

Rezumatul RAPORTULUI ȘTIINȚIFIC

Perioada de implementare: 1 ianuarie – 31 decembrie 2013

În etapa unică 2013 s-au realizat activități specifice obiectivelor propuse în cadrul proiectului PCE-2011-3-0474, evaluarea concentrației totale a antocianilor monomerici din plantele investigate, în stare proaspătă și în condiții de păstrare pe o perioadă determinată de timp (congelare, uscare), evaluarea *in vitro* a activității antimicrobiene a extractelor antocianice din plantele investigate, încorporarea extractelor antocianice în lipide nesaturate și evaluarea *in vitro* a potențialului de inhibare a proceselor de peroxidare, în scopul obținerii de produse alimentare cu calitate îmbunătățite, precum și diseminarea și evaluarea rezultatelor cercetării.

Caracterizarea (fizico-chimică, microbiologică) extractelor naturale

A fost realizată caracterizarea bioextractelor obținute, din punct de vedere microbiologic fiind conforme, iar din punct de vedere fizico-chimic fiind obținute următoarele caracteristici pentru varietățile de ceapă roșie, mure, cireșe și zmeură:

Probe	Ceapă roșie (<i>Allium cepa</i> L.)/regiuni de cultivare	Umiditate (g 100g ⁻¹)	pH	Antociani totali (mg 100g ⁻¹ FM)	Fenoli totali (mg GAE 100g ⁻¹ FM)
1	Turda	86.5	6.16	2.30	174.2
2	Turda	89.1	5.84	0.12	141.5
3	Turda	90.2	6.15	7.93	197.5
4	Făgăraș	90.4	5.99	2.36	159.2
5	Făgăraș	90.0	6.08	2.36	158.2
6	Făgăraș	87.0	6.18	1.35	<i>n.d.*</i>
7	Făgăraș	89.5	6.05	1.01	<i>n.d.*</i>
8	Buzău	90.1	6.00	2.05	147.5
9	Drăgășani	90.0	6.15	6.19	185.7
10	Sibiu	14.9	3.80	99.66	1345.74

Probe	Caracterizare fizico-chimică				Solvenți extracție	pH
mure cv. Thornfree (<i>Rubus fruticosus</i> L.)	Umiditate (%)	TSS (°Brix)	Indice refracție (n)	Fenoli totali (mg GAE 100g ⁻¹ FM)	0.1 % HCl in 60 % EtOH (v/v)	2.17
cireșe cv. Black Gold (<i>Prunus avium</i> L.)	78.9	19.4	1.3621	184.85	0.1 % HCl in 60 % EtOH (v/v)	1.72

Probe	Caracterizare fizico-chimică					
	Umiditate (%)	TSS (°Brix)	Indice refracție (n)	Fenoli totali (mg GAE 100g ⁻¹ FM)	Antociani totali (mg 100g ⁻¹ FM)	
Zmeură (<i>Rubus idaeus</i> L.)	De pădure	86.1	11.7	1.3495	340.00	71.26
	De grădină	87.6	10.9	1.3495	198.00	41.52
	De grădină	88.2	7.7	1.3445	215.00	40.84
	cv. Latham	84.4	10.8	1.3483	189.71	27.03
	cv. Heritage	82.7	11.2	1.3489	164.76	24.53

Bioextractele au fost analizate pentru studiul profilului antocianic și cu ajutorul spectrometriei de masă, rezultatele fiind comparate pentru probele provenind din surse biologice diferite (selectiv Fig. 1).

