

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



TEZĂ DE DOCTORAT

**POSSIBILITĂȚI DE UTILIZARE A UNOR PRODUSE
SECUNDARE ALE PROCESĂRII LEGUMELOR ȘI
FRUCTELOR PENTRU CREȘTEREA FUNCȚIONALITĂȚII
PRODUSELOR ALIMENTARE**

(Rezumatul tezei de doctorat)

**Doctorand,
Corbu Alexandru Radu**

**Conducător științific,
Prof. dr. ing. Nour Violeta**

Seria I 7: INGINERIIAR PRODUSELOR ALIMENTARE Nr. 13

GALAȚI

2020

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



TEZĂ DE DOCTORAT

**POȘIBILITĂȚI DE UTILIZARE A UNOR PRODUSE
SECUNDARE ALE PROCESĂRII LEGUMELOR ȘI
FRUCTELOR PENTRU CREȘTEREA FUNCȚIONALITĂȚII
PRODUSELOR ALIMENTARE**

(Rezumatul tezei de doctorat)

Doctorand

Corbu Alexandru Radu

**Conducător științific,
Referenți științifici**

Prof univ.dr.ing. Nour Violeta
Prof univ.dr.ing. Râpeanu Gabriela
Prof.univ.dr. Mudura Elena
Prof.univ.dr. Oroian Mircea

Seria I 7:INGINERIA PRODUSELOR ALIMENTARE Nr. 13

GALAȚI

2020

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

Domeniul ȘTIINȚE INGINEREȘTI

Seria I 1: **Biotehnologii**

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

Seria I 3: **Inginerie electrică**

Seria I 4: **Inginerie industrială**

Seria I 5: **Ingineria materialelor**

Seria I 6: **Inginerie mecanică**

Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**

Seria I 8: **Ingineria sistemelor**

Seria I 9: **Inginerie și management în agricultură și dezvoltare rurală**

Domeniul ȘTIINȚE ECONOMICE

Seria E 1: **Economie**

Seria E 2: **Management**

Domeniul ȘTIINȚE UMANISTE

Seria U 1: **Filologie- Engleză**

Seria U 2: **Filologie- Română**

Seria U 3: **Istorie**

Seria U 4: **Filologie - Franceză**

Domeniul MATEMATICĂ ȘI ȘTIINȚE ALE NATURII

Seria C: **Chimie**

CUPRINS

I. OBIECTIVELE ȘTIINȚIFICE ALE TEZEI DE DOCTORAT	7
II. STUDIU DOCUMENTAR	8
CAPITOLUL 1	8
DEȘEURILE AGROINDUSTRIALE ȘI RECUPERAREA LOR POTENȚIALĂ.....	8
1.1. Valorificarea produselor secundare ale procesării produselor alimentare.....	8
1.2. Valorificarea produselor secundare și deșeurilor de la procesarea fructelor și legumelor.....	8
CAPITOLUL 2	9
VALORIFICAREA SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA TOMATELOR	9
2.1. Caracterizarea compozițională a subproduselor de la procesarea tomatelor	9
2.2. Folosirea subproduselor de la procesarea tomatelor în hrana animală.....	9
2.3. Extracția licopenului și β -carotenului din subproduse de la procesarea tomatelor	9
2.4. Îmbogățirea uleiurilor cu carotenoide prin extracție directă a subproduselor de la procesarea tomatelor	9
2.5. Folosirea produselor secundare de la procesarea tomatelor ca ingrediente alimentare	9
CAPITOLUL 3	10
VALORIFICAREA SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA CĂȚINEI.....	10
3.1. Potențialul alimentar al fructelor de cătină.....	10
3.2. Procesarea post-recoltare a fructelor de cătină.....	10
3.3. Valorificarea subproduselor de la procesarea fructelor de cătină.....	10
III. REZULTATE EXPERIMENTALE.....	11
CAPITOLUL 4	11
VALOAREA NUTRITIVĂ ȘI CONȚINUTUL DE COMPUȘI BIOLOGIC ACTIVI ALE SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA TOMATELOR	11
4.1. Oportunitatea studiului	11
4.2. Materiale și metode de analiză.....	11
4.3. Rezultate și discuții	11
4.3.1. Compoziția chimică	11
4.3.2. Conținutul de aminoacizi	12
4.3.3. Conținutul de acizi grași	12
4.3.4. Conținutul de substanțe minerale.....	13
4.3.5. Conținutul total de compuși fenolici, flavonoide, licopen, β -caroten și activitatea de captare a radicalilor liberi.....	14
4.3.6. Conținutul de compuși fenolici.....	14
4.4. Concluzii parțiale.....	15
CAPITOLUL 5	16
VALOAREA NUTRITIVĂ ȘI CONȚINUTUL DE COMPUȘI BIOLOGIC ACTIVI ALE SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA CĂȚINEI.....	16
5.1. Oportunitatea studiului	16
5.2. Materiale și metode de analiză.....	16
5.3. Rezultate și discuții	16
5.3.1. Compoziția chimică	16
5.3.2. Conținutul de aminoacizi	17
5.3.3. Conținutul de acizi grași	17
5.3.4. Conținutul de substanțe minerale.....	17

5.3.5. Conținutul total de compuși fenolici	18
5.3.6. Conținutul de carotenoide	18
5.4. Concluzii parțiale	19
CAPITOLUL 6	20
EFECTELE CAROTENOIDELOR EXTRASE DIN REZIDUUL USCAT DE TOMATE ASUPRA STABILITĂȚII ȘI CARACTERISTICILOR UNOR ULEIURI VEGETALE	20
6.1. Oportunitatea studiului	20
6.2. Materiale și metode de analiză	20
6.3. Rezultate și discuții	21
6.3.1. Extracția carotenoidelor din subprodusele uscate de tomate	21
6.3.2. Influența carotenoidelor extrase din reziduul uscat de tomate asupra stabilității oxidative a uleiurilor	21
6.3.3. Influența carotenoidelor extrase din reziduul uscat de tomate asupra perioadei de inducție a uleiurilor	22
6.3.4. Schimbarea culorii uleiurilor după extracție	26
6.4. Concluzii parțiale	26
CAPITOLUL 7	27
ÎMBOGĂȚIREA ULEIURILOR VEGETALE CU CAROTENOIDE EXTRASE DIN PRODUSELE SECUNDARE REZULTATE ÎN URMA PROCESĂRII CĂTINEI ALBE (<i>Hippophae rhamnoides</i> ssp. <i>sinensis</i>)	27
7.1. Oportunitatea studiului	27
7.2. Materiale și metode de analiză	27
7.3. Rezultate și discuții	27
7.3.1. Conținutul de carotenoide în produsele secundare de la procesarea cătinei	27
7.3.2. Conținutul total de carotenoide în uleiuri	28
7.3.3. Activitatea antioxidantă	28
7.3.4. Indicele de peroxid	28
7.3.5. Analiza termică și studiul calorimetric	28
7.3.6. Culoarea	31
7.4. Concluzii parțiale	31
CAPITOLUL 8	33
DEZVOLTAREA ȘI VALIDAREA UNEI METODE HPLC ÎN FAZĂ INVERSĂ PENTRU ANALIZA CAROTENOIDELOR DIN GĂLBENUȘUL DE OU	33
8.1. Oportunitatea studiului	33
8.2. Materiale și metode de analiză	33
8.2.1. Reactivi și standarde	33
8.2.4. Extracția carotenoidelor	33
8.2.5. Condiții cromatografice	33
8.2.6. Validarea metodei	33
8.3. Rezultate și discuții	34
8.3.1. Liniaritatea	34
8.3.2. Reproducibilitatea și limita de detecție	34
8.3.3. Precizia și stabilitatea	34
8.3.4. Analiza probei și recuperarea	35
8.3. Concluzii parțiale	35
CAPITOLUL 9	37
STUDIUL PRIVIND INCLUDEREA ÎN DIETA GĂINILOR OUĂTOARE A SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA TOMATELOR	37
9.1. Oportunitatea studiului	37
9.2. Materiale și metode de analiză	37
9.2.1. Experimentul de hrănire	37

9.2.2. Prelevarea probelor și analize	37
9.2.3. Extracția și analiza carotenoidelor.....	37
9.3. Rezultate si discuții.....	37
9.4. Concluzii parțiale	39
CAPITOLUL 10	40
STUDIU PRIVIND INCLUDEREA SIMULTANĂ ÎN DIETA GĂNILOR OUĂTOARE A SEMINȚELOR DE IN ȘI A SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA TOMATELOR.....	40
10.1. Oportunitatea studiului.....	40
10.2. Material și metode	40
10.3. Rezultate și discuții	41
10.3.1. Ingredientele dietei și compoziția furajelor	41
10.3.2. Performanța gănilor ouătoare și calitatea ouălor.....	43
10.3.3. Culoarea oului	43
10.3.4. Conținutul de acizi grași polinesaturați și de carotenoide din gălbenușul de ou.....	43
10.3.5. Peroxidarea lipidelor din gălbenuș	46
10.3.6. Peroxidarea lipidică a furajelor combinate	46
10.4. Concluzii parțiale.....	46
CAPITOLUL 11	47
CONCLUZII FINALE	47
CAPITOLUL 12	49
CONTRIBUȚII ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A CERCETĂRIILOR	49
CAPITOLUL 13	50
DISEMINAREA REZULTATELOR CERCETĂRIILOR EFECTUATE PE TEMATICA TEZEI DE DOCTORAT	50
BIBLIOGRAFIE.....	52

I. OBIECTIVELE ȘTIINȚIFICE ALE TEZEI DE DOCTORAT

Fabricarea industrială a fructelor și legumelor generează cantități uriașe de subproduse și deșeuri sub formă de coji, semințe, sămburi, turte (șrot), tescovină, fructe și legume necoapte și/sau deteriorate. Cercetările efectuate în ultimii 20 de ani au relevat faptul că multe subproduse și deșeuri alimentare ar putea servi drept sursă de compuși bioactivi potențial valoroși, cum ar fi minerale, vitamine, zaharuri, carotenoide, fibre, compuși fenolici, compuși aromatici, etc. Cu toate acestea, majoritatea subproduselor și deșeurilor de fructe și legume nu sunt exploatate în prezent.

Industria tomatelor generează cantități uriașe de subproduse reprezentând 10-30% din totalul tomatelor procesate. Aceste subproduse, care conțin semințe, coji și pulpă, sunt o sursă valoroasă de compuși funcționali precum compuși fenolici, fibre și minerale și, prin urmare, pot fi folosiți pentru dezvoltarea produselor alimentare cu valoare adăugată datorită proprietăților lor nutritive și funcționale. Subprodusele tomatelor conțin, în general, un nivel ridicat de fibre dietetice, proteine, grăsimi și substanțe minerale dar și un conținut ridicat de carotenoide.

Fructele de cătină sunt o sursă bogată de compuși bioactivi care pot contribui la beneficiile revendicate și dovedite pentru sănătate ale sucului și uleiului de cătină. Valoarea nutritivă a cătinei și efectele sale farmacologice sunt determinate de conținutul mare de vitamine și metaboliți secundari ai plantelor. Șrotul de cătină este un produs secundar produs în timpul extragerii sucului de cătină, format din pulpă, semințe și pielețe. Acesta conține cantități mari de vitamine, flavonoide, carotenoide și acizi grași speciali. Utilizarea acestor subproduse ca materie primă pentru extracția componentelor benefice a crescut în ultimele decenii.

Aceste câteva considerații prezentate evidențiază oportunitatea și importanța studiilor legate de valorificarea subproduselor de la procesarea tomatelor și a cătinei ca supliment în nutriția animală dar și pentru extracția de compuși bioactivi, având ca obiectiv final obținerea de produse alimentare cu funcționalitate ridicată prin îmbogățirea lor în compuși bioactivi antioxidanți.

În plus, studiile dezvoltate în această lucrare au pornit de la ipoteza că o creștere a conținutului de compuși carotenoidici în produse alimentare, în special în produse cu conținut ridicat de acizi grași, inclusiv acizi grași polinesaturați, vor contribui la protecția antioxidantă a acestora, având ca rezultat creșterea stabilității lor oxidative și termice.

În contextul cercetărilor actuale, teza de doctorat și-a propus următoarele obiective științifice specifice:

- Caracterizarea subproduselor de la procesarea tomatelor privind conținutul de substanțe nutritive și compuși biologic activi;
- Caracterizarea subproduselor de la procesarea cătinei privind conținutul de substanțe nutritive și compuși biologic activi;
- Studiul efectelor extracției directe a carotenoidelor din subproduse de tomate deshidratate asupra stabilității și caracteristicilor unor uleiuri vegetale;
- Îmbogățirea uleiurilor vegetale cu carotenoide prin extracție directă din subproduse secundare rezultate în urma procesării cătinei albe, efectele acestora asupra caracteristicilor fizico-chimice și asupra stabilității oxidative și termice a uleiurilor;
- Efectul suplimentării dietei găinilor ouătoare cu subproduse ale procesării tomatelor asupra performanței la ouat a găinilor, calității ouălor, conținutului de carotenoide din gălbenuș și culorii ouălor;
- Studii privind includerea simultană în dieta găinilor ouătoare a semințelor de in și a subproduselor de la procesarea tomatelor în vederea îmbogățirii ouălor cu acizi grași n-3 PUFA și carotenoide și creșterii stabilității oxidative a "ouălor de designer" astfel obținute.

II. STUDIU DOCUMENTAR

CAPITOLUL 1

DEȘEURILE AGROINDUSTRIALE ȘI RECUPERAREA LOR POTENȚIALĂ

Industria alimentară produce o mare cantitate de deșeuri de legume și fructe. Aceasta conține în general cantități mari de substanțe solide (SS) și necesită un consum mare de oxigen biologic (BOD) și chimic (COD), ceea ce influențează soluțiile posibile de recuperare și costurile tratamentelor. Deșeurile constau mai ales din hidrocarburi și cantități relativ mici de proteine și lipide, având o umiditate de 80-90%. În final, apele uzate conțin compuși dizolvați, pesticide, erbicide și detergenți [1].

1.1. Valorificarea produselor secundare ale procesării produselor alimentare

Produsele secundare, reziduurile și efluenții care rezultă în urma procesării legumelor și fructelor conțin cantități mari de proteine, zaharuri și lipide, precum și compuși aromatici și alifatici și, prin urmare, pot fi surse ieftine și abundente de produse chimice de calitate și biomateriale. Într-adevăr, după pre-tratamente specifice cu agenți fizici și biologici, urmate de proceduri de recuperare caracteristice, ele pot produce antioxidanți naturali cu valoare adăugată, agenți antimicrobieni, vitamine, etc., precum și macromolecule (cum ar fi celuloză, amidon, lipide, proteine, enzime și pigmenți din plante) de interes deosebit pentru industria farmaceutică, cosmetică și cea alimentară.

1.2. Valorificarea produselor secundare și deșeurilor de la procesarea fructelor și legumelor

În ultimii 25 de ani, procesarea fructelor, legumelor și a cerealelor a crescut considerabil, mai ales ca o consecință a faptului că studiile epidemiologice au legat consumul, în dietă, al fibrelor din cereale și fructe, de scăderea incidenței mortalității datorate cancerului și bolilor cardiovasculare [2]. Procesarea legumelor și fructelor generează cantități mari de produse reziduale și secundare (20-60% w/w din fructele și legumele procesate) [3].

Subprodusele și reziduurile de fructe și legume (cojile, semințele și pulpa neutilizată generate în diferitele etape ale procesului de producție), care sunt în cea mai mare parte aruncate, cauzează nu numai poluarea mediului înconjurător dar sunt și surse de biocomponente [4]. În general reziduurile vegetale constituie o sursă naturală bună de carbohidrați, polizaharide, proteine, vitamine, minerale, antioxidanți [5] în timp ce produsele secundare pot prezenta un conținut foarte ridicat de compuși bioactivi [4]. Sâmburii și uleiurile care pot fi recuperate din acestea sunt bogate în diferiți compuși bioactivi cum ar fi tococromanoli, acizi grași esențiali, fitosteroli și squalene [6] în timp ce șrotul de mere este o sursă bogată în pectine, carbohidrați, fibre și minerale [7]. Recuperarea compușilor cu valoare ridicată permite utilizarea acestora ca aditivi alimentari și/sau nutraceutice.

CAPITOLUL 2

VALORIFICAREA SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA TOMATELOR

2.1. Caracterizarea compozițională a subproduselor de la procesarea tomatelor

Tomatele reprezintă la nivel mondial cea de a doua recoltă vegetală după cartofi, cu o producție anuală de 100 milioane de tone fructe proaspete produse în 144 de țări. În anul 2013, producția mondială de tomate a fost de aproximativ 163 milioane de tone [8].

Industrializarea tomatelor produce cantități mari de deșeuri, respectiv 20-50 kg/tonă, care ar putea fi utilizate pentru producerea de antioxidanți [9, 10]. După procesarea tomatelor, 3-7% din greutatea lor, respectiv coaja, o parte din pulpă și semințele, devin deșeuri care se folosesc de obicei pentru hrana animalelor sau sunt chiar aruncate. Produsele secundare rezultate după procesarea tomatelor reprezintă o sursă bogată de substanțe nutritive și compuși biologic activi: carotenoide, proteine, compuși fenolici, substanțe minerale și uleiuri.

2.2. Folosirea subproduselor de la procesarea tomatelor în hrana animală

Șrotul uscat de tomate este o sursă excelentă de tocoferol (vitamina E), care este utilizat ca antioxidant în carnea puiilor broiler. Produsele secundare de tomate sunt de obicei incluse în dieta rumegătoarelor datorită conținutului ridicat de fibre. Deși licopenul pare să fi atras o atenție limitată ca pigment pentru gălbenușul de ou, mai multe studii au investigat totuși efectele suplimentării cu licopen în dietă asupra performanței și calității ouălor găinilor ouătoare.

2.3. Extracția licopenului și β -carotenului din subproduse de la procesarea tomatelor

Au fost realizate multe studii în vederea creșterii recuperării licopenului din produsele secundare de la procesarea tomatelor. Aplicarea procesării la presiune hidrostatică înaltă [11], a tratamentului enzimatic cu celulază și pectinază [12, 13] sau surfactanți [14] și extracția cu fluide supercritice [15, 16] sunt câteva dintre soluțiile propuse. Cu toate acestea, tehnologiile de extracție utilizate în prezent nu par să permită recuperarea eficientă a carotenoidelor [14].

2.4. Îmbogățirea uleiurilor cu carotenoide prin extracție directă a subproduselor de la procesarea tomatelor

Mai multe studii desfășurate în ultimii ani au avut ca subiect îmbogățirea uleiurilor cu surse de antioxidanți naturali de la unele specii de plante, cunoscute că posedă proprietăți antioxidante [17]. Activitatea acestor extracte din plante a fost atribuită prezenței compușilor flavonici, fosfolipidilor, tocoferolilor și acidului ascorbic [18]. Compușii antioxidanți din surse reziduale pot fi de asemenea folosiți pentru a crește stabilitatea uleiurilor vegetale [19]. Sunt insuficiente studiile efectuate asupra încorporării extractelor brute sau a întregului material vegetal de origine reziduală ca antioxidant în uleiuri.

2.5. Folosirea produselor secundare de la procesarea tomatelor ca ingrediente alimentare

Unii cercetători în domeniul alimentației au propus evitarea extracției de licopen și alte carotenoide prin reciclarea directă a produselor secundare ca ingrediente alimentare. Astfel, cojile de tomate deshidratate au fost adăugate în cârnați uscați fermentați, hamburgeri, carne de pui tocată și prelucrată la presiune înaltă, produse extrudate de tip snack-food, ketchup, pâine, brioșe, crackers, brânză tartinabilă, paste etc.

CAPITOLUL 3

VALORIFICAREA SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA CĂTINEI

3.1. Potențialul alimentar al fructelor de cătină

Cătina albă este unul dintre arbuștii de mare valoare, atât în flora spontană, cât și cultivată, datorită importanței fructelor în industria farmaceutică, alimentară, în silvicultură, agricultură, cosmetică, dar și ca plantă ornamentală. Fructele de cătină sunt bogate în carbohidrați, vitamine solubile, proteine și grăsimi, antioxidanți (vitaminele C și E, β -caroten și licopen), acizi grași esențiali, aminoacizi, fitosteroli și flavonoide, substanțe minerale (fier, calciu etc.) [20, 21]. Ele se utilizează în aproximativ două sute de produse industriale, inclusiv medicamente și plante medicinale, pentru tratamentul cancerului, afecțiunilor cardiace, ulcerelor, tulburărilor hepatice, arsurilor și tulburărilor cerebrale.

Cele mai valoroase componente ale boabelor de cătină sunt uleiurile lor. Atât semințele cât și pulpa au un conținut ridicat de lipide, inclusiv tocoferoli, tocotrienoli, carotenoide, precum și familiile de acizi grași omega-3 și omega-6 [22].

3.2. Procesarea post-recoltare a fructelor de cătină

Produsele de pe piața cătinei includ uleiuri, sucuri și aditivi alimentari pentru bomboane, jeleuri, cosmetice și șampoane [23].

Fructele de cătină pot fi folosite pentru a face plăcinte, dulcețuri, loțiuni și lichioruri. Sucul sau pulpa au și ele alte aplicații potențiale în alimente sau băuturi [24]. Datorită valorii nutriționale ridicate și a cererii sale în creștere, se sugerează că fructele de cătină pot fi explorate pentru a fi utilizate în diferite produse alimentare, cum ar fi gemuri, sucuri, băuturi etc. pentru creșterea valorii nutritive și funcționalității acestora.

3.3. Valorificarea subproduselor de la procesarea fructelor de cătină

Extragerea sucului din fructele de cătină duce la obținerea unei turte de presare reziduale care conține în principal flavone [25]. Șrotul de cătină este un produs secundar rezultat în timpul extragerii sucului de cătină, format din pulpă, semințe și pieleț. În ultimele decenii a crescut tot mai mult interesul pentru utilizarea acestor subproduse ca materie primă pentru alte procese pentru extragerea componentelor lor benefice [26]. În afară de reducerea deșeurilor, scopul care stă la baza utilizării acestora este și extragerea compușilor antioxidanți benefici.

