

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



TEZĂ DE DOCTORAT

Valorificarea subproduselor rezultate la prelucrarea sfeclei roșii (Rezumatul tezei de doctorat)

Doctorand,
Silvia (Mistrieanu) Lazăr

Conducător științific,
Prof.univ.dr.ing. habil. Gabriela RÂPEANU

Seria I.7: Ingineria produselor alimentare Nr. 22

GALAȚI

2023

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



TEZĂ DE DOCTORAT

Valorificarea subproduselor rezultate la prelucrarea sfeclei roșii (Rezumatul tezei de doctorat)

Doctorand,
Silvia (Mistrieanu) Lazăr

Conducător științific

Prof.univ.dr.ing. habil. Gabriela RÂPEANU

Referenți științifici

Prof. univ.dr ing. Popa Mona Elena
Prof. univ.dr. ing.Codină Georgiana Gabriela
Conf. univ.dr.ing.Constantin Oana Emilia

Seria I.7: Ingineria produselor alimentare Nr. 22

GALAȚI

2023

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

Domeniul ȘTIINȚE INGINEREȘTI

Seria I 1: **Biotehnologii**

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

Seria I 3: **Inginerie electrică**

Seria I 4: **Inginerie industrială**

Seria I 5: **Ingineria materialelor**

Seria I 6: **Inginerie mecanică**

Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**

Seria I 8: **Ingineria sistemelor**

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

Domeniul ȘTIINȚE SOCIALE

Seria E 1: **Economie**

Seria E 2: **Management**

Seria E 3: **Marketing**

Seria SSEF: **Știința sportului și a educației fizice**

Domeniul ȘTIINȚE UMANISTE ȘI ARTE

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**

Domeniul ȘTIINȚE BIOLOGICE ȘI BIOMEDICALE

Seria M: **Medicina**

Seria F: **Farmacie**

Cuprins

<u>Introducere</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Introduction</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>I. STUDIUL DOCUMENTAR</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Capitolul 1. CONSIDERATII TEORETICE PRIVIND CARACTERIZAREA COMPUSILOR BIOLOGIC ACTIVI DIN COAJĂ DE SFECLĂ ROȘIE</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>1.1. Aspecte botanice, morfologice și compoziționale ale sfecei roșii</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>1.1.1. Botanica și morfologia sfecei roșii</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>1.1.2. Beneficiile consumului de sfeclă roșie pentru sănătate</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>1.1.3. Prelucrarea sfecei roșii pentru obținerea de produse alimentare cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
defined.	
<u>1.2. Metodele de extracție a compusilor cu valoare biologică din sfecla roșie</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>1.2.1. Tehnicile convenționale de extracție</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>1.2.2. Tehnicile asistate de extracție</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>1.2.3. Tehnicile moderne/avansate de extracție</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>1.3. Stabilitatea și disponibilitatea compusilor bioactivi din sfecla roșie</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>1.3.1. Stabilitatea compusilor bioactivi din sfecla roșie în timpul procesării</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>1.3.2. Disponibilitatea compusilor bioactivi din sfecla roșie</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Referințe bibliografice</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>II. CONTRIBUTII PROPRII</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Capitolul 2. EVALUAREA COMPARATIVĂ A UNOR METODE DE EXTRACȚIE APLICATE COJILOR DIN SFECLA ROȘIE DIN PERSPECTIVA OBTINERII UNUI CONȚINUT RIDICAT ÎN COMPUSI BIOLOGIC ACTIVI</u>	Error!
Bookmark not defined.	
<u>2.1. Aspecte generale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.2. Obiectivele studiului</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.3. Materiale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.3.1. Reactivi utilizați</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.3.2. Echipamente utilizate</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4. Metode de analiză</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4.1. Pregătirea inițială a cojilor de sfeclă roșie</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4.2. Extracția convențională cu solvenți</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4.3. Extracția etanolică asistată de ultrasunete</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4.4. Extracția etanolică asistată de microunde</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4.5. Extracția cu adaos de preparate enzimactice</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4.6. Extracția compusilor bioactivi</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4.7. Determinarea conținutului de betalaine totale (BT)</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4.8. Determinarea conținutului total de polifenoli (CTP)</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4.9. Determinarea activității antioxidante (AA)</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.4.10. Analiza statistică</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.5. Rezultate și discuții</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.5.1. Determinarea compusilor cu valoare biologică din extractele obținute</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.5.2. Conținutul total de polifenoli din extractele obținute</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>2.5.3. Activitatea antioxidantă a extractelor obținute prin diferite metode de extracție</u> ..	Error! Bookmark not defined.
<u>2.6. Concluzii parțiale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Referințe bibliografice</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Capitolul 3. OPTIMIZAREA PARAMETRIILOR DE EXTRACȚIE A PIGMENȚILOR BETALAINICI ȘI A COMPUSILOR POLIFENOLICI TOTALI DIN COAJĂ REZULTATĂ LA PRELUCRAREA SFECEI ROȘII</u>	Error! Bookmark not defined.
defined.	
<u>3.1. Aspecte generale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.2. Obiectivele studiului</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.3. Materiale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.3.1. Reactivi utilizați</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.3.2. Echipamente utilizate</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.4. Metode de analiză</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.4.1. Obținerea pulberii din coajă de sfeclă roșie</u>	Error! Bookmark not defined.

<u>3.4.2. Extracția compușilor biologic activi</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.4.3. Determinarea conținutului de betalaine totale (BT)</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.4.4. Determinarea conținutului total de polifenoli (CTP)</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.4.5. Analiza statistică</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.4.6. Proiectare experimentală</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.5. Rezultate și discuții</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.5.1. Influența parametrilor de extracție asupra conținutului de betalaine totale (BT)</u> ..	Error! Bookmark not defined.
<u>3.5.2. Influența parametrilor de extracție asupra conținutului total de compuși polifenolici (CTP)</u>	Error! Bookmark not defined.
defined.	
<u>3.5.3. Optimizarea și validarea parametrilor de extracție</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>3.6. Concluzii parțiale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Referințe bibliografice</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Capitolul 4. CARACTERIZAREA AVANSATĂ A EXTRACTULUI OPTIMIZAT DIN COAJĂ DE SFECLĂ ROȘIE</u>	Error!
Bookmark not defined.	
<u>4.1. Aspecte generale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.2. Obiectivele studiului</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.3. Materiale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.3.1. Reactivi</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.3.2. Echipamente utilizate</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.4. Metode de analiză</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.4.1. Pregătirea inițială a cojii de sfeclă roșie</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.4.2. Extracția convențională cu solvenți</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.4.3. Determinarea conținutului de betalaine totale (BT)</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.4.4. Determinarea conținutului total de polifenoli (CTP)</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.4.5. Determinarea activității antioxidante (AA)</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.4.6. Identificarea compușilor betalainici din extractul optimizat prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC)</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.4.7. Tratamentul termic</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.4.8. Cuantificarea inhibării <i>in vitro</i> a extractului asupra enzimelor asociate sindromului metabolic și efectelor inflamatorii</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.4.9. Analiza statistică</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.5. Rezultate și discuții</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.5.1. Profilul cromatografic al compușilor betalainici din extractul din coajă de sfeclă roșie</u>	95
<u>4.5.2. Influența tratamentului termic asupra conținutului de betalaine totale din pudra din coajă de sfeclă roșie</u> ..	Error!
Bookmark not defined.	
<u>4.5.3. Influența tratamentului termic asupra conținutului total de polifenoli din pudra din coajă de sfeclă roșie</u>	Error!
Bookmark not defined.	
<u>4.5.4. Influența tratamentului termic asupra activității antioxidante din pudra din coajă de sfeclă roșie</u>	Error!
Bookmark not defined.	
<u>4.5.5. Evaluarea potențialului de inhibare a extractului din coajă de sfeclă roșie asupra unor enzime implicate în sindromul metabolic și procesele pro-inflamatorii</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>4.6. Concluzii parțiale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Referințe bibliografice</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Capitolul 5. DEZVOLTAREA UNOR PRODUSE ALIMENTARE CU VALOARE ADĂUGATĂ PRIN ADAOS DE PUDRĂ OBTINUTĂ DIN COAJĂ DE SFECLĂ ROȘIE</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.1 Aspecte generale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.2. Obiectivele studiului</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.3. Materiale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.3.1. Reactivi</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.3.2. Echipamente utilizate</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4. Metode de analiză</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.1. Obținerea pulberii din coajă de sfeclă roșie</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.2. Obținerea maionezei cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.3. Obținerea bezelelor cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.4. Obținerea alvitei cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.5. Determinarea conținutului de betalaine totale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.6. Determinarea conținutului total de polifenoli</u>	Error! Bookmark not defined.

<u>5.4.7. Determinarea activității antioxidante</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.8. Determinarea caracteristicilor fizico-chimice ale produselor cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie</u> ..	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.9. Determinarea parametrilor de culoare CIELAB a produselor cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.10. Analiza profilului textural</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.11. Determinarea vâscozității maionezei cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.12. Analiza stabilității oxidative a probelor de maioneză</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.13. Analiza senzorială a produselor cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.4.14. Analiza statistică</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5. Rezultate și discuții</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.1. Caracterizarea pudrei din coajă de sfeclă roșie</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.2. Caracterizarea potențialului bioactiv al probelor de maioneză cu valoare adăugată și stabilitatea la depozitare a acestora</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.3. Caracterizarea fizico-chimică a probelor de maioneză cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.4. Parametrii de culoare a probelor de maioneză cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.5 Proprietățile texturale ale probelor de maioneză cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.6. Efectul adaosului de pudră din coajă de sfeclă roșie asupra vâscozității maionezei</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.7. Stabilitatea oxidativă a probelor de maioneză cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.8. Evaluarea senzorială a probelor de maioneză cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.9 Caracterizarea potențialului bioactiv al probelor de bezele cu valoare adăugată și stabilitatea la depozitare a probelor</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.10. Caracterizarea fizico-chimică a probelor de bezele cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.11. Parametrii de culoare a probelor de bezele cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.12. Proprietățile texturale ale probelor de bezele cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.13. Evaluarea senzorială a probelor de bezele cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.14. Caracterizarea potențialului bioactiv al alviței cu valoare adăugată și stabilitatea la depozitare a probelor</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.15. Parametrii de culoare a probelor de alviță cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.16. Proprietățile texturale ale probelor de alviță cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.5.17. Evaluarea senzorială a probelor de alviță cu valoare adăugată</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>5.6. Concluzii parțiale</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Referințe bibliografice</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Capitolul 6. CONCLUZII FINALE</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Capitolul 7. CONTRIBUTII PERSONALE ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A STUDIILOR</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Capitolul 8. LISTA PUBLICAȚIILOR</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Capitolul 9. ANEXE</u>	Error! Bookmark not defined.

Introducere

Legumele conțin o cantitate semnificativă de nutrienți esențiali, cum ar fi vitaminele, mineralele, fibrele și compuși fitochimici cu beneficii importante pentru sănătate (Panghal și colab., 2017). Sfecla roșie este una dintre legumele importante fiind bogată în carbohidrați, grăsimi, proteine, micronutrienți cu caracteristici și proprietăți benefice pentru sănătate. Prelucrarea sfeclei și consumul de produse cu valoare adăugată a crescut constant datorită recunoașterii sfeclei roșii ca o sursă importantă de antioxidanți naturali.

Sfecla roșie (cunoscută și sub denumirile de sfeclă, sfeclă de grădină, sfeclă de masă) este o legumă tradițională și populară în multe părți ale lumii. Aceasta este o rădăcinoasă de culoare roșie, cel mai des asociată cu cuvântul „sfeclă”. Este foarte populară în Europa de Est și Centrală, unde reprezintă ingredientul principal al borșului, al salatei de vinegretă, al salatei rusești, al varzei murate cu sfeclă roșie. Astăzi, sfecla roșie este consumată în mod regulat ca parte a dietei normale, fie în stare proaspătă, fie după procesarea termică sau fermentare, și este folosită în mod obișnuit în industrie sub formă de colorant alimentar cunoscut sub numele de E162 (Ceclu și Nistor, 2020).

Sfecla roșie (*Beta vulgaris* L.) conține cantități ridicate de substanțe bioactive, printre acestea se numără betalainele, carotenoidele, polifenolii, vitaminele din grupul B (B1, B2, B3, B6 și B12), folatmineralele, fibrele, precum și zaharuri cu valoare energetică scăzută (Kale și colab., 2018) și nitrat anorganic (Clifford și colab., 2015). Toate părțile acestei plante au diferite utilizări medicinale: au rol antioxidant, antidepresiv, antimicrobian, antifungic, antiinflamator, diuretic, expectorant și carminativ (Jasmitha și colab., 2018), hepatoprotector (Olumese și colab., 2018) sau protector cardiovascular. Alte beneficii raportate (Olumese și colab., 2018; Wruss și colab., 2015) includ inhibarea peroxidării lipidelor și efectele chimio-preventive (Babarykin și colab., 2019; Lechner și Stoner, 2019).

În prezent, valorificarea subproduselor agroalimentare este importantă pentru reducerea deșeurilor generate în urma prelucrării industriale a legumelor și fructelor și ar putea fi realizată prin implementarea unui model economic circular pentru protejarea mediului. Mai mult, aceste produse secundare pot fi folosite ca o sursă alternativă de aditivi naturali pentru îmbunătățirea calității produselor alimentare (Martillanes și colab., 2020).

Tendința consumatorilor de a opta către consumul de produse sănătoase, naturale, a condus la dezvoltarea unor produse naturale, inovative, cu proprietăți senzoriale (gust, aromă, culoare, textură) îmbunătățite, răspunzând cererii și necesității consumatorilor. Valoarea adăugată a produselor obținute cu diverse procentaje de pudre din coajă de sfeclă roșie se evidențiază prin aportul ridicat de antioxidanți naturali prezenți în coajă de sfeclă roșie, care prezintă un potențial antioxidant remarcabil și sunt lipsiți de toxicitate. În plus, acest studiu vizează substituirea aditivilor de sinteză chimică cu cei naturali, prezenți în coajă de sfeclă roșie, care aduc numeroase beneficii și contribuie în mod direct la creșterea calității vieții.

Teza de doctorat cu titlul **”VALORIFICAREA SUBPRODUSELOR REZULTATE LA PRELUCRAREA SFECLEI ROȘII”** a vizat studiul comportamentului biochimic și funcțional al pigmentilor din coajă de sfeclă roșie, în principal betalainele, în vederea obținerii unor compozite funcționale. Aceste legume sunt bogate în compuși betalainici cu multiple beneficii asupra sănătății umane datorită proprietăților antioxidante și antimicrobiene. Totodată s-a urmărit dezvoltarea de noi direcții de utilizare a componentelor bioactive din coajă de sfeclă roșie, direcții care vizează dezvoltarea de noi tehnologii de producere a diverselor produse cu valoare adăugată.

Principalele **obiective științifice** vizate pe durata studiilor doctorale sunt:

- Testarea unor metode de extracție convenționale și moderne și alegerea unei metode de extracție eficiente în vederea obținerii unor extracte betalainice bogate în compuși biologic activi de interes major;
- Determinarea profilului fitochimic și a activității antioxidante a extractelor din coajă de sfeclă roșie, dar și evaluarea stabilității termice a extractelor din coajă de sfeclă roșie, cu scopul de a determina condițiile optime de obținere, prelucrare și depozitare a produselor bogate în compuși betalainici;
- Testarea *in vitro* a activității biologice a extractului din pudra din coajă de sfeclă roșie, evaluând în acest scop potențialul de inhibiție asupra enzimelor α -glucozidază, α -amilază,

lipază și lipoxigenază, enzime cu incidență în sindromul metabolic și procesele pro-inflamatorii;

- Dezvoltarea unor diferite variante tehnologice de obținere a produselor alimentare precum maioneză, bezele și respectiv alviță cu valoare adăugată și caracterizarea acestora din punct de vedere fitochimic, fizico-chimic, senzorial, etc.

