal/100 g produs). În cazul produselor cu adaos de 75% FPM, produsele rezultate au prezentat o valoare energetică mai mică (231,83 kcal/100 g și 232,16 kcal/100 g). Comparativ, indiferent de procentul de FPM adăugat, prelungirea timpului de fermentație a determinat o creștere a valorii energetice.

### 5.4.5. Dezvoltarea unor scheme tehnologice generale pentru obținerea chiflelor cu adaos de porumb mov

Pentru dezvoltarea variantelor experimentale de chifle, au fost utilizate materiile prime și materiile auxiliare și regimul tehnologic prezentate în schema tehnologică din Figura 5.2.



**Figura 5.2.** Schema tehnologică de obținere a chiflelor (făină de porumb mov 25% și făină albă de grâu 75%)

Materiile prime și auxiliare folosite pentru obținerea chiflelor au fost: făină de grâu tip 650 (în următoarele proporții: M1 și M2 - 100%, P1 și F1 - 75%, P2 și F2 - 25%), FPM (P1 și F1 - 25%, P2 și F2 - 75%), drojdie 2,5%, apă 55-66%, temperatura apei 25-35°C, sare 1,3-1,6%, ulei de floarea soarelui 4,3%. Materiile prime după pregătire preliminară au fost supuse operațiilor de frământare timp de 10-15 minute și fermentare timp de 1 oră pentru chiflele M1, P1, P2 și A, respectiv 2 ore pentru chiflele M2, F1, F2 și 25 minute pentru B. Aluatul a fost porționat în bucăți de 180 g, modelat și lăsat la dospire finală 15 minute, la temperatura de 35°C, urmat de coacere timp de 35 de minute la 160°C și 10 de minute la 180°C. După răcire chiflele au fost ambalate în ambalaje care să nu permită pierderea umidității și uscarea chiflelor pe perioada depozitării.

### 5.5. Concluzii parțiale

Scopul acestui studiu a fost studiul influenței adosului de făină de porumb mov asupra unor parametri tehnologici în vederea optimizării tehnologiei de obținere a unor produse de panificație, care să exploateze în același timp, profilul polifenolic prin dezvoltarea unor produse funcționale. Rezultatele obținute în prezentul studiu au permis formularea următoarelor concluzii parțiale:

## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

- ❖ În vederea studierii influenței duratei de fermentație asupra caracteristicilor senzoriale, nutriționale și a profilului fitochimic, s-au obținut trei tipuri de chifle la care s-a variat timpul de fermentare (1 h sau 2 h): chifle din făină alba de grâu cu dospire 1 oră (M1) și respectiv 2 h (M2), chifle cu făină de porumb mov 25% și făină albă de grâu 75% (P1 și F1) și chifle cu făină de porumb mov 75% și făină albă de grâu 25% (P2 și F2).
- ❖ Analiza profilului fitochimic al chiflilor a scos în evidență o creștere semnificativă a profilului polifenolic proporțional cu creșterea timpului de fermentație și a procentului de făină de porumb mov. Astfel, variantele experimentale din făină de porumb mov 75% și făină albă de grâu 25%, cu fermentare 2 h a prezentat cel mai mare conținut de compuși polifenolici.
- ❖ S-a observat că făina de porumb mov reduce semnificativ timpul de fermentație prin mărirea ratei de multiplicare a drojdiei. Acest aspect a fost observat în cazul probelor cu jumătate din cantitatea de drojdie, care au prezentat aceeași greutate după o oră de fermentație. În cazul chiflei B (cantitate de drojdie standard) timpul de fermentație s-a redus cu 35 min comparativ cu chifla martor M.
- ❖ Variantele experimentale M, A, B au prezentat o bună stabilitate a profilului polifenolic la depozitare. Varianta A a prezentat o creștere a activității antioxidante ( $94,99 \pm 0,01$  mM Trolox/100 g SU față de  $88,97 \pm 0,04$  mM Trolox/100 g SU) datorită creșterii conținutului de flavonoide la  $68,42 \pm 0,03$  mg CE/100 g SU după 48 ore de depozitare față de  $63,58 \pm 0,01$  mg CE/100 g SU inițial. În cazul produselor codificate B, s-a înregistrat o ușoară scădere a conținutului în compuși polifenolici, deci și a activității antioxidante de la  $95,12 \pm 0,03$  mM Trolox/100 g SU inițial la  $94,45 \pm 0,01$  mM Trolox/100 g SU după 48 ore de depozitare.
- ❖ La evaluarea caracteristicilor senzoriale ale chiflilor, paneliștii au apreciat în special gustul și aroma acestora care au fost obținute datorită timpului mare de fermentare. Chiflele care au obținut cel mai mare punctaj au fost variantele fermentate pentru 2 h, cu un conținut de 25% făină de porumb mov, conținut optim reliefat de analiza reologică a făinii de porumb mov din capitolul anterior.
- ❖ Analiza profilului nutrițional a arătat că atât cantitatea de făină de porumb mov cât și timpul de fermentație au o influență semnificativă asupra caracteristicilor fizico-chimice. Astfel, s-a remarcat că aciditatea scade proporțional cu procentul de făină de porumb mov și cu timpul de fermentație, în timp ce făina de porumb mov aduce un plus de grăsimi. De asemenea, timpul de fermentație nu prezintă o influență semnificativă asupra conținutului de grăsimi, dar influențează conținutul de glucide.
- ❖ Volumul, porozitatea și elasticitatea chiflilor scad odată cu înlocuirea făinii de grâu cu făina de porumb mov, datorită lipsei proteinelor glutenice din făina de porumb mov. Astfel chiflele care prezintă 75% făină de porumb mov prezintă valori sub standarde.
- ❖ Valoarea energetică a chiflilor crește odată cu adaosul de făină de porumb mov și cu timpul de fermentare, astfel încât variantele cu prelungire a timpului de fermentare au prezentat valoare energetică mai mare ( $231,83$  kcal/100 g produs), datorită accelerării proceselor metabolice de către compușii fenolici.
- ❖ A fost propusă o schemă tehnologică de obținere a unei chifle cu adaos de 25% făină de porumb mov, care poate contribui la dezvoltarea unor produse alimentare funcționale.