III. REZULTATE EXPERIMENTALE

CAPITOLUL 4

VALOAREA NUTRITIVĂ ȘI CONȚINUTUL DE COMPUȘI BIOLOGIC ACTIVI ALE SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA TOMATELOR

4.1. Oportunitatea studiului

Scopul acestui studiu a fost acela de a determina conținutul diverselor substanțe nutritive și compuși biologic activi (carotenoide, polifenoli, aminoacizi și acizi grași) din subprodusele provenite din industria de prelucrare a tomatelor. Rezultatele acestui studiu ar permite dezvoltarea de noi alternative pentru reciclarea acestui produs secundar valoros.

4.2. Materiale și metode de analiză

Două eșantioane (100 kg) de subproduse industriale de tomate (amestec de coji și semințe) au fost prelevate de la Leader International S.A., o societate comercială de procesare a legumelor și fructelor din Caracal. La scurt timp după obținere, subprodusele au fost ambalate în saci de plastic, acestea fiind ulterior supuse congelării la -25 °C. Subprodusele de tomate au fost supuse uscării într-un uscător industrial automatizat cu aer fierbinte la 60 °C (Blue Spark Systems S.R.L., România). După uscare, materialul a fost mărunțit folosind o mașină de măcinat electrică, produsul rezultat fiind trecut printr-o sită cu orificii de 1 mm. Probele au fost analizate pentru a determina umiditatea, conținutul de proteină brută, grăsime brută și conținutul de fibre, conținutul total de compuși fenolici, flavonoide, licopen și β-caroten, precum și activitatea antioxidantă. Profilul fenolic, precum și profilul aminoacizilor și acizilor grași au fost determinate utilizând metode cromatografice. Conținutul de substanțe minerale a fost determinat prin spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv.

4.3. Rezultate și discuții

4.3.1. Compoziția chimică

Subprodusele de tomate deshidratate, constând în aproximativ 22,2% semințe și 77,8% resturi de celuloză și pielețe, au fost caracterizate din punct de vedere al conținutului de macronutrienți (proteine, grăsimi, fibre și cenușă), rezultatele fiind prezentate în Tabelul 4.1.

Tabel 4.1. Compoziția chimică generală a subproduselor de tomate deshidratate

Component (g/kg)	Subproduse de tomate (pielețe+semințe) deshidratate
Substanță uscată	946,5 ± 13,2
Proteine	176,2 ± 7,4
Lipide	21,9 ± 2,0
Fibre	524,4 ± 18,3
Cenușă	42,1 ± 3,6

4.3.2. Conținutul de aminoacizi

Rezultatele privind conținutul de aminoacizi din subprodusele de tomate deshidratate sunt prezentate în Tabelul 4.2. Acidul glutamic, un amino acid neesențial, a fost cel mai abundent în subprodusele de tomate deshidratate (72,1 g/kg). În acest studiu s-au determinat opt aminoacizi esențiali în subprodusele de tomate deshidratate, și anume leucină, izoleucină, lizină, metionină, fenilalanină, treonină, arginină și valină, reprezentând împreună 34,2% din total aminoacizi. Dintre aminoacizii esențiali, cel mai abundent a fost leucina (10,7 g/kg), urmată de lizină (8,85 g/kg) și izoleucină (6,87 g/kg), în timp ce conținutul de metionină a fost foarte scăzut (2,7 g/kg). Studiile anterioare au arătat că în cojile de tomate s-a determinat în general o cantitate mai mică de aminoacizi esențiali decât în semințe [9], ca urmare profilul aminoacidic al deșeurilor de tomate deshidratate va depinde de raportul coji / semințe din produsul secundar.

Tabelul 4.2. Conținutul de aminoacizi prezenți în subprodusele de tomate deshidratate (g/kg)

Aminoacizi	Subproduse de tomate deshidratate (pielețe+semințe)
Acid aspartic	15,7 ± 0,4
Acid glutamic	72,1 ± 3,2
Serină	1,7 ± 0,1
Glicină	6,3 ± 0,2
Treonină	5,5 ± 0,2
Arginină	14,6 ± 0,6
Alanină	7,1 ± 0,3
Tirozină	6,9 ± 0,4
Valină	5,4 ± 0,3
Fenilalanină	6,1 ± 0,4
Izoleucină	6,9 ± 0,2
Leucină	10,7 ± 0,4
Lizină	8,8 ± 0,3
Cistină	2,3 ± 0,1
Metionină	2,7 ± 0,2
Total aminoacizi	172,4 ± 6,7

4.3.3. Conținutul de acizi grași

Acizii grași au fost determinați în subprodusele de tomate deshidratate utilizând cromatografia în fază gazoasă, concentrațiile acestora fiind prezentate în Tabelul 4.3.

Rezultatele au arătat că acidul linoleic este majoritar (51,91% din totalul acizilor grași), acesta fiind urmat de acidul oleic (18,50%), în timp ce acidul palmitic a fost principalul acid saturat (16,32%). Acizii grași nesaturați reprezintă 77,04% din totalul acizilor grași în timp ce acizii saturați reprezintă 22,72%, ceea ce demonstrează dominația acizilor grași nesaturați în raport cu acizii grași saturați în subprodusele de tomate deshidratate. În alimentația umană, raportul mare al n-6:n-3 PUFA este cunoscut ca un factor de risc în incidența cancerului și bolilor coronariene [27]. Pentru subprodusele de tomate deshidratate acest raport a fost de 12,56:1, adică mai mic decât raportul 15:1 raportat de către Simopoulos (2002) [28] pentru dieta tipic occidentală, dar mai mare decât raportul 10:1 în dieta tipic americană [29].

Tabel 4.3. Profilul acizilor grași din subprodusele de tomate deshidratate (g de acid gras per 100 g total acizi grași).

Acizi grași		Subproduse de tomate deshidratate (piele+semințe)
Miristic	C 14:0	0,41 ± 0,02
Pentadecanoic	C 15:0	0,09 ± 0,03
Pentadecenoic	C 15:1	0,09 ± 0,02
Palmitic	C 16:0	16,32 ± 0,65
Palmitoleic	C 16:1	0,64 ± 0,03
Heptadecanoic	C 17:0	0,19 ± 0,01
Heptadecenoic	C 17:1	0,52 ± 0,02
Stearic	C 18:0	5,43 ± 0,34
Oleic cis	C 18:1	18,50 ± 0,83
cis-Linoleic	C 18:2n6	51,91 ± 1,91
γ-Linoleic	C 18:3n6	Nd
α-Linoleic	C 18:3n3	3,35 ± 0,24
Octadecatetraenoic	C18:4n3	0,48 ± 0,03
Eicosadienoic	C20(2n6)	0,15 ± 0,01
Eicosatrienoic	C20(3n6)	0,07 ± 0,01
Docosadienoic	C22(2n6)	0,39 ± 0,02
Docosatrienoic	C22(3n6)	0,55 ± 0,03
Docosatrienoic	C22(3n3)	0,13 ± 0,01
Eicosapentaenoic	C20(5n3)	0,26 ± 0,01
Lignoceric	C 24:0	0,29 ± 0,02
Alți acizi grași		0,22 ± 0,01
<i>Profilul acizilor grași</i>		
Acizi grași saturați (SFA)		22,72 ± 0,94
Acizi grași mononesaturați (MUFA)		19,75 ± 0,82
Acizi grași polinesaturați (PUFA)		57,29 ± 2,13
n-3		4,22 ± 0,28
n-6		53,07 ± 1,76
n-6/n-3		12,57 ± 0,48

4.3.4. Conținutul de substanțe minerale

Rezultatele analizei conținutului de substanțe minerale din subprodusele de tomate deshidratate sunt prezentate în Tabelul 4.4. Dintre macroelemente, potasiul s-a determinat în cea mai mare concentrație (30301,7 mg/kg), urmat de calciu (1318,5 mg/kg). Conținutul de sodiu al subprodusele tomate deshidratate este destul de mare, ceea ce limitează includerea acestora în dieta păsărilor [9].

Tabel 4.4. Conținutul de substanțe minerale din subprodusele de tomate deshidratate (mg/kg).

Substanțe minerale	Subproduse de tomate deshidratate (piele+semințe)
Calciu	1318,5 ± 43,3
Magneziu	2109,7 ± 67,8
Potasiu	30301,7 ± 588,1
Sodiu	665,5 ± 33,5
Fier	56,3 ± 6,4
Mangan	13,5 ± 2,2

Cupru	11,5 ± 2,6
Crom	3,5 ± 1,3
Zinc	63,3 ± 5,1
Bor	19,5 ± 3,2

4.3.5. Conținutul total de compuși fenolici, flavonoide, licopen, β-caroten și activitatea de captare a radicalilor liberi

Conținutul mediu total de compuși fenolici determinat în deșeurile de tomate a fost 1229,5 mg GAE/kg (Tabelul 4.5). O parte considerabilă din compușii fenolici este reprezentată de flavonoide (415,3 mg QE/kg). Rezultatul este în concordanță cu constatările anterioare care au indicat faptul că cojile de tomate conțin concentrații ridicate de flavonoli și în special quercetină și kampferol [30]. Subprodusele de tomate deshidratate au prezentat o activitate antioxidantă ridicată (6,8 mmol Trolox / kg) (Tabelul 4.6). Un studiu anterior, de asemenea a demonstrat efectul notabil al cojilor de tomate de captare a radicalilor liberi și au atribuit aceasta conținutului ridicat de licopen și compuși fenolici [31].

Tabel 4.5. Conținutul total de compuși fenolici, flavonoide, licopen, β-caroten și activitatea de captare a radicalilor liberi ale subproduselor de tomate deshidratate

Conținut	Subproduse de tomate deshidratate (piele+semințe)
Polifenoli totali (mg GAE/kg)	1229,5 ± 55,5
Flavonoide totale (mg QE/kg)	415,3 ± 18,2
Licopen (mg/kg)	510,6 ± 21,1
β-Caroten (mg/kg)	95,6 ± 3,3
Activitate antioxidantă (mmol Trolox/kg)	6,8 ± 0,2

În ceea ce privește profilul carotenoidic, subprodusele de tomate deshidratate au conținut cantități mari de licopen (105,38 mg/100 g), împreună cu β-caroten (9,50 mg/100 g) și luteină (3,57 mg/100 g) (Tabelul 4.6).

Tabelul 4.6. Conținutul de carotenoide din subprodusele de tomate deshidratate

Carotenoide	Subproduse de tomate deshidratate (piele+semințe)
Astaxantină (mg/kg)	0,076
Luteină (mg/kg)	3,57
Zeaxantină (mg/kg)	0,78
Cantaxantină (mg/kg)	0,27
Trans-apo-carotenal (mg/kg)	0,20
Licopen (mg/kg)	105,38
Beta caroten (mg/kg)	9,50

4.3.6. Conținutul de compuși fenolici

Cei mai abundenți acizi fenolici cuantificați în subprodusele de tomate deshidratate au fost acizii elagic (143,4 mg/kg) și clorogenic (76,3 mg/kg). Acizii fenolici determinați în

concentrații mai mici au fost acizii salicilic, galic, vanilic, coumaric și siringic. Dintre flavonoide au fost detectate și cuantificate numai rutina și miricetina (tabelul 4.7).

Tabelul 4.7. Conținutul de compuși fenolici în subprodusele de tomate deshidratate (mg/kg)

Compuși fenolici	Subproduse de tomate deshidratate (pielețe+semințe)
Acid galic	17,1 ± 0,6
Catechinhydrate	Nd*
Acid vanilic	26,9 ± 1,1
Acid clorogenic	76,3 ± 2,8
Acid cafeic	Nd
Acid siringic	2,2 ± 0,1
Epicatehină	Nd
Acid coumaric	11,4 ± 0,5
Acid sinapic	Nd
Acid salicilic	66,9 ± 2,7
Rutină	29,2 ± 1,1
Acid elagic	143,4 ± 5,9
Miricetină	63,7 ± 2,2
Acid trans-cinamic	Nd
Quercetină	Nd

*Nd - nedetectat

4.4. Concluzii parțiale

Rezultatele acestui studiu au demonstrat că subprodusele din tomate (coji și semințe) au o valoare nutritivă ridicată pe baza conținutului de aminoacizi esențiali, acizi grași și substanțe minerale, sugerând că acestea au o valoare substanțială ca hrană pentru animale. Cu toate acestea, conținutul lor extrem de ridicat de fibre limitează utilizarea lor în alimentația păsărilor de curte din cauza digestibilității și contribuției scăzute la energia metabolizabilă. Conținutul ridicat de carotenoide din deșeurile de tomate, provenit în principal din fracțiunea de coji, a condus la creșterea interesului pentru extracția de licopen și β -caroten, întrucât acestea sunt utilizate pe scară largă în calitate de coloranți alimentari, ingrediente alimentare funcționale sau ca suplimente alimentare, produse farmaceutice și produse cosmetice. Cu toate acestea, pentru a evita extracția licopenului care s-a dovedit a fi ineficientă și costisitoare, adăugarea directă a subproduselor de tomate deshidratate produselor alimentare ar putea fi o modalitate de utilizare a acestor deșeuri pentru a obține noi produse alimentare îmbogățite în compuși bioactivi. În afară de licopen, subprodusele rezultate la procesarea tomatelor sunt bogate în compuși fenolici cu activitate antioxidantă ridicată, care vor ajuta la creșterea funcționalității produselor alimentare în care au fost adăugate. O mai bună cunoaștere a compoziției acestor subproduse din industria de procesare a tomatelor ar putea conduce la transformarea lor în produse cu o valoare mai mare și la îmbunătățirea gestionării deșeurilor de tomate, astfel crescând performanța economică a procesării tomatelor și reducând problemele de eliminare a acestor deșeuri.

CAPITOLUL 5

VALOAREA NUTRITIVĂ ȘI CONȚINUTUL DE COMPUȘI BIOLOGIC ACTIVI ALE SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA CĂTINEI

5.1. Oportunitatea studiului

Fructele de cătină prezintă un interes sporit în ultimul timp datorită proprietăților nutraceutice și a conținutului ridicat de compuși antioxidanți. Sucul și pulpa de fructe de cătină sunt deseori utilizate ca alimente sau băuturi pentru că sunt foarte bogate în vitamine, carotenoide, flavonoide, tocoferoli și alți componenți cu potențial benefic pentru sănătate [32, 33]. Fructele de cătină au un conținut apreciabil de ulei care conține, printre altele, doi acizi grași esențiali, acidul linolenic (n-3) și linoleic (n-6). Conținutul ridicat de tocoferoli, tocotrienoli și carotenoide din ulei [34] conferă acestuia proprietăți antioxidante, demonstrate în numeroase studii efectuate pe oameni și *in vitro* [35].

Procesarea fructelor de cătină pentru extragerea sucului duce la o cantitate mare de subproduse, contând pentru 20% din greutatea totală a fructelor. Acestea sunt formate din pulpă, semințe și coji și sunt recunoscute ca fiind bogate în carotenoide, polifenoli, acizi grași și steroli [36, 37, 38]. Acest studiu a avut ca scop să evalueze proprietățile nutritive, bioactive și antioxidante ale șrotului uscat de cătină în vederea promovării consumului și utilizării în industria alimentară a acestui produs secundar care este o resursă extrem de valoroasă.

5.2. Materiale și metode de analiză

Mostrele de șrot de cătină (coji, semințe și pulpă reziduală) au fost colectate de la Biocat Prod S.R.L., un producător comercial și procesator de cătină din Grădina, județul Constanța. Imediat ce a fost obținut, produsul secundar a fost supus unei operații de uscare într-un uscător industrial automat cu flux de aer cald la 60°C (Blue Spark Systems S.R.L., Romania) iar materialul uscat a fost transformat în pulbere.

Probele au fost analizate pentru a determina umiditatea, conținutul de proteină brută, grăsime brută și conținutul de fibre, conținutul total de compuși fenolici, flavonoide, precum și activitatea antioxidantă. Profilul fenolic, profilul carotenoidic precum și profilul aminoacizilor și acizilor grași au fost determinate folosind metode cromatografice. Conținutul de substanțe minerale a fost determinat prin spectrometrie de absorbție atomică în cuptor de grafit.

5.3. Rezultate și discuții

5.3.1. Compoziția chimică

Una dintre caracteristicile principale ale fructelor de cătină este conținutul lor ridicat de grăsime (tabelul 5.1). Spre deosebire de alte fructe, fructele de cătină sintetizează și acumulează lipide în toate părțile fructului, și prin urmare este posibil să se obțină trei tipuri de uleiuri, în funcție de locul de extracție, adică pulpă, semințe sau coajă [39]. Totuși, dat fiind faptul că este dificil să se separe coaja de pulpă, în mod normal aceste două uleiuri nu sunt distincte și se numesc generic ulei din pulpă sau ulei din părțile moi.

Tabelul 5.1. Compoziția șrotului uscat de cătină

Component (g/kg)	Șrot uscat de cătină
Substanță uscată	926,6 ± 11,8
Proteină brută	148,9 ± 6,5
Grăsime brută	200,5 ± 5,3
Fibră brută	198,6 ± 8,9
Cenușă	18,4 ± 0,8

5.3.2. Conținutul de aminoacizi

Acidul glutamic a fost în cantitatea cea mai mare (23,7 g/kg) în șrotul uscat de cătină, urmat de acidul aspartic (17,2 g/kg) (tabelul 5.2). Aminoacizii esențiali au reprezentat 38,42% din conținutul total de aminoacizi, în cantitatea cea mai mare fiind leucina (11,6 g/kg) urmată de fenilalanină și lizină.

Tabelul 5.2. Conținutul de aminoacizi din șrotul de cătină (g/kg)

Aminoacizi	Șrot de cătină
Acid aspartic	17,2 ± 0,5
Acid glutamic	23,7 ± 1,1
Serină	8,5 ± 0,3
Glicină	5,1 ± 0,2
Treonină	5,2 ± 0,2
Arginină	13,1 ± 0,4
Alanină	6,8 ± 0,3
Tirozină	4,4 ± 0,2
Valină	6,4 ± 0,3
Fenilalanină	7,9 ± 0,3
Izoleucină	7,1 ± 0,2
Leucină	11,6 ± 0,3
Lizină	7,2 ± 0,2
Cistină	1,5 ± 0,1
Metionină	4,7 ± 0,2
Total aminoacizi	130,4 ± 4,8

5.3.3. Conținutul de acizi grași

Șrotul uscat de cătină a avut un raport scăzut între acizii grași polinesaturați n-6/n-3 (PUFA) de 1,42 și o concentrație mare de acizi grași monesaturați (MUFA) de 53,08% din conținutul total de acizi grași, ca rezultat al conținutului ridicat de acizi oleic și palmitic. Aceste rezultate sunt în acord cu datele puse la dispoziție de studiile anterioare [40]. Un aport crescut de acid palmitoleic în dietă are efecte de reducere a colesterolului și trigliceridelor, un raport îmbunătățit între colesterolul HDL și LDL și o inhibare a proceselor inflamatorii [41, 42].

5.3.4. Conținutul de substanțe minerale

Elementele minerale investigate în acest studiu au fost calciu, fier, mangan, cupru și zinc (Tabelul 5.4). Conținutul de calciu găsit în șrotul uscat de cătină (724 mg/kg) a fost mai mare decât cel raportat în studiile anterioare (40-100 mg/kg) în fructele proaspete [43]. În mod

similar, nivelurile de fier determinate (62,9 mg/kg), mangan (12,6 mg/kg) și zinc (22,3 mg/kg) au fost mai mari decât cele raportate anterior în fructele proaspete [44]. Totuși, rezultatele sunt în concordanță cu cele raportate de către Sabir et al. (2005) [45] care au găsit un conținut de calciu și fier de 700-1250 mg/kg și respectiv 40-225 mg/kg în fructele uscate.

Tabelul 5.3. Profilul acizilor grași din șrotul uscat de cătină (% din conținutul total de acizi grași)

<i>Profilul acizilor grași</i>	
Acizi grași saturați (SFA)	31,18 ± 1,40
Acizi grași nononesaturați (MUFA)	53,08 ± 2,08
Acizi grași polinesaturați (PUFA) dintre care:	15,70 ± 0,72
▪ n-3	6,48 ± 0,30
▪ n-6	9,22 ± 0,42
n-6/n-3	1,42 ± 0,12

Tabelul 5.4. Conținutul de substanțe minerale din șrotul uscat de cătină (mg/kg)

Substanțe minerale	Șrot uscat de cătină
Calciu	264,8 ± 15,6
Fier	62,9 ± 2,6
Mangan	12,6 ± 0,5
Cupru	8,3 ± 0,3
Zinc	22,3 ± 1,0

5.3.5. Conținutul total de compuși fenolici

Fructele de cătină sunt o sursă bogată de compuși fenolici. Grupurile majore de polifenoli identificate în fructe sunt flavonolii și taninurile condensate [37, 46], compuși care le conferă un potențial antioxidant foarte ridicat. Totuși, capacitatea antioxidantă a fructelor de cătină este atribuită acțiunii combinate a acidului ascorbic, polifenolilor (acizi fenolici și flavonoide) și carotenoidelor [47].

Tabelul 5.5. Conținutul total de compuși fenolici, flavonoide, carotenoide și activitatea de captare a radicalilor liberi (ABTS) a șrotului uscat de cătină

Component	Șrot uscat de cătină
Conținutul total de fenoli (mg GAE/kg)	2791,2 ± 26,6
Conținutul total de flavonoide (mg QE/kg)	482,5 ± 20,2
Conținutul total de carotenoide (mg/kg)	245,6 ± 11,5
Activitatea antioxidantă (mmol Trolox/kg)	82,96 ± 3,6

5.3.6. Conținutul de carotenoide

Figura 5.1 prezintă o cromatogramă HPLC la 450 nm a carotenoidelor din probele de șrot uscat de cătină. Pigmenții cei mai importanți au fost β-carotenu (80,76 mg/kg) și zeaxantina (69,60 mg/kg), dar au fost cuantificate și alte carotenoide prezente cum ar fi luteina, astaxantina, trans-β-apo-8'-carotenalul, cantaxantina și licopenul (Tabelul 5.6).

