

RAPORTUL ȘTIINȚIFIC SINTETIC

Perioada de implementare: 1 aprilie 2012 – 31 decembrie 2016

Scopul principal al proiectului este valorificarea unor resurse vegetale autohtone pentru extracția de antociani, evaluarea cantitativă a acestor substanțe fitochimice din anumite specii (screening primar pentru susținerea plantelor alimentare din arealul românesc) și aplicarea bioextractelor active în scopul multifuncționalității adăugate unui supliment alimentar – uleiuri (creșterea contribuției în prevenirea unor boli majore ale populației) supus investigării potențialului antioxidant *in vitro*. În acest context, proiectul are ca scop și promovarea cercetării pentru obținerea unor preparate cu potențial eco-sanogen și potențiala înlocuire a coloranților sintetici care au demonstrat anumite efecte toxice sau alergice la om. Obiectivele specifice ale proiectului sunt: Determinarea condițiilor optime de extracție a antocianilor din 4 tipuri de materii prime vegetale; Evaluarea concentrației totale a antocianilor monomerici din plantele investigate, în stare proaspătă și în condiții de păstrare pe o perioadă determinată de timp (congelare, uscarea) și de procesare (gemuri din fructe); Evaluarea *in vitro* a activității antimicrobiene a extractelor antocianice din plantele investigate (valorificarea plantelor superioare ca noi surse de agenți antimicrobieni); Incorporarea extractelor antocianice în uleiuri alimentare sau considerate dietetice și evaluarea *in vitro* a potențialului de inhibare a proceselor de peroxidare, în scopul obținerii de produse alimentare cu calitate îmbunătățite; Aplicarea extractelor naturale de pigmenți antocianici în vopsirea unor materiale textile, în contextul noilor cerințe ecologice inclusiv de eco-compatibilizare a apelor uzate textile, ca alternativă la utilizarea coloranților sintetici; Diseminarea și evaluarea rezultatelor cercetării.

Aceste obiective cuprinzând activități specifice au fost atinse în totalitate pe toată durata de implementare a proiectului, care s-a derulat pe mai multe etape. Implementarea a debutat cu realizarea *etapei de documentare și analiză tehnico-științifică* în domeniu. Proiectul a continuat cu *etapa premergătoare analizelor de laborator (achiziții, standard de lucru)*, apoi *etapa de realizare a activităților de cercetare și experimentare propriu-zisă în laborator*, în cadrul căreia s-a stabilit inițial metodologia și timpul de realizare pentru fiecare lucrare în parte. Pe tot parcursul proiectului s-a realizat *etapa de diseminare* a rezultatelor cercetării, necesară pentru intensificarea colaborării și încurajarea interdisciplinarității (biochimie-mediu-știința alimentelor-sănătate) necesare asigurării sustenabilității proiectului.

Antocianii sunt biomolecule considerate printre cele mai active din punct de vedere al efectelor fiziologice și biologice, manifestând astfel proprietăți nutraceutice.

În etapa unică 2012 s-a realizat identificarea, selectarea și prelevarea probelor vegetale, precum și extracția în condiții optime a pigmenților antocianici și determinarea conținutului total de antociani monomerici din probele investigate. Prin interpretarea rezultatelor și corelarea tuturor materialelor documentare studiate, actualizate și prin sinteza tuturor aspectelor moderne privind rolul antioxidantilor, distribuția antocianilor, conținutul în diferite plante, biosinteza, aspectele analitice, rolul biologic și potențialele aplicații ale acestor molecule bioactive (antioxidanți naturali vs. antioxidanți sintetici, vopsiri textile) în această etapă au fost elaborate lucrări publicate/prezentate la manifestări științifice naționale și internaționale.

S-au supus investigărilor analitice și studiilor preliminare probe de afine (*Vaccinium* spp.), coacăze negre și roșii (*Ribes* sp.), păducel (*Crataegus* sp.) și varietăți din patru plante alimentare, prezente în arealul românesc.

S-a investigat extracția antocianilor atât prin metode convenționale (macerare) cât și neconvenționale (cu ultrasunete) pentru obținerea unui nivel cât mai ridicat de antociani. Extractele obținute conform tehnologiei extractive stabilite au fost analizate pentru determinarea conținutului total de antociani monomerici (TA) prin metode validate spectrofotometrice – metoda pH diferențială care este o metodă rapidă, nu necesită hidroliza prealabilă a materiei prime, fiind adoptată de numeroase laboratoare din lume (validată ca metodă oficială AOAC).

În investigațiile privind 10 probe de ceapă roșie din România, rezultatele obținute au arătat o extracție optimă în soluție hidroetanolică 80%, la 4°C (Fig. 1). Conținutul total de antociani monomerici și de fenoli totali este foarte variat, fiind în strânsă corelație cu metodele de producție aplicate, practicile pre- și post-recoltare și factori genetici. Cel mai mare conținut de antociani și fenoli totali din bulbul comestibil a fost găsit pentru soiul *Roșie de Turda*. În schimb, foile de ceapă

roșie s-au dovedit o valoroasă sursă de antioxidanți (antociani, polifenoli totali). S-au realizat și studii de stabilitate a extractelor de ceapă roșie în diferite condiții (temperatură, pH) pe o perioadă de depozitare de 10 zile la temperatura camerei. Rezultatele au arătat o scădere semnificativă a conținutului de antociani la pH > 4,5 (Fig. 2). Degradarea termică a antocianilor studiată cu ajutorul tehnicii DSC (Differential Scanning Calorimetry) a început la 44,64°C în cazul extractului în etanol 80% la pH 9, și respectiv la 51,74°C în cazul aceluiași extract la pH 4,5 (Fig. 3-4).