Teza de doctorat cuprinde:

I. STUDIUL DOCUMENTAR, intitulat "**Considerații teoretice privind caracterizarea compușilor biologic activi din coaja de sfeclă roșie**", cuprinde un capitol (**Capitolul 1**) împărțit în trei subcapitole care prezintă date actuale din literatura de specialitate privind caracteristicile compușilor bioactivi (în principal betalaine) și impactul pe care îl au acestea în industria alimentară bineînțeles cu accent pe efectele benefice ale acestora asupra sănătății umane. Se regăsesc de asemenea informații privind metodele de extracție, dar și date teoretice privind stabilitatea și disponibilitatea compușilor bioactivi.

II. CONTRIBUȚII PROPRII cuprinde rezultatele investigațiilor desfășurate pe întreaga durată a stagiului doctoral, și este descris pe scurt în patru capitole:

Capitolul 2, intitulat "**Evaluarea comparativă a unor metode de extracție aplicate cojilor din sfecla roșie din perspectiva conținutului în compuși biologic activi**", prezintă informații privind rezultatele obținute în urma diferitelor metode de extracție a compușilor bioactivi (betalaine totale, flavonoide și polifenoli totali), însă și caracterizarea fitochimică a compușilor betalainici din coajă de sfeclă roșie din punct de vedere al obținerii unor extracte cu activitate antioxidantă superioară.

Capitolul 3, intitulat "**Optimizarea extracției pigmentilor betalainici și a compușilor polifenolici totali din coajă rezultată la prelucrarea sfeclei roșii**", prezintă informații cu privire la rezultatele obținute în urma studiilor de optimizare și validare a extracției compușilor betalainici din coajă de sfeclă roșie.

Capitolul 4, intitulat "**Caracterizarea avansată a extractului optimizat din coajă de sfeclă roșie**", prezintă rezultatele obținute în urma testării impactului tratamentului termic asupra compușilor betalainici și a activității antioxidante la diferite combinații de temperatură-timp, precum și rezultatele obținute în urma evaluării eficacității polifenolilor din extractul obținut din pudra din coajă de sfeclă roșie împotriva inhibării enzimelor asociate cu sindromul metabolic și procesele pro-inflamatorii.

Capitolul 5, "**Dezvoltarea unor produse alimentare cu valoare adăugată prin adaos de pudră din coaja de sfeclă roșie**", prezintă rezultatele obținute în urma utilizării cojilor de sfeclă roșie liofilizate ca sursă de antioxidanți naturali și alți compuși bioactivi lipofili pentru a obține produse cu valoare adăugată. În plus, a fost investigat și impactul suplimentării cu pulbere de coajă de sfeclă roșie asupra compoziției fitochimice, caracteristicilor senzoriale, vâscozității, culorii și proprietăților texturale ale produselor cu valoare adăugată.

Capitolul 6, Concluzii finale, prezintă principalele concluzii rezultate ale studiului realizat cu scopul de a studia compușii bioactivi cu precădere betalainele din matrici derivate din coajă de sfeclă roșie.

Fiecare capitol al studiului experimental este structurat după cum urmează: *Aspecte generale ale studiului, Obiectivele studiului, Materiale și metode, Rezultate și discuții, Concluzii parțiale și Referințe bibliografice*. Teza de doctorat cuprinde **148** pagini, în care sunt incluse **27** figuri și **42** tabele. Studiul documentar reprezintă 30 % iar partea experimentală 70 %.

În final, sunt prezentate **contribuțiile originale** ale tezei de doctorat, precum și diseminarea rezultatelor obținute în domeniul de cercetare abordat. Astfel, rezultatele cercetărilor au fost valorificate prin elaborarea a **2 articole științifice** publicate, în reviste cotate ISI (*Inventions, Processes*), **3 cereri de brevet**, precum și **10 comunicări** la manifestări științifice reprezentative pentru domeniul ingineriei produselor alimentare, din străinătate și din țară. Activitățile de cercetare din cadrul tezei de doctorat au fost derulate cu ajutorul infrastructurii moderne de cercetare a *Centrului integrat de cercetare, expertiză și transfer tehnologic (BioAliment-TehnIA)* (www.bioaliment.ugal.ro), din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați.

Teza s-a realizat sub coordonarea științifică a **Prof.dr.ing. Gabriela RÂPEANU**, în calitate de conducător de doctorat și a comisiei de îndrumare alcătuită din: **Prof.dr.ing. Nicoleta STÂNCIUC**, **Prof.dr.ing. Iuliana APRODU**, **Conf.dr.ing. Luminița GEORGESCU** și **Conf.dr.ing. Oana CONSTANTIN**.

Capitolul 2. EVALUAREA COMPARATIVĂ A UNOR METODE DE EXTRAȚIE APLICATE COJILOR DIN SFECLA ROȘIE DIN PERSPECTIVA CONȚINUTULUI ÎN COMPUȘI BIOLOGIC ACTIVI

2.1. Aspecte generale

Producția mondială anuală de sfeclă roșie a fost înregistrată la 274 de milioane de tone în 2018, iar primii cinci producători sunt Franța, Statele Unite ale Americii, Rusia, Germania și Ucraina (FAO, 2020). Mereddy și colab., (2017) au raportat că aproximativ 85% din sfecla roșie este procesată (tăiată), în timp ce aproape 30% din totalul produs este risipit din cauza respingerii în urma controlului calității. Prin urmare, utilizarea subproduselor din industria de prelucrare a sfecele roșii pentru extracția pigmentilor vegetali este o bună opțiune pentru a obține produse cu valoare adăugată (Zin și colab., 2020b). Pigmenții pot fi extrași din sfecla roșie pur și simplu prin macerare cu apă, cu toate acestea, conținutul de proteine și carbohidrați din sfecla roșie limitează utilizarea apei ca solvent de extracție (Sawicki și Wiczowski, 2018). Prin urmare, etanolul sau metanolul au fost folosiți pentru creșterea eficienței extracției (Nestora și colab., 2016). Diverse tehnici de extracție, inclusiv tehnici convenționale (Pandey și colab., 2018) și noi tehnici emergente (López și colab., 2009) au fost folosite pentru a obține un randament de extracție mai mare al pigmentilor de interes. Conform Galanakis, (2012), izolarea compușilor bioactivi de interes din deșeurile alimentare urmează de obicei cinci etape universale de recuperare, cum ar fi i) pretratarea macroscopică, ii) separarea macro și micromoleculilor, iii) extracția, iv) izolarea și purificarea și v) formarea produsului.

Extracția polifenolilor din surse vegetale și a altor compuși bioactivi este influențată de porțiunea utilizată a matricei vegetale, dimensiunea particulelor și prepararea probei, condițiile de depozitare, solventul de extracție și metoda utilizată pentru extracție, precum și natura chimică a compusului de interes (Adadi și colab., 2018; Nirmal și colab., 2015). În plus, solubilitatea și stabilitatea compusului sunt afectate de tipul de solvent, pH, temperatură și prezența altor constituenți chimici (Galanakis, 2015). Un alt parametru important care ar trebui luat în considerare în timpul extracției betalainelor este inactivarea enzimelor polifenol oxidază (PPO) și peroxidază (POD), care sunt responsabile de degradarea betalainelor (Marszałek și colab., 2017). Deși, betalainele sunt pigmenți azotați solubili în apă, etanolul sau metanolul, sau condițiile ușor acide sunt adesea folosite pentru a obține randamente de extracție mai mari (Cardoso-Ugarte și colab., 2014). Practic, extracția betalainelor din sfecla roșie este un proces de extracție solid-lichid care implică macerarea sau măcinarea rădăcinii (Sivakumar și colab., 2009). Forța mecanică externă aplicată ajută la eliberarea pigmentului legat de membrana celulară în solvent (Deng și colab., 2015). În general, sfecla roșie este curățată, tăiată în bucăți mici și blansată înainte de implementarea procesului de extracție propriu-zis. Tehnicile convenționale de extracție implică amestecarea sau macerarea simplă cu solvent (Halwani și colab., 2018) sau fierberea și extragerea sucului (Sawicki și Wiczowski, 2018), în timp ce tehnologiile emergente se concentrează mai mult pe randament mai mare, consum mai mic de solvenți și energie, mai puțini pași de procesare și eficiență în timp (Cardoso-Ugarte și colab., 2014).

2.2. Obiectivele studiului

Principalele obiective ale acestui studiu au fost: evaluarea a patru metode de extracție (extracția convențională cu solvenți, extracția cu solvenți asistată cu ultrasunete, extracția asistată enzimatic și extracția asistată cu microunde) în vederea maximizării conținutului de compuși biologic activi din coajă de sfeclă roșie, precum conținutul de betalaine, polifenoli totali și a activității antioxidante; compararea rezultatelor conținutului de betalaine (betacianine și betaxantine), polifenoli totali și a activității antioxidante a extractelor obținute din coajă de sfeclă roșie utilizând tehnici de evaluare spectrofotometrice.

2.3. Materiale și metode

În cadrul studiului s-au urmărit: pregătirea inițială a cojilor de sfeclă roșie din care s-au extras compușii biologic activi utilizând extracția convențională cu solvenți: extracția etanolică asistată de ultrasunete; extracția etanolică asistată de microunde; extracția cu adaos de preparate enzimatice. Pentru a caracteriza din punct de vedere fitochimic extractele din coji de sfeclă roșie s-a determinat conținutul de betalaine totale (BT), iar rezultatele au fost exprimate ca mg betalaine totale/100 g s.u.; s-a determinat de asemenea conținutul total de polifenoli (CTP), unde rezultatele au fost exprimate ca mg echivalenți catechinici/100 g s.u.; și s-a determinat de asemenea activitatea antioxidantă (AA), iar rezultatele au fost exprimate ca mM Trolox/g s.u.

2.5. Rezultate și discuții

2.5.1. Determinarea compușilor cu valoare biologică din extractele obținute

Betalainele reprezintă clasa principală de compuși cu activitate antioxidantă mare în coajă de sfeclă roșie. Activitatea antioxidantă ridicată a fost asociată cu concentrații crescute (mai mult de 20 de ori) ale compușilor fenolici totali, care pot avea efecte sinergice cu betalainele.

Pentru extracția betalainelor s-au utilizat patru metode de extracție convenționale și moderne și anume: extracția convențională cu solvenți, extracția etanolică asistată de ultrasunete, extracția etanolică asistată de microunde și extracția cu adaos de preparate enzimatice.

Pentru cuantificarea betalainelor s-a utilizat o metodă spectrofotometrică bazată pe măsurarea absorbției la două lungimi de undă diferite respectiv 480 nm pentru betaxantine și 538 nm pentru betacianine. Conținutul de betalaine a fost exprimat în mg/g s.u. Pentru extracția eficientă a compușilor fenolici, în cazul extracției convenționale cu solvenți, a celei asistate de ultrasunete precum și a celei asistate de microunde s-au utilizat două concentrații diferite de solvent și anume, etanol 20%, și etanol 50% acidifiat cu acid citric în două concentrații diferite 0,1% și 1%.

Pentru extracția convențională procesele de extracție au avut loc atât la temperatura de 20°C, cât și la 70°C, timp de 15, și 50 de minute și pentru extracția asistată de ultrasunete, respectiv 15 și 50 de minute, la temperaturi de 20°C și 45°C. În cazul extracției asistate de microunde, extracția cojii de sfeclă roșie s-a realizat la o putere a microundelor de 315W și 525W, timp de 10 și 15 secunde.

Pentru extracția cu adaos preparate enzimatice s-au utilizat trei preparate enzimatice diferite (celulază, enzime pectolitice și xilanază), timpul de extracție fiind de 15, 30 și 60 minute.

Toate aceste variante de extracție au fost testate pentru a vedea ce metodă de extracție și ce combinație a parametrilor extrage cel mai mare conținut de compuși bioactivi din coajă de sfeclă roșie.

Tabelul 2.1. prezintă conținutul de betalaine totale obținut în urma extracției convenționale prin varierea parametrilor extracției iar **Tabelul 2.2.** prezintă conținutul total de betacianine și betaxantine în urma extracției convenționale prin varierea parametrilor extracției.

În privința extracției compușilor betalainici prin metoda convențională cu etanol de concentrație 20%, se remarcă faptul că cel mai mare conținut de compuși de $118,5 \pm 76,00$ mg/100 g s.u. a fost obținut în cazul extracției convenționale cu solvenți în prezență soluției de acid citric în concentrație de 1%, după 15 de minute de extracție la temperatura de 20°C. Astfel, din conținutul total de betalaine obținut cantitatea de betaxantine este de $69,6 \pm 4,00$ mg/100 g s.u. și cantitatea de betacianine este de $49,00 \pm 00,2$ mg/100 g s.u.

Tabelul 2.1. Conținutul de betalaine totale obținut în urma extracției convenționale cu solvenți

Betalaine Totale mg/100 g s.u.								
Solvent	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %			
Temperatura	20°C		70°C		20°C		70°C	
Timp	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min	50 min
Etanol 20%	99,4±4,00 ^{BA}	118,4±8,00 ^{AB}	85,1±2,00 ^{BA}	71,5±1,00 ^{AB}	118,5±6,00 ^{BA}	64,0±4,00 ^{AB}	115,2±2,00 ^{BA}	89,9±3,00 ^{AB}
Etanol 50%	94,3±4,00 ^{BA}	107,3±2,00 ^{BB}	93,4±4,00 ^{BA}	70,7±3,00 ^{AB}	74,1±0,6 ^{BA}	115,3±7,00 ^{BB}	85,0±1,00 ^{BA}	80,0±2,00 ^{BB}

Mediile din aceeași coloană care nu dețin o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$. Mediile din același rând care nu au o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Tabelul 2.2. Conținutul total de betacianine și betaxantine în urma extracției convenționale cu solvenți

Betacianine și betaxantine, mg/100 g s.u.								
Solvent	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %			
Temperatura	20°C				70°C			
Timp	15 min		50 min		15 min		50 min	
Betacianine și betaxantine /	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc
Etanol 20%	57,5±0,10 ^{aA}	41,9±2,00 ^{aB}	71,5±5,00 ^{aA}	47,0±2,00 ^{aB}	50,0±0,2 ^{aA}	35,2±0,5 ^{aB}	40,9±1,00 ^{aA}	30,7±1,00 ^{aB}
Etanol 50%	52,5±3,00 ^{bA}	41,9±1,00 ^{aB}	61,6±1,00 ^{bA}	45,7±0,7 ^{aB}	56,3±3,0 ^{bA}	37,1±1,0 ^{aB}	42,3±2,00 ^{aA}	28,5±1,00 ^{aB}

Betacianine și betaxantine, mg/100 g s.u.								
Solvent	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %			
Temperatura	20°C				70°C			
Timp	15 min		50 min		15 min		50 min	
Betacianine și betaxantine /	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc
Etanol 20%	69,6±4,00 ^{aA}	49,0±0,2 ^{aB}	37,7±2,0 ^{aA}	26,3±1,0 ^{aB}	67,7±1,0 ^{aA}	47,6±0,7 ^{aB}	53,7±2,0 ^{aA}	36,2±1,0 ^{aB}
Etanol 50%	45,1±0,5 ^{bA}	29,1±0,2 ^{bB}	69,5±0,4 ^{bA}	45,9±3,0 ^{bB}	52,3±1,0 ^{bA}	33,2±0,6 ^{bB}	48,5±1,5 ^{bA}	31,6±0,9 ^{bB}

Mediile din aceeași coloană care nu au o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$. Mediile din același rând care nu dețin o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Tabelul 2.3. Conținutul de betalaine totale obținut în urma extracției etanolice asistată de ultrasunete