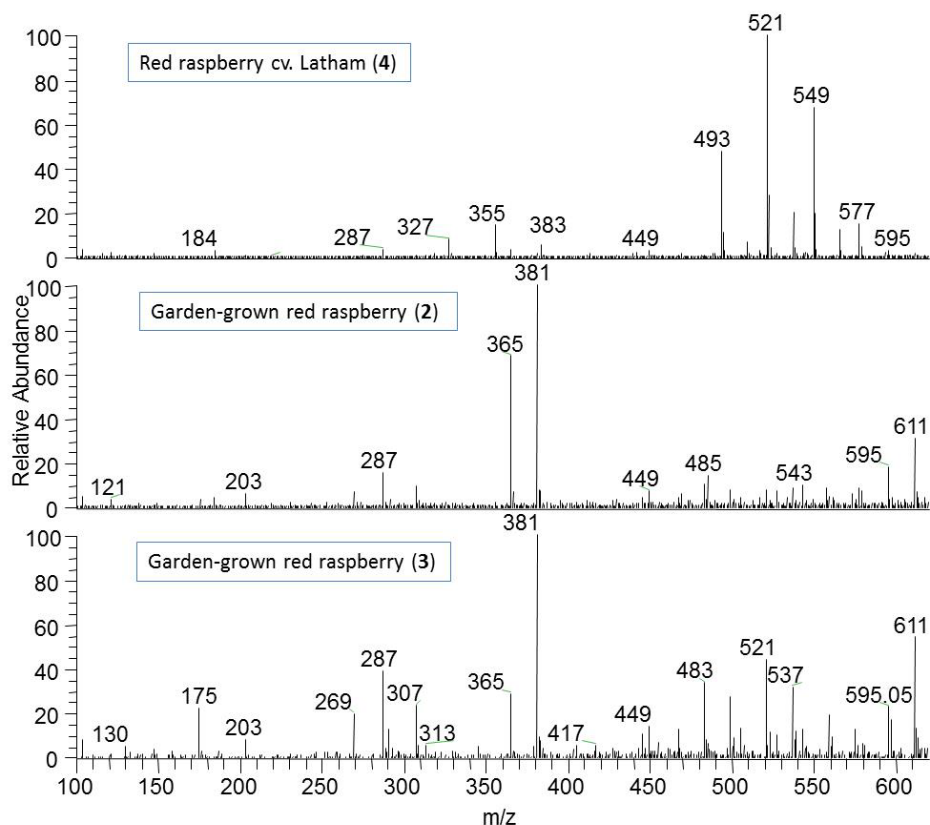


Fig. 1. Profilul antociani comparativ prin ESI/MS a extractelor antocianice din zmeură.

Evaluarea nivelului antocianic a extractelor relevante după conservarea materiei prime pe o perioadă determinată de timp (congelare, uscare)

Rezultatele obținute în acest sens au arătat o bună conservare a conținutului de antociani în zmeura de pădure, în timp ce probele prelevate din grădină au înregistrat o scădere de 7-24% în acești pigmenți; speciile cultivate au avut o scădere de 47 – 69% după conservare la – 18°C (Fig. 2).

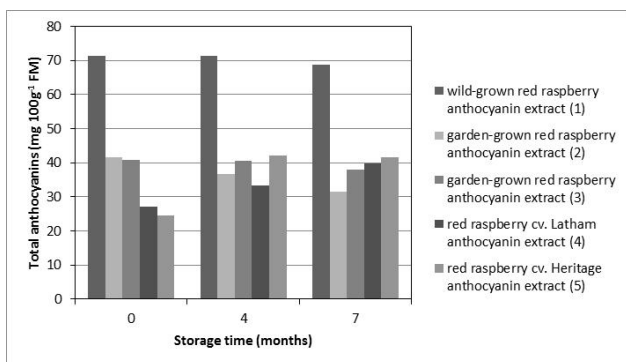


Fig. 2. Conținut antociani din *Rubus idaeus* L. după congelare 7 luni.

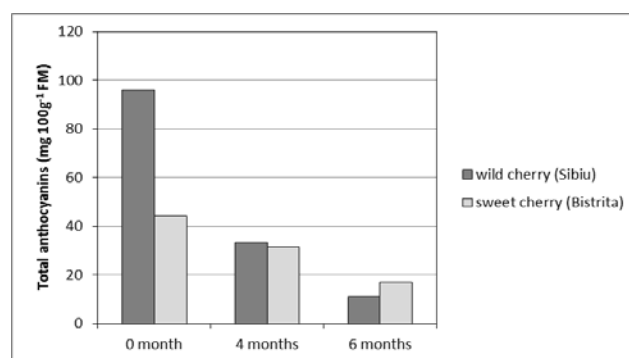


Fig. 3. Conținut antociani din cireșe (*Prunus avium* L.) după congelare 6 luni.

Cireșele au prezentat o stabilitate scăzută în timp prin congelare, din punct de vedere al conținutului de antociani, acesta scăzând drastic la 88.5% în cazul cireșelor amare și la 61.5% în cazul cireșelor cv. Aur Negru din valoarea inițială, după 6 luni. În cazul murelor, s-au obținut rezultate similare privind conținutul de antociani totali, în funcție de specie prin congelare la – 18°C până la 6 luni.