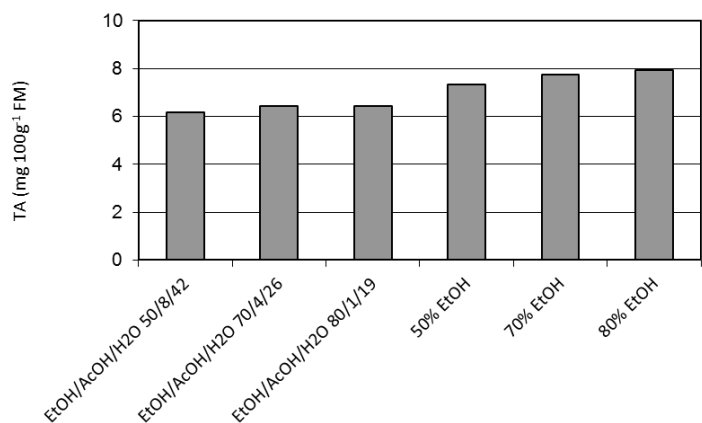


Fig. 1. Conținutul de antociani (TA) din ceapa roșie (*Allium cepa* L. cv. Red of Turda) în funcție de diferite sisteme de solvenți de extracție, la 4 °C.

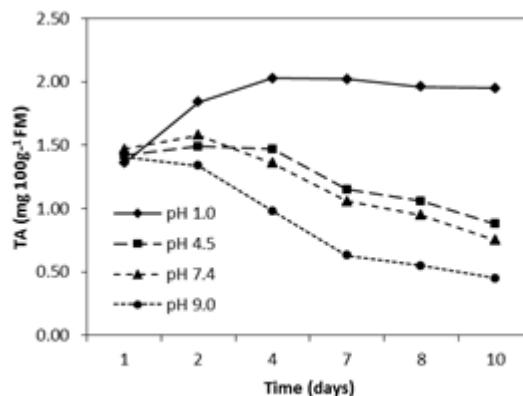


Fig. 2. Efectul pH-ului asupra stabilității extractului hidroetanolic de ceapa roșie (*Allium cepa* L. cv. Red of Turda).

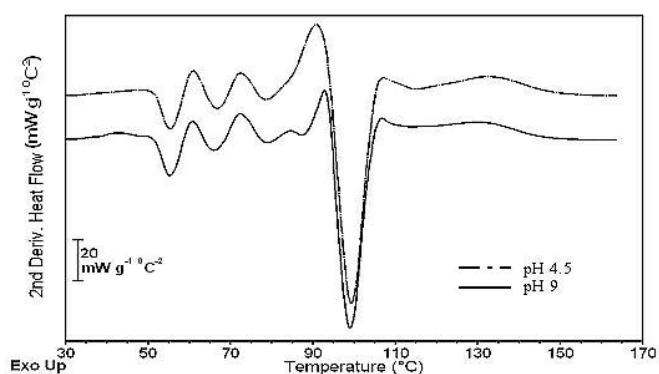


Fig. 3. Termograma DSC a extractului antocianic de *Allium cepa* L. cv. Red of Turda, la diferite valori de pH.

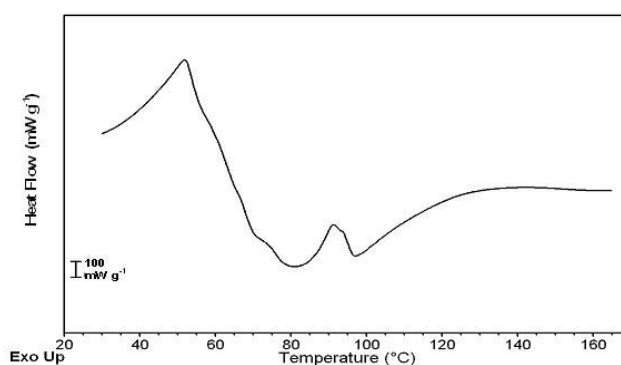


Fig. 4. Termograma DSC a extractului antocianic din foi de ceapă roșie (*Allium cepa* L., Sibiu).

În investigațiile privind 3 probe de cireșe din România, dintre care una de cireșe amare, una cireșe din flora spontană (Sibiu) și una cultivată (*Aurul negru*; Cireșoia/Bistrița), rezultatele obținute au arătat că extracția convențională cu ajutorul soluției hidroetanolice acidifiata conduce la obținerea unei cantități mai mari de antociani. Dintre probele analizate, cireșele amare au cel mai mare conținut de antociani (95,93 mg/100 g FM) și de fenoli totali (275,94 mg GAE/100 g FM). Pentru probele cultivate, s-a realizat optimizarea extracției cu ajutorul ultrasunetelor în care s-a ales ca sistem de extracție varianta optimă obținută din extracția prin metode convenționale (EtOH 60% acidifiat HCl 0,1%), temperatura de 30°C și s-au studiat timpul de extracție precum și raportul solvent/probă. Raportul optim a fost obținut pentru o extracție cu ultrasunete timp de 5 min. la un raport solvent/probă de 15.