Tabelul 5.6. Conținutul de carotenoide din șrotul uscat de cătină (mg/kg)

Compuși fenolici	Șrot uscat de cătină
Astaxantină	4,78 ± 0,23
Luteină	6,96 ± 0,41
Zeaxantină	69,60 ± 1,56
Cantaxantină	1,36 ± 0,22
Trans-β-apo-8'-carotenal	2,36 ± 0,12
Licopen	0,91 ± 0,06
β-Caroten	80,76 ± 3,58
Total carotenoide	166,73 ± 6,18

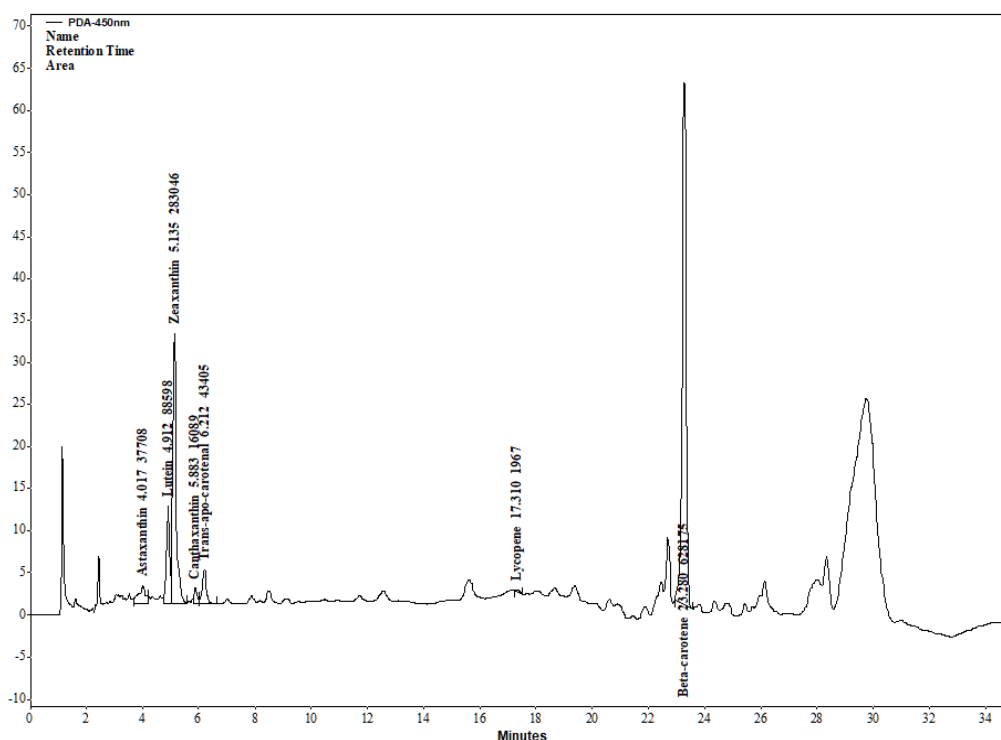


Figura 5.1. Cromatograma HPLC a carotenoidelor din probele de șrot uscat de cătină.

5.4. Concluzii parțiale

Rezultatele acestui studiu au demonstrat că șrotul de cătină are o valoare nutritivă ridicată dată de conținutul ridicat de grăsimi și proteine, aportului de aminoacizi esențiali (38,42% din conținutul total de aminoacizi) și profilului acizilor grași, caracterizat prin predominanța acizilor grași mononesaturați (53,08% din totalul acizilor grași), conținutului ridicat de acizi grași polinesaturați (15,70%), și de raportul scăzut între acizii grași n-6/n-3 (1,42). Aceste rezultate sugerează că șrotul de fructe de cătină poate fi un ingredient alimentar valoros sau poate fi utilizat ca supliment nutritiv alimentar. În plus, subprodusele din fructe de cătină conțin niveluri ridicate de compuși fenolici și carotenoide și au demonstrat o puternică activitate antioxidantă. Conținutul de compuși bioactivi face ca șrotul de fructe de cătină să poată fi folosit ca supliment alimentar funcțional și ca sursă de antioxidanți naturali în industria medicală și farmaceutică.

CAPITOLUL 6

EFECTELE CAROTENOIDELOR EXTRASE DIN REZIDUUL USCAT DE TOMATE ASUPRA STABILITĂȚII ȘI CARACTERISTICILOR UNOR ULEIURI VEGETALE

6.1. Oportunitatea studiului

În această lucrare s-au folosit mai multe tipuri de uleiuri vegetale ca solvent alternativ pentru a obține uleiuri îmbogățite în carotenoide destinate a fi folosite în diverse aplicații alimentare. Au fost efectuate studii comparative între macerare, extracția asistată de ultrasunete (UAE) și extracția asistată de microunde (MAE) în ce privește eficacitatea extracției de carotenoide din reziduuri de la procesarea tomatelor, culoarea și stabilitatea oxidativă a uleiurilor rezultate în urma acestei extracții.

6.2. Materiale și metode de analiză

Reziduu uscat de tomate, conținând coaja și semințele tomatelor coapte, s-a obținut de la Elio Monte Verde, o unitate de procesare a tomatelor din Caracal, România. 20 de kilograme de reziduu de tomate au fost colectate, uscate cu aer la 60°C și măcinat sub formă de pulbere.

S-au efectuat trei experimente pentru a investiga influența tipului de ulei, a metodei de extracție și a concentrației de reziduu uscat de tomate asupra extracției carotenoidelor și a stabilității oxidative a uleiurilor comestibile îmbogățite cu carotenoide extrase din produse secundare din tomate. În primul experiment, probele uscate și măcinate de reziduu de tomate au fost supuse extracției asistate de ultrasunete la o concentrație de 5% (masă / volum) în ulei de floarea soarelui extra virgin, ulei de porumb nerafinat, ulei rafinat de semințe de rapiță, ulei de măsline extra virgin, ulei din turte de măsline, ulei de soia, ulei rafinat de floarea soarelui, ulei de arahide, ulei de orez și ulei din sâmburi de struguri la 20°C timp de 50 de minute.

Cel de-al doilea experiment a avut ca obiectiv evaluarea influenței metodei de extracție. Probe de reziduu (5 g) au fost supuse fiecărei proceduri de extracție: (a) extracție asistată de ultrasunete în 100 ml de ulei la 20°C timp de 50 de minute; (b) extracție asistată de microunde în 100 ml de ulei timp de 5 minute; (c) macerare la 20°C în 100 ml de ulei timp de 7 zile. În acest experiment s-au folosit următoarele uleiuri: ulei extra virgin de floarea soarelui, ulei nerafinat de porumb și ulei rafinat din semințe de rapiță.

În cel de-al treilea experiment, probele de reziduu uscat și măcinat de tomate au fost extrase în ulei extra virgin de floarea soarelui, ulei nerafinat de porumb și ulei rafinat de rapiță la diferite concentrații (2,5, 5, 10 și 20% masă/volum) și supuse extracției asistate de ultrasunete la 20°C timp de 50 de minute. Fiecare experiment s-a efectuat de trei ori.

Toate extracțiile au fost urmate de filtrare prin hârtie de filtru Whatman Nr. 1 iar uleiul rezultat a fost colectat în containere de plastic negru cu capac filetat umplute complet și depozitate la 4°C până când au fost analizate. Uleiurile achiziționate din comerț dar neîmbogățite cu antioxidanți au fost depozitate în aceleași condiții ca și cele îmbogățite pentru a fi folosite ca probe martor în cadrul testelor.

Atât la uleiurile martor cât și la cele rezultate în urma extracției s-au determinat conținutul total de carotenoide prin cromatografie lichidă de înaltă performanță, indicele de peroxid după oxidare accelerată cu ultraviolete, capacitatea de captare a radicalilor liberi prin metoda DPPH, susceptibilitatea la oxidare prin metoda Rancimat și culoarea prin parametri de

culoare CIELab. De asemenea, uleiurile au fost supuse analizei termice prin înregistrarea simultană a variației de greutate (TG) și coeficientului de variație al acesteia (DTG) precum și a diferenței între fluxul de căldură al probei și cel al materialului de referință. Curbele termo-analitice au fost înregistrate în funcție de temperatură. Stabilitatea termică s-a măsurat de la temperatura de pornire extrapolată a primei etape de descompunere termică din curbele TG respective. Căldura de combustie a fost estimată ca aria totală a vârfurilor exotermice DSC ale descompunerii termice a fiecărui ulei care apare în timpul analizei.

6.3. Rezultate și discuții

6.3.1. *Extracția carotenoidelor din subprodusele uscate de tomate*

Creșterea conținutului de carotenoide după extracția a 5% reziduu de tomate deshidratat a fost cuprinsă între 29,2, mg/kg și 38,0 mg/kg, reflectând solubilitatea carotenoidelor în aceste uleiuri (Tabelul 6.1). Solubilitatea cea mai mare s-a înregistrat în uleiul de măsline extravirgin, urmat de uleiul de orez. Deși au o compoziție similară în acizi grași, s-a observat o diferență semnificativă a solubilității carotenoidelor în uleiul de turte de măsline și uleiul extravirgin de măsline, probabil datorită influenței celorlalți compuși ai acestor uleiuri. Benakmoum et al. (2008) [48] au raportat că solubilitatea carotenoidelor în uleiuri crește odată cu scăderea lungimii lanțului acizilor grași ai trigliceridelor în timp ce gradul de nesaturare al acizilor grași nu a avut nici o influență asupra solubilității carotenoidelor.

Conținutul de carotenoide din uleiuri a crescut semnificativ prin creșterea cantității de reziduu uscat de tomate încorporat. Mai mult, s-a descoperit o dependență liniară între conținutul de carotenoide din uleiul îmbogățit și cantitatea de reziduu extrasă, cu coeficienți de determinare R^2 de 0,995, 0,989 și 0,999 pentru uleiul extravirgin de floarea soarelui, uleiul nerafinat de porumb și respectiv uleiul rafinat de rapiță.

Metoda de extracție a influențat semnificativ cantitatea de carotenoide extrasă în ulei (Tabelul 6.2). Pentru toate aceste trei uleiuri, cantitatea cea mai mare de carotenoizi a fost extrasă prin macerare timp de 7 zile, urmată de extracție asistată de ultrasunete și extracție asistată de microunde. Totuși, UAE și MAE necesită mai puțin timp, asigurând o extracție bună la un cost redus.

6.3.2. *Influența carotenoidelor extrase din reziduu uscat de tomate asupra stabilității oxidative a uleiurilor*

Extracția carotenoidelor din reziduu uscat de tomate a dus la o schimbare semnificativă dar contradictorie în valorile indicilor de peroxid. În timp ce uleiul rafinat de rapiță, uleiul extravirgin de măsline, uleiul de boabe de soia și cel de sămburi de struguri au prezentat o creștere semnificativă a valorilor indicilor lor de peroxid după extracția asistată de ultrasunete a 5% reziduu de tomate, au fost determinate scăderi semnificative ale indicelui de peroxid pentru uleiul extravirgin de floarea soarelui, uleiul nerafinat de porumb, uleiul rafinat de floarea soarelui și uleiul de arahide. Conform unor studii anterioare, aceste schimbări contradictorii în valorile indicelui de peroxid pot fi atribuite comportamentului antioxidant sau pro-oxidant al carotenoidelor care apar în anumite condiții. Carotenoidele pot crește formarea de hidroperoxid la trigliceridele care se autooxidează, această activitate pro-oxidantă a carotenoidelor fiind legată de concentrația de oxigen, structura chimică a carotenoizdelor și de prezența altor antioxidanți cum ar fi polifenoli și tocoferoli [49, 50], compuși care sunt extrași împreună cu carotenoidele din reziduu de tomate.

Uleiul extra virgin de floarea soarelui, uleiul nerafinat de porumb și uleiul rafinat de rapiță îmbogățite cu carotenoide prin extracție asistată de ultrasunete sau prin macerare a 5% reziduu de tomate deshidratat au prezentat valori ale indicelui de peroxid mai mici decât cele ale uleiurilor martor. O valoare mult mai mare a indicelui de peroxid (de 2 până la de 8,7 ori mai mare) a fost determinată în uleiurile îmbogățite cu carotenoide prin extracție asistată de microunde din reziduu uscat de tomate. Aceste rezultate au fost de așteptat pentru că este bine cunoscut faptul că încălzirea cu microunde accelerează oxidarea lipidelor. Cea mai mare valoare a indicelui de peroxid a fost înregistrată pentru uleiul extra virgin de floarea soarelui îmbogățit cu carotenoide prin extracție asistată de microunde din reziduu de tomate, fapt care este în concordanță cu nivelul cel mai mare al acizilor grași polinesaturați din acest ulei față de celelalte uleiuri investigate. În cazul celor mai multe uleiuri, extracția din reziduu uscat de tomate a dus la o ușoară dar semnificativă scădere a activității de captare a radicalilor liberi a uleiurilor, sugerând din nou că acei compuși extrași ar putea poseda o activitate pro-oxidantă.

6.3.3. Influența carotenoidelor extrase din reziduu uscat de tomate asupra perioadei de inducție a uleiurilor

Tabelul 6.1 prezintă modificarea perioadei de inducție a uleiurilor după extracția reziduuului uscat de tomate. Uleiurile de măsline au prezentat o perioadă mai lungă de inducție, în concordanță cu rezultatele studiilor anterioare și datorată până la un punct prezenței α -tocoferolului și compușilor fenolici [51]. Determinarea perioadei de inducție a arătat că extracția carotenoidelor din reziduu uscat de tomate crește stabilitatea anumitor uleiuri (uleiul nerafinat de porumb, uleiul rafinat de floarea soarelui și de arahide). În aceste cazuri, perioadele de inducție ale uleiurilor de extracție par să fie semnificativ mai mari decât cele ale uleiurilor martor. Totuși, la majoritatea uleiurilor investigate stabilitatea uleiului scade după extracția carotenoidelor din reziduu uscat de tomate sau nu au fost înregistrate diferențe semnificative între perioada de inducție a uleiurilor martor și a celor îmbogățite cu carotenoide.

6.3.4. Analiza termică

Figura 6.3 prezintă curbele TG, DTG și DSC ale uleiului extravirgin de floarea soarelui în timp ce Figura 6.4 prezintă curbele termo-analitice ale uleiului extra virgin de floarea soarelui îmbogățit cu carotenoide după extracția reziduuului uscat de tomate.

Analiza comparativă a curbelor termogravimetrice arată că uleiul de floarea soarelui a fost stabil termic până la 206°C, în timp ce uleiul îmbogățit în carotenoide după extracția reziduuului uscat de tomate a fost stabil termic doar până la 177°C. Până la 250°C uleiul de floarea soarelui îmbogățit cu carotenoide a pierdut 7,0% din masa sa inițială în timp ce uleiul martor a pierdut numai 1,4% din masa sa (Figura 6.5). Primul pas a fost pierderea exotermică a compușilor volatili cu masă moleculară mică, pentru uleiul martor de floarea soarelui procesul de devolatilizare a început la 182,0°C în timp ce pentru uleiul îmbogățit acest proces a început la 165,0°C.

Căldura eliberată în fiecare etapă de descompunere/combustie depinde de ulei. Astfel, în faza de devolatilizare, variația entalpiei a fost $\Delta H = -3214$ J/g pentru uleiul de floarea soarelui și $\Delta H = -5723$ J/g pentru uleiul de floarea soarelui îmbogățit cu carotenoide. Pentru ambele uleiuri, procesul de devolatilizare a prezentat două vârfuri corespunzătoare pentru două produse majore de descompunere, la 325,6°C și 353,0°C pentru uleiul de floarea soarelui martor și la 277,7°C și 340,0°C pentru uleiul îmbogățit în carotenoide.

Tabelul 6.1. Conținutul total de carotenoide, activitatea de captare a radicalilor liberi, factorul de protecție Rancimat, indicele de peroxid și indicii CIELab ai uleiurilor înainte și după extracția asistată de ultrasunete a 5% reziduu de tomate*

	Conținut total de carotenoizi (mg/kg)	Activitatea de captare a radicalilor liberi	Factorul de protecție Rancimat	Indice de peroxid (meq/kg)	L*	a*	b*
Ulei extra virgin de floarea soarelui	1.6 ± 0.1 ^a	9.3 ± 0.3 ^b	-	183.0 ± 11.3 ^b	74.9 ± 0.2 ^a	0.0 ± 0.0 ^a	14.9 ± 0.2 ^b
Ulei extra virgin de floarea soarelui, 5% reziduu de tomate	34.8 ± 1.6 ^b	7.0 ± 0.2 ^a	0.94 ± 0.1	31.3 ± 1.6 ^a	77.3 ± 0.4 ^b	0.8 ± 0.0 ^b	5.5 ± 0.3 ^a
Ulei nerafinat de porumb	6.1 ± 0.4 ^a	6.5 ± 0.3 ^b	-	51.5 ± 2.8 ^b	73.7 ± 0.3 ^a	5.5 ± 0.1 ^a	72.2 ± 0.5 ^b
Ulei nerafinat de porumb, 5% reziduu de tomate	38.4 ± 1.8 ^b	5.3 ± 0.2 ^a	1.25 ± 0.0	33.50 ± 1.8 ^a	76.1 ± 0.8 ^b	9.4 ± 0.4 ^b	69.8 ± 1.2 ^a
Ulei rafinat de rapiță	nd ^a	1.4 ± 0.1 ^a	-	33.7 ± 1.1 ^a	76.9 ± 0.2 ^a	0.0 ± 0.0 ^a	3.9 ± 0.2 ^b
Ulei rafinat de rapiță, 5% reziduu de tomate	35.4 ± 0.9 ^b	1.7 ± 0.1 ^b	0.88 ± 0.0	163.8 ± 9.6 ^b	78.0 ± 0.6 ^b	0.8 ± 0.0 ^b	1.6 ± 0.1 ^a
Ulei extra virgin de măsline	2.1 ± 0.1 ^a	18.9 ± 0.8 ^b	-	26.5 ± 1.5 ^a	72.2 ± 0.3 ^a	7.8 ± 0.1 ^b	58.8 ± 0.9 ^b
Ulei extra virgin de măsline, 5% reziduu de tomate	40.1 ± 2.2 ^b	9.4 ± 0.5 ^a	0.82 ± 0.0	78.0 ± 3.5 ^b	73.7 ± 0.8 ^b	5.5 ± 0.3 ^a	30.6 ± 1.1 ^a
Ulei de turte de măsline	nd ^a	1.2 ± 0.1 ^a	-	6.9 ± 2.9 ^a	76.1 ± 0.2 ^a	1.6 ± 0.1 ^a	7.8 ± 0.2 ^b
Ulei de turte de măsline, 5% reziduu de tomate	29.2 ± 1.3 ^b	1.0 ± 0.1 ^a	0.87 ± 0.0	14.0 ± 5.9 ^b	76.1 ± 0.6 ^a	2.4 ± 0.2 ^b	5.5 ± 0.4 ^a
Ulei de boabe de soia	3.3 ± 0.3 ^a	1.1 ± 0.1 ^b	-	38.6 ± 1.8 ^a	76.1 ± 0.2 ^a	0.0 ± 0.2 ^a	8.6 ± 0.1 ^b
Ulei de boabe de soia, 5% reziduu de tomate	39.8 ± 1.8 ^b	0.6 ± 0.0 ^a	1.01 ± 0.1	258.4 ± 11.6 ^b	78.0 ± 0.4 ^b	0.6 ± 0.2 ^b	0.1 ± 0.1 ^a
Ulei rafinat de floarea soarelui	nd ^a	0.8 ± 0.0 ^a	-	96.1 ± 5.1 ^b	75.7 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	6.3 ± 0.1 ^b
Ulei rafinat de floarea soarelui, 5% reziduu de tomate	34.8 ± 1.5 ^b	0.7 ± 0.1 ^a	1.19 ± 0.0	35.9 ± 1.9 ^a	78.8 ± 0.3 ^b	0.9 ± 0.1 ^b	0.0 ± 0.1 ^a
Ulei de arahide	nd ^a	0.5 ± 0.0 ^a	-	28.6 ± 16.3 ^b	73.3 ± 0.2 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	25.1 ± 0.2 ^b
Ulei de arahide, 5% reziduu de tomate	36.4 ± 1.4 ^b	1.1 ± 0.1 ^b	3.15 ± 0.1	3.9 ± 0.2 ^a	78.4 ± 0.5 ^b	0.6 ± 0.1 ^b	0.8 ± 0.1 ^a
Ulei de orez	nd ^a	0.3 ± 0.0 ^a	-	5.9 ± 0.4 ^a	75.3 ± 0.2 ^a	0.0 ± 0.1 ^a	11.8 ± 0.1 ^b
Ulei de orez, 5% reziduu de tomate	37.6 ± 2.1 ^b	0.3 ± 0.0 ^a	1.17 ± 0.1	16.3 ± 0.9 ^b	78.0 ± 0.6 ^b	0.8 ± 0.1 ^b	1.6 ± 0.1 ^a
Ulei de sâmburi de struguri	16.7 ± 0.5 ^a	0.5 ± 0.0 ^b	-	17.8 ± 0.7 ^a	75.3 ± 0.3 ^a	0.0 ± 0.1 ^a	11.0 ± 0.2 ^b
Ulei de sâmburi de struguri, 5% reziduu de tomate	50.6 ± 2.8 ^b	0.1 ± 0.0 ^a	0.91 ± 0.1	151.7 ± 7.7 ^b	77.3 ± 0.5 ^b	0.8 ± 0.1 ^b	0.8 ± 0.1 ^a

* Datele însoțite de litere diferite la exponent pentru același tip de ulei sunt semnificativ diferite (p<0,05)

Tabelul 6.2. Conținutul total de carotenoide, activitatea de captare a radicalilor liberi, factorul de protecție Rancimat, indicele de peroxid și indicii CIELab ai uleiurilor înainte și după extracția asistată de ultrasunete a 5% reziduu de tomate: influența metodei de extracție*