De asemenea, a fost studiat efectul uscării materiei prime (prin încălzire la etuvă și metode rapide cu radiații infraroșii) asupra conținutului de antociani. În cazul probelor de zmeură, s-a studiat un interval de timp de 0-13 ore și temperaturi de uscare de 60°C și 80°C. Rezultatele au arătat că în primele 5 ore de uscare la etuvă nu se produc modificări drastice în conținutul de antociani la 60 °C și 80 °C, dar o perioadă îndelungată de uscare afectează puternic conținutul de antociani (45% pierdere după 7 ore de uscare a fructelor). Rezultatele privind încălzirea cu radiații IR au arătat o scădere cu 38% a conținutului de antociani prin uscare la 60°C și o scădere de 20% la 80 °C. Acestea indică generarea unor reacții chimice care accelerează degradarea antocianilor, investigații ulterioare fiind necesare pentru stabilirea mecanismului de acțiune. Calitatea fructelor uscate din punct de vedere nutrițional precum și aspectele economice (consum energetic) sunt factori importanți pentru decizia aplicațiilor industriale a diferitelor tehnologii de uscare, convenționale sau moderne. În cazul probelor de mure, conținutul de antociani prezintă variații mari prin uscare la etuvă la 60°C înregistrând o creștere inițială de 18.5% și finală de 1.5% față de inițial, ceea ce sugerează apariția unor reacții chimice de formare a unor co-pigmenți, în timp ce la 80°C se poate spune că există o scădere constantă a conținutului de antociani de la 2-6 ore. În cazul probelor de cireșe, se constată o creștere inițială a conținutului de antociani (19-26%) prin uscare la 60°C, 70°C și respectiv 80°C, după care urmează o scădere constantă de 3.7% la 60°C, de 55.5% la 70°C și de 74% la 80°C după 8 ore. Prin uscare cu radiații IR, după o creștere inițială în primele 4 ore a conținutului de antociani la temperaturi ridicate (70°C, 80°C), conținutul de antociani ajunge la 48-59% din valoarea inițială după 8 ore de uscare, prezentând variații foarte mari pe tot parcursul procesului de uscare.

Selectarea și izolarea tulpinilor microbiene suspuse investigației. Evaluarea activității antimicrobiene a extractelor naturale.

Studiile noastre au urmărit evaluarea capacității antioxidante totale (FRAP) și a activității antimicrobiene *in vitro* pentru 11 probe de extracte antocianice din plante de pădure și cultivate. Cea mai ridicată activitate antioxidantă a fost dovedită de murele și afinele de pădure (26.95 mg ascorbic acid g⁻¹ s.u., respectiv 18.00 mg ascorbic acid g⁻¹ s.u.). Rezultatele activității antimicrobiene determinate prin metoda difuzimetrică pe bacterii Gram-pozitive, Gram-negative și *Candida albicans* au arătat o inhibiție a creșterii *Bacillus cereus* sub acțiunea extractului din afine, în timp ce extractul din ceapă roșie a arătat activitate antimicrobiană bună față de *Streptococcus pyogenes*.

Testarea potențialului de inhibare a peroxidării lipidelor nesaturate îmbogățite cu extracte antocianice.

Ca urmare a tendințelor de înlocuire a antioxidanților sintetici pe piața aditivilor, am investigat potențialul antioxidant al unor extracte antocianice pentru stabilizarea oxidativă a unor uleiuri alimentare sau dietetice. Astfel au fost evaluate sisteme micelare obținute prin adaos de extract antocianic din afine de pădure în uleiul de cod. Rezultatele obținute au dovedit o foarte bună eficiență a acestui extract, prin comparație cu vitamina E și proba control. Inhibarea formării peroxidizilor în uleiul de cod a crescut de la 20 la 50.7% în cazul adaosului extractului antocianic și de la 3 la 30.4% în cazul adaosului unui amestec de tocoferoli, în primele 4 zile, la 30°C. Prin păstrarea probelor timp de 42 de zile la 15-17°C, s-a observat de asemenea o îmbunătățire a stabilității oxidative. Rezultate similare au fost obținute cu extractul antocianic de ceapă roșie pentru stabilizarea uleiului de floarea-soarelui, prin evaluarea indicelui de peroxid și a substanțelor reactive ale acidului tiobarbituric (TBARS) la 40°C.