În investigațiile privind 5 probe de zmeură roșie din România, dintre care 2 sunt soiuri cultivate (*Heritage, The Lathan*), iar 3 provin din flora spontană (Sibiu), rezultatele obținute au arătat un nivel mai ridicat de antociani în fructele de grădină decât cele de cultură. Pentru proba de zmeură de grădină (Sibiu) s-a realizat optimizarea extracției cu ajutorul ultrasunetelor în care s-a ales ca sistem de extracție o soluție de EtOH 70%, și s-au studiat temperatura de extracție (20°C, 30°C), timpul de extracție precum și raportul solvent/probă. La temperatura de 30°C, pentru un raport solvent/probă de 20/1, rezultatele obținute din cele 4 experimente în care s-a variat timpul de extracție, au arătat o extracție eficientă la 15 min. La temperatura de 20°C și la un timp de extracție de 15 minute, raportul solvent/probă de 15/1 a arătat o extracție eficientă prin ultrasonare. La temperatura de 20°C și la un raport solvent/probă de 10/1 timpul de extracție de 20 minute a arătat un conținut mai mare de antociani obținuți prin extracția cu ajutorul ultrasunetelor.

În investigațiile privind 3 probe de mure din România, dintre care una de grădină (Sibiu), una de pădure din flora spontană (Poiana Marului/Făgăraș) și una cultivată (*Thornfree*; fără spini), rezultatele obținute au arătat un conținut superior în fructele soiului *Thornfree* (198,25 mg/100 g FM) urmat de fructele de pădure (177,21 mg/100 g FM) și apoi cele de grădină (101,46 mg/100 g FM). Pentru proba de mure *Thornfree*, s-a realizat optimizarea extracției cu ajutorul ultrasunetelor în care s-a ales ca sistem de extracție o soluție de EtOH 80% acidifiat cu HCl 0,1%, la 30°C și s-a studiat influența timpului de extracție precum și a raportului solvent/probă. La temperatura de 30°C, rezultatele obținute au evidențiat un timp optim de 5 min. la un raport optim solvent/probă de 10/1.

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 calități îmbunătățite, precum și diseminarea și evaluarea rezultatelor cercetării.

A fost realizată caracterizarea bioextractelor obținute, atât din punct de vedere microbiologic fiind conforme, dar și din punct de vedere fizico-chimic.

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. 5).

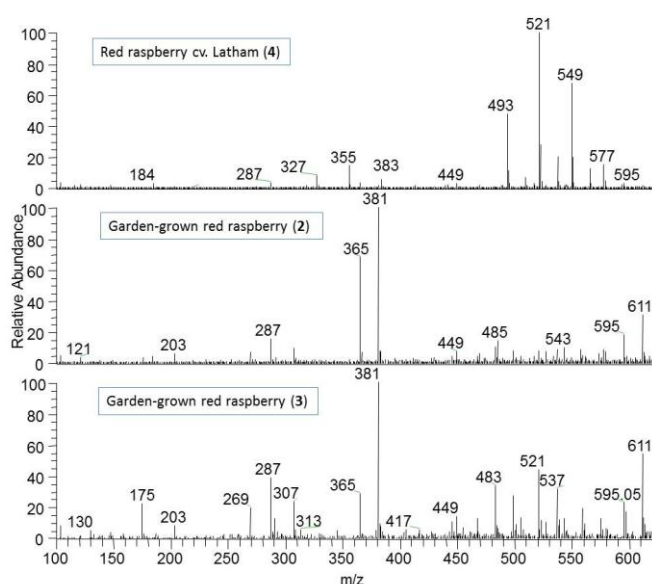


Fig. 5. Profilul antociani comparativ prin ESI/MS a extractelor antocianice din zmeură.

Rezultatele obținute prin studiul compușilor bioactivi după conservarea materiei prime au arătat o bună conservare a conținutului de antociani în zmeura de pădure, în timp ce probele prelevate din grădina 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. 6).

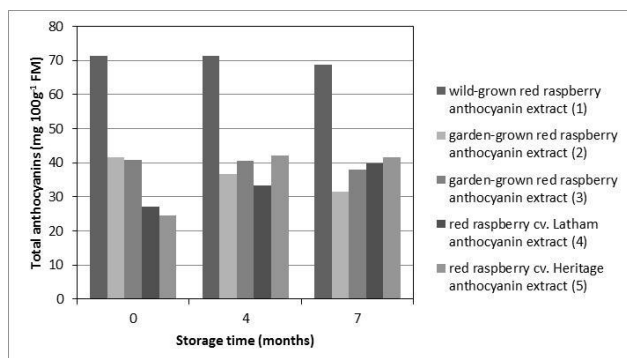


Fig. 6. Conținut antociani din *Rubus idaeus* L. după congelare 7 luni.

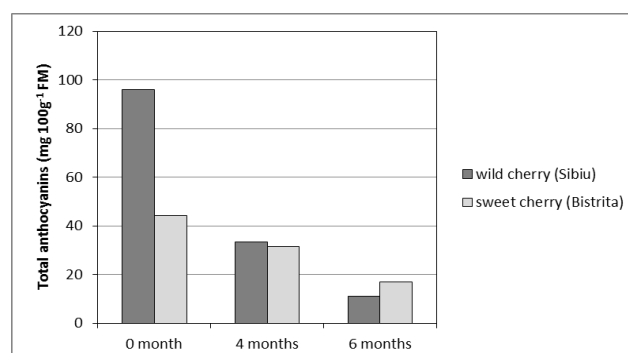


Fig. 7. Conținut antociani din cireșe (*Prunus avium* L.) după congelare 6 luni.

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.

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*.

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 peroxizilor 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 80°C. Morfologia suprafeței a fost caracterizată prin microscopie SEM (Fig. 8), 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.