	Conținut total de carotenoizi (mg/kg)	Activitatea de captare a radicalilor liberi (%)	Factorul de protecție Rancimat	Indice de peroxid (meq/kg)	L*	a*	b*
Ulei extra virgin de floarea soarelui							
Martor	1.6 ± 0.1 ^a	9.3 ± 0.3 ^d	-	183.00 ± 11.3 ^b	74.9 ± 0.2 ^a	0 ± 0.0 ^a	14.9 ± 0.2 ^b
Extracție asistată de microunde	32.2 ± 1.3 ^b	8.2 ± 0.3 ^c	0.88 ± 0.1 ^a	363.90 ± 16.5 ^c	75.7 ± 0.6 ^{ab}	1.6 ± 0.1 ^c	22.0 ± 0.6 ^d
Extracție asistată de ultrasunete	34.8 ± 1.6 ^c	7.0 ± 0.2 ^b	0.94 ± 0.1 ^a	31.30 ± 1.6 ^a	77.3 ± 0.4 ^c	0.8 ± 0.0 ^b	5.5 ± 0.3 ^a
Macerare timp de 7 zile	40.2 ± 1.8 ^d	5.3 ± 0.2 ^a	0.97 ± 0.1 ^a	32.20 ± 1.8 ^a	76.5 ± 0.8 ^{bc}	0.8 ± 0.1 ^b	16.5 ± 0.4 ^c
Ulei nerafinat de porumb							
Martor	6.1 ± 0.4 ^a	6.5 ± 0.3 ^b	-	51.50 ± 2.8 ^b	73.7 ± 0.3 ^a	5.5 ± 0.1 ^a	72.2 ± 0.5 ^c
Extracție asistată de microunde	35.2 ± 1.6 ^b	5.2 ± 0.3 ^a	1.35 ± 0.1 ^b	215.60 ± 12.3 ^c	76.1 ± 0.5 ^b	7.8 ± 0.2 ^b	54.9 ± 0.6 ^a
Extracție asistată de ultrasunete	38.4 ± 1.8 ^c	5.3 ± 0.2 ^a	1.25 ± 0.0 ^a	33.50 ± 1.8 ^a	76.1 ± 0.8 ^b	9.4 ± 0.4 ^c	69.8 ± 1.2 ^b
Macerare timp de 7 zile	40.9 ± 1.5 ^c	5.0 ± 0.3 ^a	1.43 ± 0.1 ^b	36.70 ± 1.8 ^a	76.5 ± 0.5 ^b	7.8 ± 0.3 ^b	73.7 ± 0.8 ^c
Ulei rafinat de rapiță							
Martor	nd ^a	1.4 ± 0.1 ^a	-	33.70 ± 1.1 ^a	76.9 ± 0.2 ^a	0.0 ± 0.0 ^a	3.9 ± 0.2 ^b
Extracție asistată de microunde	32.3 ± 1.1 ^b	1.4 ± 0.2 ^a	0.88 ± 0.1 ^a	294.50 ± 15.9 ^c	77.6 ± 0.4 ^{ab}	0.4 ± 0.1 ^b	18.0 ± 0.9 ^d
Extracție asistată de ultrasunete	35.4 ± 0.9 ^c	1.7 ± 0.1 ^b	0.88 ± 0.0 ^a	63.80 ± 3.6 ^b	78.0 ± 0.6 ^b	0.8 ± 0.0 ^c	1.6 ± 0.1 ^a
Macerare timp de 7 zile	37.6 ± 1.7 ^d	1.4 ± 0.1 ^a	0.87 ± 0.0 ^a	25.30 ± 1.1 ^a	77.6 ± 0.8 ^{ab}	0.8 ± 0.1 ^c	8.6 ± 0.5 ^c

* Datele însoțite de litere diferite la exponent pentru același tip de ulei sunt semnificativ diferite (p<0,05)

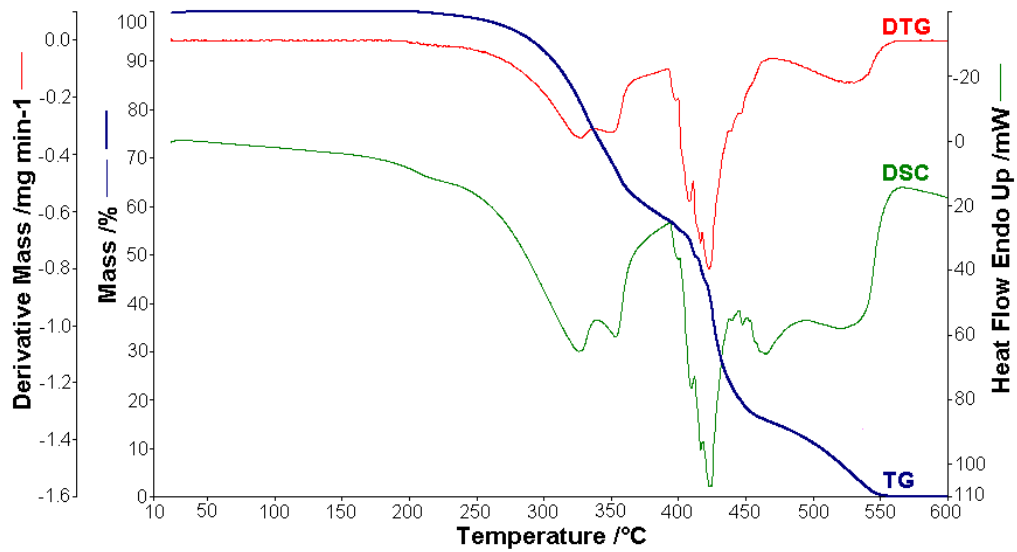


Figura 6.3. Curbele termoanalitice (TG, DTG și DSC) ale uleiului de floarea soarelui proba martor.

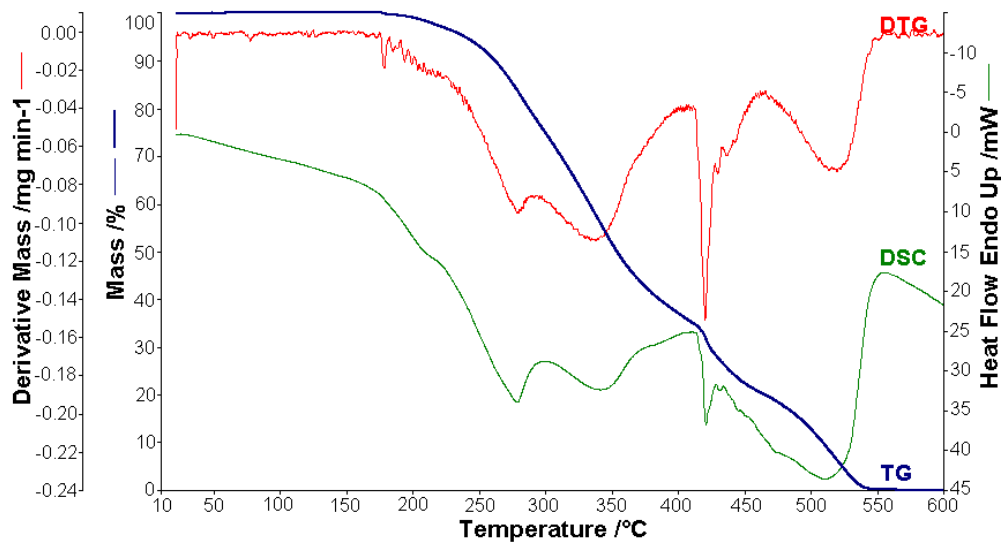


Figura 6.4. Curbele termoanalitice (TG, DTG and DSC) ale uleiului de floarea soarelui îmbogățit cu carotenoide după extracția din reziduu uscat de tomate.

De asemenea, s-au înregistrat diferențe și în faza de descompunere a compușilor de rezinificare (care apare după prima etapă de descompunere), când efectele exotermice sunt $\Delta H = -6153$ J/g pentru uleiul de floarea soarelui și $\Delta H = -5937$ J/g pentru uleiul îmbogățit cu carotenoide, deși vârfurile sunt atinse la valori similare ale temperaturii (423°C și respectiv 421°C). Extracția compușilor din reziduu de tomate în ulei a dus la o scădere a temperaturii de inițiere a oxidării de la 263,72°C la 221,04°C.

Aceste rezultate sunt bine corelate cu cele obținute prin metoda Rancimat, sugerând încă o dată că acei compuși extrași din reziduu uscat de tomate, inclusiv carotenoide, exercită un efect pro-oxidant și provoacă o scădere a stabilității termice oxidative a uleiului extra virgin de floarea soarelui.

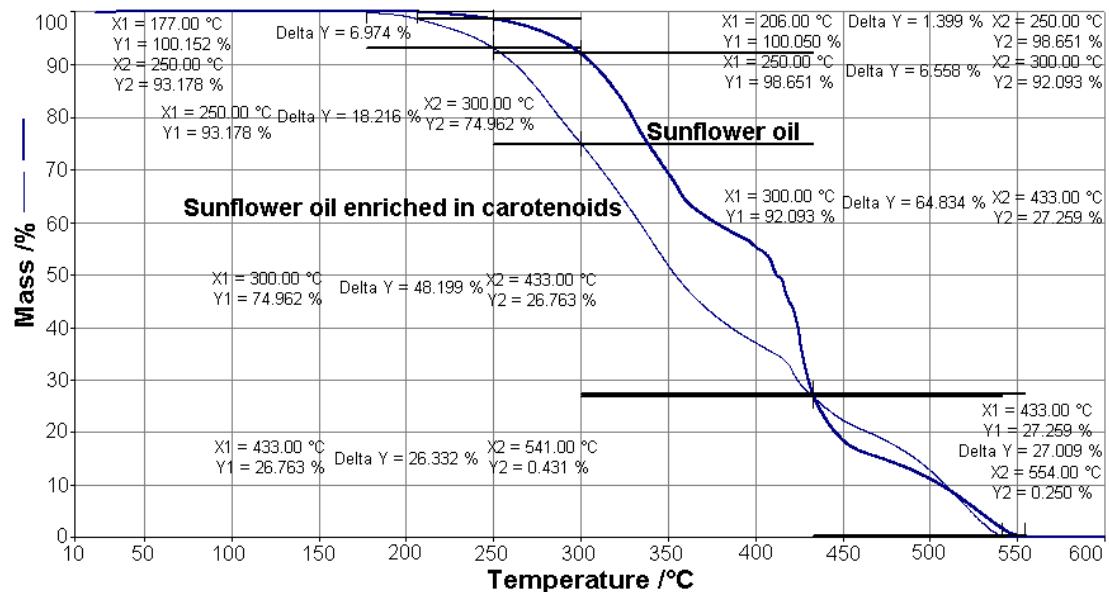


Figura 6.5. Curbele TG ale uleiurilor de floarea soarelui: uleiul martor și uleiul îmbogățit cu carotenoide după extracția din reziduul uscat de tomate.

6.3.4. Schimbarea culorii uleiurilor după extracție

Tabelele 6.2-6.3 prezintă nivelurile indicilor CIELab (L^* , a^* , b^*) pentru uleiurile obținute în urma fiecărui experiment. Extracția din reziduul uscat de tomate influențează semnificativ parametrii culorii uleiurilor ($p < 0,05$). Luminozitatea (L^*) a variat de la 72,2 până la 78,8 în prezentul studiu. Valorile L au crescut prin creșterea concentrației de reziduu uscat de tomate până la 5% și după aceea au scăzut, prin urmare extracția unor concentrații mai mari duce la înnegrirea uleiurilor. Valorile a^* au crescut în timp ce valorile b^* au scăzut după extracția din reziduul uscat de tomate, schimbări care pot fi atribuite extracției carotenoidelor în uleiuri, predominant fiind licopenul roșu.

6.4. Concluzii parțiale

Extracția din reziduul uscat de tomate a îmbunătățit stabilitatea termică și oxidativă a unora dintre uleiuri, în timp ce altora le-a cauzat o creștere a indicelui de peroxid și o scădere a timpului de inducție așa cum s-a determinat prin metoda Rancimat. În cele mai multe uleiuri extracția a dus la o scădere mică dar semnificativă a activității de captare a radicalilor liberi.

În cazul uleiului extra virgin de floarea soarelui, extracția din reziduu uscat de tomate a dus la o scădere a temperaturii de inițiere a oxidării de la 263,72°C la 221,04°C așa cum s-a determinat prin analiza cu calorimetrie cu scanare diferențială (DSC). Pentru aceste uleiuri, rezultatele obținute folosind metodele Rancimat și DSC par să fie consistente, arătând efectele pro-oxidative ale compușilor extrași din reziduul uscat de tomate.

Extracția din reziduu uscat de tomate în ulei vegetal poate duce la obținerea unui ulei funcțional colorat care ar putea fi folosit în industria alimentară fără să fie nevoie de folosirea unor solvenți organici dăunători. Acest ulei poate fi o potențială sursă de compuși bioactivi și poate avea o activitate antioxidantă semnificativă atunci când este ingerat ca parte a unei diete alimentare.

CAPITOLUL 7

ÎMBOGĂȚIREA ULEIURILOR VEGETALE CU CAROTENOIDE EXTRASE DIN PRODUSELE SECUNDARE REZULTATE ÎN URMA PROCESĂRII CĂTINEI ALBE (*Hippophae rhamnoides ssp. sinensis*)

7.1. Oportunitatea studiului

În acest studiu, produsele secundare de la procesarea fructelor de cătină au fost folosite ca sursă de carotenoide naturale pentru îmbogățirea uleiurilor vegetale. Pentru extracția carotenoidelor direct în uleiuri au fost folosite macerarea și extracția cu ultrasunete. În produsul secundar uscat au fost evaluate conținutul total de fenoli, conținutul total de carotenoide, profilul carotenoidic și activitatea antioxidantă. Uleiurile rezultate au fost analizate pentru a se determina conținutul total de carotenoide, activitatea antioxidantă ABTS și culoarea. Stabilitatea oxidativă a uleiurilor a fost determinată folosind metoda accelerată cu UV cu determinarea indicelui de peroxid, în timp ce stabilitatea termică a fost determinată prin analiză termogravimetrică (TGA) și calorimetrie diferențială (DSC).

7.2. Materiale și metode de analiză

Produsele secundare rezultate de la procesarea fructelor de cătină au fost obținute de la Biocat Prod S.R.L., un producător și procesator de fructe de cătină din localitatea Grădina, județul Constanța, localizat în sud-estul României (44°33'N, 28°26'E). Produsele secundare au fost deshidratate într-un uscător industrial (Blue Spark Systems S.R.L., Romania) la 60°C, și apoi măcinate. Probele de produse secundare de cătină sub formă de pulbere (SBP) au fost supuse extracției asistate de ultrasunete și macerării în ulei extravirgin de floarea soarelui (EVS), ulei extravirgin de măsline (EVO) și în ulei rafinat de floarea soarelui (RS) la diferite concentrații (2,5, 5 și 10% w/v). Atât la uleiurile îmbogățite cât și la cele martor s-au determinat conținutul total de carotenoide, indicele de peroxid, activitatea antioxidantă ABTS și parametrii de culoare CIELab. De asemenea, s-a analizat comportarea termică a uleiurilor folosind un analizor termic orizontal DIAMOND TG / DTA, în curent de aer dinamic (150 cm³/min), în regim liniar neizotermic la o viteză constantă de încălzire de 10 K/min.

Au fost înregistrate simultan modificările de masă determinate prin analiza termogravimetrică (curba TG), viteza de schimbare a acesteia prin analiza termogravimetrică derivativă (curba DTG), diferența de temperatură dintre eșantion și materialul de referință (DTA), precum și diferența în schimbarea fluxului de căldură între eșantion și materialul de referință (DSC). Stabilitatea termică a fost evaluată pe baza temperaturii inițiale extrapolate a primei etape de descompunere termică din curbele TG.

7.3. Rezultate și discuții

7.3.1. Conținutul de carotenoide în produsele secundare de la procesarea cătinei

Conținutul total de carotenoide din subproduse de la procesarea cătinei deshidratate a fost de 24,56 ± 1,55 mg/100 g, determinat prin metoda spectrofotometrică în timp ce conținutul total de carotenoide determinat prin HPLC a fost de numai 16,67 mg/100 g. Zeaxantina și β-carotenul au fost principalele carotenoide identificate în produsele secundare de cătină (6,96 mg/100 g și respectiv 8,7 mg/100 g).

7.3.2. Conținutul total de carotenoide în uleiuri

Dintre cele trei uleiuri, uleiul extravirgin de măsline a avut cel mai mare conținut de carotenoide (21,5 mg/kg), urmat de uleiul extravirgin de floarea soarelui (6,3 mg/kg) și de uleiul rafinat de floarea soarelui (4,8 mg/kg) (Tabelul 7.2). După 50 de minute de extracție cu ultrasunete (UAE) a 10% produse secundare de cătină deshidratate, conținutul total de carotenoide în uleiuri a variat între 137,83 mg/100 g (RS) și 157,84 mg/kg (EVO). UAE a dus la o recuperare semnificativ mai mare a carotenoidelor din produsele secundare de cătină deshidratate în raport cu macerarea. Conținutul total de carotenoide din EVO a fost mai mare cu 29% după 50 de minute de UAE decât după 10 zile de macerare, în timp ce în cazul uleiurilor de floarea soarelui, a existat o creștere între 9,4% și 33,3%.

7.3.3. Activitatea antioxidantă

Uleiul extravirgin de măsline a prezentat cea mai mare activitate antiradicalică, de 5,55 mmol Trolox/kg, față de 4,47 mmol Trolox/kg și 4,16 mmol Trolox/kg pentru uleiul extravirgin de floarea soarelui și respectiv uleiul rafinat de floarea soarelui (Tabelul 7.2). Îmbogățirea în carotenoide a determinat creșterea activității antioxidante ABTS iar creșterea cea mai semnificativă a fost la extracția a 10% SPB.

7.3.4. Indicele de peroxid

După iradierea cu UV, valoarea cea mai mare a indicelui de peroxid a fost găsită la uleiul extravirgin de floarea soarelui, în timp ce cea mai mică valoare a fost determinată la uleiul extravirgin de măsline. Deși uleiul de floarea soarelui este bogat în tocoferoli, acesta este aproape lipsit de compuși fenolici, în timp ce uleiul de măsline conține atât tocoferoli cât și compuși fenolici ca antioxidanți [17]. Extracția SBP în ulei extravirgin de măsline a determinat o ușoară scădere a indicelui de peroxid, dar diferențele au fost semnificative ($P < 0,05$) numai la extracția a 10% SPB. Uleiul rafinat de floarea soarelui a fost mai stabil la oxidarea accelerată cu UV față de uleiul extravirgin de floarea soarelui. În uleiul extravirgin de floarea soarelui extracția SBP a determinat în general o creștere a valorii indicelui de peroxid, dar diferențele nu au fost semnificative. Totuși, îmbogățirea uleiului rafinat cu carotenoide prin extracția din SBP a determinat o creștere semnificativă a indicelui de peroxid. Studii anterioare au atribuit aceste schimbări contradictorii ale indicelui de peroxid comportamentului oxidant sau pro-oxidant al carotenoidelor care poate să apară în anumite condiții [50].

7.3.5. Analiza termică și studiul calorimetric

Stabilitatea termică și comportamentul la degradarea termică a uleiurilor îmbogățite cu carotenoide prin extracția a 5% SBP (ulei de floarea-soarelui rafinat, ulei de floarea-soarelui presat la rece și ulei de măsline extravirgin) au fost investigate simultan utilizând un program de încălzire neliniar în atmosferă controlată. În scopuri comparative, în aceleași condiții experimentale au fost investigate termic și uleiurile martor, precum și pudra de subproduse de cătină. În figura 7.2 sunt prezentate curbele TG, DTG și DSC corespunzătoare analizei termice a uleiului rafinat de floarea-soarelui (denumit "martor") în timp ce curbele pentru uleiul de floarea-soarelui îmbogățit cu carotenoide din subproduse de cătină sunt prezentate în Figura 7.3. Pentru a înțelege mai bine influența carotenoidelor asupra stabilității uleiurilor comestibile, a fost efectuată analiza termică a pudrei de cătină (Figura 7.4).

Prin extracția de carotenoide din subproduse de cătină în uleiul rafinat de floarea-soarelui, stabilitatea termocinetică a sistemului se diminuează (Figura 7.6).

Tabelul 7.2. Conținutul total de carotenoide, indicele de peroxid și activitatea antioxidantă ABTS ale uleiurilor martor și ale uleiurilor îmbogățite cu carotenoide după extracția din subproduse de cătină deshidratate.

	Conținutul total de carotenoide (mg/kg)		Indicele de peroxid (meq/kg)		Activitatea antioxidantă ABTS (mmol Trolox/kg)	
	UAE	Macerare	UAE	Macerare	UAE	Macerare
EVO	21,50 ± 0,89 ^A	21,50 ± 0,89 ^A	45,50 ± 1,66 ^{BC}	45,50 ± 1,66 ^B	5,55 ± 0,21 ^A	5,55 ± 0,21 ^A
EVO+2,5%SBP	76,91 ± 1,82 ^B	56,57 ± 2,77 ^B	46,44 ± 1,78 ^C	51,43 ± 2,31 ^C	5,37 ± 0,30 ^A	5,73 ± 0,19 ^A
EVO+5,0%SBP	98,84 ± 3,09 ^C	73,69 ± 2,78 ^C	43,65 ± 0,98 ^B	42,14 ± 1,88 ^B	5,27 ± 0,15 ^A	6,75 ± 0,26 ^B
EVO+10,0%SBP	157,84 ± 6,67 ^D	122,28 ± 4,33 ^D	35,18 ± 1,21 ^A	37,52 ± 1,26 ^A	5,35 ± 0,34 ^A	6,90 ± 0,22 ^B
EVS	6,30 ± 0,28 ^A	6,30 ± 0,28 ^A	153,53 ± 6,44 ^A	153,47 ± 6,44 ^A	4,47 ± 0,20 ^A	4,47 ± 0,20 ^A
EVS+2,5%SBP	40,77 ± 1,94 ^B	45,49 ± 1,42 ^B	159,11 ± 5,81 ^{AB}	162,56 ± 6,66 ^A	4,55 ± 0,17 ^A	4,72 ± 0,14 ^A
EVS+5,0%SBP	74,79 ± 3,38 ^C	56,11 ± 2,06 ^C	166,21 ± 6,77 ^B	161,62 ± 5,09 ^A	4,83 ± 0,22 ^{AB}	4,74 ± 0,18 ^A
EVS+10,0%SBP	143,93 ± 5,56 ^D	121,28 ± 5,51 ^D	161,58 ± 4,89 ^{AB}	159,39 ± 5,79 ^A	5,12 ± 0,24 ^B	4,77 ± 0,21 ^A
RS	4,80 ± 0,21 ^A	4,80 ± 0,21 ^A	116,82 ± 3,66 ^A	116,82 ± 3,66 ^A	4,16 ± 0,09 ^A	4,16 ± 0,09 ^A
RS+2,5%SBP	43,41 ± 1,65 ^B	38,17 ± 1,56 ^B	112,86 ± 4,08 ^A	141,54 ± 5,56 ^C	4,21 ± 0,16 ^A	4,33 ± 0,19 ^{AB}
RS+5,0%SBP	82,65 ± 3,35 ^C	64,75 ± 2,93 ^C	121,65 ± 5,77 ^A	128,52 ± 3,68 ^B	4,28 ± 0,19 ^A	4,56 ± 0,15 ^{BC}
RS+10,0%SBP	137,83 ± 6,65 ^D	120,34 ± 5,13 ^D	141,08 ± 6,14 ^B	143,45 ± 4,87 ^C	4,59 ± 0,17 ^B	4,63 ± 0,14 ^C

*Valorile din aceeași coloană pentru același tip de ulei urmate la exponent de diferite litere mari sunt semnificativ diferite la P<0,05;

**Valorile din același rând pentru aceeași proprietate urmate la indice de diferite litere mici sunt semnificativ diferite la P<0,05.