Betalaine Totale mg/100 g s.u.									
Solvent	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %				
Temperatura	20°C		45°C		20°C		45°C		
Timp	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min
Etanol 20 %	88,7±1,00 ^{aA}	98,0±7,00 ^{aB}	66,0±9,00 ^{aA}	49,1±5,00 ^{aB}	93,2±3,00 ^{aA}	78,3±5,00 ^{aB}	52,8±4,00 ^{aA}	77,1±24,00 ^{aB}	
Etanol 50 %	82,2±8,00 ^{bA}	104,7±3,00 ^{bB}	66,1±1,00 ^{aA}	54,3±2,00 ^{bB}	76,3±4,00 ^{bA}	87,0±4,00 ^{bB}	35,0±9,00 ^{bA}	51,7±8,00 ^{bB}	

Mediile din aceeași coloană care nu au în comun o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$. Valorile medii din același rând care nu au în comun o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Tabelul 2.4. Conținutul total de betacianine și betaxantine obținut în urma extracției etanolice asistată de ultrasunete

Betacianine și betaxantine, mg/100 g s.u.								
Solvent	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %			
Temperatura	20°C				45°C			
Timp	15 min		50 min		15 min		50 min	
Betacianine și betaxantine	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc
Etanol 20%	52,0±0,70 ^{aA}	36,7±1,00 ^{aB}	57,9±4,00 ^{aA}	40,1±3,00 ^{aB}	38,2±6,00 ^{aA}	27,8±3,00 ^{aB}	26,2±5,00 ^{aA}	23,0±0,90 ^{aB}
Etanol 50%	49,9±5,00 ^{bA}	32,3±3,00 ^{aB}	63,7±2,00 ^{bA}	41,1±1,00 ^{aB}	40,0±1,00 ^{aA}	27,2±0,80 ^{aB}	31,5±1,00 ^{bA}	22,8±1,00 ^{aB}

Betacianine și betaxantine, mg/100 g s.u.								
Solvent	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %			
Temperatura	20°C				45°C			
Timp	15 min		50 min		15 min		50 min	
Betacianine și betaxantine	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc
Etanol 20%	56,4±2,00 ^{aA}	36,8±1,00 ^{aB}	47,1±3,00 ^{aA}	31,2±2,00 ^{aB}	31,4±2,00 ^{aA}	21,4±4,00 ^{aB}	44,9±16,00 ^{aA}	32,3±7,00 ^{aB}
Etanol 50%	46,5±2,00 ^{bA}	29,8±2,00 ^{bB}	53,6±2,00 ^{bA}	33,5±1,00 ^{aB}	20,6±6,00 ^{bA}	14,4±2,00 ^{bB}	31,4±5,00 ^{bA}	20,4±2,00 ^{bB}

Mediile din aceeași coloană care nu au în comun o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $P < 0,05$. Mediile din același rând care nu au în comun o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Extracția cu soluție de etanol de concentrație 50% în urma căreia s-a obținut cel mai mare conținut de betalaine de $115,3 \pm 0,60$ mg/100 g s.u., a avut loc la temperatura de 20°C, timp de 20 de minute în prezența acidului citric de concentrație 1%.

Cu toate că cele două combinații de parametri au contribuit la extracție unor cantități considerabile de betalaine, combinația de parametri ca soluție de etanol de concentrație 20% și acid citric 1% la temperatura de 20°C, timp de 20 de minute a permis extracția celei mai mari cantități de betalaine de $118,5 \pm 76,0$ mg/100 g s.u. prin extracție convențională cu solvenți. De asemenea parametri precum soluție de etanol de concentrație 20%, soluție de acid citric de concentrație 0,1% la temperatura de 20°C și timpul de 50 minute a condus la obținerea unei cantități totale de betalaine de $118,4 \pm 8,00$ mg/100 g s.u. din care o cantitate de betaxantine de $71,50 \pm 5,00$ mg/g s.u. și de betacianine de $47,00 \pm 2,00$ mg/100 g s.u. Cea mai puțin potrivită combinație de parametri care a extras o cantitate mai mică de compuși betalainici s-a dovedit a fi, cea cu etanol de concentrație 20% acidifiată cu acid citric 1%, după 50 de minute de extracție, la temperatura de 20°C, care a condus la obținerea unui conținut de betalaine totale de doar $64,00 \pm 4,00$ mg/100 g s.u. Rezultatele obținute în acest studiu sunt în acord cu alte studii raportate de alți autori.

Datele din **Tabelul 2.3.** și **2.4.** prezintă variația conținutului de betalainelor totale (BT) precum și a conținutului total de betacianine și betaxantine prin extracția etanolică asistată de ultrasunete, în funcție de parametri studiați.

Extracția etanolică asistată de ultrasunete a permis obținerea unui conținut maxim de betalaine de $104,70 \pm 3,00$ mg/100 g s.u. cu ajutorul etanolului de concentrație 50% acidifiat cu acid citric 0,1%, după 15 minute de extracție la temperatura de 20°C. Din totalul de betalaine obținut, betaxantinele au reprezentat $63,70 \pm 2,00$ mg/g s.u. și betacianinele $41,10 \pm 1,00$ mg/100 g s.u.

Extracția cu etanol de concentrație 20% acidifiat cu acid citric 0,1% a condus la obținerea unei cantități semnificativ diferite ($p < 0,05$) de betalaine de $98,00 \pm 7,00$ după 50 minute de extracție la o temperatură de 20°C. Extracția cu etanol de concentrație 50% și acid citric 1% a condus la extracția unei cantități mici de betalaine de numai $35,00 \pm 9,00$ mg/100 g s.u., însă de data aceasta după doar 15 minute de extracție la temperatura de 45°C.

Se poate concluziona că temperatura și timpul de extracție au avut un efect semnificativ asupra conținutului de betalaină extrasă. O temperatură de până la 80°C timp de 30 de minute, așa cum a fost aplicată în extractul prin infuzie, a permis obținerea unui conținut mai mare de betalaină, în timp ce pentru extractul obținut prin decoctie parametri precum temperatura de 100°C, timp de 20 de minute au condus la scăderea conținutului de betalaină de 0,63 ori pentru betacianine și respectiv 0,77 ori pentru betaxantine.

Se poate concluziona că temperatura și timpul de extracție au avut un efect semnificativ asupra conținutului de betalaine.

Extracția asistată de microunde este una dintre cele mai folosite metode moderne de extracție datorită timpului redus de extracție și consumul mic de solvenți. Această tehnică se caracterizează prin ruperea pereților celulari datorită încălzirii solventului cu ajutorul microundelor. În **Tabelele 2.5.** și **2.6.** sunt prezentate datele privind conținutul de betalaine totale și respectiv conținutul total de betacianine și betaxantine obținut în urma extracției etanolice asistată de microunde prin varierea parametrilor. Această metodă de extracție etanolică asistată de microunde a condus la recuperarea unor cantități mai mici de betalaine în comparație cu celelalte două tipuri de extracție (convențională și extracția asistată de ultrasunete) descrise mai sus, prin varierea aceluși parametri de extracție.

Astfel, combinația dintre etanol de concentrație 20% și acid citric 0,1% a permis obținerea celei mai mari cantități de betalaine de $87,70 \pm 1,00$ mg/100 g s.u., după un timp de extracție de 15 secunde la o putere de 315W. Extracția cu etanol de concentrație 50% a condus la obținerea unei concentrații de betalaine de doar $78,60 \pm 8,00$ mg/100 g s.u. în combinație cu acidul citric 0,1% după 15 secunde de tratament cu microunde la o putere de 315W.

În urma tratamentului cu microunde, solvenții utilizați au atins probabil temperaturi care au degradat betalainele. Astfel, cea mai mică concentrație de betalaine recuperată prin metoda cu microunde s-a observat la extracția cu etanol de concentrație 20% și acid citric 0,1% la o valoare de $53,20 \pm 3,00$ mg/g s.u. timp de 10 secunde la puterea de 525W.

Tabelul 2.5. Conținutul de betalaine totale obținut în urma extracției etanolice asistată de microunde

Solvent	Betalaine Totale mg/100 g s.u.							
	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %			
	10 secunde		15 secunde		10 secunde		15 secunde	
Timp								
Putere microunde	315 W	525 W	315 W	525 W	315 W	525 W	315 W	525 W
Etanol 20 %	74,8±7,00 ^{AA}	53,2±3,00 ^{AB}	87,7±1,00 ^{AA}	56,6±2,00 ^{AB}	71,4±6,00 ^{AA}	64,7±2,00 ^{AB}	64,6±5,00 ^{AA}	79,4±1,00 ^{AB}
Etanol 50 %	77,0±5,00 ^{BA}	55,2±1,00 ^{AB}	78,6±8,00 ^{BA}	60,2±1,00 ^{BB}	76,5±6,00 ^{BA}	65,2±2,00 ^{AB}	55,6±2,00 ^{BA}	64,9±5,00 ^{BB}

Mediile din aceeași coloană care nu au în comun o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$. Mediile din același rând care nu au în comun o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Tabelul 2.6. Conținutul total de betacianine și betaxantine obținut în urma extracției etanolice asistată de microunde

Solvent	Betacianine și betaxantine, mg/100 g s.u.							
	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %			
	10 secunde		10 secunde		15 secunde		15 secunde	
Timp								
Putere microunde	315 W	525 W	315 W	525 W	315 W	525 W	315 W	525 W
Betacianine și betaxantine	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc
Etanol 20%	42,2±2,00 ^{AA}	32,6±4,00 ^{AB}	40,7±3,00 ^{AA}	12,5±0,30 ^{AB}	52,4±1,00 ^{AA}	35,3±0,90 ^{AB}	43,6±1,00 ^{AA}	13,0±1,00 ^{AB}
Etanol 50%	43,6±1,00 ^{AA}	33,4±3,00 ^{AB}	43,3±1,00 ^{AA}	11,9±0,20 ^{AB}	46,2±6,00 ^{BA}	32,5±2,00 ^{BB}	47,7±1,00 ^{BA}	12,5±0,30 ^{AB}
Betacianine și betaxantine	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc	Bx	Bc
Etanol 20%	41,0±2,00 ^{AA}	30,5±4,00 ^{AB}	51,1±1,00 ^{AA}	13,7±0,90 ^{AB}	50,6±5,00 ^{AA}	14,1±0,80 ^{AB}	63,9±1,00 ^{AA}	15,5±0,30 ^{AB}
Etanol 50%	46,3±0,30 ^{BA}	30,2±2,00 ^{AB}	51,5±1,00 ^{AA}	13,7±1,00 ^{AB}	43,6±2,00 ^{BA}	12,0±0,20 ^{AB}	51,7±4,00 ^{BA}	13,2±1,00 ^{AB}

Mediile din aceeași coloană care nu au în comun o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$. Mediile din același rând care nu au în comun o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Extracția cu adaos de preparate enzimatice este cunoscută pentru faptul că ajută la reducerea consumului de solvenți și de energie, ajutând totodată la recuperarea unei cantități mai mari de compuși biologic activi. În acest studiu, s-au folosit trei preparate enzimatice precum celulaza, enzimele pectolitice și xilanaza, iar rezultatele conținutului de betalaine totale obținute prin extracția cu adaos de preparate enzimatice sunt prezentate în **tabelul 2.7**.

Preparatul enzimatic cu activitate pectolitică (Zymorouge), a reușit să extragă betalainele din pereții celulari după 15 minute de hidroliză, obținându-se o cantitate maximă de $118,00 \pm 3,00$ mg/100 g s.u.

Referitor la conținutul de betalaine după tratamentul cu celulază, se remarcă o concentrație de betalaine de $91,00 \pm 2,00$ mg /100 g s.u. după 15 min de extracție. Însă, în cazul extracției betalainelor din coajă de sfeclă roșie se observă că cea mai mică concentrație de compuși betalainici a fost extrasă după tratamentul cu xilanază, și anume de doar $49,00 \pm 4,00$ mg/100 g s.u. după 30 minute de hidroliză. Astfel, crescând timpul de extracție, putem afirma faptul că betalainele au început să se degradeze până la $49,00 \pm 5,00$ mg /100 g s.u. după 1 oră de hidroliză.

2.5.2. Conținutul total de polifenoli din extractele obținute

Cuantificarea polifenolilor s-a realizat cu ajutorul testului Folin Ciocâlteu ce are la bază reacția redox dintre compușii fenolici și un amestec de tungsten și molibden într-un mediu alcalin.

Tabel 2.7. Conținutul de betalaine totale obținut în urma extracției cu adaos de preparate enzimactice

Preparate enzimactice	Conținut de BT, mg /100 g s.u.								
	Enzime pectolitice			Celulaza			Xilanaza		
Timp	15 min	30 min	60 min	15 min	30 min	60 min	15 min	30 min	60 min
BT	118,00±3,00 ^a	58,00±3,00 ^a	74,00±2,00 ^a	91,00±2,00 ^b	58,00±1,00 ^a	63,00±2,00 ^b	74,00±6,00 ^c	49,00±4,00 ^b	49,00±5,00 ^c

Mediile din același rând care nu au în comun o literă (a, b, c) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ între probele obținute cu diferite preparate enzimactice și același timp de extracție utilizând ANOVA și testul Tukey

Tabel 2.8. Conținutul total de polifenoli obținut prin extracția convențională cu solvenți

Solvent	CTP mg EAG/g s.u.										
	Temperatura	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %					
		20°C	50 min	15 min	70°C	50 min	15 min	20°C	50 min	15 min	70°C
Etanol 20%	225,36±1,97 ^{aA}	214,04±2,60 ^{aB}	209,94±2,14 ^{aA}	186,89±4,48 ^{aB}	237,79±6,83 ^{aA}	186,82±10,16 ^{aB}	300,25±14,01 ^{aA}	231,97±2,26 ^{aB}			
Etanol 50%	210,32±9,42 ^{bA}	210,06±0,95 ^{aA}	199,65±8,92 ^{bA}	171,46±5,27 ^{bB}	201,73±6,25 ^{bA}	246,85±4,20 ^{bB}	228,66±9,11 ^{bA}	213,40±2,62 ^{bB}			

Mediile din aceeași coloană care nu au în comun o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$. Mediile din același rând care nu au în comun o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Tabel 2.9. Conținutul total de polifenoli obținut în urma extracției asistate de ultrasunete

Solvent	CTP mg EAG/g s.u.								
	Temperatura	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %			
		20°C	45°C	20°C	45°C	20°C	45°C	20°C	45°C
Etanol 20 %	196,94±9,77 ^{aA}	199,21±10,38 ^{aB}	167,28±14,55 ^{aA}	156,59±5,95 ^{aB}	216,98±12,95 ^{aA}	193,67±4,17 ^{aB}	107,28±2,71 ^{aA}	228,18±4,37 ^{aB}	
Etanol 50 %	196,70±7,39 ^{aA}	199,22±10,53 ^{aB}	193,42±15,11 ^{bA}	162,25±4,99 ^{bB}	184,25±15,06 ^{bA}	198,64±8,65 ^{bB}	110,77±6,33 ^{bA}	179,24±5,00 ^{bB}	

Mediile din aceeași coloană care nu au în comun o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$. Mediile din același rând care nu au în comun o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Această reacție conduce la crearea unui complex de culoare albastră care se cuantifică la lungimea de undă de 765 nm. Rezultatele au fost exprimate ca mg echivalent acid galic (EAG)/g coajă liofilizată. În **tabelul 2.8.** este prezentat conținutul total de polifenoli obținuți prin extracția convențională cu solvenți.

În cazul extracției convenționale, cel mai mare conținut de polifenoli totali de $300,25 \pm 14,01$ mg EAG/g s.u. s-a obținut prin extracția cu etanol de concentrație 20% și acid citric 1%, după 15 de minute de extracție la temperatura de 70°C.

Totuși, un conținut destul de ridicat de polifenoli totali de $246,85 \pm 4,20$ mg EAG/g s.u. a prezentat și extractul obținut cu etanol de concentrație 50% cu acid citric 0,1%, după 50 de minute de extracție la temperatura de 20°C.