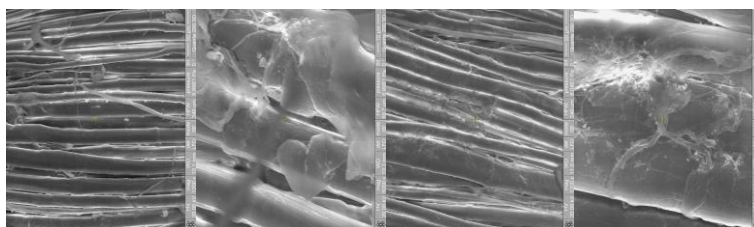


Fig. 8. Imagini SEM ale probelor de in vopsite cu 1% extract antocianic de ceapă roșie.

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

În etapa unică 2014 au fost atinse toate obiectivele etapei și obținute rezultatele scontate. Rezultatele științifice obținute arată că procesarea fructelor selecționate printr-o metoda tradițională în gemuri, duce la modificări semnificative ale nivelului total de compuși antioxidanți, în special al

antocianilor comparativ cu cel al fenolilor. În schimb, degradarea compușilor antioxidanți pe timpul păstrării gemurilor la 18°C timp de 5 luni are loc cu viteze foarte mici. Cu toate acestea, gemurile obținute din diferite fructe mai conțin surse importante de compuși bioactivi, fiind necesară optimizarea proceselor pentru a avea în final cât mai puține pierderi. Rezultatele științifice obținute prin suplimentarea lipidelor nesaturate cu extracte crude antocianice, în sisteme micelare inverse, subliniază potențialul acestor compuși bioactivi de a acționa ca inhibitori ai peroxidării lipidelor cu posibile aplicații în domeniul alimentar.

Având în vedere faptul că fructele bogate în compuși antioxidanți sunt sezoniere cu disponibilitate limitată de-a lungul anului, am studiat alături de forma de conservare (congelare, uscare) investigate anterior și forma de procesare în alimente. Astfel, am studiat efectul procesării fructelor selecționate pentru experimentare, prin transformarea lor în gemuri, asupra conținutului bioactiv (antociani și fenoli totali) comparativ cu fructele în stare proaspătă. În acest scop, au fost realizate diferite faze de experimentare, care cuprind extracția antocianilor și polifenolilor prin tehnologiile extractive descrise și stabilite în condiții optime în fazele anterioare ale proiectului (2012, 2013), centrifugarea și dozarea cantității totale prin metoda standard spectrofotometrică, pH diferențială. Fenolii supuși extracției din probe au fost analizați cantitativ prin metoda Folin-Ciocalteu.

În faza următoare s-a experimentat și s-a stabilit o metodă de obținere a gemurilor de fructe, cu adaos scăzut de zahăr (<40%) și fără adaos de conservanți, pectină sau coloranți.

Rezultatele obținute au arătat o scădere de peste 60% a conținutului total de fenoli, în special pentru probele de zmeură. În schimb, studiul privind evoluția nivelului fenolic prin păstrarea gemurilor la 18°C, a arătat că nu s-a produs o scădere semnificativă timp de 5 luni, cu excepția gemului de cireșe care a înregistrat o scădere finală de 21% a concentrației de fenoli totali.

În ceea ce privește conținutul de antociani, s-a constatat o scădere drastică a acestuia prin transformarea în gemuri: peste 80% în gemul de mure și cireșe amare, peste 60% în gemul de zmeură și de cireșe, comparativ cu nivelul antocianic în fructele proaspete. Acest fapt se datorează stabilității scăzute a acestor molecule sub acțiunea diferiților factori de mediu.

Studiul privind evoluția nivelului antocianic prin păstrarea gemurilor la 18°C, a arătat o scădere de 36-62% timp de 5 luni în toate gemurile, în funcție de fruct. Cea mai scăzută valoare s-a înregistrat pentru gemul de cireșe amare, iar cea mai mare valoare pentru gemul de zmeură.

Am realizat și studii privind degradarea antocianilor, luând în considerare că acest proces reprezintă o reacție ce urmează o cinetică de ordinul 1. S-au calculat constanta de viteză (k) și timpul de înjumătățire ($t_{1/2}$) conform ecuațiilor:

$$\ln \frac{[TA]}{[TA_0]} = -kt \qquad t_{1/2} = -\frac{\ln 0.5}{k}$$

Cea mai mare stabilitate s-a obținut pentru gemul de cireșe amare, urmat de cel de cireșe, mure și zmeură.

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 testate și evaluate sisteme micelare obținute prin adaos de extract antocianic în sisteme de lipide nesaturate, prin extinderea modelului dezvoltat anterior de obținere a sistemelor micelare.

Bioextractul obținut din afine de pădure a fost testat pentru activitatea antioxidantă *in vitro* într-un sistem lipidic reprezentat de ulei biologic de rapiță constituit din 62% acizi grași mononesaturați și 30% acizi grași polinesaturați. Bioextractul hidroetanolic a fost caracterizat printr-un conținut total de antociani de 111.14% și de fenoli de 195.76%.

S-a monitorizat stabilitatea oxidativă prin incubarea probelor la 40°C timp de 14 zile. În urma determinării a 2 parametri caracteristici (indicele de peroxid și TBARS) s-au obținut rezultate foarte bune comparativ cu proba martor și cu proba tratată cu un antioxidant de referință, α -tocoferolul.

Procesul de peroxidare s-a dovedit a evolua mult mai lent în proba tratată cu extractul antocianic (Figura 9). Studiile statistice au arătat o corelație pozitivă a indicelui de peroxid cu timpul de păstrare, valoarea coeficientului de corelație fiind de 0.98343. În schimb, α -tocoferolul a dovedit un efect pro-oxidant după 3 zile de păstrare.