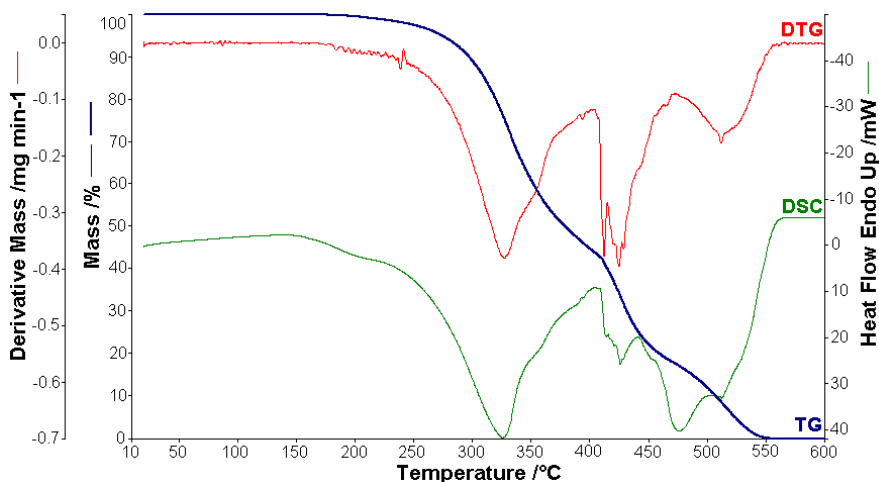


Figura 7.2. Curbe termoanalitice ale uleiului rafinat de floarea-soarelui (martor) în atmosferă dinamică de aer la 10 K/min.

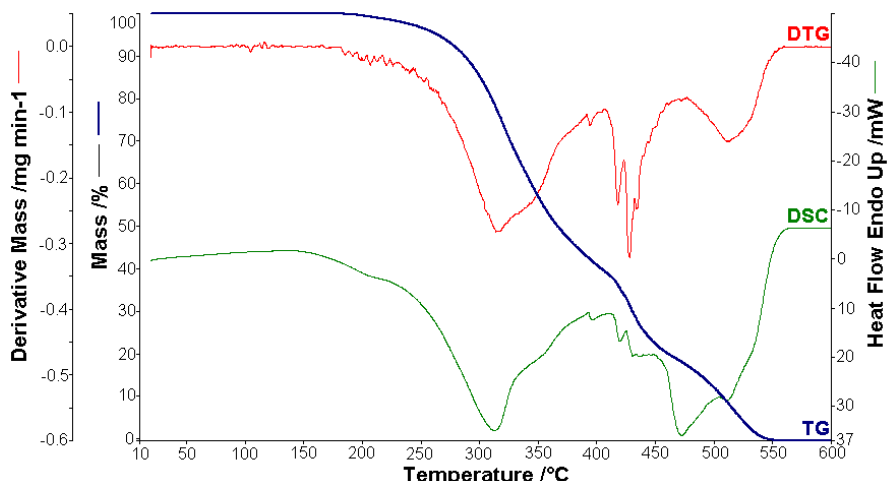


Figura 7.3. Curbe termoanalitice ale uleiului rafinat de floarea-soarelui îmbogățit cu carotenoide prin extracție directă din subproduse de cătină, în atmosferă dinamică de aer la 10 K/min.

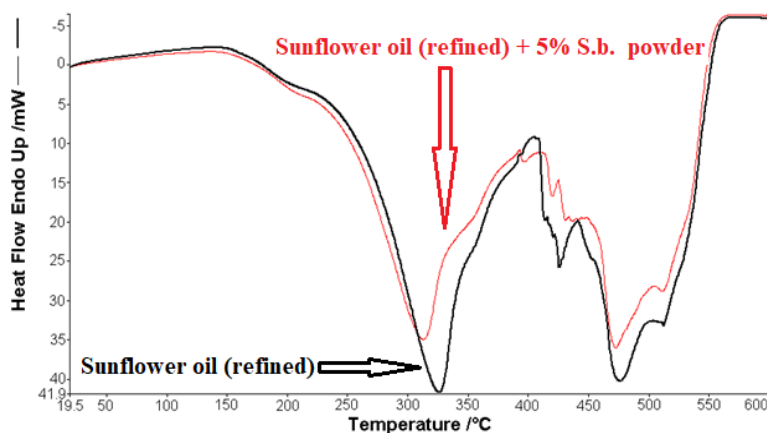


Figura 7.6. Curbe calorimetrice de scanare diferențială (DSC) ale uleiului rafinat de floarea-soarelui față de uleiul rafinat de floarea-soarelui îmbogățit cu carotenoide din subproduse de cătină, în atmosferă dinamică de aer la 10 K/min.

Extracția compușilor carotenoidici în ulei din subproduse de cătină determină o scădere foarte mică de aproximativ 4-5 °C a temperaturii de debut al oxidării și de aproximativ 11-12 °C a temperaturii vârfului DSC (Tabelul 7.3), în raport cu efectul mai mare pe care l-au avut carotenoizii din deșeurile de tomate deshidratate într-un studiu anterior [52]. Aceste rezultate sunt corelate cu cele obținute anterior [52] privind extracția carotenoidelor din deșeurile de tomate deshidratate. Rezultatele au demonstrat efectul pro-oxidant scăzut al compușilor carotenoidici extrași, aceștia nedeterminând o scădere semnificativă a stabilității termice și oxidative a uleiurilor analizate.

Tabel 7.3. Parametrii termici ai declanșării oxidării și vârfului DSC

Tipul uleiului	Martor		Extracție 5% SPB în ulei	
	Temperatura DSC de declanșare a oxidării /°C	Temperatura DSC de vârf a oxidării /°C	Temperatura DSC de declanșare a oxidării /°C	Temperatura DSC de vârf a oxidării /°C
RS	153	325	148	312
EVS	176	344	172	334
EVO	189	314	177	303

RS - ulei rafinat de floarea-soarelui; EVS - ulei extravirgin de floarea-soarelui; EVO - ulei extravirgin de măsline.

7.3.6. Culoarea

În uleiul extravirgin de măsline, extracția carotenoidelor din SBP a determinat o creștere a luminozității (L^*) în timp ce în uleiurile de floarea soarelui valorile L^* au scăzut, prin urmare extracția a dus la o închidere la culoare a acestor uleiuri (Tabelul 7.4). Valorile a^* și b^* au crescut semnificativ odată cu creșterea nivelurilor de SBP extrase, indicând o intensificare a nuanțelor roșiatice și respectiv gălbui. Aceste schimbări pot fi atribuite extracției de compuși carotenoidici, predominant de β -caroten și zeaxantină, în uleiuri. Pe lângă aspectele nutriționale legate de creșterea funcționalității uleiului, îmbogățirea cu carotenoide a uleiurilor a dus la o îmbunătățire a caracteristicilor cromatice ale uleiurilor care fac ca acestea să fie mai atractive pentru consumatori.

7.4. Concluzii parțiale

Pe baza rezultatelor acestui studiu se poate afirma că subprodusele de la procesarea cătinei sunt o sursă valoroasă de carotenoide, în principal zeaxantină și β -caroten. Extracția acestor subproduse în uleiurile vegetale a sporit semnificativ conținutul de carotenoide și a contribuit la creșterea activității antioxidante a uleiurilor. Extracția asistată cu ultrasunete a condus la o recuperare semnificativ mai mare a carotenoidelor din produsele secundare de cătină în raport cu macerarea. Stabilitatea termodinamică a uleiurilor de floarea-soarelui și a uleiului de măsline nu a fost afectată foarte mult de îmbogățirea cu carotenoide din subprodusele de cătină, în timp ce stabilitatea termocinetică a fost diminuată. Prin urmare, stabilitatea termică oxidativă a uleiurilor îmbogățite cu carotenoide prin extracție directă este destul de bună, durata de păstrare fiind probabil aceeași ca în cazul uleiurilor comestibile inițiale. Se poate concluziona că subprodusele de la procesarea cătinei supuse deshidratării pot fi utilizate pentru extracție directă de carotenoide în uleiuri comestibile pentru creșterea funcționalității uleiurilor dar și pentru efectul lor de colorare și îmbunătățire a acceptabilității uleiurilor.

Tabelul 7.4. Parametrii CIELab ai uleiurilor maror și ai uleiurilor îmbogățite cu carotenoide după extracția din subproduse de cătină deshidratate

	L*		a*		b*	
	UAE	Macerare	UAE	Macerare	UAE	Macerare
EVO	78,76 ± 0,62 ^A	78,76 ± 0,62 ^A	-2,10 ± 0,12 ^A	-2,10 ± 0,12 ^A	38,29 ± 5,26 ^A	38,29 ± 5,26 ^A
EVO+2,5%SBP	83,19 ± 1,48 ^B	83,13 ± 1,29 ^B	-0,76 ± 0,39 ^B	-0,58 ± 0,41 ^A	47,42 ± 3,68 ^B	49,95 ± 1,79 ^B
EVO+5,0%SBP	84,02 ± 1,04 ^B	80,36 ± 1,17 ^{AB}	0,10 ± 0,47 ^B	1,67 ± 0,46 ^B	58,14 ± 3,03 ^C	61,39 ± 3,93 ^C
EVO+10,0%SBP	80,92 ± 1,34 ^A	79,61 ± 2,43 ^A	4,10 ± 1,27 ^C	4,52 ± 1,78 ^C	70,08 ± 2,23 ^D	66,87 ± 5,03 ^C
EVS	83,21 ± 0,61 ^C	83,21 ± 0,61 ^B	-0,77 ± 0,20 ^A	-0,77 ± 0,20 ^A	18,55 ± 2,18 ^A	18,55 ± 2,18 ^A
EVS+2,5%SBP	78,48 ± 0,80 ^{AB}	79,75 ± 1,05 ^A	1,02 ± 0,23 ^{AB}	0,43 ± 0,59 ^A	49,38 ± 4,20 ^B	48,85 ± 1,86 ^B
EVS+5,0%SBP	80,08 ± 1,57 ^B	78,90 ± 0,83 ^A	2,64 ± 1,16 ^B	2,78 ± 0,58 ^B	58,38 ± 5,91 ^{BC}	61,29 ± 0,67 ^C
EVS+10,0%SBP	76,42 ± 1,25 ^A	77,99 ± 1,64 ^A	7,13 ± 2,33 ^C	6,51 ± 2,23 ^C	65,25 ± 9,85 ^C	71,07 ± 6,42 ^D
RS	83,52 ± 1,52 ^B	83,52 ± 1,52 ^{AB}	-0,12 ± 0,15 ^A	-0,12 ± 0,15 ^A	9,21 ± 0,57 ^A	9,21 ± 0,57 ^A
RS+2,5%SBP	82,67 ± 0,51 ^B	83,82 ± 1,35 ^B	-0,29 ± 0,17 ^A	-0,36 ± 0,28 ^A	46,90 ± 1,05 ^B	42,75 ± 4,61 ^B
RS+5,0%SBP	80,40 ± 0,80 ^A	81,71 ± 2,12 ^{AB}	2,63 ± 0,67 ^B	1,81 ± 1,38 ^B	61,94 ± 4,83 ^C	55,39 ± 8,68 ^C
RS+10,0%SBP	79,73 ± 0,70 ^A	80,75 ± 0,79 ^A	5,62 ± 0,59 ^C	5,25 ± 0,64 ^C	69,51 ± 0,87 ^D	69,11 ± 3,66 ^D

*Valorile din aceeași coloană pentru același tip de ulei urmate la exponent de diferite litere mari sunt semnificativ diferite la P<0,05;

**Valorile din același rând pentru aceeași proprietate urmate la indice de diferite litere mici sunt semnificativ diferite la P<0,05

CAPITOLUL 8

DEZVOLTAREA ȘI VALIDAREA UNEI METODE HPLC ÎN FAZĂ INVERSĂ PENTRU ANALIZA CAROTENOIDELOR DIN GĂLBENUȘUL DE OU

8.1. Oportunitatea studiului

Această lucrare a vizat dezvoltarea și validarea unei metode HPLC adecvate, fiabile, rapide și simple, utilizând o coloană C18 și detecția UV-Vis (DAD) pentru determinarea simultană a carotenoidelor în gălbenușul de ou.

8.2. Materiale și metode de analiză

8.2.1. Reactivi și standarde

Standardele de luteină, zeaxantină, cantaxantină, astaxantină, licopen, β -caroten și *trans*- β -apo-8'-carotenol au fost achiziționate de la Sigma-Aldrich (Chemie, Steinheim, Germany). Ouăle folosite pentru a dezvolta metoda au fost de la găini hrănite cu o dietă conținând deșeuri de la procesarea tomatelor (pielețe+semințe). Analiza HPLC a fost realizată folosind un sistem Finningan Surveyor Plus (Thermo Electron Corporation, San Jose, CA).

8.2.4. Extracția carotenoidelor

Carotenoidele au fost extrase din 0.5 g probă cu 10 ml eter de petrol:metanol:acetat de etil (1:1:1, v/v/v) conținând 0,1% BHT prin omogenizare timp de 5 min la 2500 rpm folosind un omogenizator Vortex. Proba a fost centrifugată timp de 6 min la 6000 rpm și supernatantul a fost colectat. Reziduul a fost extras folosind același procedeu până când supernatantul a fost lipsit de culoare. Supernatantele combinate au fost spălate prin adăugarea a 10 ml soluție NaCl 5%, amestecare energetică și incubare timp de 30 min când are loc separarea a două straturi. Stratul superior a fost colectat, evaporat la sec sub curent de azot și apoi redizolvat în 2 ml de acetonitril:metanol:acetat de etil (60:20:20, v/v/v) conținând BHT (1% w/v). Soluția finală a fost filtrată prin membrană cu dimensiunea porilor de 0,45 μ m înainte de injecția HPLC.

8.2.5. Condiții cromatografice

S-a folosit o fază mobilă formată din acetonitril:metanol (95:5, v/v) (A), acetonitril:metanol:acetat de etil (60:20:20, v/v/v) (B) și apă (C) cu următorul gradient: 96% A și 4% C la început, menținere timp de 10 min, trecere liniară la 100% B în 13 min, menținere 5 min și revenire la 96% A și 4% C în 2 min. Coloana C18 realizează separarea celor șapte carotenoide în 35 min. Debitul fazei mobile a fost de 1,5 ml/min. Coloana a fost termostată la 20°C iar absorbanta a fost înregistrată la 450 nm. Cuantificarea a fost realizată folosind programul Chrom Quest 4.2 prin compararea ariilor picurilor cu cele obținute în curbele de calibrare.

8.2.6. Validarea metodei

Liniaritatea răspunsului detectorului a fost testată prin pregătirea a cinci soluții de calibrare mixte. Curbele de calibrare au fost stabilite prin reprezentarea grafică a ariilor în funcție de concentrația analiților. Coeficienții de corelație au fost utilizați ca măsură a liniarității. Limitele de detecție (LOD) și limitele de cuantificare (LOQ) au fost determinate prin calcularea concentrației analiților la un raport semnal/zgomot (S/N) de 3 și respectiv 10.

Precizia metodei a fost confirmată prin analize repetitive, calculând deviația relativă standard medie (RSD) pentru șase determinări repetate. Pentru testul de recuperare, soluții standard de carotenoide au fost adăugate extractelor de gălbenuș de ou la două niveluri de concentrație și apoi analizate prin metoda HPLC de trei ori. Recuperările pentru cele șapte carotenoide au fost apoi calculate ca raport procentual între concentrația măsurată și concentrația adăugată.

8.3. Rezultate și discuții

8.3.1. Liniaritatea

Liniaritatea metodei a fost evaluată în funcție de aria de răspuns. Curbele de calibrare pentru carotenoide au fost produse prin injectarea de soluții standard cu concentrații în intervalul 2-20 mg/L.

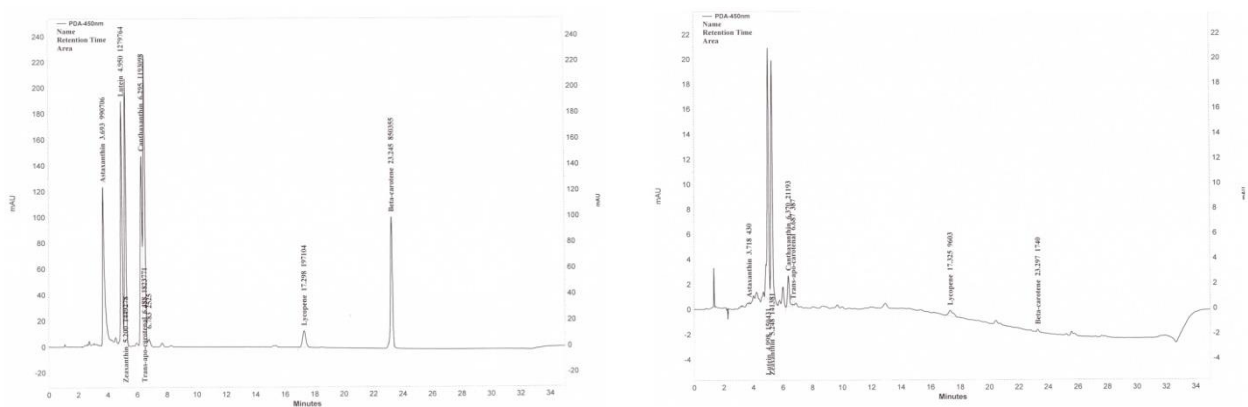


Figura 8.1. a. Cromatogramă a unui amestec de standarde la $\lambda = 450$ nm; b. Cromatogramă la $\lambda = 450$ nm a unui extract de gălbenuș de ou.

Timpii de retenție, ecuațiile de regresie și coeficienții de corelație pentru compușii carotenoidici analizați sunt prezentate în Tabelul 8.1. Coeficienții de corelație ai analizei de regresie liniară au fost mai mari de 0,997, ca urmare metoda standardului extern a fost folosită pentru analiza cantitativă.

8.3.2. Reproducibilitatea și limita de detecție

O soluție amestec de standarde cu concentrația de 10 mg/L a fiecărui analit a fost analizată de șase ori pentru a determina reproducibilitatea ariei picurilor și a timpilor de retenție în condițiile optime ale acestui experiment. Deviațiile relative standard pentru timpii de retenție au fost între 0,090 și 0,491% în timp ce pentru ariile picurilor deviațiile relative standard au fost între 0,339% și 1,211%. Aceste valori au indicat stabilitatea metodei în termeni de arie a picurilor și timp de retenție. Limitele de detecție au fost între 0,041 și 0,752 mg/L pentru cei șapte compuși carotenoidici (Tabelul 8.1).

8.3.3. Precizia și stabilitatea

Pentru a testa precizia și stabilitatea metodei HPLC, un extract de probă a fost analizat prin șase injecții repetate și analiza a fost repetată după trei zile. Pentru timpii de retenție, valorile medii ale deviației relative standard (RSD) au fost între 0,081 și 0,755%, în timp ce pentru ariile picurilor, valorile RSD au fost între 1,692 și 4,815%. Aceste rezultate arată că metoda HPLC prezintă o bună precizie și stabilitate.

Tabelul 8.1. Curbele de calibrare pentru determinarea compușilor carotenoidici din gălbenușul de ou

Compușii carotenoidici	Timpul de retenție (min)	Ecuția de regresie		Intervalul de concentrație (mg/L)	Coeficientul de corelație r^2	Limita de detecție (mg/L)
		Intersecția	Panta			
Astaxantină	3,71	-0,02353	8,19028 e-006	1,2-15	0,9997	0,398
Luteină	4,95	0	7,68226 e-006	0,9-15	0,9996	0,259
Zeaxantină	5,20	0	6,81732 e-006	0,8-15	0,9994	0,236
Cantaxantină	6,31	0	8,47711 e-006	2,5-20	0,9990	0,752
<i>Trans</i> - β -apo-8'-carotenal	6,51	0	5,34553 e-006	1,6-15	0,9997	0,490
Licopen	17,29	0	4,46802 e-005	1,8-15	0,9970	0,522
β -Caroten	23,27	0	1,28077 e-005	0,2-20	0,9967	0,041

8.3.4. Analiza probei și recuperarea

Experimentele de recuperare a celor șapte carotenoide au fost realizate prin adăugarea de standarde de carotenoide extractului de gălbenuș de ou la două nivele de concentrație, care au fost tratate conform procedurii descrise anterior timp de șase ori. Valorile recuperării pentru cele șapte carotenoide s-au situat între 92,96 și 103,61%.

8.3. Concluzii parțiale

Metoda HPLC în fază inversă dezvoltată reprezintă o tehnică excelentă pentru determinarea simultană a șapte carotenoide în extractele de gălbenuș de ou, cu o bună sensibilitate, precizie și reproductibilitate. Metoda oferă o bună rezoluție a analiților cu un timp de analiză relativ scurt (35 min). Metoda poate fi utilizată în controlul calității gălbenușului de ou și poate juca un rol esențial în înțelegerea influenței pe care dieta găinilor ouătoare și mediul le joacă asupra conținutului de carotenoide din gălbenușul de ou.