Valoarea cea mai redusă a conținutului de polifenoli totali a fost obținută etanol de concentrație 50% cu acid citric 0,1%, după 50 de minute de extracție, la temperatura de 70°C, care a condus la obținerea a doar $171,46 \pm 5,27$ mg EAG/g s.u.

Randamentul de extracție al polifenolilor totali obținut în urma extracției asistate de ultrasunete este prezentat în **Tabelul 2.9.**

Cel mai mare conținut de polifenoli totali obținut în urma extracției asistate de ultrasunete a fost observat pentru varianta de extracție cu etanol de concentrație 20% acidifiat

cu acid citric 1%, după 50 de minute de tratament la temperatura de 45°C, respectiv 228,18 ± 4,37 mg EAG/g s.u.

Cea mai nereușită combinație de parametri de extracție s-a dovedit a fi cea dintre etanol de concentrație 20% acidifiat cu acidul citric 1%, după 15 de minute de extracție, la temperatura de 45°C, care a condus la obținerea unei cantități de numai 107,28 ± 2,71 mg EAG /g s.u.

Și în cazul extracției asistate de microunde (**tabel 2.10**) s-a observat că soluția etanolică de concentrație 20% acidifiată cu acid citric 1% a avut cel mai mare randament de extracție a polifenolilor totali fiind de 257,26 ± 12,88 mg EAG/g s.u. Diferențe semnificative (p<0,05) s-au înregistrat pentru extracția cu etanol de concentrație 50% și acid citric 1%, conținutul de polifenoli totali fiind de 214,48 ± 1,36 mg EAG/g s.u..

În schimb, utilizând etanolul de concentrație 20% acidifiat cu acid citric 1% s-a extras cea mai mare cantitate de polifenoli totali de 257,26 ± 12,88 mg EAG/g s.u. după 15 sec. de tratament cu microunde la puterea de 525 W.

Extracția asistată enzimatic (enzime cu activitate enzimatică celulazică) a condus la obținerea unui conținut mai mare de polifenoli totali comparativ cu randamentul de polifenoli totali obținut în cazul extracției asistate de microunde. Astfel, tratamentul cu celulază a extras un conținut de polifenoli totali de 94,32 ± 7,65 mg EAG/g s.u. după 1 oră de hidroliză. Preparatul enzimatic cu activitate pectolitică (Zymorouge) a extras un CTP de 93,45 ± 0,74 mg EAG/g s.u. după 30 minute de hidroliză (**tabel 2.11.**), însă, în urma tratamentului cu xilanază s-a obținut cea mai mică concentrație de polifenoli de numai 80,67 ± 1,26 mg EAG/g s.u. după 15 minute de hidroliză.

2.5.3. Activitatea antioxidantă a extractelor obținute prin diferite metode de extracție

Antioxidanții joacă un rol important în conservarea alimentelor prin inhibarea proceselor de oxidare și contribuie la promovarea sănătății fiind oferite de multe suplimente alimentare, nutraceutice și ingrediente alimentare funcționale. Activitatea antioxidantă poate fi monitorizată printr-o varietate de tehnici cu mecanisme diferite, cea mai frecvent utilizată fiind metoda de captare a radicalilor liberi DPPH care se bazează pe donarea de electroni a antioxidantilor pentru a neutraliza radicalul DPPH.

În **tabelul 2.12.** sunt centralizate rezultatele activității antioxidante a extractelor obținute cu ajutorul extracției convenționale cu solvenți, exprimate ca mMol Trolox/g s.u. Valorile activității antioxidante au variat de la 13,61±2,41 mM Trolox/g s.u. la 47,65 ± 0,21 mMol Trolox/g s.u. Cea mai mare valoare a activității antioxidante de 47,65 ± 0,21 mMol Trolox/g s.u. s-a obținut pentru extractul cu etanol de concentrație 50% acidifiat cu acid citric 1%, după 15 minute de extracție la o temperatură de 70°C.

Tabel 2.10. Conținutul total de polifenoli obținut în urma extracției asistate de microunde

		CTP mg EAG/g s.u.							
Solvent		Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %			
Timp		10 secunde		15 secunde		10 secunde		15 secunde	
Putere microunde		315 W	525 W	315 W	525 W	315 W	525 W	315 W	525 W
Etanol 20 %		195,85±2,52 ^{BA}	181,06±1,57 ^{BB}	207,20±7,68 ^{BA}	179,16±5,49 ^{BB}	202,98±5,48 ^{BA}	188,68±7,40 ^{BB}	188,39±3,18 ^{BA}	257,26±12,88 ^{BB}
Etanol 50 %		191,33±5,94 ^{BA}	188,12±18,07 ^{BB}	206,37±1,53 ^{BA}	199,00±30,22 ^{BB}	214,48±1,36 ^{BA}	178,54±13,43 ^{BB}	192,70±14,49 ^{BA}	204,80±6,07 ^{BB}

Mediile din aceeași coloană care nu au în comun o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la p<0,05. Mediile din același rând care nu au în comun o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la p<0,05 utilizând ANOVA și testul Tukey

Tabel 2.11. Conținutul total de polifenoli obținut în urma extracției cu adaos de preparate enzimatice

		CTP mg EAG/g s.u.								
Preparate enzimatice		Enzime pectolitice			Celulaza			Xilanaza		
Timp		15 min	30 min	60 min	15 min	30 min	60 min	15 min	30 min	60 min
CTP		92,27±11,05 ^a	93,45±0,74 ^a	88,68±2,63 ^a	83,95±1,50 ^b	93,73±1,97 ^a	94,32±7,65 ^b	80,67±1,26 ^c	88,11±0,82 ^b	85,36±1,22 ^c

Mediile din același rând care nu au în comun o literă (a, b, c) sunt semnificativ diferite la p<0,05 între probele obținute cu diferite preparate enzimatice și același timp de extracție utilizând ANOVA și testul Tukey

Tabel 2.12. Activitate antioxidantă a extractelor obținute prin metoda convențională cu solvenți

Solvent	Activitate Antioxidantă mM Trolox/mg s.u.									
	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %					
	Temperatura	20°C		70°C		Temperatura	20°C		70°C	
Timp	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min	50 min
Etanol 20%	19,75±0,59 ^{BA}	13,61±2,41 ^{AB}	34,08±5,18 ^{BA}	31,87±0,83 ^{AB}	22,94±0,94 ^{BA}	17,45±1,77 ^{AB}	18,78±3,27 ^{BA}	42,51±2,02 ^{AB}		
Etanol 50%	17,12±0,94 ^{BA}	26,54±3,96 ^{BB}	26,06±5,26 ^{BA}	38,42±0,80 ^{BB}	21,52±0,61 ^{BA}	19,78±2,48 ^{AB}	47,65±0,21 ^{BA}	37,44±0,51 ^{BB}		

Mediile din aceeași coloană care nu au în comun o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$. Mediile din același rând care nu au în comun o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Activitatea antioxidantă a extractelor analizate a crescut odată cu creșterea temperaturii în timpul extracției, toate variantele experimentale prezentând valori satisfăcătoare ale activității antioxidante.

Cel mai mic potențial antioxidant s-a obținut pentru extractul cu etanol de concentrație 20% cu acid citric 0,1%, după 15 de minute de extracție, la temperatura de 20°C, care a condus la obținerea unei valori de numai 13,61 ± 2,41 mMol Trolox /g s.u.

Rezultatele referitoare la activitatea antioxidantă a extractelor de coajă de sfeclă roșie obținute prin extracția asistată de ultrasunete sunt prezentate în **Tabelul 2.13**.

Prin extracția asistată de ultrasunete s-au obținut valori ale activității antioxidante cuprinse între 33,42 ± 1,60 și 3,38 ± 1,80 mMol Trolox/g s.u. Cea mai redusă valoare a activității antioxidante a fost obținută folosind etanol de concentrație 20% și cea mai ridicată activitate antioxidantă a fost obținută folosind etanol de concentrație 50%, în combinații diferite de parametri. Astfel, potențialul antioxidant cel mai ridicat a prezentat extractul cu etanol de concentrație 50% acidificat cu acid citric 1% la temperatura de 20°C, iar timpul de extracție a fost de 15 minute. Combinația dintre etanol de concentrație 20% acidificat cu acid citric 0,1% la temperatura de 45°C, și timpul de extracție de 50 minute a condus la obținerea unei activități antioxidante scăzute cu o valoare de numai 3,38 ± 1,80 mMol Trolox/g.

Activitatea antioxidantă a extractelor determinate prin extracție asistată de microunde a variat în funcție de parametri de extracție, conform datelor prezentate în **Tabelul 2.14**.

Privind în ansamblu, se poate observa că extractele cu etanol de concentrație 20% au avut cel mai bun potențial antioxidant, prezentând cele mai mari valori ale activității antioxidante cuprinse între valoarea 20,21 ± 1,01 și valoarea 30,54 ± 0,75 mMol Trolox/g s.u.

Totuși cea mai mare valoare a activității antioxidante s-a obținut pentru extracția cu etanol de concentrație 50% acidificat cu acid citric 1% timp de 10 secunde având o valoare de 30,82 ± 0,33 mMol Trolox/g s.u. Totodată, se observă că pentru toate variantele de extracție analizate, timpul a dus la o ușoară reducere a activității antioxidante.

Tabelul 2.15. prezintă activitatea antioxidantă a extractelor obținute prin extracția cu adaos de preparate enzimatice.

Se observă faptul că și în cazul activității antioxidante, preparatul enzimatic cu activitate pectolitică (Zymorouge) a dat cel mai bun randament pentru extracția compusilor biologic activi cu activitate antioxidantă asupra radicalului DPPH.

Tabel 2.13. Activitatea antioxidantă a extractelor obținute prin extracția asistată de ultrasunete

Solvent	Activitate Antioxidantă mM Trolox/g s.u.									
	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %					
	Temperatura	20°C		45°C		Temperatura	20°C		45°C	
Timp	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min	50 min	15 min	50 min
Etanol 20 %	19,88±0,42 ^{BA}	26,60±1,49 ^{AB}	5,86±0,87 ^{BA}	3,38±1,80 ^{AB}	20,43±1,15 ^{BA}	15,61±0,27 ^{AB}	10,71±2,26 ^{BA}	6,92±0,41 ^{AB}		
Etanol 50 %	14,43±0,72 ^{BA}	9,43±1,42 ^{BB}	15,89±0,77 ^{BA}	28,29±3,79 ^{BB}	33,42±1,60 ^{BA}	26,43±0,34 ^{BB}	31,37±0,34 ^{BA}	30,64±0,77 ^{BB}		

Mediile din aceeași coloană care nu au în comun o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$. Mediile din același rând care nu au în comun o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Tabel 2.14. Activitate antioxidantă a extractelor obținute prin extracția asistată de microunde

Solvent	Activitate Antioxidantă mM Trolox/g s.u.							
	Acid citric 0,1 %				Acid citric 1 %			
	10 secunde		15 secunde		10 secunde		15 secunde	
Timp	315 W	525 W	315 W	525 W	315 W	525 W	315 W	525 W
Putere microunde	315 W	525 W	315 W	525 W	315 W	525 W	315 W	525 W
Etanol 20 %	20,27±1,19 ^{abA}	26,00±2,48 ^{abB}	18,74±6,13 ^{abA}	24,62±1,76 ^{abB}	26,48±2,15 ^{abA}	30,54±0,75 ^{abB}	22,27±1,68 ^{abA}	20,21±1,01 ^{abA}
Etanol 50 %	20,59±2,76 ^{abA}	26,88±0,74 ^{abB}	15,37±1,14 ^{abA}	26,52±1,66 ^{abB}	26,16±3,10 ^{abA}	30,82±0,33 ^{abB}	26,63±1,43 ^{abA}	26,73±2,10 ^{abA}

Mediile din aceeași coloană care nu au în comun o literă mică (a, b) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$. Mediile din același rând care nu au în comun o literă mare (A, B) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ utilizând ANOVA și testul Tukey

Tabelul 2.15. Activitatea antioxidantă a extractelor obținute prin extracția cu adaos de preparate enzimatice

Preparate enzimatice	Activitate Antioxidantă mM Trolox/g s.u.								
	Enzime pectolitice			Celulaza			Xilanaza		
	Timp	15 min	30 min	60 min	15 min	30 min	60 min	15 min	30 min
AA	13,74±0,05 ^a	19,11±0,27 ^a	11,98±0,42 ^a	14,17±0,86 ^b	18,40±0,45 ^b	12,57±0,37 ^b	14,75±1,57 ^b	18,97±0,06 ^b	12,30±1,68 ^b

Mediile din același rând care nu au o literă (a, b, c) sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ între probele obținute cu diferite preparate enzimatice și același timp de extracție utilizând ANOVA și testul Tukey

După doar 30 de minute de extracție, acesta a condus la obținerea unui extract cu activitate antioxidantă mare de $19,11 \pm 0,27$ mMol Trolox/g s.u. S-a observat însă, că odată cu creșterea timpului de extracție, de până la 60 minute, activitatea antioxidantă a scăzut până la valoarea de $11,98 \pm 0,42$ mMol Trolox/g s.u datorită degradării compușilor biologic activi cu activitate antioxidantă asupra radicalului DPPH.

O scădere a activității antioxidante în timp s-a observat după tratamentul cu xilanază, la care s-au obținut valori ale activității antioxidante mici de $12,30 \pm 1,68$ mMol Trolox/g s.u.

În **figurile 2.1. - 2.3.** s-a realizat o analiză a conținutului de compuși biologic activi din extractele obținute din coajă de sfeclă roșie prin cele trei metode de extracție analizate, respectiv, metoda de extracție convențională cu solvenți, metoda de extracție etanolică asistată de ultrasunete și metoda de extracție etanolică asistată de microunde.

După cum se observă în **figura 2.1**, valorile cele mai mari ale conținutului de betalaine totale au fost obținute prin extracția convențională cu solvenți (etanol de concentrație 20%) fiind de aproximativ de $118,5 \pm 6,00$ mg/100g s.u. Valori similare s-au obținut și în cazul extracției etanolice asistată de ultrasunete, unde conținutul total de betalaine a fost de $104,7 \pm 3,00$ mg/100g s.u. Metoda extracției etanolice asistată de microunde a condus la recuperarea unor cantități mai mici de betalaine decât la celelalte două tipuri de extracții. Astfel, combinația dintre etanol de concentrație 20% acidifiat cu acid citric 0,1% a permis obținerea unor cantități de betalaine de $87,7 \pm 1,00$ mg/100g s.u., după un timp de 15 secunde la puterea de 315 W.

Prin urmare, puterea sau frecvența ridicată a ultrasunetelor ar fi putut degrada pigmentii betalainici, rezultând astfel un randament mai scăzut de extracție. Prin urmare, optimizarea procesului este un pas important pentru a obține eficiența maximă de extracție a compușilor de interes.