## **CAPITOLUL 6. Concluzii finale**

Afirmația lui Hipocrate „Fie ca hrana să-ți fie medicament și medicamentul hrană,, este un concept promovat în acest secol și prezintă un interes din ce în ce mai mare atât în rândul cercetătorilor cât și în plan medical, economic, industrial și social. Acest aspect a dus la un interes sporit pentru alimentele funcționale care pot preveni apariția anumitor boli sau pot ameliora anumite efecte nedorite. În acest context intră și studiile din teză de doctorat, intitulată „**Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoarea adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**”, care a urmărit cuantificarea și valorificarea compușilor biologic activi din porumbul mov în vederea dezvoltării unor produse funcționale care să vină în sprijinul consumatorilor. Toate obiectivele au fost îndeplinite, acest lucru fiind reliefat de concluziile parțiale de la sfârșitul fiecărui capitol din partea experimentală cât și a unor concluzii generale prezentate sumativ în prezentul capitol.

Au fost testate comparativ 5 tehnici de extracție din perspectiva conținutului în compuși biologic activi și activitate antioxidantă. Extractul obținut prin extracția asistată de ultrasunete la 30°C/60 min a fost considerat superior în ceea ce privește concentrația de compuși biologic activi, identificându-se prin analiză cromatografică doi compuși majori reprezentați de cianidina-3-O-glucozid și forma acilată a acesteia cianidină 3-O-(6"- malonilglucozid). În urma analizei celor trei parametri: temperatura, raportul lichid/solid și concentrația de etanol, și ajustării datelor prin folosirea unui model polinom pătratic, s-a evidențiat o corelație pozitivă între recuperarea antocianilor și temperatură și concentrația de etanol, în timp raportul lichid/solid a exercitat un efect negativ. Au fost stabilite condiții optime pentru extracția maximă a antocianilor (5 ore, la 39°C, raport lichid/solid de 30 mL/g și concentrație de etanol de 73%), în timp ce analiza cromatografică a extractului optimizat a evidențiat cea mai mare concentrație în miricetină, urmată de quercetină 3-β-D-glucozidă, kaempferol, cianidin 3-O-glucozidă și acid galic. S-a evidențiat prin studiul cinetic de degradare termică că antocianii prezintă o termostabilitate ridicată în intervalul de temperatură 80-110°C, remarcându-se că parametrii de degradare termică aferenți activității antioxidante au fost semnificativ mai mici comparativ cu cei estimați pentru degradarea termică a antocianilor, fapt care denotă o termostabilitate diferită a compușilor biologic activi din extract. S-a evidențiat efectul inhibitor mai mare decât cel al medicamentelor de referință asupra enzimelor tirozinază, α-amilază, α-glucozidază și lipază, efect dat în special de compușii polifenolici. Datorită acestui aspect putem afirma că extractul de porumb mov prezintă un potențial efect antidiabetic, hipocolesterolemic și de prevenire împotriva bolii Parkinson, Alzheimer și a melanomului.

În urma testării efectului de stimulare metabolică asupra drojdiei (*Saccharomyces cerevisiae*) cea mai mare rată de multiplicare a fost obținută după 48 de ore de cultivare, fiind corelată cu o concentrație adăugată de 1,2 mg/100 mL, extract din făina de porumb mov. În ceea ce privește viabilitatea celulelor de drojdie procesul de autoliză este observat după 72 ore, deci se poate afirma că extractul de porumb mov prezintă un efect protector asupra celulei de drojdie. Rezultatele au arătat și un proces continuu de fermentare, datorită eliberării de CO<sub>2</sub>.