CAPITOLUL 9

STUDIUL PRIVIND INCLUDEREA ÎN DIETA GĂINILOR OUĂTOARE A SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA TOMATELOR

9.1. Oportunitatea studiului

Ouăle sunt considerate a fi un aliment valoros ce contribuie la echilibrul nutrițional general al dietei, fiind recunoscute ca sursă de proteine cu valoare biologică ridicată, acizi grași esențiali, vitamine și minerale [53]. În plus, gălbenușul de ou reprezintă o sursă importantă de carotenoide cu biodisponibilitate ridicată (luteină și zeaxantină), acestea fiind componente esențiale datorită funcțiilor lor antioxidante și imunomodulatoare și efectelor lor pozitive asupra sănătății [54]. Subprodusele de la procesarea tomatelor reprezintă o sursă bogată de substanțe nutritive și compuși biologic activi. Deși licopenul pare să fi atras atenția doar în mică măsură ca pigment pentru gălbenușul de ou, câteva studii au investigat efectele suplimentării cu licopen sau produse bogate în licopen asupra performanței găinilor ouătoare și calității ouălor [55, 56].

9.2. Materiale și metode de analiză

9.2.1. Experimentul de hrănire

A fost condus un studiu de hrănire timp de 6 săptămâni pe găini ouătoare din rasa Tetra SL (cu vârsta de 53 de săptămâni), repartizate pe două grupe: grupul martor a primit o dietă de bază (DB), în timp ce dieta experimentală (DTD) a fost suplimentată cu 7,5% subproduse de tomate deshidratate. Dietele au fost echilibrate pentru a fi izo-azotate și izo-calorice și pentru a satisface toate celelalte cerințe nutritive ale găinilor.

9.2.2. Prelevarea probelor și analize

Consumul de hrană, rata de producție a ouălor și greutatea ouălor au fost înregistrate zilnic. Inițial, și apoi la fiecare două săptămâni, au fost colectate aleatoriu 18 ouă pe grup. La fiecare colectare au fost determinați parametrii fizici ai ouălor: greutatea ouălor și greutatea componentelor lor (albuș, gălbenuș, coajă); intensitatea culorii și unitățile Haugh, grosimea cojii oului și forța de spargere a cojii oului. Pentru determinarea concentrației de carotenoide în gălbenușul de ou, au fost colectate aleatoriu 10 ouă pe grup la începutul studiului și apoi la fiecare două săptămâni de-a lungul perioadei experimentale.

9.2.3. Extracția și analiza carotenoidelor

Probele de gălbenuș de ou au fost supuse analizei pentru determinarea conținutului de carotenoide folosind cromatografia lichidă de înaltă performanță cu detecție diode-array la 450 nm, conform metodei prezentate în capitolul 8.2.

9.3. Rezultate și discuții

Conținutul total de carotenoide din dieta de bază a fost relativ scăzut (2,08 mg/kg), comparativ cu dieta suplimentată cu subproduse de tomate deshidratate (22,23 mg/kg). Componentul dominant al profilului carotenoidic în dieta suplimentată cu subproduse de tomate deshidratate a fost licopenul (16,45 mg/kg), urmat de β -caroten (3,15 mg/kg). În dieta de bază

carotenoidul dominant a fost luteina alături de niveluri mai scăzute de alte carotenoide, incluzând zeaxantina (0,65 mg/kg) și β -carotenul (0,27 mg/kg).

Suplimentarea cu subproduse de tomate deshidratate a redus în mod semnificativ consumul mediu zilnic de hrană cu 7,8 g. Deși găinile hrănite cu dieta suplimentată cu subproduse de tomate deshidratate au avut o producție de ouă și o conversie a hranei puțin mai mici, diferențele s-au dovedit a fi ne semnificative din punct de vedere statistic în raport cu grupul martor. Greutatea medie a ouălor găinilor care au fost hrănite cu dieta suplimentată cu subproduse de tomate deshidratate a fost semnificativ mai mare decât cea a găinilor hrănite cu dieta de bază. În plus, găinile hrănite cu DTD au prezentat o producție de ouă ușor mai mare decât cea a grupului martor, dar aceasta nu diferă semnificativ ($P > 0,05$) de cea a martorului.

Scorul de culoare al ouălor depuse de găinile hrănite cu dieta suplimentată cu subproduse de tomate (6,6) a fost semnificativ mai mare decât scorul de culoare al ouălor provenite de la grupul martor (3,6). Concentrațiile carotenoidelor din gălbenușul de ou au crescut în mod semnificativ la găinile hrănite cu dieta suplimentată cu subproduse de tomate deshidratate (Tabelul 9.3), sugerând transferul carotenoidelor, inclusiv transferul licopenului, carotenoidul principal în produsele secundare de tomate, din furaje în ou.

Tabelul 9.2. Efectele suplimentării dietei găinilor cu subproduse de tomate deshidratate asupra performanței la ouat a găinilor și calității ouălor (pe o perioadă de 6 săptămâni)*

Caracteristici	DB	DTD
Consum mediu zilnic de hrană (g/găină/zi)	126,15 ± 0,836 ^b	118,32 ± 0,609 ^a
Producția de ouă (%)	94,17 ± 0,841	92,29 ± 1,007
Conversia hranei (g/g)	2,16 ± 0,020	2,04 ± 0,026
Greutatea oului (g)	64,04 ± 0,082 ^b	64,44 ± 0,111 ^a
Masa oului (g/găină/zi)	55,44 ± 0,414	55,89 ± 0,474
Greutatea cojii (g)	9,12 ± 0,096	8,97 ± 0,121
Grosimea cojii (mm)	0,34 ± 0,003 ^b	0,33 ± 0,003 ^a
Forța de spargere a cojii (kg)	3,79 ± 0,100	3,76 ± 0,083
Unități Haugh	77,17 ± 1,215	73,85 ± 1,507
Greutatea gălbenușului (g)	16,65 ± 0,176	16,51 ± 0,147
Culoarea gălbenușului	3,66 ± 0,216 ^b	6,60 ± 0,460 ^a

*Mediile în cadrul aceleiași rând cu litere diferite la exponent diferă semnificativ ($P < 0,05$)

Este general acceptat faptul că recuperarea din dietă a carotenoidelor în gălbenușul de ou este condiționată nu numai de cantitatea ingerată, ci și de rata de transfer. În plus, găinile pot transforma metabolic anumite carotenoide înainte de depunerea în gălbenuș [57]. În consecință, modelul de depunere a carotenoidelor în gălbenuș reflectă o anumită interacțiune între dieta găinilor și capacitatea acestora de a absorbi, transporta, depozita și (sau) modifica carotenoidele, reconciliind orice cerințe somatic concurente pentru utilizarea lor (de exemplu protecția antioxidantă, funcția imună) [58]. Pe de altă parte, depunerea carotenoidelor în gălbenuș depinde de polaritatea lor, care este mai scăzută la compușii carotenoidici nepolari (licopen și β -caroten) în raport cu xantofilele (luteină, zeaxantină) care conțin cel puțin un atom de oxigen [59].

Tabelul 9.3 Influența suplimentării dietei găinilor cu subproduse de tomate deshidratate asupra nivelurilor de carotenoide ($\mu\text{g/g}$) din gălbenușul de ou*

Dieta	Inițial	2 săptămâni	4 săptămâni	6 săptămâni
-------	---------	-------------	-------------	-------------

Astaxantină				
DB	0,925±0,086	0,962±0,013 ^a	0,965±0,016	0,955±0,018 ^a
DTD		0,984±0,015 ^b	0,958±0,008	0,981±0,016 ^b
Luteină				
DB	2,967±0,239	2,432±0,449 ^a	3,453±0,478 ^a	2,135±0,197 ^a
DTD		4,311±0,055 ^b	4,226±0,415 ^b	4,469±0,079 ^b
Zeaxantină				
DB	2,229±0,092	3,053±0,457 ^a	3,542±0,139 ^a	2,917±0,302 ^a
DTD		3,972±0,026 ^b	4,414±0,443 ^b	4,516±0,070 ^b
Cantaxantină				
DB	0,084±0,019	0,077±0,009 ^a	0,125±0,015	0,198±0,019 ^a
DTD		0,092±0,010 ^b	0,143±0,017	0,338±0,011 ^b
Trans-β-apo-8'-carotenal				
DB	0,305±0,015	0,398±0,064 ^a	0,464±0,026	0,326±0,037 ^a
DTD		0,525±0,032 ^b	0,494±0,030	0,443±0,016 ^b
Licopen				
DB	nd	nd ^a	nd ^a	nd ^a
DTD		1,794±0,119 ^b	1,742±0,160 ^b	1,844±0,323 ^b
Beta-caroten				
DB	nd	Nd	nd ^a	nd ^a
DTD		Nd	0,065±0,020 ^b	0,071±0,010 ^b

* Mediile din aceeași coloană pentru fiecare compus carotenoidic și perioadă, însoțite de litere diferite la exponent diferă semnificativ ($P < 0,05$); nd=nedetectat

Rata de transfer (%) = {[concentrația carotenoidului în gălbenuș ($\mu\text{g/g}$) \times producția de ouă (g/zi/găină)] / [concentrația carotenoidului în furaj ($\mu\text{g/g}$) \times consumul de furaj (g/zi/găină)]} \times 100. În studiul de față s-a determinat o rată de transfer de 5,3% pentru licopen. Benakmoum et al. (2013) [60] au raportat rate de transfer pentru licopen între 1,86 și 3,48% după suplimentare cu coji de tomate deshidratate la niveluri între 3% până la 13%. O rată de transfer mai mare de 5,8% a fost raportată de Karadas et al. (2006) [61] ca urmare a unei diete suplimentată cu pudră de tomate.

9.4. Concluzii parțiale

Suplimentarea cu subproduse de tomate deshidratate la găini ouătoare la un nivel de încorporare de 7,5% a redus consumul zilnic de furaj, dar nu a avut niciun efect negativ asupra ratei producției de ouă. Greutatea ouălor de la găini a căror dietă a fost suplimentată cu subproduse de tomate deshidratate a crescut comparativ cu cele de la grupul martor, în timp ce producția de ouă și calitatea ouălor nu au fost afectate în mod semnificativ.

Concentrația totală a carotenoidelor din gălbenușul de ou a crescut de 1,5 ori ca rezultat al utilizării subproduselor de tomate deshidratate ca material furajer pentru găinile ouătoare, în timp ce culoarea gălbenușului de ou s-a îmbunătățit, reflectând conținutul de compuși carotenoidici.

CAPITOLUL 10

STUDIUL PRIVIND INCLUDEREA SIMULTANĂ ÎN DIETA GĂINILOR OUĂTOARE A SEMINȚELOR DE IN ȘI A SUBPRODUSELOR DE LA PROCESAREA TOMATELOR

10.1. Oportunitatea studiului

Cu toate că efectele suplimentării cu produse secundare din tomate au fost evaluate în cazul găinilor ouătoare, nu există studii cu privire la efectele includerii lor în dieta găinilor ouătoare împreună cu semințe de in, bogate în acizi grași polinesaturați. Ca urmare, scopul acestui studiu a fost acela de a evalua efectele includerii simultane a semințelor de in și a subproduselor de tomate (coji + semințe) deshidratate în dieta găinilor ouătoare, cu privire la performanța găinilor, caracteristicile de calitate ale ouălor, conținutul de carotenoide și acizi grași polinesaturați din gălbenuș și gradul de oxidare a furajelor și a lipidelor din gălbenuș.

10.2. Material și metode

Testul de hrănire s-a desfășurat în clădirile experimentale ale Institutul National de Cercetare - Dezvoltare pentru Biologie și Nutriție Animală (IBNA – Balotești, România). Pentru cele 6 săptămâni de experiment s-au folosit 96 de găini ouătoare Tetra SL (în vârstă de 53 de săptămâni), împărțite în 4 grupuri (C, E1, E2 și E3). Rețeta dietei de bază a fost similară pentru toate cele 4 grupuri (Tabelul 10.1). Diferențele dintre dieta martor (C) și dietele experimentale (E1, E2, E3) au rezultat din includerea a 5% semințe de in și din nivelul de subproduse de tomate deshidratate din rețeta dietelor: 2,5% (E1); 5% (E2) și 7,5% (E3).

Tabelul 10.1. Formularea dietei și compoziția chimică estimată a dietelor experimentale

Compoziția dietei [%]	C	E1	E2	E3
Porumb	32,42	31,11	27,5	24,86
Grâu	25	25	25	25
Făină de soia	22,2	22,8	22,3	21,85
Șrot de floarea soarelui	6	-	-	-
Ulei vegetal (boabe de soia)	2,81	1,8	3,35	3,92
Semințe de in	-	5	5	5
Reziduu uscat de tomate	-	2,5	5	7,5
Lizină	-	0,04	0,07	0,06
Metionină	0,12	0,19	0,21	0,22
Carbonat de calciu	8,85	8,87	8,87	8,88
Fosfat de calciu	1,2	1,28	1,29	1,3
Clorură de sodiu (Sare)	0,35	0,36	0,36	0,36
Colină	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix vitamine-minerale*	1	1	1	1
<i>Compoziția chimică (calculată)</i>				
Substanță uscată (DM) [%]	87,65	88,45	89,12	89,57

Energie metabolizabilă (ME) [kcal/kg]	2750	2750	2750	2750
Proteină (CP) [%]	17,5	17,5	17,5	17,5
Grăsimi (EE) [%]	4,23	4,77	6,27	6,81
Fibre (CF) [%]	4,32	5,48	6,9	8,11
Lizină [%]	0,86	0,84	0,84	0,84
Metionină [%]	0,41	0,44	0,45	0,46

Furnizate per kg de dietă: vitamina A, 13500 IU; vitamina D3, 3000 IU; vitamina E, 27 mg; vitamina K3, 2 mg; vitamina B1, 2 mg; vitamina B2, 4,8 mg; acid pantotenic, 14,85 mg; nicotinic acid, 27 mg; vitamina B6, 3 mg; vitamina B7, 0,04 mg; vitamina B9, 1 mg; vitamina B12, 0,018 mg; vitamina C, 25 mg; mangan (ca oxid de mangan), 71,9 mg; fier (ca sulfat feros), 60 mg; cupru (ca sulfat de cupru), 6 mg; zinc (ca oxid de zinc), 60 mg; cobalt (ca sulfat de cobalt), 0,5 mg; iod (ca iodură de potasiu), 1,14 mg; seleniu (ca selenit de sodiu), 0,18 mg.

Pe parcursul întregului experiment a fost monitorizat zilnic consumul de furaj [g/găină/zi], producția de ouă și greutatea oului. Procentul de ouat a fost calculat ca raport între numărul de ouă produs per găină și numărul de zile al perioadei experimentale.

Culoarea gălbenușului a fost determinată la fiecare trei zile, pentru 5 ouă/grup, folosind evantaiul de culoare Roche. La fiecare două săptămâni s-au colectat aleator 18 ouă/grup pentru fiecare grup, care au fost folosite pentru a determina parametrii interni și externi de calitate ai ouălor: greutatea ouălor și a componentelor acestora (albuș, gălbenuș, coajă), prospețimea oului și unitățile Haugh, grosimea cojii, și rezistența la spargere a cojii oului.

Pentru a determina profilul acizilor grași și al carotenoidelor din gălbenușul de ou, la fiecare 2 săptămâni s-au colectat aleatoriu 10 ouă/grup. Pentru a monitoriza stabilitatea oxidativă a oului pe perioada a 28 de zile de depozitare la 4°C s-au folosit indicii de peroxid și valoarea TBARS. Pentru a efectua aceste măsurători, după 6 săptămâni de experiment, s-au colectat 12 probe de ouă din grupurile C și E2.

Probele de gălbenuș au fost supuse analizei carotenoidelor folosind cromatografia lichidă de înaltă performanță cu detecție cu șir de diode la 450 nm, după metoda descrisă de Corbu et al. (2017) [62]. Conținutul de acizi grași a fost determinat prin cromatografie de gaze a esterilor metilici ai acizilor grași.

10.3. Rezultate și discuții

10.3.1. Ingredientele dietei și compoziția furajelor

Conținutul de fibre din furajul combinat destinat grupurilor experimentale a fost corelat în mod direct cu nivelul includerii de șrot uscat de tomate în furaj. În toate cele trei rețete experimentale (E1, E2, E3), licopenul a fost componenta dominantă a profilului carotenoidic din furajul combinat, urmat de β-caroten și luteină (Tabelul 10.3). Creșterea concentrației carotenoidelor în hrana folosită pentru experimente a fost corelată pozitiv cu cantitatea de șrot uscat de tomate din dietă. Conținutul total de carotenoide al rețetelor experimentale a fost de 4,61 (E1), 9,62 (E2) și 11,88 (E3) ori mai mare decât cel al furajului destinat grupului martor (C).

Adăugarea semințelor de in în furajele suplimentate a făcut să crească concentrația de n-3 PUFA de circa 9 ori față de furajul pentru grupul martor, îmbunătățind de asemenea și raportul n-6/n-3 (Tabelul 10.3).

Tabelul 10.3. Compoziția chimică medie a furajelor combinate

Specificații	C	E1	E2	E3
<i>Compoziția chimică de bază a furajelor combinate [%]</i>				
Substanță uscată (DM) [%]	89,19	89,49	90,01	90,40
Proteină (CP) [%]	18,08	17,30	17,40	17,20
Grăsimi (EE) [%]	4,38	4,75	6,33	7,04
Fibre (CF) [%]	5,79	6,46	7,04	7,98
Cenușă [%]	13,34	13,07	12,92	12,12
<i>Profilul acizilor grași polinesaturați (PUFA)</i>				
Total PUFA [g/100g acizi grași totali], din care:				
n-6 PUFA	55,28	57,76	58,57	57,62
n-3 PUFA	53,88	44,59	45,54	44,64
n-6/n-3d	1,40	13,19	13,03	12,98
n-6/n-3d	38,39	3,38	3,42	3,44
<i>Profilul carotenoidelor</i>				
Astaxantină [mg/kg]	-	0,03	0,02	0,03
Luteină [mg/kg]	0,80	1,04	1,44	1,47
Zeaxantină [mg/kg]	0,65	0,78	0,88	0,84
Cantaxantină [mg/kg]	0,09	0,11	0,15	0,16
Trans-apo-carotenal [mg/kg]	0,10	0,10	0,11	0,11
Licopen [mg/kg]	0,24	6,62	14,62	19,69
Beta-caroten [mg/kg]	0,27	1,27	2,64	3,33
Conținut total de carotenoide [mg/kg]	2,16	9,95	19,87	25,62

SFA – acizi grași saturați; MUFA – acizi grași mononesaturați; PUFA – acizi grași polinesaturați.

Tabelul 10.4. Stabilitatea oxidativă a furajelor combinate la 0, 14 și 28 de zile de depozitare

	Zile de depozitare	C	E1	E2	E3	Limite maxime*
Indicele de peroxid [ml tiosulfat 0,1 N/g grăsime]	0	5,1	5,4	5,0	5,1	12
	14	6,0	6,7	6,0	6,0	
	28	8,3	8,3	8,6	8,7	
Aciditatea grăsimii [mg KOH/g grăsime]	0	15,15	16,61	14,40	13,11	50
	14	17,21	18,19	17,14	17,22	
	28	19,36	19,52	20,56	20,55	
Testul Kreis	0	negativ	Negativ	negativ	negativ	negativ
	14	negativ	Negativ	negativ	negativ	
	28	negativ	Negativ	negativ	negativ	

* În conformitate cu reglementările din România (Ordinul nr. 249/358 al Ministerului Agriculturii, Alimentației și Pădurilor din 31 Martie 2003)

10.3.2. Performanța găinilor ouătoare și calitatea ouălor

Găinile ouătoare din grupurile suplimentate cu 5% și 7,5% șrot uscat de tomate (E2 și E3) au avut un consum mediu de furaj mai scăzut decât C și E1. Găinile ouătoare din grupul martor au avut un raport de conversie a hranei mai scăzut decât cele din grupurile experimentale, deși diferențele nu au fost semnificative statistic ($P > 0,05$).

Consumul mediu de furaj mai scăzut a influențat procentul de ouat, care a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai scăzut la grupurile E2 (87,92%) și E3 (90,21%) comparativ cu C. Greutatea medie a ouălor și a componentelor acestora (albuș, gălbenuș și coajă) precum și rezistența la spargere a cojii, nu au diferit semnificativ ($P > 0,05$) între grupuri (Tabelul 10.5).

Tabelul 10.5. Influența semințelor de in și rezidului uscat de tomate din dietă asupra performanței găinilor ouătoare și calității ouălor *

Specificații	C	E1	E2	E3	SEM	Valoarea p
Greutate inițială [g/găină]	1967,5	1966,3	1967,1	1967,1	15,4	>0,999
Greutate finală [g/găină]	2029,2	2055,8	2083,3	2067,5	19,0	0,786
Aportul alimentar mediu zilnic [g/găină/zi]	126,1 ^a	127,3 ^a	120,2 ^b	123,6 ^c	0,4	<0,0001
Rata de conversie a hranei [g/g ou]	2,2 ^a	2,2 ^b	2,2 ^{ab}	2,2 ^{ab}	0,01	0,065
Procentul de ouat [%]	94,2 ^a	92,7 ^{ac}	87,9 ^{bc}	90,2 ^c	0,49	<0,0001
Greutatea medie a oului [g], din care:	64,6	64,4	64,4	64,5	0,2	0,928
- albuș	38,8	38,7	38,6	39,2	0,17	0,656
- gălbenuș	16,6	16,5	16,7	16,5	0,07	0,749
- coajă	9,1	9,1	9,0	9,0	0,05	0,629
pH-ul albușului	7,7	7,8	7,8	7,8	0,01	0,459
pH-ul gălbenușului	5,8	5,8	5,8	5,8	0,02	0,9685
Grosimea cojii [mm]	0,34	0,34	0,34	0,34	0,001	0,04
Rezistența la spargere a cojii [kgF]	3,8	3,5	3,6	3,7	0,04	1,81
Unități Haugh	77,2	75,9	73,9	76,5	0,54	0,176

*Valorile medii din cadrul aceluiași rând care au exponenți diferiți sunt diferite semnificativ ($p < 0,05$); SEM: eroarea standard a mediei.