De asemenea, în această perioadă s-au efectuat și cercetări experimentale aplicative textile cu extractul natural din ceapă roșie. Astfel, au fost realizate teste experimentale de vopsire cu extracte antocianice obținute din ceapă roșie *Allium cepa* pe suporturi textile din fibre de in și in funcționalizat, urmărindu-se stabilizarea procesului tinctorial. Pregătirea suportului textil s-a făcut folosind procedeul de grefare cu un derivat al ciclodextrinei, iar vopsirea prin epuizare cu extract natural a fost realizată la două concentrații diferite 1-2% raportate la materialul textil, la un hidromodul de 1:30, folosind temperaturi până la 80⁰ C. Morfologia suprafeței a fost caracterizată prin microscopie SEM (Fig. 4), structura chimică prin spectroscopie FTIR, acestea fiind completate cu coordonatele coloristice și rezistențele vopsirilor la spălare și frecare. Pentru probele supuse experimentărilor sunt relevante rezultatele privind potențialul de vopsire a extractului natural, dar și rezistența și intensitatea culorii

realizată prin pre-tratarea cu un compus de incluziune a materialului textil. Suprafața fibrelor tratate cu ciclodextrină și vopsite natural este mai fină decât a fibrelor netratate. Datorită procesului de incluziune a colorantului în molecula de ciclodextrină, spectrele în IR dovedesc o semnificativă deplasare a benzii de la 530 cm^{-1} la 890 cm^{-1} . Spectrele FTIR ale coloranților antocianici prezintă benzi intense, la 3400 cm^{-1} (gruparea hidroxil) și la 1710 cm^{-1} (gruparea carbonil). Rezultatele arată că, vopsirile sunt mai rezistente în cazul folosirii extractului de ceapă ca agent de vopsire la concentrații mai mari, de asemenea funcționalizarea prealabilă cu ciclodextrină a suportului textil din in conduce în mod semnificativ la creșterea și stabilizarea culorii.

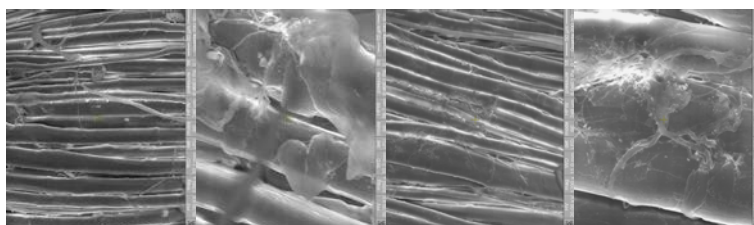


Fig. 4. Imagini SEM ale probelor de in vopsite cu 1% extract antocianic de ceapă roșie.

Măsurătorile de culoare și rezistența vopsirilor cu extract antocianic din frunze de ceapă roșie

Proba	L*	a*	b*	C*	H*	ΔE^*	Rezistența la spălare	Rezistența la frecare
In netratat	92.57	-0.45	4.12	4.14	96.29	-	3	3
In/ciclodextrină	88.08	0.03	6.55	6.55	89.77	5.13	3-4	3-4
1	56.88	15.42	13.17	20.28	40.48	3.86	5	5
2	40.78	21.51	11.09	24.20	27.28	56.69	3-4	4-5
3	62.84	13.27	15.41	20.34	49.28	18.19	4-5	3-4
4	56.29	15.88	13.04	20.55	39.39	40.78	3-4	3-4

Diseminarea și evaluarea rezultatelor cercetării. Valorificarea rezultatelor obținute prin publicarea de articole, participarea la manifestări științifice.

Din rezultatele obținute în această perioadă au fost *publicate/acceptate spre publicare*:

- 5 articole în reviste cotate ISI cu un factor de impact cumulat = 2.989 și un scor relativ de influență cumulat de 1.6118,
- 1 articol în *evaluare* în revista cotate ISI
- 3 articole în reviste indexate BDI,
- 1 propunere de brevet înregistrată la OSIM București,
- 10 lucrări prezentate la Conferințe internaționale din țară și străinătate.

Formare de tineri cercetători: au fost dezvoltate 3 lucrări de licență în domeniu, 1 masterand a fost implicat în activități de documentare și experimentare, studenții au prezentat 4 lucrări în domeniu la Sesiunile studențești.

Director proiect,
prof. univ. dr. OANCEA Simona