Ca urmare a analizei profilului termo-mecanic al făinii de porumb mov, făinii de orez și al unor făinuri compozite s-au obținut trei variante de biscuiți, care au prezentat o bună acceptabilitate în general, iar în urma analizei profilului fitochimic aceste produse pot fi considerate funcționale. Testul ELISA a evidențiat absența din biscuiți a prolaminelor antigene, deci biscuiții pot fi considerați produse fără gluten. Ei au prezentat o bună stabilitate la păstrare și o structură texturată, sub formă de straturi succesive de granule de amidon agregat și antociani.

## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

S-au obținut două tipuri de chifle în care s-a folosit 25% și 75% făină de porumb mov la care s-a testat influența timpului de fermentare asupra caracteristicilor chiflilor și influența compușilor polifenolici asupra timpului de fermentare. S-a arătat că timpul de fermentare influențează în general pozitiv caracteristicile senzoriale, fitochimice și nutriționale ale chiflilor, ele prezentând o bună acceptabilitate, în special chiflele cu 25% făină de porumb mov. Prezența compușii polifenolici a determinat o reducere a timpului de fermentație cu 35 min.

Rezultatele analizelor acestui studiu arată că biscuiții fără gluten cu făină de porumb mov pot fi produse ușor acceptate de consumatori și recomandate pentru bolnavii celiaci. Chiflele cu 25% făină de porumb mov datorită profilului fitochimic pot fi considerate produse biologice funcționale, iar din punct de vedere nutrițional corespund standardelor, și pot face parte dintr-o alimentație sănătoasă și echilibrată venind în ajutorul consumatorilor.

### **CAPITOLUL 7. Contribuții originale și perspective de continuare a studiilor**

Contribuțiile originale ale tezei de doctorat derivă din următoarele aspecte:

- ❖ S-a stabilit o corelație pozitivă dintre efectul extractului optimizat asupra activității metabolice a drojdiei, *Saccharomyces cerevisiae*, și acțiunea compușilor polifenolici din făina de porumb mov asupra activității metabolice a drojdiei în timpul procesului tehnologic de obținere a chiflilor, corelație reliefată prin reducerea timpului de fermentație. Până în prezent, nu a fost identificat nici un studiu asemănător, și de aici și originalitatea tezei de doctorat.
- ❖ Pentru caracterizarea profilului polifenolic avansat s-au utilizat tehnici de cromatografie și spectrofotometrie permițând o analiză detaliată care împreună cu studiul parametrilor cinetici a urmărit obținerea unor produse care să prezinte proprietăți biochimice, toate realizându-se din perspectiva relației structură-funcție-proces-produs.
- ❖ Realizarea de studii reologice pe baza cărora s-au dezvoltat cele două produse funcționale.
- ❖ Relația dintre structură-funcție-proces-produs reprezintă elementul de originalitate al tezei care deschide direcții noi de exploatare a altor cereale neutilizate până în prezent pe piața românească sau a unor fructe (ex. dude) și desconsiderate de marea majoritate a consumatorilor dar bogate în compuși polifenolici cu o mare putere antioxidantă.

### **CAPITOLUL 8. Valorificarea rezultatelor**

#### **I. Articole publicate**

Slavu (Ursu), M.G., Milea, Ș.A., Aprodu, I., Râpeanu G., Stănciuc N. (2020). Thermal Degradation Kinetics of Anthocyanins Extracted from Purple Maize Flour Extract and the Effect of Heating on Selected Biological Functionality. *Foods*, 9(11), 1593, <https://doi.org/10.3390/foods9111593>

Slavu (Ursu), M., Banu, I. Milea, Ș.A., Aprodu, I., Enachi, E., Cotârleț, M., Râpeanu, G, Stănciuc, N. (2021). Designing gluten-free, anthocyanins-enriched cookies on scientific basis. *International Journal of Food Science and Technology*, <https://doi.org/10.1111/ijfs.15457>

#### **II. Articole submise pentru publicare**

Slavu (Ursu), M.G., Milea Ș.A., Păcularu-Burada, B., Dumitrașcu, L., Râpeanu, G., Stănciuc, S., Stănciuc, N. Optimizing of the liquid-solid conventional extraction conditions for

## **Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

anthocyanin's from purple corn flour (*Zea mays* L) using Response Surface Methodology: evidences on selected properties of optimized extract. Submitted to *Food Chemistry:X*.

### **III. Participare la conferințe naționale**

Slavu (Ursu), M.G., Aprodu, I., Enachi, E., Râpeanu, G., Banu, I., Stănciuc N. (2020). Fostering Purple Corn as a source of biological active compounds. Poster, *8<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools*, "Dunarea de Jos" University of Galati.