10.3.3. Culoarea oului

Începând cu cea de a treia zi de experiment, scorul culorii gălbenușului a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mare la ouăle din grupurile tratate cu semințe de in și șrot uscat de tomate, pigmentarea cea mai puternică a gălbenușului fiind observată la gălbenușurile ouălor E3 (7,5% șrot uscat de tomate).

10.3.4. Conținutul de acizi grași polinesaturați și de carotenoide din gălbenușul de ou

Concentrația PUFA a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mare în gălbenușul din grupurile suplimentate comparativ cu grupul martor C: de 3,69 ori pentru E1, 3,34 ori pentru E2 și 3,15 ori pentru E3. În plus, raportul n-6/n-3 a scăzut de la 18,33 (C) la 4,13 (E1), 4,99 (E2) și 5,43 (E3).

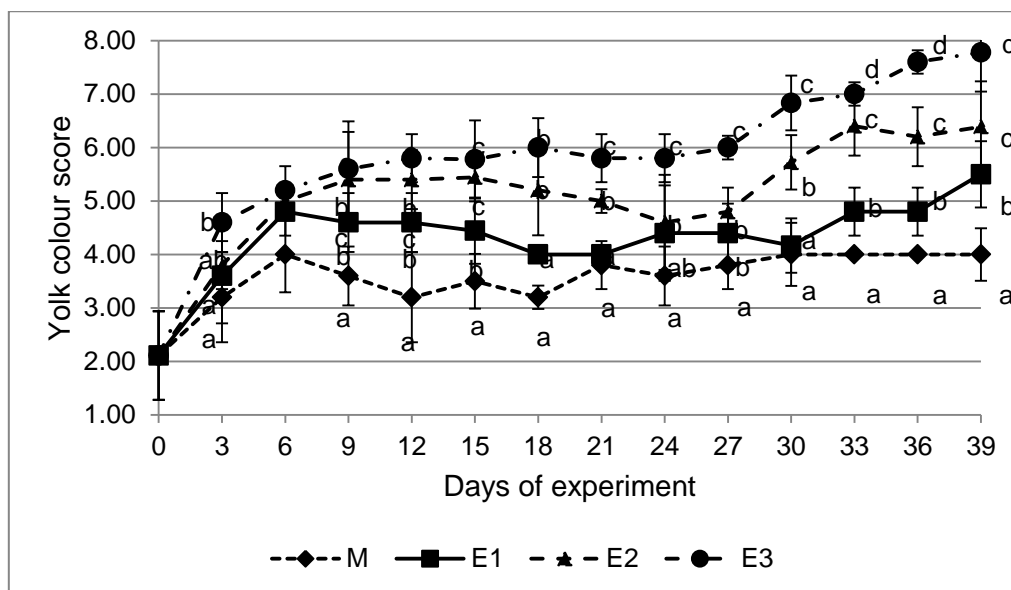


Figura 10.1. Evoluția culorii gălbenușului măsurată cu evantaiul de culoare Roche. Valorile medii care nu sunt însoțite de aceeași literă în aceeași zi a experimentului sunt semnificativ diferite ($P < 0,05$).

Concentrațiile carotenoidelor din gălbenușul de ou au crescut semnificativ la grupurile hrănite cu diete suplimentate cu șrot uscat de tomate (tabelul 10.7), sugerând un transfer al carotenoidelor din furaje către ou. Culoarea gălbenușului a fost pozitiv și semnificativ corelată ($r=0,71$, $P < 0,05$) cu conținutul de carotenoide. Totuși, eficiența transferului carotenoidelor către gălbenușul de ou și influența lor asupra colorării acestuia diferă mult în funcție de tipul carotenoidelor prezente și de forma chimică a moleculelor [63]. Găinile sunt caracterizate prin acumularea aproape exclusivă a xantofilelor, care reprezintă contributorul major la pigmentarea gălbenușului oului de găină întrucât β -carotenul este convertit complet în vitamina A sau, în caz contrar, este metabolizat [64].

Creșterea conținutului de șrot uscat de tomate al dietei a redus absorbția și depunerea de acizi grași polinesaturați n-3 în gălbenușul de ou. Descoperiri similare au fost raportate de către Galobart et al. (2001) [65] și Meluzzi et al. (2000) [66] care au observat o reducere a conținutului de acizi grași polinesaturați n-3 în ouăle îmbogățite cu n-3 PUFA în urma tratamentelor de suplimentare cu α -tocoferol. Aceștia au sugerat că α -tocoferolul în doze mari poate interfera în absorbția intestinală a unor acizi grași cu lanț lung sau că poate acționa ca un pro-oxidant în ouă. Este bine cunoscut faptul că, la concentrații ridicate, carotenoidele pot acționa ca pro-oxidanți în sistemele biologice [67] dar sunt necesare mai multe cercetări pentru a elucida efectul acestor compuși bioactivi asupra compoziției acizilor grași din ouăle îmbogățite cu acizi grași polinesaturați n-3.

După 4 săptămâni de experiment, concentrațiile de luteină și zeaxantină din gălbenușul de ou din grupul E3 au crescut cu 62% și respectiv 39% în comparație cu grupul martor (C). Licopenul a fost determinat numai în gălbenușul provenit de la ouăle din grupurile experimentale, dar concentrațiile sale au atins un maxim de 1,76 mg/kg după 4 săptămâni de hrănire cu o dietă suplimentată cu 7,5% șrot uscat de tomate. Este general acceptat faptul că recuperarea carotenoidelor din dietă în gălbenușul de ou este condiționată nu numai de cantitatea ingerată ci și de rata de transfer. În plus, găinile pot transforma metabolic anumite carotenoide înainte de depunerea lor în gălbenuș [57].

Tabelul 10.6. Conținutul total de PUFA [g/100g acizi grași totali] din gălbenușul de ou provenit de la găini ouătoare hrănite cu diete suplimentate cu semințe de in și reziduu uscat de tomate *

	Săptămâni de hrănire	C	E1	E2	E3	SEM	Valoarea p	
Total	0	30,58						
PUFA, din care:	2	29,02 ^a	28,91 ^a	31,05 ^b	32,16 ^c	0,298	<0,0001	
	4	28,20 ^a	27,71 ^a	30,76 ^b	32,40 ^c	0,411	<0,0001	
	6	28,65 ^a	28,73 ^a	30,73 ^b	31,88 ^c	0,302	<0,0001	
n-3 PUFA	0	2,27						
	2	1,63 ^a	5,65 ^b	5,05 ^c	4,68 ^d	0,327	<0,0001	
	4	1,47 ^a	5,69 ^b	5,16 ^c	4,80 ^d	0,349	<0,0001	
	6	1,49 ^a	5,61 ^b	5,13 ^c	4,97 ^c	0,359	<0,0001	
n-6 PUFA	0	28,31						
	2	27,39 ^a	23,26 ^b	26,00 ^c	27,48 ^a	0,361	<0,0001	
	4	26,24 ^a	22,50 ^b	25,60 ^c	27,60 ^d	0,396	<0,0001	
	6	27,16 ^a	23,1 ^b	25,59 ^c	26,99 ^a	0,355	<0,0001	
n-6/n-3	0	12,71						
	2	16,81 ^a	4,14 ^b	5,15 ^c	5,88 ^d	1,074	<0,0001	
	4	17,95 ^a	3,97 ^b	4,97 ^c	5,77 ^d	1,190	<0,0001	
	6	18,33 ^a	4,13 ^b	4,99 ^c	5,43 ^c	1,272	<0,0001	

* Valorile medii din cadrul aceluiași rând care au exponenți diferiți sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$); SEM: eroarea standard a mediei. PUFA – acizi grași polinesaturați.

Tabelul 10.7. Concentrația carotenoidelor din probele proaspete de gălbenuș [mg/kg, valori medii/grup] *

	Săptămâni de hrănire	C	E1	E2	E3	SEM	Valoarea p	
Astaxantină	0	0,925						
	2	0,96	0,98	0,97	0,97	0,004	0,4308	
	4	0,96	0,96	0,96	0,96	0,003	0,8655	
	6	0,95	0,95	0,96	0,96	0,003	0,4268	
Luteină	0	2,967						
	2	2,43 ^a	3,11 ^b	4,14 ^c	4,18 ^c	0,186	<0,0001	
	4	2,45 ^a	3,58 ^b	3,69 ^b	3,98 ^c	0,148	<0,0001	
	6	2,13 ^a	2,50 ^b	3,22 ^c	3,42 ^c	0,130	<0,0001	
Zeaxantină	0	2,229						
	2	3,05 ^a	2,71 ^a	4,57 ^c	4,04 ^b	0,184	<0,0001	
	4	3,54 ^a	3,75 ^a	3,91 ^{ab}	4,93 ^b	0,141	<0,0001	
	6	2,91 ^a	3,13 ^{ab}	3,15 ^{ab}	3,39 ^b	0,066	0,0817	
Cantaxantină	0	0,084						
	2	0,08 ^a	0,11 ^{bc}	0,09 ^b	0,11 ^c	0,004	0,0010	
	4	0,12 ^a	0,15 ^b	0,15 ^b	0,14 ^{ab}	0,004	0,0397	
	6	0,20 ^a	0,22 ^{ab}	0,27 ^b	0,37 ^c	0,017	<0,0001	
Trans-apo-	0	0,305						

carotenal	2	0,40 ^a	0,42 ^a	0,51 ^b	0,56 ^b	0,017	<0,0001
	4	0,46 ^a	0,52 ^{ab}	0,51 ^{ab}	0,58 ^b	0,014	0,0141
	6	0,33 ^a	0,32 ^a	0,34 ^a	0,44 ^b	0,015	0,0034
Licopen	0	Nd					
	2	nd ^a	nd ^a	0,90 ^b	1,19 ^b	-	-
	4	nd ^a	0,63 ^b	1,33 ^c	1,76 ^d	0,136	<0,0001
	6	nd ^a	0,30 ^b	0,92 ^c	1,63 ^d	0,105	<0,0001
Beta-caroten	0	Nd					
	2	nd ^a	nd ^a	nd ^a	0,05 ^b	-	-
	4	nd ^a	nd ^a	0,06 ^b	0,06 ^b	0,136	<0,0001
	6	0,04 ^a	0,04 ^a	0,04 ^a	0,06 ^b	0,002	0,0002

*Valorile medii din cadrul aceluiași rând care au exponenți diferiți sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$); SEM: eroarea standard a mediei; nd = nedetectat.

10.3.5. Peroxidarea lipidelor din gălbenuș

Atât după 14 cât și după 28 de zile de depozitare, indicele de peroxid și valoarea TBARS au fost semnificativ mai mici în gălbenușul de ou provenit de la găinile hrănite cu dieta suplimentată cu 5% semințe de in și 5% șrot uscat de tomate decât în cele din grupul martor, în ciuda faptului că ouăle îmbogățite în acizi grași polinesaturați n-3 sunt mai susceptibile la oxidarea lipidică, așa cum este bine documentat în literatura de specialitate [68].

10.3.6. Peroxidarea lipidică a furajelor combinate

Concentrația ridicată de acizi grași nesaturați din furaje favorizează peroxidarea lipidică. Numeroase studii anterioare au arătat că performanța animalelor este afectată de hrănirea cu lipide peroxidate [69]. Deși indicele de peroxid și aciditatea grăsimii au fost ușor mai ridicate în dietele suplimentate cu semințe de in comparativ cu dieta martor, aceste valori au fost sub limitele maxime admise pentru furaje combinate conform Standardului Român STAS 12266-84, după ambele perioade de depozitare (14 și 28 de zile). Testul Kreis a fost negativ pentru toate probele pe toată perioada studiului. Aceste rezultate se datorează probabil carotenoidelor antioxidante care provin din șrotul uscat de tomate.

10.4. Concluzii parțiale

Suplimentarea simultană a dietei găinilor ouătoare cu semințe de in și șrot uscat de tomate a dus la obținerea așa numitelor "ouă de designer" care sunt bogate atât în acizi grași polinesaturați n-3 cât și în carotenoide. Folosirea semințelor de in în dieta găinilor ouătoare a crescut semnificativ ($P < 0,05$) concentrația n-3 PUFA în gălbenuș.

Suplimentarea cu semințe de in și șrot uscat de tomate în procent de 5% și respectiv 7,5% a scăzut consumul de furaj zilnic dar nu a afectat valorile medii ale greutateii oului și ale componentelor acestuia. Furajele combinate suplimentate cu semințe de in sunt susceptibile la oxidare dar adăugarea de șrot de tomate a limitat deteriorarea oxidativă a acestora.

Adăugarea de șrot de tomate în dieta găinilor ouătoare a dus la o creștere semnificativă a scorului de culoare Roche în corelație cu creșterea depunerii de carotenoide în gălbenușul de ou. Suplimentarea dietei cu 5% șrot uscat de tomate a dus la creșterea stabilității oxidative a ouălor îmbogățite cu n-3 PUFA dar creșterea conținutului dietei în șrot uscat de tomate a dus la scăderea absorbției și depozitării acizilor grași polinesaturați n-3 în gălbenușul de ou.

CAPITOLUL 11

CONCLUZII FINALE

→ Subprodusele de la procesarea tomatelor (coji + semințe) au demonstrat o valoare nutritivă ridicată determinată de conținutul de aminoacizi esențiali, acizi grași polinesaturați, compuși carotenoidici și substanțe minerale. Acestea au conținut în medie 176,2 g/kg proteine, 21,9 g/kg grăsime, 524,4 g/kg fibră brută și 42,1 g/kg cenușă. Aminoacizii esențiali au reprezentat 34,2% din proteina totală, cei mai abundenți fiind leucina, urmată de lizină și izoleucină. Acizii grași nesaturați au reprezentat 77,04% din totalul acizilor grași, acidul linoleic fiind predominant. Rezultatele au confirmat că subprodusele de tomate deshidratate conțin cantități considerabile de licopen (510,6 mg/kg) și β -caroten (95,6 mg/kg) și prezintă o activitate antioxidantă ridicată. Conținutul total de compuși fenolici a fost de 1229,5 mg GAE/kg, dintre care flavonoidele au reprezentat 415,3 mg QE/kg. Acizii elagici și clorogenici au fost acizi fenolici cei mai abundenți, în timp ce printre flavonoizi numai rutina și micricetina au fost cuantificate;

→ Subprodusele de la procesarea căținei în vederea obținerii sucului reprezintă un produs secundar foarte valoros care, pe lângă alte substanțe nutritive importante, conține și lipide de înaltă calitate. Acestea au demonstrat o valoare nutritivă ridicată dată de conținutul ridicat de grăsimi (20.05%) și proteine (14.89%) valoroase. De asemenea, acestea au prezentat un conținut de fibre de 524,4 g/kg și 42,1 g/kg cenușă. Aminoacizii esențiali au reprezentat 38,42% din conținutul total de aminoacizi, în cantitatea cea mai mare fiind leucina (11,6 g/kg) urmată de fenilalanină și lizină. Profilul acizilor grași a evidențiat o concentrație mare de acizi grași mononesaturați (53,08% din total acizi grași), ca urmare a conținutului ridicat de acizi oleic și palmitoleic, un conținut de acizi grași polinesaturați de 15,70% și un raport scăzut de acizi grași n-6/n-3 (1,42). Conținutul total mediu de carotenoide a fost de 245,6 mg/100 g, dintre care cele mai importante au fost β -carotenul (80,76 mg/kg) și zeaxantina (69,60 mg/kg). În plus, subprodusele din fructe de cătină au prezentat un conținut ridicat de compuși fenolici și o activitate antioxidantă ridicată. Rezultatele au demonstrat că subprodusele de cătină deshidratate sunt surse valoroase de compuși nutritivi și bioactivi și au potențialul de a fi utilizate ca nutraceutice pentru furaje, ca ingredient pentru alimente funcționale, precum și în industria farmaceutică;

→ Extracția directă a carotenoidelor din subprodusele de tomate deshidratate în ulei vegetal a condus la obținerea unui ulei funcțional colorat, cu conținut ridicat de compuși carotenoidici și cu activitate antioxidantă ridicată. Rezultatele au arătat că conținutul de carotenoide din uleiuri a crescut semnificativ prin creșterea cantității de subproduse de tomate deshidratate extrase. De asemenea, macerarea s-a dovedit a extrage cantități semnificativ mai mari din acești compuși. În unele uleiuri, extracția subproduselor de tomate deshidratate a îmbunătățit stabilitatea lor oxidativă și termică, în timp ce în altele a provocat o creștere a valorii indicelui de peroxid și o scădere a timpului de inducție. În unele uleiuri, rezultatele au demonstrat efecte pro-oxidative ale compușilor extrași din subprodusele de tomate deshidratate;

→ Extracția subproduselor de cătină în uleiurile vegetale a sporit semnificativ conținutul de carotenoide al uleiurilor și a contribuit la creșterea activității lor antioxidante. Extracția asistată de ultrasunete a fost mai eficientă decât macerarea pentru extracția directă în uleiuri a

compușilor carotenoidici din produsele secundare de cătină. Stabilitatea termodinamică a uleiurilor de floarea-soarelui și a uleiului de măsline nu a fost afectată foarte mult de îmbogățirea cu carotenoide din subprodusele de cătină, în timp ce stabilitatea termocinetică a fost diminuată. Subprodusele de la procesarea cătinei, după deshidratare, pot fi utilizate pentru extracție directă de carotenoide în uleiuri comestibile pentru creșterea funcționalității uleiurilor dar și pentru efectul lor de colorare și îmbunătățire a acceptabilității uleiurilor;

→ Metoda HPLC în fază inversă dezvoltată și validată a permis determinarea simultană a șapte compuși carotenoidici (luteină, zeaxantină, canthaxantină, astaxantină, licopen, β -caroten și trans- β -apo-8'-carotenal) în extractele de gălbenuș de ou, cu o bună sensibilitate, precizie și reproductibilitate. Metoda oferă o bună rezoluție a analiților cu un timp de analiză relativ scurt (35 min). În experimentele ce au urmat, metoda dezvoltată a permis studiul efectelor suplimentării dietei găinilor ouătoare cu subproduse de la procesarea tomatelor asupra conținutului de compuși carotenoidici din gălbenușul de ou;

→ Suplimentarea cu subproduse de tomate deshidratate la găini ouătoare la un nivel de încorporare de 7,5% a redus consumul zilnic de furaj, dar nu a afectat semnificativ producția de ouă și calitatea ouălor. Greutatea ouălor de la găini a căror dietă a fost suplimentată cu subproduse de tomate deshidratate a crescut comparativ cu cele de la grupul martor. După șase săptămâni, conținutul de carotenoide al gălbenușului de ou a crescut de 1,5 ori ca rezultat al suplimentării dietei găinilor cu subproduse de tomate deshidratate, în directă corelație cu îmbunătățirea culorii gălbenușului ilustrată prin creșterea scorului Roche de la 3,66 la 6,60;

→ Suplimentarea simultană a dietei găinilor ouătoare cu semințe de in și subproduse de tomate deshidratate a dus la obținerea așa numitelor "ouă de designer", îmbogățite atât în acizi grași polinesaturați n-3 cât și în carotenoide. Suplimentarea cu 5% semințe de in și 7,5% subproduse de tomate deshidratate a determinat scăderea consumului de furaj zilnic dar nu a afectat valorile medii ale greutateii oului și componentelor acestuia (albuș, gălbenuș și coajă). Furajele combinate suplimentate cu semințe de in sunt foarte susceptibile la oxidare dar adăugarea de subproduse de tomate a limitat deteriorarea oxidativă a acestora;

→ Creșterea aportului de subproduse de tomate deshidratate (DTW) în dietă a condus la creșterea scorului de culoare al gălbenușului în corelație directă cu îmbogățirea gălbenușului de ou în carotenoide, dar a scăzut eficiența transferului acestora de la furaj la ou. După 4 săptămâni, gălbenușul de ou de la găini hrănite cu dieta suplimentată cu 5% semințe de in și 7,5% subproduse de tomate deshidratate a avut niveluri crescute de luteină și zeaxantină (cu 29% și respectiv 24%), iar scorul de culoare a fost de 3,5 ori mai mare comparativ cu cele din grupul martor. Ca urmare a suplimentării dietei găinilor cu semințe de in, conținutul de acizi grași n-3 a fost mai mare de 3,15-3,69 ori comparativ cu cel al grupului martor iar raportul n-6 / n-3 a scăzut de la 18,33 (martor) până la 4,13 (2,5% DTW), 4,99 (5% DTW) și respectiv 5,43 (7,5% DTW). Suplimentarea dietei găinilor cu subproduse de tomate deshidratate a redus oxidarea lipidelor ouălor îmbogățite cu n-3 PUFA prin suplimentarea dietei cu semințe de in, dar creșterea conținutului de subproduse de tomate deshidratate din dietă a deprimat absorbția și depunerea acizilor grași n-3 în gălbenușul de ou.