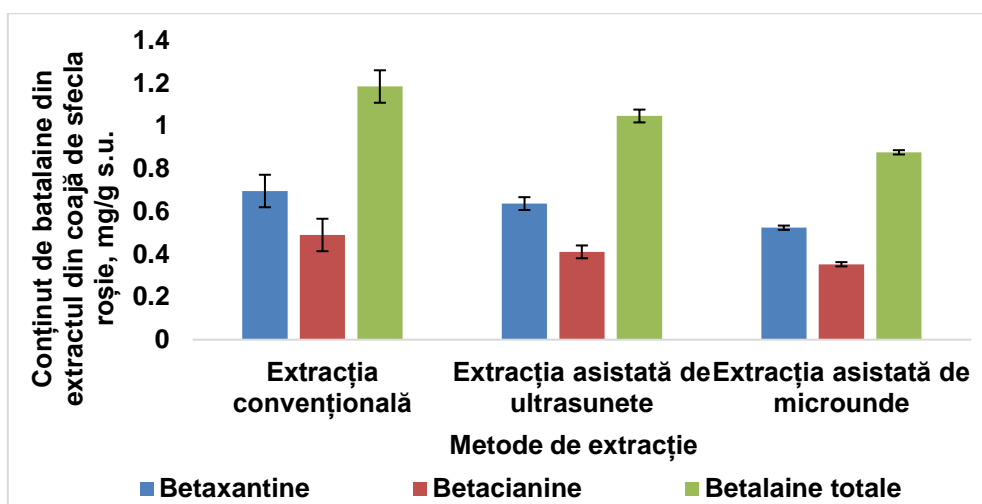


Figura 2.1. Conținutul total de betalaine (betaxantine și betacianine) din extractele din coajă de sfeclă roșie obținut prin diferite metode de extracție

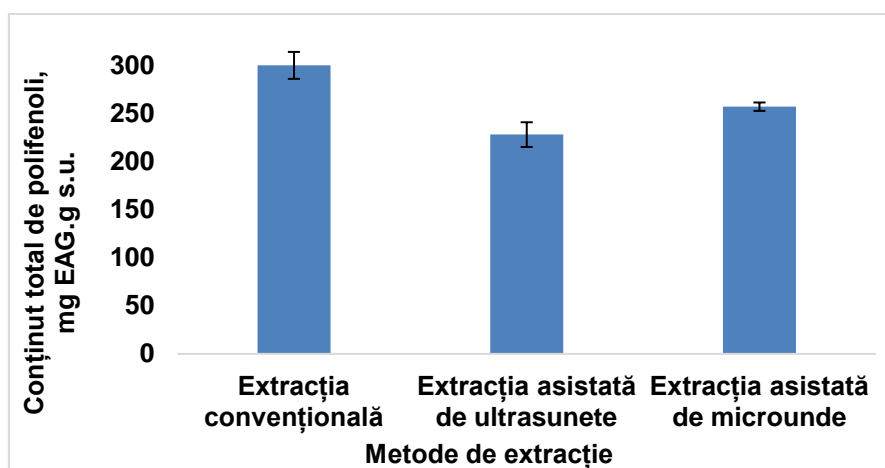


Figura 2.2. Conținutul total de polifenoli din extractele din coajă de sfeclă roșie obținut prin diferite metode de extracție

Figura 2.2. prezintă conținutul total de polifenoli în urma extracției convenționale comparativ cu conținutul de polifenoli totali obținut în urma extracției etanolice asistată de ultrasunete și respectiv conținutul total de polifenoli obținut în urma extracției etanolice asistată de microunde. Astfel, după cum se poate observa, valorile cele mai mari ale conținutului de polifenoli totali au fost obținute prin extracția convențională $300,25 \pm 14,01$ mg EAG/g s.u. având ca parametri de extracție etanol de concentrație 20% și acid citric 1%, după 15 de minute de extracție la temperatura de 70°C . Valorile asemănătoare s-au obținut și prin metoda extracției etanolice asistată de microunde, unde conținutul de polifenoli totali a fost de $257,26 \pm 12,88$ mg EAG/g s.u.

Metoda extracției etanolice asistată de ultrasunete a condus la recuperarea unor cantități mai mici de compuși polifenolici comparativ cu celelalte două tipuri de extracție prezentate, respectiv de $228,18 \pm 4,37$ mg EAG/g s.u.

Conform rezultatelor prezentate în **figura 2.3** valorile cele mai mari ale activității antioxidante au fost obținute prin extracția convențională fiind de $47,65 \pm 0,21$ mMol Trolox/g s.u. utilizând parametri precum etanol de concentrație 50% și acid citric 1%, după 15 minute de extracție la o temperatură de 70°C . În ceea ce privește metoda extracției etanolice asistată de ultrasunete, s-a obținut o activitate antioxidantă de $33,42 \pm 1,60$ mMol Trolox/g s.u., iar prin metoda extracției etanolice asistată de microunde s-a obținut valori ale activității antioxidante de $30,82 \pm 0,33$ mMol Trolox/g s.u. având ca parametri de extracție etanol de concentrație 50%, acid citric 1% timp de 10 secunde.

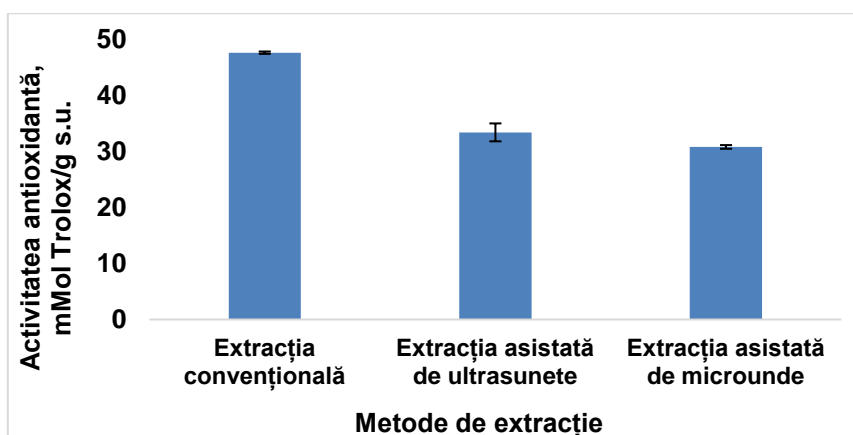


Figura 2.3. Activitatea antioxidantă a extractelor din coajă de sfeclă roșie obținută prin diferite metode de extracție

În privința extracției cu adaos de preparate enzimatice s-au utilizat trei preparate enzimatice diferite (celulază, enzime pectolitice și xilanază), timpul de extracție fiind de 15, 30 și 60 minute. Preparatul enzimatic cu activitate pectolitică (Zymorouge), a reușit să extragă betalainele din pereții celulari după 15 minute de hidroliză, obținându-se o cantitate maximă de $118,00 \pm 3,00$ mg/g s.u.

Însă, în cazul extracției betalainelor din coajă de sfeclă roșie se observă că cea mai mică concentrație de betalaine a fost extrasă în urma tratamentului cu xilanază, de doar $49,00 \pm 4,00$ mg/g s.u. după 30 minute de hidroliză. Crescând timpul de extracție, betalainele au început să se degradeze până la $49,00 \pm 5,00$ mg /g s.u. după 1 oră de hidroliză.

Extracția în prezența preparatului enzimatic pe bază de celulază a condus la obținerea unui conținut mai mare de compuși polifenolici comparativ cu cel obținut în cazul extracției etanolice asistate de microunde. Astfel, tratamentul cu celulaza a extras un conținut de polifenoli totali de $94,32 \pm 7,65$ mg EAG/g s.u. după 1 oră de hidroliză. Preparatul enzimatic cu activitate pectolitică a extras o cantitate similară de $93,45 \pm 0,74$ mg EAG/g s.u. după 30 minute de hidroliză (vezi **tabel 2.15.**). Însă, în cazul extracției polifenolilor din coajă de sfeclă roșie se observă că cea mai mică concentrație de polifenoli a fost extrasă cu xilanază, de $80,67 \pm 1,26$ mg EAG/g s.u. după 15 minute de hidroliză.

Se observă că și în cazul activității antioxidante, preparatul enzimatic cu activitate pectolitică (Zymorouge) a condus la cel mai bun potențial antioxidant. După doar 30 de minute de extracție, acesta a condus la obținerea unui extract cu activitate antioxidantă de $19,11 \pm 0,27$ mMol Trolox/g s.u. S-a observat însă, că odată cu creșterea timpului de extracție, de până la 60 minute, activitatea antioxidantă a scăzut până la valoarea de $11,98 \pm 0,42$ mMol Trolox/g s.u.

2.6. Concluzii parțiale

Acest studiu a avut drept scop alegerea metodei de extracție și a parametrilor optimi care se pretează cel mai bine pentru extractul din coajă de sfeclă roșie, în vederea creșterii randamentului de extracție a betalainelor și a compușilor polifenolici, în corelație cu obținerea unei activități antioxidante îmbunătățite. În acest scop s-au utilizat patru metode de extracție diferite și anume metoda de extracție convențională cu solvenți, metoda de extracție etanolică asistată de ultrasunete, metoda de extracție etanolică asistată de microunde și metoda de extracție cu adaos de preparate enzimatice. La toate aceste metode s-au variat concentrația de etanol (20%, 50%), de acid citric (0,1%, 1%), precum și timpul și temperatura de extracție.

Valorile cele mai mari ale conținutului total de betalaine au fost obținute prin extracția convențională $118,5 \pm 6,00$ mg/g s.u. utilizând etanol de concentrație 20% și acid citric 1% pentru extracție, la o temperatură de 20°C, timp de 15 minute.

În privința conținutului de polifenoli totali cel mai mare randament de $300,25 \pm 14,01$ mg EAG/g s.u. s-a obținut prin extracția convențională având ca parametri de extracție etanol de concentrație 20% și acid citric 1%, după 15 de minute de extracție la temperatura de 70°C.

Valorile cele mai mari ale activității antioxidante au fost obținute prin extracția convențională de $47,65 \pm 0,21$ mMol Trolox/g s.u. ce s-a obținut pentru extractele cu etanol de concentrație 50% și acid citric 1%, după 15 minute de extracție la o temperatură de 70°C.

Cu ajutorul preparatului enzimatic cu activitate pectolitică (Zymorouge), s-a realizat extracția unei cantități de betalaine din pereții celulari, după 15 minute de hidroliză, de $118,00 \pm 3,00$ mg/g s.u.

Extracția cu adaos de celulază a extras un CTP de $94,32 \pm 7,65$ mg EAG/g s.u. după 1 oră de hidroliză. În cazul activității antioxidante, preparatul enzimatic cu activitate pectolitică (Zymorouge) a dat cel mai bun potențial antioxidant de $19,11 \pm 0,27$ mMol Trolox/g s.u. după doar 30 de minute de extracție.

Capitolul 3. OPTIMIZAREA PARAMETRILOR DE EXTRACȚIE A PIGMENȚILOR BETALAINICI ȘI A COMPUȘILOR POLIFENOLICI TOTALI DIN COAJĂ REZULTATĂ LA PRELUCRAREA SFECLEI ROȘII

3.1. Aspecte generale

Sfecla roșie (*Beta vulgaris L.*) este o plantă aparținând familiei *Chenopodiaceae* care include aproximativ 105 genuri cu 1400 de specii (Chawla și colab., 2015), cultivate pe scară largă în Europa, America și Asia (Wruss și colab., 2015). În mod similar, sfecla roșie este probabil cea mai cultivată legumă rădăcinoasă din sud-estul României. Porțiunea comestibilă a sfeclei utilizate în sectorul alimentar este rădăcina tuberoasă. Frunzele sunt, de asemenea, utilizate, dar sunt în general considerate materii prime pentru obținerea furajelor. Sfecla este disponibilă în principal în sezonul rece, dar este, de asemenea, adaptată și la temperaturi ridicate. Temperatura optimă de creștere a plantei variază între 15 și 19 °C, temperaturile mai scăzute influențând acumularea în cantități mai mari a pigmentilor betalainici.

Inițial, sfecla roșie a fost cultivată pentru utilizări în scopuri medicinale, și ulterior de la începutul secolului al treilea a fost folosită predominant pentru consumul uman (Neha și colab., 2018). Cele mai cunoscute specii existente sunt sfecla de zahăr (*Beta vulgaris saccharifera*), sfecla furajeră (*Beta vulgaris crassa*), sfecla de frunze (*Beta vulgaris cicla*) și sfecla de grădină (*Beta vulgaris rubra*).

Sfecla roșie este bogată în flavonoide, vitamine (niacină, biotină și piridoxină), minerale (potasiu, sodiu, fosfor, calciu, magneziu, cupru, fier, zinc etc.) (Wootton și colab., 2011). Sfecla roșie este, de asemenea, una dintre cele mai bogate surse de betalaine, care sunt pigmentii vegetali derivați din acidul betalamic, solubili în apă, responsabili de o culoare roșie intensă (betacianine) sau galbenă (betaxantine) (Vorobiev și colab., 2013).

Intensitatea culorii sfeclei depinde de raportul dintre betacianine și betaxantine. Mai mult de 80% din toți pigmentii de sfeclă sunt compuși ai betacianinei (Liu și colab., 2008). Betalainele din *Beta vulgaris rubra* prezintă capacitate de colorare ridicată, precum și o capacitate antioxidantă remarcabilă fiind capabili să protejeze *in vivo* de tulburările cauzate de stresul oxidativ.

Funcțiile betalainelor se referă la: reducerea concentrației de homocisteină, care reglează homeostazia vasculară, menținerea funcției plachetare, activitatea trombotică, tonusul vascular și stabilitatea vaselor de sânge prin eliberarea de compuși cu proprietati vasodilatatoare și vasoconstrictoare.

Unele efecte atribuite acestor compuși includ capacitatea antioxidantă (Albano și colab., 2015; Ravichandran și colab., 2013) antiproliferativă (Kumar și colab., 2014), cardioprotectoare (Hobbs și colab., 2013), anti-inflamatorie (Vidal și colab., 2014) precum și efecte antimicrobiene (Faridah și colab., 2015).

Betalainele prezente în sfecla roșie sunt utilizate pentru a colora diferite produse alimentare, de exemplu, iaurt congelat, vin, gemuri și iaurt (Kusznierewicz și colab., 2021). Din acest motiv, extracția este o etapă esențială în procesul de separare a compușilor biologic activi. În prezent, există multe metode de extracție, dar cea mai utilizată metodă este extracția convențională cu solvenți. Este utilizată pe scară largă datorită eficienței sale, a timpului scurt de extracție și a costurilor economice reduse, în ciuda dezavantajelor, cum ar fi utilizarea unor

cantități mari de solvenți de extracție (Azmir și colab., 2013). Betalainele sunt de obicei extrase din matrici vegetale prin metode convenționale cât și prin extracția Soxhlet (RamLi și colab., 2014; Hilou și colab., 2013).

3.2. Obiectivele studiului

Obiectivul principal al acestui studiu a fost optimizarea condițiilor extracției convenționale cu solvenți pentru conținutul de compuși betalainici și de compuși polifenolici din extractul din coajă de sfeclă roșie, utilizând matricea de proiecție Central Composite Design.

În acest studiu, s-a testat influența a patru variabile independente precum concentrația de etanol, concentrația de acid citric, temperatura de extracție și timpul de extracție. S-a utilizat un model experimental factorial cu trei puncte centrale, (engl. CCD „Central Composite Design”) care a permis proiectarea a 19 variante experimentale, pentru a optimiza condițiile de extracție a răspunsurilor evaluate și anume conținutul de compuși fenolici, cât și a conținutului compușilor betalainici a extractului obținut din coajă de sfeclă roșie.

3.5. Rezultate și discuții

Pentru a determina parametrii optimi pentru optimizarea procesului de extracție, s-a folosit matricea de proiecție Central Composite Design (CCD) și metoda analizei suprafeței de răspuns, în care conținuturile de BT și CTP au fost măsurate ca răspunsuri. **Tabelul 3.2.** prezintă matricea de proiecție CCD completă, utilizată pentru a optimiza principalele variabile studiate și valorile corespunzătoare.

Extracția compușilor fitochimici din materialele vegetale este influențată de parametrii de extracție utilizați. Mai mult, diferitele polarități ale compușilor extrași prin aplicarea modelului experimental ar putea avea un impact imprevizibil asupra condițiilor de extracție. Prin urmare, extracțiile au fost efectuate cu substanțe extractante având diferite polarități, controlate prin ajustarea raportului de apă și etanol. Astfel, adăugarea de apă în soluția de etanol poate crește randamentul extracției conținutului de betalaine (Fu și colab., 2020), iar extractele pot fi utilizate ușor în sistemele biologice. Optimizarea condițiilor de extracție a betalainelor totale a condus la adăugarea acidului citric în amestecul de extracție pentru a acidifica mediul, în principal pentru că betalainele sunt stabile la pH în intervalul 3,0-7,0. (Castro-Enriquez și colab., 2020).