Slavu (Ursu), M.G., Aprodu, I., Enachi, E., Râpeanu, G., Banu, I., Stănciuc N. (2020). Extraction of antocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) by conventional and ultrasound assisted method, Poster, *8<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools*, "Dunarea de Jos" University of Galati.

Slavu (Ursu), M.G., Aprodu, I., Râpeanu, G., Banu, I., Stănciuc N. (2020). Proprietățile nutraceutice ale porumbului mov și efectul său de inhibare a  $\alpha$ -glucozidazei și  $\alpha$ -amilazei, Poster, *Student Scientific Session XVIII<sup>th</sup> Edition*, November 26-27, Arad.

Slavu (Ursu), M.G., Aprodu, I., Râpeanu, G., Banu, I., Stănciuc N. (2020). Kinetics of thermal degradation of anthocyanins in correlation with the antioxidant activity of biologically active compounds in the extract of purple corn (*Zea mays* L.), Poster, "*Young people and multidisciplinary research in applied life sciences*", Section: Food Chemistry, Engineering & Technology, Faculty of Food Engineering, Timișoara.

Slavu (Ursu), M.G., Milea, Ș.A., Aprodu, I., Râpeanu, G., Banu, I., Stănciuc N. (2021). Development of anthocyanins-rich buns based on purple corn flour (*Zea mays* L.), Poster, *Multidisciplinary Conference on Sustainable, Development, Section: Food Chemistry, Engineering & Technology*, Faculty of Food Engineering Timișoara.

Slavu (Ursu), M.G., Aprodu, I., Râpeanu, G., Banu, I., Stănciuc N. (2021). Rheological characteristics of composite flours with brown rice and purple corn, Poster, *9<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools*, "Dunarea de Jos" University of Galati.

Slavu (Ursu), M.G., Milea, Ș.A., Aprodu, I., Râpeanu, G., Banu, I., Stănciuc N. (2021). Gluten-free, anthocyanins-enriched biscuits based on purple corn flour (*Zea mays* L.), Poster, *9<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools*, "Dunarea de Jos" University of Galati.

Slavu (Ursu), M.G., Milea, Ș.A., Aprodu, I., Râpeanu, G., Banu, I., Stănciuc N. (2021). Gluten-free, anthocyanins-enriched biscuits based on purple corn flour (*Zea mays* L.), Poster, *EuroAliment*, Galati.

Slavu (Ursu), M.G., Milea, Ș.A., Dumitrașcu, L., Aprodu, I., Banu, I., Râpeanu, G., Stănciuc N. (2022). Purple maize flour extract: optimization and evaluation of biological properties, Poster, *10<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools*, "Dunarea de Jos" University of Galati.

Slavu (Ursu), M.G., Milea, Ș.A., Aprodu, I., Banu, I., Râpeanu, G., Stănciuc N. (2022). Anthocyanins-enriched buns based on purple corn flour (*Zea mays* L.), Poster, *10<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools*, "Dunarea de Jos" University of Galati.

### **IV. Premii**

Premiul III, Poster, Proprietățile nutraceutice ale porumbului mov și efectul său de inhibare a  $\alpha$ -glucozidazei și  $\alpha$ -amilazei, *Student Scientific Session XVIII<sup>th</sup> Edition*, November 26-27, 2020, Arad.

**Cercetări privind dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin  
exploatarea potențialului biologic activ al porumbului mov**

---

Premiul III, Poster, Kinetics of thermal degradation of anthocyanins in correlation with the antioxidant activity of biologically active compounds in the extract of purple corn (Zea mays L.) "Young people and multidisciplinary research in applied life sciences", Section: Food Chemistry, Engineering & Technology, Faculty of Food Engineering, November 27, 2020, Timișoara.

Honorable Mention, Poster, Gluten-free, anthocyanins-enriched biscuits based on purple corn flour (Zea mays L.) 9<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools, "Dunarea de Jos" University, 10<sup>th</sup> -11<sup>th</sup> June, 2021, Galați.

Honorable Mention, Poster, Anthocyanins-enriched buns based on purple corn flour (Zea mays L.) 10<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools, "Dunarea de Jos" University, 9<sup>th</sup> -10<sup>th</sup> June, 2022, Galați.

Honorable Mention, Poster, Anthocyanins-enriched buns based on purple corn flour (Zea mays L.), Slavu (Ursu), M.G., Milea, Ș.A., Aprodu, I., Banu, I., Râpeanu, G., Stănciuc N. 10<sup>th</sup> edition of Scientific Conference of Doctoral Schools, "Dunarea de Jos" University, 9<sup>th</sup> -10<sup>th</sup> June, 2022, Galați