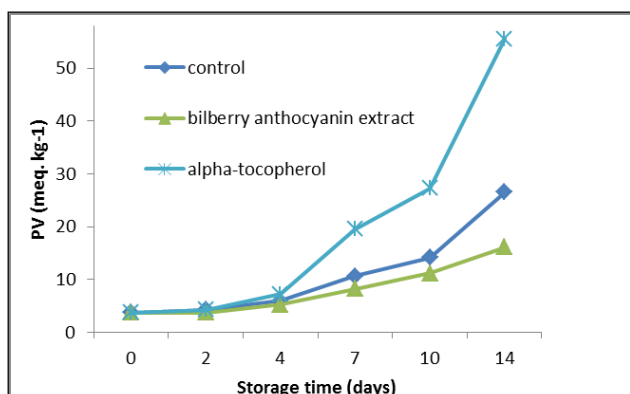


Fig. 9. Stabilitatea oxidativă a uleiului de rapiță cu adaos de extract antocianic și α -tocoferol, urmărită prin evoluția indicelui de peroxid.

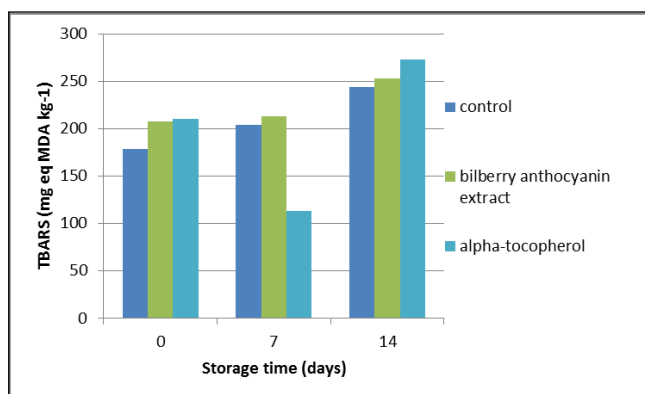


Fig. 10. Stabilitatea oxidativă a uleiului de rapiță cu adaos de extract antocianic și α -tocoferol, urmărită prin evoluția valorilor TBARS.

Cercetările privind evoluția produșilor secundari de oxidare pe timpul păstrării probelor la 40°C timp de 14 zile, au arătat o evoluție similară pentru proba control și cea cu adaos de extract antocianic (Figura 10).

Rezultatele obținute prin suplimentarea lipidelor nesaturate cu extracte crude antocianice, în sisteme de micelle inverse, subliniază potențialul acestor compuși bioactivi de a acționa ca inhibitori ai peroxidării lipidelor cu posibile aplicații în domeniul alimentar.

Pe tot parcursul implementării proiectului s-a urmărit și realizarea achizițiilor necesare desfășurării activităților de cercetare.

Toate aceste activități probează contribuțiile proiectului la dezvoltarea resursei umane pentru cercetare. Realizarea activităților a dus la intensificarea colaborării și încurajarea interdisciplinarității necesare asigurării sustenabilității proiectului.

În perioada următoare, în scopul finalizării tuturor obiectivelor propuse în cadrul proiectului, vor fi planificate activități pentru investigațiile aplicative în domeniul textil prin testarea condițiilor optime de vopsire a unor materiale celulozice cu extracte naturale îmbogățite în antociani. Aceste rezultate vor conduce la posibilități inovative în produse și procese, în contextul noilor cerințe ecologice inclusiv de eco-compatibilizare a apelor uzate textile, ca alternativă la utilizarea coloranților sintetici.

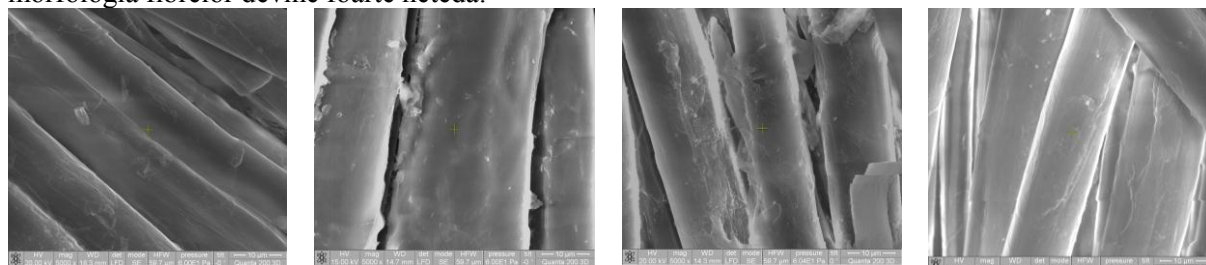
În etapa unică 2015 au fost atinse toate obiectivele etapei și obținute rezultatele scontate. Rezultatele științifice obținute arată că extractele antocianice de fructe de pădure (afine, mure) optimizate prin metodologiile descrise anterior pot fi aplicate cu succes pentru vopsirea unor suporturi textile (de in și în funcționalizat cu MCT- β -CD) prin două metodologii investigate – epuizare și respectiv, ultrasonare. Rezultatele obținute în urma caracterizării materialelor textile vopsite prin tehnici analitice microscopice (SEM), spectroscopice (FT-IR) și de analiză BET au demonstrat că tehnica ultrasonării este utilă în optimizarea capacității de vopsire, exprimată prin intermediul valorilor K/S, comparativ cu metoda convențională de vopsire prin epuizare. Comparând valorile de rezistență a culorii și comportamentul la abraziune, rezultatele indică rezistențe slabe către satisfăcătoare, atât pentru probele funcționalizate, cât și pentru cele vopsite, folosind ambele metode de vopsire. Rezultatele obținute arată că, alegerea variantei de vopsire naturală cu extracte de afine și mure a țesăturilor de in grefate cu ciclodextrină au dovedit a fi o bună alternativă de optimizare a rezistențelor la spălare și frecare.