CAPITOLUL 12

CONTRIBUȚII ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A CERCETĂRIILOR

În baza rezultatelor experimentale originale obținute în teză se pot evidenția drept contribuții științifice următoarele:

→ Determinarea conținutului de substanțe nutritive și compuși biologic activi din subprodusele de la procesarea tomatelor în vederea dezvoltării de noi alternative pentru reciclarea acestui produs secundar valoros;

→ Evaluarea proprietăților nutritive, bioactive și antioxidante ale șrotului uscat de cătină în vederea promovării consumului și utilizării în industria alimentară a acestui produs secundar extrem de valoros;

→ Folosirea diferitelor uleiuri vegetale ca solvent alternativ de extracție a compușilor carotenoidici din subproduse ale procesării tomatelor pentru a obține uleiuri îmbogățite în carotenoide destinate a fi folosite în diverse aplicații alimentare. Au fost efectuate studii comparative între macerare, extracția asistată de ultrasunete și extracția asistată de microunde în ce privește eficacitatea extracției carotenoidelor din subproduse de la procesarea tomatelor, precum și asupra culorii, stabilității termice și oxidative a uleiurilor rezultate în urma extracțiilor;

→ Folosirea produselor secundare de la procesarea fructelor de cătină ca sursă de carotenoide naturale pentru îmbogățirea uleiurilor vegetale. Pentru extracția carotenoidelor direct în uleiuri au fost folosite macerarea și extracția cu ultrasunete. Uleiurile rezultate au fost caracterizate privind conținutul total de carotenoide, activitatea antioxidantă, culoarea, precum și stabilitatea termică și oxidativă;

→ Dezvoltarea și validarea unei metode HPLC pentru determinarea simultană a compușilor carotenoidici din gălbenușul de ou;

→ Realizarea de ouă îmbogățite în carotenoide prin suplimentarea dietei găinilor ouătoare cu subproduse de la procesarea tomatelor deshidratate;

→ Evaluarea efectelor includerii simultane a semințelor de in și a subproduselor de tomate (coji+semințe) deshidratate în dieta găinilor ouătoare, cu privire la performanța găinilor, caracteristicile de calitate ale ouălor, conținutul de carotenoide și acizi grași polinesaturați din gălbenuș și gradul de oxidare a furajelor și a lipidelor din gălbenuș;

→ Elaborarea și brevetarea unei rețete furajere pentru găini ouătoare, în vederea obținerii, pe cale naturală, de ouă cu valoare nutrițională îmbunătățită prin creșterea concentrațiilor de acizi grași polinesaturați n-3 și carotenoide din gălbenuș față de ouăle convenționale;

→ Realizarea și brevetarea ouălor de găină cu compoziție sinergică ("ouă de designer") având un conținut ridicat de acizi grași n-3 și compuși carotenoidici antioxidanți în gălbenuș, care pot fi produse în mod stabil prin hrănirea găinilor ouătoare cu un furaj tradițional pentru găini ouătoare suplimentat cu semințe de in bogate în acizi grași n-3 și subproduse de la procesarea tomatelor (coji+semințe) care conțin carotenoide în concentrații ridicate. Conținutul ridicat de carotenoide exercită un efect antioxidant, reducând oxidarea acizilor grași n-3 și oferind organismului uman un aport antioxidant suplimentar.

Rezultatele obținute pot fi punctul de plecare în vederea continuării cercetărilor cu privire la transformarea subproduselor și deșeurilor de la procesarea tomatelor și cătinei în produse cu o valoare mai mare și la îmbunătățirea gestionării acestora.

CAPITOLUL 13

DISEMINAREA REZULTATELOR CERCETĂRIILOR EFECTUATE PE TEMATICA TEZEI DE DOCTORAT

Publicații în reviste cotate ISI

1. Nour V., Corbu A.R., Rotaru P., Karageorgou I., Lalas S. 2018. Effect of carotenoids, extracted from dry tomato waste, on the stability and characteristics of various vegetable oils. *Grasas y Aceites*, 69 (1), e238, ISSN-L: 0017-3495, <https://doi.org/10.3989/gya.0994171> (IF=0.891)
2. Nour V., Panaite D.T., Ropota M., Turcu R., Trandafir I., Corbu R.A. 2018. Nutritional and bioactive compounds in dried tomato processing waste, *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 222-229 <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1383514> <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2017.1383514> (IF=1,371)
3. Corbu A.R., Rotaru A., Nour V. 2019. Edible vegetable oils enriched with carotenoids extracted from by-products of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis*): the investigation of some characteristic properties, oxidative stability and the effect on thermal behavior. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. DOI:10.1007/s10973-019-08875-5 (IF=2,471)
4. Panaite T.D., Nour V., Vlaicu P.A., Ropota M., Corbu A.R., Saracila M. 2019. Flaxseed and dried tomato waste used together in laying hens diet. *Archives of Animal Nutrition*, 73(3), 222-238, <https://doi.org/10.1080/1745039X.2019.1586500> <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/1745039X.2019.1586500> (IF=1,887)

Publicații în volume indexate Web of Science / ISI Proceedings

1. Nour V., Panaite T.D., Vlaicu P.A., Corbu A.R. 2018. Responses of laying hens to the simultaneous dietary supplementation with flaxseed and dried tomato by-products. *Journal of Biotechnology* 280, S57. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165618303626>
2. Panaite T.D., Criste R., Nour V., Saracila M., Vlaicu P.A., Ropota M., Corbu A.R. 2018. Effect of carotenoids on egg yolk fat lipid peroxidation. *Journal of Biotechnology* 280, S54. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165618303493>
3. Nour V., Panaite T.D., Corbu A.R., Vlaicu P.A. 2017. Yolk colour and carotenoid composition of the eggs produced by laying hens fed diets containing tomato processing waste. *SGEM International Multidisciplinary Scientific GeoConference*, 27-30 November, 2017, Viena, Austria. Conference Proceedings, ISSN 1314-2704. <https://www.sgem.org/index.php/elibrary?view=publication&task=show&id=4684>
4. Nour V., Tuțulescu F., Ionica M.E., Corbu A. R. 2017. Dough rheology and properties of gluten-free rice breads as affected by addition of hydrocolloids and emulsifiers. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 9(4), 158-166. [http://chimie-biologie.ubm.ro/carpathian_journal/Vol_9\(4\)_2017.pdf](http://chimie-biologie.ubm.ro/carpathian_journal/Vol_9(4)_2017.pdf)

5. Panaite T., Ropota M., Turcu R., Olteanu M., Corbu A.R., Nour V. 2017. Flaxseeds: Nutritional Potential and Bioactive Compounds. *Bulletin UASVM Food Science and Technology* 74(2), 65-73.

<http://journals.usamvcluj.ro/index.php/fst/article/view/12762/pdf>

Articole/studii publicate în reviste indexate in baze de date internationale BDI

1. Corbu A.R., Nour V. 2017. Development and evaluation of a reverse-phase HPLC method for the analysis of carotenoids in egg yolk. *Analele Universității din Craiova, seria Biologie, Horticultură, Tehnologia Prelucrării Produselor Agricole, Ingineria Mediului*, vol. XXII (LVIII), 81-88.

http://horticultura.ucv.ro/horticultura/sites/default/files/horticultura/Reviste/Analele/2017/anale2017_sectiuneai_pp_1_340.pdf

Articole comunicate la sesiuni științifice internaționale

1. Nour V., Panaite T.D., Vlaicu P.A., Corbu A.R. 2018. Responses of laying hens to the simultaneous dietary supplementation with flaxseed and dried tomato by-products. *European Biotechnology Congress, Athens, Greece 24-28th of April 2018.*

2. Panaite T.D., Criste R., Nour V., Saracila M., Vlaicu P.A., Ropota M., Corbu A.R. 2018. Effect of carotenoids on egg yolk fat lipid peroxidation. *European Biotechnology Congress, Athens, Greece 24-28th of April 2018.*

3. Nour V., Panaite T.D., Corbu A.R., Vlaicu P.A. 2017. Yolk colour and carotenoid composition of the eggs produced by laying hens fed diets containing tomato processing waste. *SGEM International Multidisciplinary Scientific GeoConference, 27-30 November, 2017, Viena, Austria.*

<https://www.sgem.org/sgemlib/spip.php?article11262>

Articole comunicate la sesiuni științifice naționale

1. Corbu A.R., Nour V. 2018. Enrichment of edible vegetable oils with carotenoids by extraction from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis*) by-products. *Scientific Conference of Doctoral Schools. SCDS-UDJG 2018, The Sixth Edition, Galați, 7th-8th of June 2018.*

<http://www.cssd-udjg.ugal.ro/index.php/2018>

2. Corbu A.R., Lazăr N., Nour V. 2018. Efectul carotenoizilor extrași din subproduse de la procesarea cătinei asupra stabilității oxidative și culorii unor uleiuri vegetale. *Conferința Națională Studentească Provocări și oportunități privind valorificarea deșeurilor agro-alimentare, 17-18 mai 2018, Universitatea "Lucian Blaga" din Sibiu*

http://saiapm.ulbsibiu.ro/wp-content/uploads/2018/05/Programul_CNSD_2018.pdf

3. Corbu A.R., Nour V. 2019. Nutritional and bioactive compounds in dried sea-buckthorn pomace. *Scientific Conference of Doctoral Schools. SCDS-UDJG 2020, The 7th Edition, Galați, 13th-14th of June 2019.*

<http://www.cssd-udjg.ugal.ro/index.php/2019/programme-2019>

4. Corbu A.R., Panaite T.D., Sărăcilă M., Nour V. 2020. Yolk colour and carotenoid composition of the eggs produced by laying hens fed diets supplemented with dried sea-buckthorn pomace. *Scientific Conference of Doctoral Schools. SCDS-UDJG 2020, The 8th Edition, Galați, 18th-19th of June 2020.*

<http://www.cssd-udjg.ugal.ro/index.php/programme-2020>

BIBLIOGRAFIE

- [1]. Kosseva, M. R. (2011). Management and processing of food wastes. In: *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences Comprehensive Biotechnology*, second ed., pp. 557–593.
- [2]. Larrauri, J. A. (1999). New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. *Trends in Food Science & Technology*, 10(1), 3-8.
- [3]. Technologico, G. C. (2004). Handbook for the Prevention and Minimization of Waste and Valorisation of By-products in European Agro-food Industries.
- [4]. Ayala-Zavala, J., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J. A., Siddiqui, M. W., ... & González-Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7), 1866-1874.
- [5]. Grigoras, C. G., Destandau, E., Lazar, G., & Elfakir, C. (2012). Bioactive compounds extraction from pomace of four apple varieties. *Journal of Engineering Studies and Research*, 18(1), 96-103.
- [6]. Górnaś, P., Rudzińska, M., Raczyk, M., & Soliven, A. (2016). Lipophilic bioactive compounds in the oils recovered from cereal by-products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(9), 3256-3265.
- [7]. Shalini, R., & Gupta, D. K. (2010). Utilization of pomace from apple processing industries: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(4), 365-371.
- [8]. FAOSTAT database (2015). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>.
- [9]. Knoblich, M., Anderson, B., & Latshaw, D. (2005). Analyses of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7), 1166-1170.
- [10]. Al-Weshahy, A., El-Nokety, M., Bakhete, M., & Rao, V. (2013). Effect of storage on antioxidant activity of freeze-dried potato peels. *Food Research International*, 50(2), 507-512
- [11]. Jun, X. (2006). Application of high hydrostatic pressure processing of food to extracting lycopene from tomato paste waste. *High Pressure Research*, 26(1), 33-41.
- [12]. Choudhari, S. M., & Ananthanarayan, L. (2007). Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. *Food Chemistry*, 102(1), 77-81.
- [13]. Lavecchia, R., & Zuurro, A. (2008). Improved lycopene extraction from tomato peels using cell-wall degrading enzymes. *European Food Research and Technology*, 228(1), 153.
- [14]. Papaioannou, E. H., & Karabelas, A. J. (2012). Lycopene recovery from tomato peel under mild conditions assisted by enzymatic pre-treatment and non-ionic surfactants. *Acta Biochimica Polonica*, 59(1), 71-74.
- [15]. Baysal, T., Ersus, S., & Starmans, D. A. J. (2000). Supercritical CO₂ extraction of β-carotene and lycopene from tomato paste waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5507-5511.

- [16]. Topal, U., Sasaki, M., Goto, M., & Hayakawa, K. (2006). Extraction of lycopene from tomato skin with supercritical carbon dioxide: effect of operating conditions and solubility analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(15), 5604-5610.
- [17]. Salta, F. N., Mylona, A., Chiou, A., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. K. (2007). Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science and Technology International*, 13(6), 413-421.
- [18]. Tsaknis, J., & Lalas, S. (2005). Extraction and identification of natural antioxidant from *Sideritis euboea* (mountain tea). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(16), 6375-6381.
- [19]. Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145-171.
- [20]. Beveridge, T., Li, T. S., Oomah, B. D., & Smith, A. (1999). Sea buckthorn products: manufacture and composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9), 3480-3488.
- [21]. Mironov, V. A. (1989, October). Chemical composition of *Hippophae rhamnoides* of different populations of the USSR. In *Proceedings of International Symposium on sea buckthorn* (pp. 80-87).
- [22]. Yang, B., & Kallio, H. (2002). Composition and physiological effects of sea buckthorn (*Hippophae*) lipids. *Trends in Food Science & Technology*, 13(5), 160-167.
- [23]. Schroeder, W. R., & Yao, Y. (1995). *Sea buckthorn: A promising multipurpose crop for Saskatchewan*. PFRA Shelterbelt Centre.
- [24]. Dharmananda, S. (2004). *Sea buckthorn*, Institute of Traditional Medicine, Portland, Oregon.
- [25]. Rösch, D., Krumbein, A., & Kroh, L. W. (2004). Antioxidant gallic catechins, dimeric and trimeric proanthocyanidins from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) pomace. *European Food Research and Technology*, 219(6), 605-613.
- [26]. Khiari, Z., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2009). An investigation on the recovery of antioxidant phenolics from onion solid wastes employing water/ethanol-based solvent systems. *Food and Bioprocess Technology*, 2(4), 337.
- [27]. Enser, M. (2001). The role of fats in human nutrition. In B. Rossell (Ed.), *Oils and fats. vol. 2. Animal carcass fats* (pp. 77-122). Leatherhead, Surrey, UK: Leatherhead Publishing. ISBN 0905748743.
- [28]. Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56(8), 365-379.
- [29]. Kris-Etherton, P. M., Harris, W. S., & Appel, L. J.; American Heart Association Nutrition Committee. (2002). Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*, 106(21), 2747-2757.
- [30]. Chérif, J. K., Jémai, S., Rahal, N. B., Jrad, A., & Trabelsi-Ayadi, M. (2010). Study of antioxidant content and antiradical capacity of fresh and industrial waste of Tunisian tomato. Valorization of Tunisian tomato in bioactive molecules. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products*, 4, 116-125.
- [31]. Slimestad, R., & Verheul, M. J. (2009). Review of flavonoids and other phenolics from fruits of different tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 1255-1270.
- [32]. Zeb, A. (2004a). Chemical and nutritional constituents of sea buckthorn juice. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(2), 99-106.

- [33]. Suryakumar, G., & Gupta, A. (2011). Medicinal and therapeutic potential of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 138(2), 268-278.
- [34]. Zadernowski, R., Naczki, M., & Amarowicz, R. (2003). Tocopherols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berry oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(1), 55-58.
- [35]. Eccleston, C., Baoru, Y., Tahvonen, R., Kallio, H., Rimbach, G. H., & Minihane, A. M. (2002). Effects of an antioxidant-rich juice (sea buckthorn) on risk factors for coronary heart disease in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(6), 346-354.
- [36]. Dulf, F. V. (2012). Fatty acids in berry lipids of six sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L., subspecies *carpatica*) cultivars grown in Romania. *Chemistry Central Journal*, 6(1), 106.
- [37]. Rösch, D., Bergmann, M., Knorr, D., & Kroh, L. W. (2003). Structure – antioxidant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to the antioxidant activity of sea buckthorn juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(15), 4233-4239.
- [38]. Radenkova, V., Püssa, T., Juhneva-Radenkova, K., Anton, D., & Seglina, D. (2018). Phytochemical characterization and antimicrobial evaluation of young leaf/shoot and press cake extracts from *Hippophae rhamnoides* L. *Food Bioscience*, 24, 56-66.
- [39]. Li, T. S., Beveridge, T. H., & Oomah, B. D. (2003). Nutritional and medicinal values. *Sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.): Production and utilization*, 101-108.
- [40]. Nuernberg, K., Nuernberg, G., Priepke, A., & Dannenberger, D. (2015). Sea buckthorn pomace supplementation in the finishing diets of pigs-are there effects on meat quality and muscle fatty acids? *Archiv fuer Tierzucht*, 58(1), 107.
- [41]. Baum, S. J., Kris-Etherton, P. M., Willett, W. C., Lichtenstein, A. H., Rudel, L. L., Maki, K. C., ... & Block, R. C. (2012). Fatty acids in cardiovascular health and disease: a comprehensive update. *Journal of Clinical Lipidology*, 6(3), 216-234.
- [42]. Miura, K., Stamler, J., Brown, I. J., Ueshima, H., Nakagawa, H., Sakurai, M., ... & Curb, J. D. (2013). Relationship of dietary monounsaturated fatty acids to blood pressure: the International Study of Macro/Micronutrients and Blood Pressure. *Journal of Hypertension*, 31(6), 1144.
- [43]. Arif, S., Ahmed, S. D., Shah, A. H., Hassan, L., Awan, S. I., Hamid, A., & Batool, F. (2010). Determination of optimum harvesting time for Vitamin C, oil and mineral elements in berries sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*). *Pakistan Journal of Botany*, 42(5), 3561-3568.
- [44]. Bal, L. M., Meda, V., Naik, S. N., & Satya, S. (2011). Sea buckthorn berries: A potential source of valuable nutrients for nutraceuticals and cosmoceuticals. *Food Research International*, 44(7), 1718-1727.
- [45]. Sabir, S. M., Maqsood, H., Ahmed, S. D., Shah, A. H., & Khan, M. Q. (2005). Chemical and nutritional constituents of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica*) berries from Pakistan. *Italian Journal of Food Science* 17, 455-462.
- [46]. Teleszko, M., Wojdyło, A., Rudzińska, M., Oszmiański, J., & Golis, T. (2015). Analysis of lipophilic and hydrophilic bioactive compounds content in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(16), 4120-4129.

- [47]. Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Björk, L., & Trajkovski, V. (2000). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1485-1490.
- [48]. Benakmoum, A., Abbeddou, S., Ammouche, A., Kefalas, P., & Gerasopoulos, D. (2008). Valorisation of low quality edible oil with tomato peel waste. *Food Chemistry*, 110(3), 684-690.
- [49]. Krinsky, N. I. (1993). Actions of carotenoids in biological systems. *Annual Review of Nutrition*, 13(1), 561-587.
- [50]. Shixian, Q., Dai, Y., Kakuda, Y., Shi, J., Mittal, G., Yeung, D., & Jiang, Y. (2005). Synergistic anti-oxidative effects of lycopene with other bioactive compounds. *Food Reviews International*, 21(3), 295-311.
- [51]. Lalas, S., Gortzi, O., Tsaknis, J., & Sflomos, K. (2007). Irradiation effect on oxidative condition and tocopherol content of vegetable oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(6), 533-540.
- [52]. Nour, V., Corbu, A. R., Rotaru, P., Karageorgou, I., & Lalas, S. (2018). Effect of carotenoids, extracted from dry tomato waste, on the stability and characteristics of various vegetable oils. *Grasas y Aceites*, 69(1), e238.
- [53]. Applegate, E. (2000). Introduction: nutritional and functional roles of eggs in the diet. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(sup5), 495S-498S.
- [54]. Chung, H. Y., Rasmussen, H. M., & Johnson, E. J. (2004). Lutein bioavailability is higher from lutein-enriched eggs than from supplements and spinach in men. *The Journal of Nutrition*, 134(8), 1887-1893.
- [55]. Sahin, N., Akdemir, F., Orhan, C., Kucuk, O., Hayirli, A., & Sahin, K. (2008). Lycopene-enriched quail egg as functional food for humans. *Food Research International*, 41(3), 295-300.
- [56]. Akdemir, F., Orhan, C., Sahin, N., Sahin, K., & Hayirli, A. (2012). Tomato powder in laying hen diets: effects on concentrations of yolk carotenoids and lipid peroxidation. *British Poultry Science*, 53(5), 675-680.
- [57]. Hencken, H. (1992). Chemical and physiological behavior of feed carotenoids and their effects on pigmentation. *Poultry Science*, 71(4), 711-717.
- [58]. Blount, J. D., Surai, P. F., Houston, D. C., & Møller, A. P. (2002). Patterns of yolk enrichment with dietary carotenoids in gulls: the roles of pigment acquisition and utilization. *Functional Ecology*, 16(4), 445-453.
- [59]. Englmaierová, M., Skrivan, M., & Bubancová, I. (2013). A comparison of lutein, spray-dried Chlorella, and synthetic carotenoids effects on yolk colour, oxidative stability, and reproductive performance of laying hens. *Czech Journal of Animal Science*, 58(9), 412-419.
- [60]. Benakmoum, A., Larid, R., & Zidani, S. (2013, January). Enriching egg yolk with carotenoids & phenols. In *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology* (No. 79, p. 172). World Academy of Science, Engineering and Technology (WASET).
- [61]. Karadas, F., Grammenidis, E., Surai, P. F., Acamovic, T., & Sparks, N. H. C. (2006). Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. *British Poultry Science*, 47(5), 561-566.

- [62]. Corbu, A.R., Nour, V., 2017. Development and evaluation of a reverse-phase HPLC method for the analysis of carotenoids in egg yolk. *Ann. Univ. Craiova, Biol. Hort. Food Tech. Env. Eng. Ser. 22*, 81-88.
- [63]. Alagawany, M., Farag, M. R., Dhama, K., & Patra, A. (2018). Nutritional significance and health benefits of designer eggs. *World's Poultry Science Journal*, 74(2), 317-330.
- [64]. Surai, P. F., & Sparks, N. H. C. (2001). Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. *Trends in Food Science & Technology*, 12(1), 7-16.
- [65]. Galobart, J., Barroeta, A. C., Baucells, M. D., Cortinas, L., & Guardiola, F. (2001). α -Tocopherol transfer efficiency and lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with ω 3-polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science*, 80(10), 1496-1505.
- [66]. Meluzzi, A., Sirri, F., Manfreda, G., Tallarico, N., & Franchini, A. (2000). Effects of dietary vitamin E on the quality of table eggs enriched with n-3 long-chain fatty acids. *Poultry Science*, 79(4), 539-545.
- [67]. Young, A. J., & Lowe, G. M. (2001). Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385(1), 20-27.
- [68]. Galobart, J., Barroeta, A. C., Baucells, M. D., & Guardiola, F. (2001). Lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with ω 3 and ω 6 polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and canthaxanthin supplementation. *Poultry Science*, 80(3), 327-337.
- [69]. Hung, Y. T., Hanson, A. R., Shurson, G. C., & Urriola, P. E. (2017). Peroxidized lipids reduce growth performance of poultry and swine: a meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 231, 47-58.