Tabelul 3.2. Matricea de proiecție CCD cu valorile reale ale principalelor variabile studiate

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Răspuns 1	Răspuns 2
Nr.	A: Acid citric %	B: Etanol %	C: Temperatură °C	D: Timp min	Betalaine mg/g s.u.	CTP mg EAG/g s.u.
1	0,80	35,00	40,00	3,07	0,80	202,01
2	0,80	35,00	40,00	32,50	0,98	230,20
3	1,98	35,00	40,00	32,50	1,03	238,04
4	0,10	50,00	20,00	50,00	0,88	212,66
5	0,10	50,00	60,00	50,00	0,70	192,14
6	1,50	20,00	20,00	50,00	0,85	200,11
7	1,50	20,00	60,00	50,00	0,62	180,32
8	0,80	35,00	6,36	32,50	0,65	189,41
9	0,80	35,00	40,00	32,50	1,02	228,52
10	1,50	50,00	60,00	15,00	0,76	196,48
11	0,10	20,00	20,00	15,00	0,78	205,17
12	0,80	35,00	73,64	32,50	0,29	164,35
13	0,03	35,00	40,00	32,50	0,67	199,65
14	0,80	60,23	40,00	32,50	1,44	274,21

15	0,80	35,00	40,00	61,93	1,14	187,04
16	1,50	50,00	20,00	15,00	0,99	222,31
17	0,80	35,00	40,00	32,50	1,10	226,71
18	0,80	9,77	40,00	32,50	0,65	181,08
19	0,10	20,00	60,00	15,00	0,36	177,04

3.5.1. Influența parametrilor de extracție asupra conținutului de betalaine totale (BT)

Ecuatiile de regresie obținute după analiza varianței ANOVA au descris conținutul în BT al extractului obținut din coajă de sfeclă, în funcție de factorii de extracție analizați (**Tabelul 3.2**).

Ecuatiile de regresie obținute în urma analizei varianței ANOVA au descris conținutul în BT al extractului din coajă de sfeclă obținut, în funcție de factorii mediului de extracție (**Tabelul 3.3**).

Modelul de regresie obținut pentru BT a indicat un coeficient de corelație de $R^2 = 0,96$, sugerând că doar 0,04 din variația BT nu poate fi descrisă de modelul actual. Valoarea F a lipsei de corelație de 1,12, indică faptul că necorelația nu este semnificativă în raport cu eroarea pură. Valorile p mai mici de 0,0500 indică faptul că termenii modelului sunt semnificativi și, în acest caz, A, B, C, D, AB, AD, A^2 , C^2 sunt termenii semnificativi ai modelului. Termenii neesențiali ai modelului au fost excluși și s-a realizat astfel o simplificare a modelului.

Ca rezultat, ecuația model care indică relația dintre conținutul de betalaine (R_1) și variabilele exprimate în unități codificate este reprezentată în ecuația 2.1. Valoarea R^2 predicționată (Pred $R^2 = 0,8796$) este comparabilă cu valoarea R^2 ajustată (Adj $R^2 = 0,9452$):

$$R_1 (BT) = +1,01 + 0,08A + 0,23B - 0,12C + 0,1011D + 0,08AB + 0,14AD - 0,06A^2 - 0,19C^2 \quad (2.1)$$

Coeficienții b din ecuația de regresie au indicat faptul că temperatura a avut un efect negativ semnificativ asupra extracției de betalaine totale. De asemenea, efecte negative semnificative au fost determinate de efectul dublu al temperaturii (C^2), în timp ce concentrația de acid citric (A^2) a avut o influență mai redusă. Mai mult, concentrația de etanol (B) și timpul de extracție (D) au avut o influență pozitivă semnificativă în extracția de BT. Interacțiunea dintre temperatură și timpul de extracție (AB) au afectat moderat extracția, în timp ce concentrația de acid citric și concentrația de etanol (AD) au un efect mai bun.

Matricea de proiecție CCD a evidențiat că o temperatură scăzută de 6,3°C este insuficientă pentru extracția totală a betalainelor și, de asemenea, temperaturile mai ridicate de 73,54°C au o influență negativă asupra betalainelor care poate conduce la degradarea lor ([Chhikara și colab., 2019](#)).

Figura 3.1 (A, a) reprezintă corelația dintre etanol și concentrația de acid citric asupra randamentului de extracție. Conținutul de betalaine a crescut pe măsură ce concentrația soluției de etanol crește ajungând la 40% și la 1,30% pentru concentrația de acid citric. Extracția betalainelor a fost influențată de efectul corelativ al concentrației de acid citric și al timpului de extracție (**Figura 3.1B, b**). Extracția compușilor betalainici a fost influențată negativ atât la concentrații scăzute de acid citric (0,10%), cât și la concentrații mari care depășesc 1,50%.

În mod similar, timpul de extracție afectează negativ procesul la valori mai mari de 50 min și mai mici de 15 min. Se poate concluziona că, prin creșterea timpului de extracție și scăderea concentrației de acid citric în mediul de extracție, randamentul extracției compușilor betalainici scade semnificativ.

În analiza abaterii de la punctul de referință, o pantă cu o înclinație mare sau curbată pentru un factor specific arată că răspunsul este sensibil în acest caz, în timp ce o linie relativ plană demonstrează insensibilitate la modificările acestui factor. Principalul factor care afectează extracția BT este etanolul (**Figura 3.2.a, curba B**) urmat de timpul de extracție (**Figura 3.2.a, curba D**).

Răspunsul care influențează cel mai puțin extracția este acidul citric (**Figura 3.2.a, curba A**). Deoarece betalainele sunt sensibile la temperatură ridicată și la o prelucrare îndelungată, s-a căutat o posibilă metodă "verde" pentru a menține acești compuși în produs.

Studiul experimental a dezvăluit variații ale conținutului de betalaine oscilând de la 0,29 la 1,44 mg/g s.u. (Tabelul 3.2.).

Tabel 3.3. ANOVA pentru modelul pătratic redus al BT și CTP

Sursă	BT					CTP				
	SS	df	MS	F-val.	p-val.	SS	df	MS	F-val.	p-val.
Model	1,30	8	0,1625	39,84	< 0,0001 ^a	1,22	9	0,1356	80,87	< 0,0001
A-Ac. Citric	0,0898	1	0,0898	22,02	0,0009	0,0765	1	0,0765	45,61	< 0,0001
B-Etanol	0,3120	1	0,3120	76,50	< 0,0001	0,4336	1	0,4336	258,56	< 0,0001
C-Temp.	0,2026	1	0,2026	49,67	< 0,0001	0,1340	1	0,1340	79,93	< 0,0001
D-Timp	0,0578	1	0,0578	14,17	0,0037	0,0125	1	0,0125	7,44	0,0233
AB	0,0213	1	0,0213	5,23	0,0453	0,1383	1	0,1383	82,49	< 0,0001
AD	0,0687	1	0,0687	16,85	0,0021	0,0345	1	0,0345	20,58	0,0014
A ²	0,0567	1	0,0567	13,90	0,0039	0,0097	1	0,0097	5,77	0,0397
C ²	0,5475	1	0,5475	134,20	< 0,0001	0,4186	1	0,4186	249,63	< 0,0001
D ²	-	-	-	-	-	0,1666	1	0,1666	99,38	< 0,0001
Rezidual	0,0408	10	0,0041			0,0151	9	0,0017		
Nepotrivire	0,0333	8	0,0042	1,12	0,5545 ^b	0,0145	7	0,0021	7,58	0,1215
Eroare pură	0,0075	2	0,0037			0,0005	2	0,0003		
Total	1,34	18				1,24	18			

Acid– Ac.; Temperatură– Temp.; Valoare– val.; Suma pătratelor– SS; Media pătratelor– MS; Grade de libertate – df; ^a Semnificativ; ^b Nesemnificativ

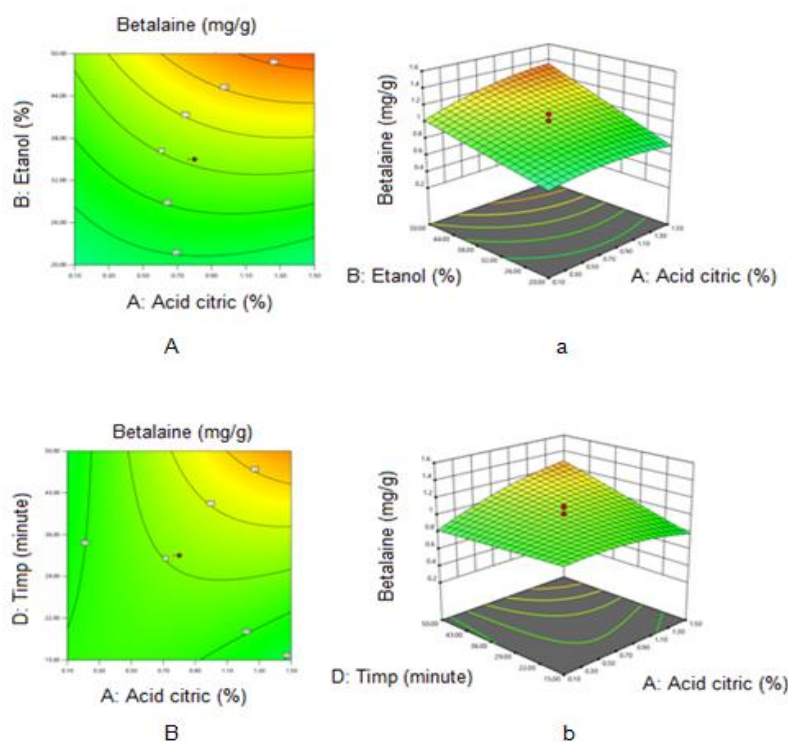


Figura 3.1. Graficele de contur de ordinul doi (stânga) și graficele suprafeței de răspuns (dreapta) care analizează efectul concentrației de etanol și acid citric (A, a) și a timpului de extracție și a concentrației de acid citric (B, b) asupra randamentului total de extracție a conținutului de betalaine totale (BT).

Distribuția diversă a betalainelor în diferite părți ale sfeclii roșii a indicat o valoare potențială a pețiolului de la frunzele de culoare roșie, care prezintă cel mai ridicat nivel de izobetalaină.

În plus, conținutul ridicat de glutamină-betaxantină din pulpa de sfeclă roșie o face o bună sursă de pigmenți și reprezintă totodată o potențială oportunitate de a exploata la nivel industrial în vederea producerii de coloranți naturali galbeni. Distribuția betalainelor obținută a fost de la 5,33 la 31,04 mg/g s.u. pentru coajă, de la 0,35 la 8,65 mg/g s.u. pentru pulpă și de 0,85 la 11,10 mg/g s.u. pentru pețiol.

3.5.2. Influența parametrilor de extracție asupra conținutului total de compuși polifenolici (CTP)

Valoarea F a modelului de 80,87 indică faptul că modelul este semnificativ. Coeficientul determinant de regresie $R^2 = 0,98$ sugerează că doar 0,02 din variația CTP nu poate fi descrisă de modelul actual. Ulterior, din **Tabelul 3.3**, s-a observat că lipsa de ajustare a valorii F de 7,58 indică faptul că, necorelația a fost nesemnificativă, ceea ce a arătat că și modelul este semnificativ. Valorile p mai mici de 0,0500 indică faptul că termenii modelului sunt semnificativi și, în acest caz, termenii semnificativi ai modelului sunt: A, B, C, D, AD, BD, A^2 , C^2 , D^2 .

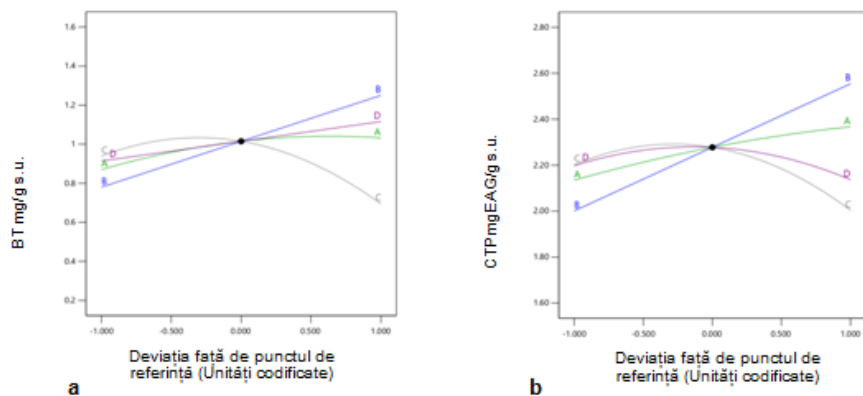
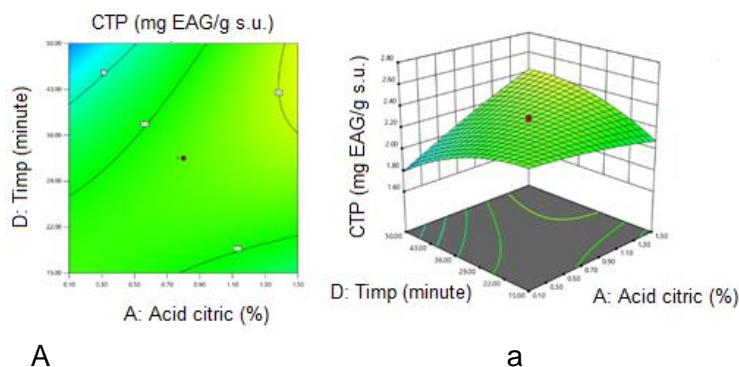


Figura 3.2. Grafice de perturbare a răspunsurilor care descriu efectul fiecărei variabile independente asupra extracției BT (a) și CTP (b)

Ca rezultat, ecuația model care indică corelația dintre conținutul de polifenoli (R_2) și variabilele exprimate în unități codificate este reprezentată în ecuația 2.2. Termenii nesemnificativi ai modelului au fost ignorați și s-a realizat astfel o simplificare a modelului. Mai mult, valoarea R^2 predicționată ($Pred R^2 - 0,8875$) este comparabilă cu valoarea R^2 ajustată ($Adj R^2 - 0,9756$).

$$R_2 (CTP) = + 2,28 + 0,11A + 0,27B - 0,99C - 0,30D + 0,20AD + 0,10BD - 0,26A^2 - 0,17C^2 - 0,11D^2 \quad (2.2)$$

Coeficienții b din ecuația de regresie au indicat faptul că temperatura și timpul au avut un efect negativ minor asupra extracției compușilor polifenolici. Pe de altă parte, timpul de extracție influențează pozitiv extracția CTP atunci când este asociat cu concentrația de etanol și de acid citric.



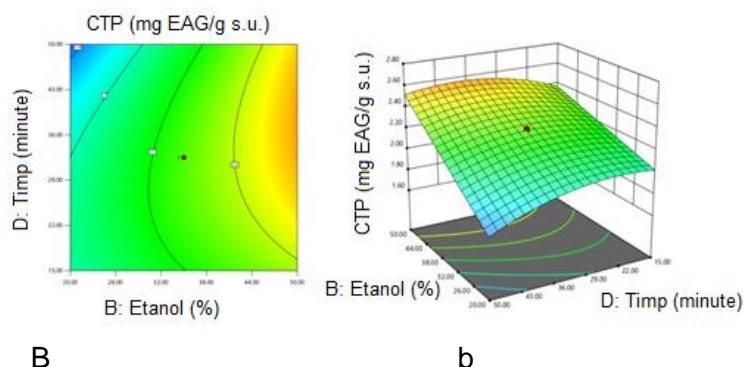


Figura 3.3. Graficele de contur de ordinul doi (stânga) și graficele suprafețelor de răspuns (dreapta) care analizează efectul timpului de extracție și al concentrației de acid citric (A, a) precum și al timpului de extracție și al etanolului (B, b) asupra randamentului de extracție al conținutului de polifenoli (CTP)

Graficele de contur de ordinul doi au fost concepute pentru a prezice relația dintre variabilele independente și dependente (**Figura 3.2.**) și pentru a ilustra efectele sinergice ale factorilor independenți asupra extracției CTP. Graficele suprafețelor de răspuns descriu efectul corelativ al factorilor selectați asupra extracției CTP. Coordonatele punctului central din graficul de contur corespund concentrației optime a celor patru factori ale procesului de extracție pentru a obține o eficiență maximă a procesului de extracție.