Prezența extractelor naturale în țesăturile textile este importantă, întrucât contribuie la igiena consumatorului și la procesele nepoluante. Aplicarea pe suporturile textile a extractelor antocianice din fructe ar putea îmbunătăți în plus anumite proprietăți, precum antimicrobiene, antiinflamatorii și anticancerigene.

Procesul convențional de vopsire implică folosirea agenților chimici și a energiei termice. Prin folosirea ultrasunetelor, băile de vopsire pot avea temperatură mai redusă fiind favorizată dispersarea și aplicarea coloranților.

În ceea ce privește metodologia experimentală, studiile vizează în primul rând o îmbunătățire preliminară a substratului de in, realizată prin folosirea monoclorotriazinil-β-cyclodextrinei (MCT-β-CD). În al doilea rând, în protocolul experimental, extractele de afine sau mure au fost aplicate pe materialului de in, atât prin procedee de vopsire prin epuizare cât și prin ultrasonare. Motivarea cercetărilor constă în îmbunătățirea proprietăților precum rezistența culorii suporturilor textile vopsite, prin folosirea capacității cavității hidrofobe de MCT-β-CD de a forma complecși de incluziune cu coloranții, pe baza selectivității lor. Mai mult decât atât, s-a evidențiat formarea complexului de incluziune între colorantul antocianic și MCT-β-CD.

Caracterizarea morfologică, structurală și a proprietăților de rezistență ale materialelor vopsite a fost realizată folosind un sistem complex de investigare SEM, spectroscopie FT-IR, analiza suprafeței specifice prin metoda BET și rezistențele vopsirilor. Rezultatele analizei au evidențiat uniformizarea probelor, în ceea ce privește vopsirea lor, în cazul metodei US. În plus, optimizarea rezistenței la spălare și la frecare s-a cuantificat prin valorile majorate cu 0.5-1 puncte. Morfologia fibrelor de in după grefare și vopsirea prin cele două metode a fost evaluată prin microscopia SEM. Rezultatele au arătat că, structura fină a probelor este destul de diferită de fibrele de in nefuncționalizate, iar proprietățile de absorbție ale extractului natural se datorează probabil microcavităților create după funcționalizarea cu derivatul de MCT-β-ciclodextrină. Prin ultrasonare, morfologia fibrelor devine foarte netedă.



In In -MCT-β-CD In funcționalizat vopsit prin epuizare cu extract de afine In funcționalizat vopsit prin ultrasonare cu extract de afine

Fig. 11: Imagini SEM asociate suporturilor fibroase de in funcționalizate și de referință vopsite prin epuizare și ultrasonare cu extract de 2% afine (*Vaccinium myrtillus*) la o magnitudine de $\times 5000$

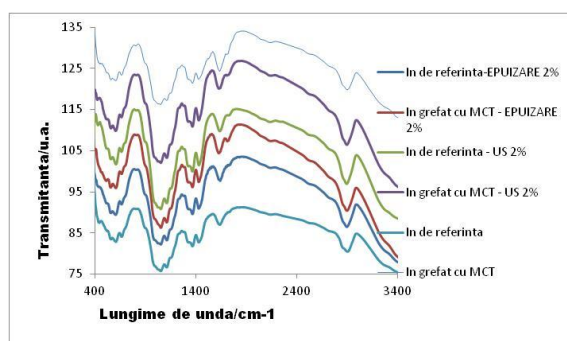


Fig. 12: Spectrele FT-IR pentru suporturile de in vopsite prin procedeul de epuizare și prin procedeul de ultrasonare (US), cu extract natural de afine 2%

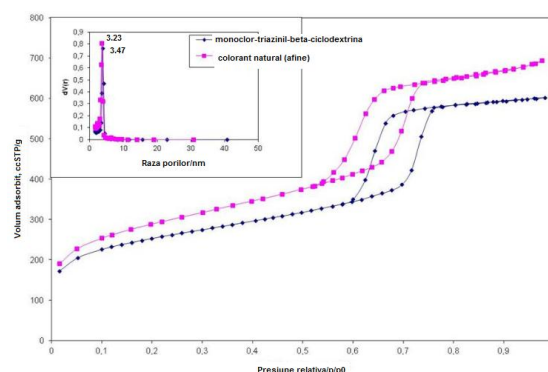


Fig. 13: Izotermele de adsorbție/desorbție ale compusului de incluziune (MCT-β-ciclodextrina ca moleculă gazdă și colorantul natural ca moleculă oaspete)

Investigațiile spectroscopice demonstrează formarea compusului de incluziune. În plus, există modificări în spectrele IR, care se pot observa la 1634, 1180, 1127, 900 cm^{-1} , datorită legării de MCT- β -CD. Aceasta este bine susținută și de analiza BET, relevând entraparea moleculei de colorant în interiorul MCT- β -ciclodextrinei.