Efectele variației timpului de extracție și a concentrației de acid citric asupra extracției compușilor fenolici sunt prezentate în **Figura 3.3. (A, a)**. Concentrația de polifenoli este mai mică pe măsură ce timpul de extracție și concentrația de acid citric cresc simultan. **Figura 3.3. (B, b)** a confirmat faptul că extracția nu a fost influențată de variația timpului de extracție, ci a fost influențată de concentrația de etanol.

Conform graficului de perturbare a răspunsurilor care descrie efectul fiecărei variabile independente, extracția CTP este influențată puternic de concentrația de etanol și, într-o măsură mai mică, de temperatură și timp (**Figura 3.2.b, curba B, C și D**). Astfel, s-a determinat un maxim a conținutului de polifenoli de 2,74 mg EAG/g s.u. la 40°C, a o concentrație maximă de etanol de 60,23%.

3.5.3. Optimizarea și validarea parametrilor de extracție

Modelul realizat a identificat condițiile optime bazate pe maximizarea dezirabilității răspunsurilor pentru validarea ecuației modelului. O valoare a dezirabilității de 0,956 a sugerat că toate condițiile selectate sunt într-o combinație adecvată (**Figura 3.4., Tabel 3.4.**).

Condițiile optime pentru recuperarea maximă a betalainelor totale și polifenolilor totali au fost concentrația de acid citric de 1,5%, concentrația de etanol de 50%, temperatura de extracție de 52,52°C și timpul de extracție de 49,9 min.

Tabel 3.4. Validarea modelului matematic

Variabile dependente	Valoare prezisă	Interval de încredere 95%	Valoare experimentală
BT (mg/g s.u.)	1,15	1,06-1,25	1,20
CTP (mg EAG/g s.u.)	244	2,39-2,49	239

Modelul a estimat concentrația maximă de betalaine și polifenoli total de 1,15 mg /g s.u. și respectiv de 244 mg EAG/g s.u., iar rezultatele experimentale au indicat răspunsuri apropiate de cele prezise de model, și anume 1,20 mg/g s.u. și 239 mg EAG/g s.u. (**Tabelul 3.4.**).

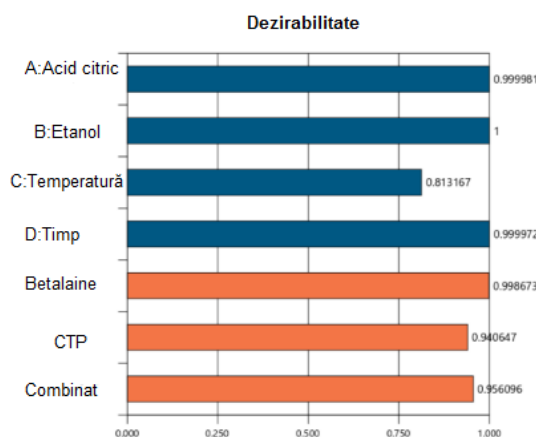


Figura 3.4. Grafice specifice pentru identificarea dezirabilității individuale și cumulate

3.6. Concluzii parțiale

Utilizarea extracției convenționale cu solvenți s-a dovedit a fi cea mai eficientă metodă de extracție a compușilor biologic activi din extractul din coajă de sfeclă roșie astfel, această metodă de extracție a fost supusă experimentelor de modelare matematică și statistică cu programul Design Expert folosind Central Composite Design.

Matricea de proiecție Central Composite Design (CCD) și tehnica analizei suprafeței de răspuns au fost folosite pentru a investiga efectul parametrilor de extracție în vederea optimizării parametrilor extracției betalainelor totale și a polifenolilor totali din coajă de sfeclă roșie. A fost determinat un model pătratic pentru toți parametrii utilizați. Au fost aplicate mai multe variabile prin variația parametrilor de extracție (concentrația de etanol și de acidului citric, temperatură și timp). Variabilele maxime și minime investigate în planul experimental sunt concentrația de acid citric (0,10-1,5%), concentrația de etanol (10-50%), temperatura de extracție (20-60°C) și timpul de extracție (15-50 min).

Experimentele de modelare matematică au indicat variații ale conținutului de betalaine totale de la 0,29 la 1,44 mg/g s.u., iar randamentul polifenolilor a variat de la 164 la 274 mg/g s.u. Condițiile optimizate pentru extracția maximă a betalainelor și polifenolilor au fost: concentrația acidului citric de 1,5%, concentrația etanolului de 50%, temperatura de 52,52°C și timpul de extracție de 49,9 min. Se poate observa astfel că procesul de extracție poate fi îmbunătățit prin ajustarea variabilelor de operare pentru a maximiza răspunsurile modelului.

Acest studiu a fost realizat având ca scop principal maximizarea extracției compușilor bioactivi din coajă de sfeclă roșie pentru viitoarele utilizări cu scopul de a obține noi produse alimentare cu valoare adăugată. Datorită concentrației semnificative de constituenți bioactivi valoroși din coajă de sfeclă roșie, utilizarea acestor compuși s-ar putea extinde în diferite ramuri ale industriei alimentare, cât și în industria farmaceutică și nutraceutică.

Capitolul 4. CARACTERIZAREA AVANSATĂ A EXTRACTULUI OPTIMIZAT DIN COAJĂ DE SFECLĂ ROȘIE

4.1. Aspecte generale

Sfecla roșie (*Beta vulgaris L. ssp. vulgaris*) este o legumă tradițională distribuită în întreaga lume, cultivată comercial pentru obținerea de salate, suc și pigmenți naturali. Culoarea sfeclei roșii se datorează prezenței betalainelor în vacuolele celulare. Sfecla roșie este o sursă excelentă a acestor pigmenți azotați, compusă în principal din două betacianine de culoare roșu-violet (betanină și izobetanină) precum și din betaxantine de culoare galbenă (în cantități minore). Betanina este, de asemenea, cunoscută pentru proprietățile sale netoxice, iar sfecla roșie a fost subiectul principal al unor experimente științifice de mare interes deoarece pigmentul roșu poate fi utilizat în industria farmaceutică și alimentară. Ca legumă bogată în nutrienți, sfecla roșie este clasată printre cele mai puternice zece legume în ceea ce privește activitatea antioxidantă. Pe lângă carotenoide, clorofile și antociani, betalainele sunt printre cei mai utilizați pigmenți vegetali care dau culorile galben, portocaliu, roșu, violet diferitelor flori,

ierburi, fructe și legume. Spre deosebire de antociani, care participă practic la colorarea tuturor membrilor angiospermelor, betalainele sunt sintetizate doar în subordinea *Chenopodiinae* din *Caryophyllales* și în unele genuri de *Basidiomycetes*. Interesant este că betalainele și antocianii, cei doi pigmenți de culoare roșie, nu au fost niciodată detectați în aceeași plantă simultan (Slatnar și colab., 2015).

Sectorul alimentar și cel al subproduselor alimentare se află printre domeniile cheie evidențiate de Comisia Europeană. Comisia Europeană estimează faptul că, numai în UE, 90 de milioane de tone de alimente sau 180 de kg pe persoană sunt eliminate ca deșeuri în fiecare an. Ca exemplu între 22 kg/(an/locuitor) în Franța și Bulgaria și peste 600 kg/(an/locuitor), în Olanda și Irlanda. În România, nivelul este de 62 kg/(an/locuitor), comparabil cu cel din Turcia, Ungaria, Slovenia și Portugalia (Eurostat, 2007). Dar foarte puțini consumatori conștientizează faptul că o mare parte din aceste subproduse sunt încă potrivite pentru consumul uman.

Deșeurile alimentare se produc în fiecare fază a lanțului de producție și de aprovizionare, precum și în faza de consum (FAO, 2016).

Există numeroase studii legate de stabilitatea betalainelor, pentru a optimiza condițiile de prelucrare a extractelor, astfel încât să se poată evita degradarea betalainelor, cum ar fi prelucrarea hidrostatică ridicată, fermentarea și tratamentul cu ultrasunete (Celli și Brooks, 2017), în timp ce alți autori au cercetat și efectul stabilizator al acidul ascorbic, glucozoxidazei care pot crea complexe cu betalaina (Martins și colab., 2017), pentru a le oferi compușilor betalainici mai multă stabilitate în matricea alimentară.

Tratamentul termic este un proces important în industria alimentară, dar are și dezavantajele sale care au un impact asupra biodisponibilității și bioactivităților compușilor prezenți în sfecla roșie. În industria alimentară, procesarea termică se aplică pentru a prelungi stabilitatea produselor pe bază de fructe (Dewanto și colab., 2002). Procesarea termică implică tratamente la temperaturi cuprinse între 50°C și 150°C, în funcție de pH-ul produsului și a termenului de valabilitate dorit, implicând o preîncălzire înainte de tratamentul termic propriu-zis în vederea asigurării criteriilor de calitate și siguranță alimentară (Abu-Ghannam și Jaiwal, 2015).

Sindromul metabolic reprezintă o multitudine de afecțiuni, inclusiv hipertensiune arterială, glicemie crescută, obezitate și niveluri lipidice anormale, ceea ce duc în cele din urmă la dezvoltarea de boli de inimă, accident vascular cerebral și diabet (Carlström și colab., 2010). Cu toate acestea, majoritatea persoanelor cu sindrom metabolic au rezistență la insulină, glicemie crescută, profil lipidic perturbat și sunt obezi (Hadipour și colab., 2020). Datorită proprietăților lor fiziologice valoroase, extractele vegetale prezintă un mare interes pentru aplicațiile alimentare și farmaceutice. Studiile arată că sfecla roșie reduce obezitatea. S-a raportat că neutrofilele femeilor obeze au niveluri ridicate de specii de oxigen activ și suc de sfeclă roșie în concentrație de 0,1-10% în 24 de ore reduce stresul oxidativ la populația menționată (Hadipour și colab., 2020). S-a arătat că consumul de nitrat din suc de sfeclă roșie (140 mL) timp de 14 zile a redus colesterolul, tensiunea arterială și colesterolul LDL la 55 de persoane cu hipertensiune (Kerley și colab., 2017). S-a estimat că până în anul 2020, aproximativ 366 de milioane de persoane au fost afectate de diabet (Wild și colab., 2004). Deoarece pacienții diabetici au factori oxidativi mai mari decât pacienții nediabetici, se pare că sfecla roșie poate oferi un efect benefic în acest tip de boală (Lee și colab., 2009). S-a demonstrat că utilizarea extractului de sfeclă roșie (2 g/kg extract timp de 28 de zile) crește atât numărul, cât și volumul secreției de celule producătoare de insulină la mamiferele diabetice. Un posibil mecanism pentru efectul de scădere a glicemiei din sânge, o reprezintă consumul sucului roșu de sfeclă roșie (10%), care a inhibat absorbția și digestia glucozei în intestin atunci când a fost utilizat la 30 de oameni timp de 6 săptămâni. În plus, extractul a scăzut concentrațiile de insulină și peptide C datorită creșterii concentrației de cortizol (Olumese și Oboh, 2016).

Betalainele ca agenți antioxidanți și antiinflamatori joacă un rol important în eliberarea de NO și scăderea tensiunii arteriale. Modularea factorilor oxidativi și inflamatori se poate atribui, de asemenea, funcției de reglare în sindromul metabolic, cum ar fi efectul de scădere a tensiunii arteriale și, mai important, în reducerea hiperlipidemiei. Pe lângă betalanină, flavonoidele și fibrele din sfecla roșie sunt atribuite efectului de scădere a glicemiei (Hadipour și colab., 2020).

4.2. Obiectivele studiului

Scopul acestui studiu o reprezintă caracterizarea avansată a extractului din coji de sfeclă roșie utilizând tehnici cromatografice de înaltă performanță; evaluarea impactului tratamentului termic asupra compușilor biologic activi (betalaine, polifenoli totali și a activității antioxidante) din extractul obținut din coajă de sfeclă roșie în intervalul de temperatură 20–170°C, cu un timp de menținere între 0–20 minute; De asemenea evaluarea unor proprietăți biologice ale extractului obținut din pudra de coajă de sfeclă roșie prin estimarea potențialului de inhibiție *in vitro* al unor enzime asociate cu sindromul metabolic și procesele pro-inflamatorii (α -glucozidazei, α -amilazei, lipaza și lipoxigenază (LOX)), reprezintă un alt obiectiv principal în acest studiu.

4.3. Materiale și metode

4.5. Rezultate și discuții

4.5.1. Profilul cromatografic al compușilor betalainici din extractul din coajă de sfeclă roșie

În **Figura 4.3** este prezentată cromatograma extractului optimizat din coaja de sfeclă care prezintă un peak distinct la un timp de retenție de $1,87 \pm 0,2$ min.

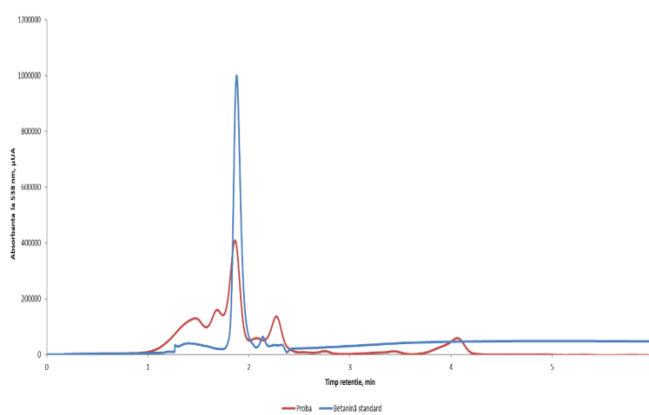


Figura 4.3. Profilul cromatografic al extractului optimizat din coajă de sfeclă roșie

Comparând timpul de retenție obținut în cazul extractului, cu cromatograma generată pentru standardul de betanină ($1,84 \pm 0,01$ min), se poate observa o corelație între acesta.

[Sawicki și colab., \(2016\)](#) au raportat prezența a optsprezece betacianine dintre care douăsprezece betaxantine identificate în treisprezece soiuri poloneze de sfeclă roșie. În comparație, doar trei betalaine (betanină, izobetanină și vulgaxantina I) au fost identificate în soiurile de sfeclă roșie cultivate în SUA și Finlanda ([Kujala și colab.,2002](#); [Lee și colab.,2014](#)). Diferențele în conținutul și tipul de betalaină se pot datora diversității varietale, creșterii locale și condițiilor climatice ca și condiții post-recoltare ([Wiczowski și colab.,2014](#)).

4.5.2. Influența tratamentului termic asupra conținutului de betalaine totale din pudra din coajă de sfeclă roșie

Betalainele reprezintă clasa principală de compuși cu activitate antioxidantă mare prezente în coajă de sfeclă roșie. Activitatea antioxidantă ridicată a fost asociată cu concentrații crescute ale conținutului de polifenoli totali, care pot avea efecte sinergice cu betalainele.

Pentru cuantificarea betalainelor s-a utilizat o metodă spectrofotometrică bazată pe măsurarea absorbției la două lungimi de undă diferite respectiv 480 nm pentru betaxantine și 538 nm pentru betacianine. Conținutul de betalaine a fost exprimat în mg/100 g s.u.

În **Figura 4.3.** sunt centralizate rezultatele stabilității conținutului total de betalaine ale extractelor din pudra din coajă de sfeclă roșie supuse tratamentului termic, la diferite temperaturi.