Evaluarea materialelor vopsite cu extracte relevante pentru tehnologia tinctorială s-a completat prin rezistențele vopsirilor și atributele coloristice corelate ale suporturilor tratate. Intensitățile vopsirilor, respectiv valorile K/S ale suporturilor lignocelulozice vopsite au fost măsurate cu spectrofotometrul portabil Datacolor 110 LAV, testarea la abraziune s-a realizat cu aparatul NU-Martindale pentru abraziune și pilling, iar testul de frecare cu aparatul Crockmaster.

Tabelul 1 prezintă rezultatele măsurătorilor rezistenței la spălare și la frecare ale țesăturilor vopsite cu extract de afine, comparativ cu probele de referință (în sau în grefat cu MCT- β -ciclodextrina), alături de valorile atribuite razelor nanocavității de MCT- β -ciclodextrină și a moleculei de colorant.

Tabelul 1: Valorile rezistențelor și raportul razei ciclodextrină/colorant, în cazul țesăturilor de în vopsite cu extract de afine.

Proba	Rezistența la frecare uscată	Rezistența la frecare umedă	Rezistența la spălare	Raport raza CD / raza colorant, nm
In	2	1-2	2-3	
In / MCT- β -ciclodextrina	3-4	2	4-5	
In vopsit prin epuizare cu extract de afine	3	3	2-3	-
In funcționalizat vopsit prin epuizare cu extract de afine	4-5	3-4	4-5	2.17 / 2.76
In vopsit prin ultrasonare cu extract de afine	3-4	3	4	-
In funcționalizat vopsit prin ultrasonare cu extract de afine	5	4	4-5	3.23 / 3.47

Pe parcursul testelor experimentale, valorile de rezistență a culorii pentru probe vopsite cu extractele antocianice de afine și mure relevă rezistențe la spălare și la frecare moderate către bune, pentru marea majoritate a probelor, în special pentru cele funcționalizate în prealabil și vopsite prin procedura ultrasonării. Atributele de culoare ale probelor vopsite natural demonstrează sustenabilitatea prin rezistențe superioare la spălare, frecare și abraziune, datorită procesului de încapsulare. Aceste experimente au relevanță pentru folosirea tehnicii de încapsulare/micro-încapsulare a unui colorant natural direct pe materialul textil tratat MCT- β -CD, față de tehnica convențională de vopsire prin asistarea de mordanți. Acest proces are potențial de substituire a tratamentului clasic, favorizând aplicații de perspectivă, în vederea obținerii de noi materiale textile ecologice.

Valorile de rezistență a culorii pentru probele vopsite cu extract antocianinic de mure au relevat faptul că, rezistențele la spălare și frecare, la marea majoritate a probelor sunt de la moderat către bune, în special pentru acele suporturi textile funcționalizate și vopsite.

Tabelul 2: Valorile modificărilor coloristice după testul de abraziune la țesăturilor de în vopsite cu extract de mure.

Probe	Rezistența la abraziune			Raportul razei MCT- β -ciclodextrină / raza moleculei de colorant, nm	
	ΔE	K/S			
	Proba de referință	abradată	control	abradată	control
In	-	-	2.74	-	
In/ MCT- β -ciclodextrină	-	-	2.53	-	
In vopsit prin epuizare cu extract de mure	5.20	3.14	6.52	5.42	8.34

In funcționalizat vopsit prin epuizare cu extract de mure	8.74	6.34	7.89	6.47	7.15
In vopsit prin ultrasonare cu extract de mure	3.57	2.26	4.30	3.60	6.8
In funcționalizat vopsit prin ultrasonare cu extract de mure	3.78	2.11	4.60	3.59	4.7

Rezultatele cumulate din tehnicile analitice, însemnând microscopie SEM, spectroscopie FT-IR și analiză BET au demonstrat că tehnica ultrasonării este utilă în optimizarea capacității de vopsire, exprimată prin intermediul valorilor K/S, comparativ cu metoda convențională de vopsire prin epuizare. Comparând valorile de rezistență a culorii și comportamentul la abraziune, rezultatele indică rezistențe slabe către satisfăcătoare, atât pentru probele funcționalizate, cât și pentru cele vopsite, folosind ambele metode de vopsire. Rezultatele obținute arată că, alegerea variantei de vopsire naturală cu extracte de afine și mure a țesăturilor de in grefate cu ciclodextrină au dovedit a fi o bună alternativă de optimizare a rezistențelor la spălare și frecare.

În etapa unică 2016 s-au extins cercetările folosind o metodologie experimentală asistată de biomordanți pentru aplicarea pe diferite suporturi textile a unor extracte naturale de coacaze negre (din liofilizate) precum și coji de nuci verzi obținând rezultate încurajatoare. Ca biomordanți s-au experimentat acidul citric, acidul tanic investigați prin comparație cu un mordant clasic (sulfatul de cupru).

Rezultatele obținute au arătat o mare diferență de culoare atribuită probelor de lână utilizate ca suport textil comparativ cu poliamidă și bambus, și vopsite cu extractul din coji de nuci, în prezența sulfatului de cupru ca mordant. Cele mai mici diferențe de culoare au fost observate la probele vopsite prin co-asistarea acizilor tanic și citric, ca biomordanți (concentrație de 3%), cu modificări rezonabile de culoare, față de proba de referință. Probele de lână posedă intensități coloristice mai mari, fapt atestat și de suprafața specifică a fibrelor, comparativ cu fibrele de poliamidă, în consecință molecula de colorant este bine protejată de morfologia fibrei de lână. Valorile diferenței de culoare pentru probele de poliamida vopsite cu ambele extracte (coji de nuci verzi, coacăze negre), sunt bine reprezentate, evidențiind corelația liniară atribuită aceluiași mordant, de concentrații 3% și 5%, modificarea de culoare diminuându-se progresiv, de la probele vopsite prin co-asistarea sulfatului de cupru (3%, 5%), către concentrația de 5% a acidului tanic.

Modificările de culoare s-au realizat folosind vopsirea cu extract natural, fără mordant, ca probă de referință. Datele experimentale au fost achiziționate cu un spectrofotometru de reflexie Datacolor 110 LAV, care operează în sistem CIELab pentru parametrii: ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔC^* , Δh^* și diferențele de culoare ΔE^* . Realizând o comparație a celor trei suporturi textile vopsite cu extracte din coacăze negre și coji de nuci, se poate preciza că modificările majore de culoare sunt remarcabile atunci când vopsirea este asistată de acidul citric ca biomordant, în timp ce agentul de mordansare clasic nu induce diferențe de culoare relevante.

Rezultatele investigațiilor efectelor antimicrobiene au demonstrat de asemenea că, vopsirea cu extractul de coji de nuci co-asistat de soluțiile de biomordanți exprimă cea mai bună activitate antimicrobiană. Testarea s-a realizat pe două tulpini bacteriene standardizate: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram pozitiv) și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 (Gram negativ). S-a constatat o creștere a diametrului de inhibiție o dată cu creșterea valorii CIE/DE, rezultând o corelație aproximativ liniară.

Rezistența culorii la testul de frecare s-a realizat conform metodei standard SR EN ISO 105-X12, folosind un echipament de laborator Crockmaster 760. Pentru rezistența la spălare, s-a folosit standardul SR EN ISO 105-C10 la 40°C. Rezultatele obținute demonstrează că vopsirea asistată de mordanți a suporturilor fibroase de lână, poliamidă și bambus cu 3% concentrație de agenți mordanți au slabe proprietăți de rezistență, comparativ cu cele vopsite cu biomordanți cu concentrația de 5% (Fig. 14).

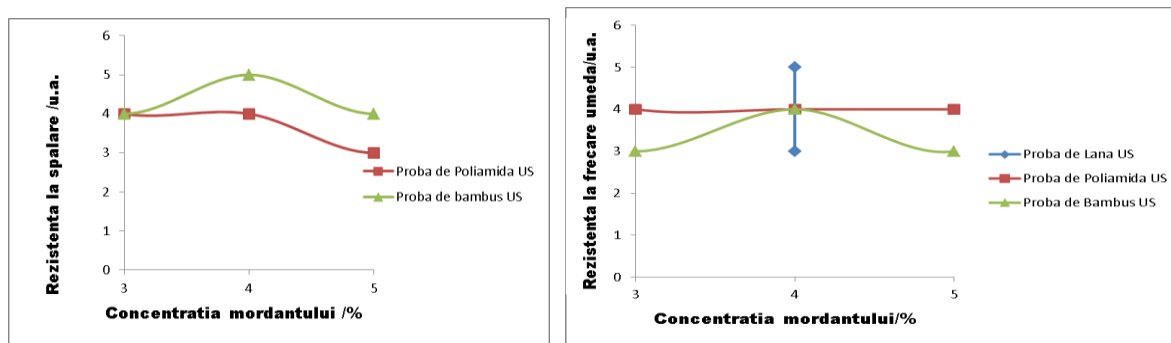


Figura 14. Reprezentări grafice ale rezistenței la spălarea suporturilor de poliamidă și bambus, respectiv ale rezistenței la frecare umedă, asociate probelor de lână, poliamidă și bambus.

Rezultatele finale ale experimentărilor demonstrează că, se poate ajunge la optimizarea modificărilor de culoare prin ecovopsirea materialelor prin coasistare de acizii citric și tanic, precum și creșterea rezistențelor la spălare și frecare uscată cu 0.5-1.5 puncte.

Cercetările efectuate pe parcursul derulării acestei etape a proiectului constituie un punct cheie în identificarea posibilelor alternative tehnologice aplicate în finisarea ecologică a suporturilor textile naturale și chimice, cuantificate și controlate prin răspuns colorimetric și potențial antibacterian, vizând dezvoltarea de articole textile igienice.

Diseminarea și evaluarea rezultatelor cercetării

Toate rezultatele cercetării realizate perioada de implementare a proiectului 2012-2016 au fost diseminate prin publicarea de articole științifice și prin participarea cu lucrări științifice la manifestări științifice internaționale/workshop-uri:

- 13 articole publicate în reviste cotate ISI, din care 1 articol în revista din "zona roșie" și 1 articol în "zona galbenă", cu un factor de impact cumulat de 6,062, SRI 4,797 și 21 citări ISI
- 13 articole publicate în reviste indexate BDI
- 35 lucrări științifice publicate și prezentate la conferințe internaționale
- 1 carte la editura LAP
- 1 propunere de brevet și 3 participări la saloanele de invenție
- 6 lucrări de licență finalizate în domeniu
- 7 Participări ale studenților în sesiunile științifice studențești

S-au realizat și *activități de promovare* a rezultatelor parțiale ale proiectului, în cadrul Târgului organizat la București de către Federația Patronală Română din Industria Alimentară, în perioada 30 octombrie – 3 noiembrie 2012.

De asemenea, am inițiat și o colaborare internațională privind profilul antocianic studiat cu ajutorul spectrometriei de masă, cu Institutul de Cercetare CNR, Padova, Italia.

Director proiect,
Prof. univ. dr. OANCEA Simona