Rezultatele au arătat o scădere a conținutului total de betalaine cu 80% după încălzirea extractului la o temperatură de 170°C timp de 15 minute. Conținutul total de betalaine a înregistrat o reducere cu 59% după 15 minute de tratament la temperatura de 110°C, în timp ce după același timp de tratament la temperatura de 110°C, scăderea a fost mai mare fiind de 75% după cum reiese din **Figura 4.4**.

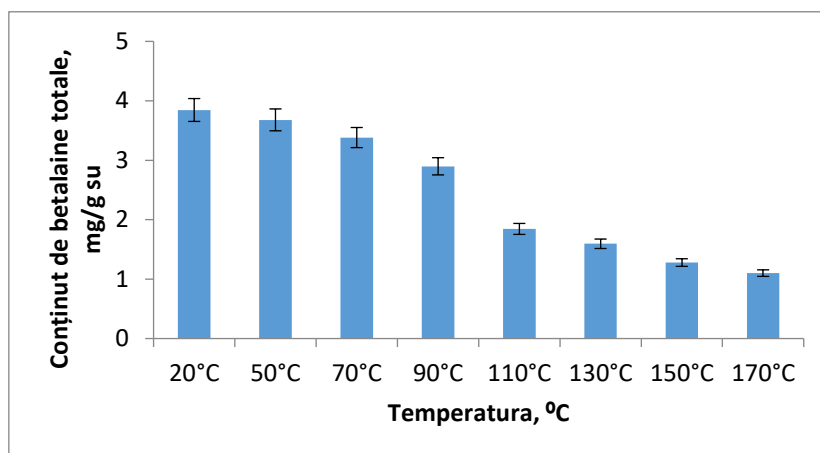


Figura 4.4. Stabilitatea conținutului de BT din extractul din coajă de sfeclă roșie, la diferite temperaturi (20°, 50°, 70°, 90°, 110°, 130°, 150°, 170°C)

Rezultatele sunt în concordanță cu studiul realizat de către [Wong și Siow \(2015\)](#), care au raportat o stabilitate a betalainelor din suc din fructul dragonului cu pulpă roșie în intervalul de temperatură studiat de 65°– 80°C cu o durată de încălzire între 10 și 30 de minute. De asemenea conținutul de betalaine scade odată cu creșterea temperaturii până la temperatura de 95°C.

Deși din punct de vedere structural betacianinele sunt mai stabile, ceea ce poate explica stabilitatea lor mai mare la începutul tratamentului termic, ele pot suferi și reacții de degradare ca urmare a încălzirii.

4.5.3. Influența tratamentului termic asupra conținutului total de polifenoli din pudra din coajă de sfeclă roșie

Compușii fenolici sunt o clasă mare de metaboliți secundari (8000 de polifenoli) ai plantelor și au un rol important privind calitatea alimentelor pe bază de plante. Sfecla roșie reprezintă o sursă bogată de compuși polifenolici și flavonoide.

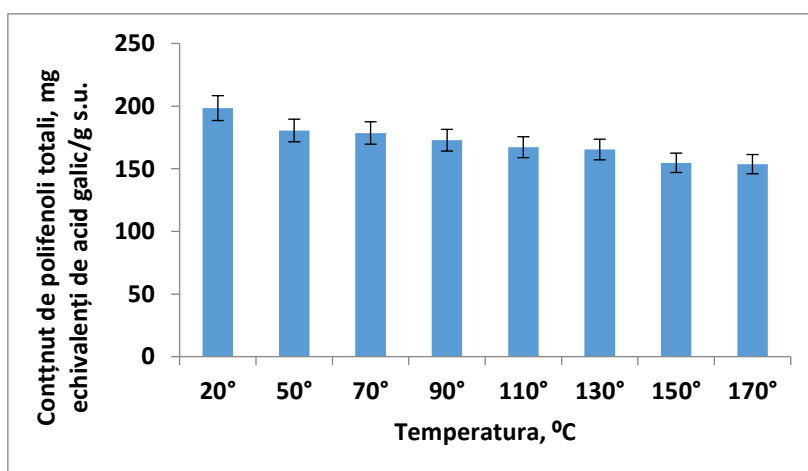


Figura 4.5. Stabilitatea conținutului total de compuși polifenolici CTP din extractul din coajă de sfeclă roșie, la diferite temperaturi (20°, 50°, 70°, 90°, 110°, 130°, 150°, 170°C)

Cantitatea și calitatea conținutului de compuși fenolici sunt, de asemenea, influențate de modul de procesare industrial. În plus, condițiile de depozitare sunt critice pentru menținerea nivelurilor optime de compuși fenolici și a activității antioxidante.

Cuantificarea polifenolilor s-a realizat cu ajutorul testului Folin Ciocâlțu, iar rezultatele au fost exprimate ca mg echivalent acid galic (EAG)/g coajă liofilizată.

În **Figura 4.5.** sunt centralizate rezultatele conținutului total de polifenoli a extractelor din coajă de sfeclă roșie obținute în urma tratamentului termic la diferite temperaturi.

Conținutul de polifenoli totali a scăzut cu 47% în urma tratamentului termic în intervalul de temperatură 20°C-170°C timp de 15 minute. În acest fel, se poate afirma faptul că un tratament termic în intervalul de temperatură de 20°C până la 170°C timp de 15 de minute, poate facilita extracția compușilor bioactivi din coajă de sfeclă roșie, însă o durată mai îndelungată a tratamentului termic în combinație cu valori de temperatură ridicate poate exercita un efect degradativ asupra acestor compuși.

4.5.4. Influența tratamentului termic asupra activității antioxidante din pudra din coajă de sfeclă roșie

Betalainele sunt agenți antiradicali și au o capacitate semnificativă de captare a speciilor reactive de oxigen, care depinde în mare măsură de structura lor moleculară și de capacitatea lor de a dona hidrogen speciilor reactive.

Rezultatele tratamentului termic asupra activității antioxidante a pudrei din coajă de sfeclă roșie sunt ilustrate în **Figura 4.6** care reda influența tratamentului termic asupra stabilității activității antioxidante din extractul de coajă de sfeclă roșie, la diferite temperaturi cuprinse între 20°C până la 170°C.

Activitatea antioxidantă (AA) prezintă o tendință descendentă de scădere similară cu cea a conținutului polifenolic din extractul din coajă de sfeclă roșie. AA scade cu 42% la temperatura de 110°C, urmând ca la 130°C să scadă cu 21% după 15 minute de tratament iar mai apoi să scadă brusc cu 35% la 170°C așa cum reiese din **Figura 4.6.**

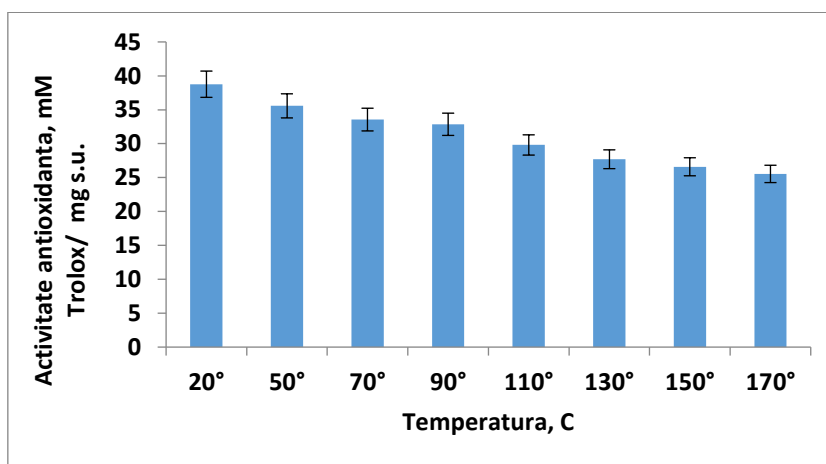


Figura 4.6. Stabilitatea activității antioxidante din extractul din coajă de sfeclă roșie, la diferite temperaturi (20°, 50°, 70°, 90°, 110°, 130°, 150°, 170°C)

Rezultatele din **tabelul 4.1** au arătat o scădere a conținutului total de betalaine cu 59% după 20 minute de tratament termic la temperatura de 110°C. Conținutul total de betalaine a înregistrat o scădere cu 80% după încălzirea extractului la o temperatură de 170°C timp de 20 minute. Scăderea conținutului de polifenoli totali a fost de 47% după 20 minute de tratament termic la temperatura de 130°C.

În urma studiilor de stabilitate termică conținutul total de betalaine în intervalul de temperatură de 20-90°C a scăzut liniar de la 3,846 la 2,898 mg/g s.u., pe când în intervalul 90-150°C scăderea conținutului a fost graduală. Scăderea conținutului de betalaine la temperatura de 170°C se poate datora unei acumulări de compuși de îmbrunare enzimatică de tipul celor obținuți prin reacția Maillard și se poate evidenția faptul că conținutul de betalaine a scăzut accentuat la temperaturi mari ale tratamentului termic ([Uolla și colab., 2017](#)).

Tabelul 4.1. Conținutul total de betalaine, de polifenoli totali și activitatea antioxidantă a extractelor din coajă de sfeclă roșie în urma tratamentului termic la diferite temperaturi

Temperatură, °C	Timp de menținere, minute	BT mg/g s.u.	CTP mg EAG/g s.u.	AA mM Trolox/g s.u.
20	0	3,846±0,157 ^a	165,84±0,126	25,54±1,343
	20	3,679±0,135	165,33±0,126	25,59±1,343
50	0	3,382±0,090	167,64±0,095	26,59±0,995
	20	3,283±0,136	167,19±0,053	26,54±0,979
70	0	2,898±0,109	168,10±0,102	27,70±1,199
	20	2,863±0,129	167,55±0,572	29,81±2,306
90	0	1,834±0,102	172,79±0,871	33,52±0,281
	20	1,845±0,108	176,13±0,969	33,55±0,397
110	0	1,595±0,345	167,10±0,793	35,28±0,887
	20	1,584±0,386	180,55±0,741	36,27±0,252
130	0	1,279±0,101	154,74±0,633	28,65±1,235
	20	1,101±0,085	153,66±0,609	35,28±0,454
150	0	0,940±0,039	178,54±0,708	35,57±0,945
	20	0,458±0,034	177,93±0,831	32,86±2,230
170	0	0,866±0,022	198,41±0,962	38,77±0,635
	20	0,728±0,021	197,51±0,763	38,53±0,435

^a – deviația standard

După cum se poate observa în **tabelul 4.1**, conținutul de polifenoli totali, a înregistrat o creștere la temperatura de 90°C, urmată de o creștere mai bruscă la temperatura de 170°C.

În privința activității antioxidante se observă o tendință descendentă similară cu cea a conținutului polifenolic. Astfel, odată cu creșterea temperaturii de procesare termică s-a remarcat o scădere graduală a activității antioxidante aceasta scăzând cu 21% la 130°C și apoi o creștere de 35% la temperatura de 170°C.

4.5.5. Evaluarea potențialului de inhibare a extractului din coajă de sfeclă roșie asupra unor enzime implicate în sindromul metabolic și în procesele pro-inflamatorii

Termenul de sindrom metabolic este folosit pentru a descrie un grup de anomalii metabolice asociate cu un risc crescut de boală coronariană, boli cardiovasculare, accident vascular cerebral și diabet zaharat de tip 2. Extractul din coajă de sfeclă roșie a fost analizat ca potențial inhibitor asupra enzimelor implicate în sindromul metabolic și procesele pro-inflamatorii. Activitatea inhibitorie a extractului obținut din coajă de sfeclă roșie a fost evaluată asupra α -glucozidazei și α -amilazei, lipazei și enzimei lipoxigenază.

α -Amilaza este prezentă în saliva oamenilor și a altor mamifere, acolo unde începe procesul chimic de digestie. α -Amilazele sunt hidrolaze glicozidice și acționează asupra legăturilor α -1,4-glicozidice. O abordare terapeutică care poate reduce hiperglicemia este oprirea producției și/sau absorbției glucozei prin inhibarea enzimelor responsabile. Prin urmare, căutarea unor agenți alternativi cu proprietăți antioxidante puternice care ar putea scădea și hiperglicemia postprandială, oferind astfel o cale de control al hiperglicemiei și a altor complicații diabetice rezultate din stresul oxidativ, este de cea mai mare importanță ([Ibrahim și colab., 2014](#)).

α -Glucozidaza se găsește pe suprafața intestinului subțire. Această enzimă prin hidroliza carbohidraților eliberează molecule de glucoză în sânge ([Saleem și colab., 2022](#)).

Lipazele sunt enzimele care digeră grăsimile, inclusiv triacilglicerolul și fosfolipidele. Lipazele umane includ lipazele pre-duodenale (linguale și gastrice) și extra-duodenale (pancreatice, hepatice, lipoproteice și endoteliale). Inhibarea lipazei pancreatice este unul dintre cele mai studiate mecanisme pentru determinarea eficacității potențiale a produselor naturale ca agenți antiobezitate. Orlistatul este unul dintre cele două medicamente aprobate clinic pentru tratamentul obezității, care s-a dovedit că acționează prin inhibarea acestora (Birari și Bhutani 2007).

Lipoxigenazele sunt enzime larg răspândite care catalizează oxidarea acizilor grași polinesaturați (linoleic, linolenic și acid arahidonic) pentru a produce hidroperoxizi. Reacțiile lipoxigenazei pot fi de dorit, însă pot reacționa și în moduri nedorite. Cei mai mulți produși secundari ai reacțiilor lipoxigenazei sunt compuși aromatici care pot afecta proprietățile alimentelor, în special în timpul depozitării pe termen lung (Loncaric și colab., 2021).

În acest studiu, s-a evaluat activitatea inhibitorie *in vitro* a extractului din coajă de sfeclă roșie asupra a patru enzime testate și anume α -glucozidază, α -amilază, lipază și lipoxigenaza. Potențialul inhibitor a fost testat utilizând trei concentrații diferite de extract de 0,50 $\mu\text{g/mL}$, 1,00 $\mu\text{g/mL}$ și 5,00 $\mu\text{g/mL}$, iar rezultatele sunt redată în Tabelul 4.2. și Tabelul 4.3.

Tabelul 4.2. Procentul de inhibare enzimatică a extractului obținut din coajă de sfeclă roșie și inhibitorii standard asupra enzimelor α -amilaza, α -glucozidaza, lipaza și lipoxigenază la concentrații diferite

Proba	Concentrația probei, $\mu\text{g/mL}$	Inhibiție α -Amilază, %	Inhibiție α -Glucozidază, %	Inhibiție Lipază, %	Inhibiție Lipoxigenază, %
Extract	5	53,93 \pm 0,27 ^{aA}	66,79 \pm 0,14 ^{aA}	93,10 \pm 0,52 ^{aB}	45,17 \pm 1,33 ^{aA}
	1	51,46 \pm 1,22 ^{bA}	64,63 \pm 0,13 ^{bA}	92,50 \pm 0,26 ^{abA}	42,25 \pm 1,77 ^{bA}
	0,5	49,92 \pm 1,33 ^{cA}	63,74 \pm 0,68 ^{cA}	92,20 \pm 0,69 ^{bA}	40,20 \pm 0,66 ^{cA}
Acarboză	5	8,09 \pm 0,33 ^{dB}	2,92 \pm 0,13 ^{dB}	-	-
	1	6,92 \pm 0,38 ^{eB}	1,92 \pm 0,08 ^{eB}	-	-
	0,5	5,12 \pm 0,19 ^{fB}	1,11 \pm 0,11 ^{fB}	-	-
Orlistat	5	-	-	94,14 \pm 1,41 ^{cA}	-
	1	-	-	92,59 \pm 0,93 ^{cdA}	-
	0,5	-	-	90,74 \pm 0,93 ^{dB}	-
Quercetină	5	-	-	-	66,15 \pm 0,90 ^{dB}
	1	-	-	-	65,10 \pm 0,52 ^{deB}
	0,5	-	-	-	63,54 \pm 0,52 ^{eB}

Valorile dintr-o coloană care nu au în comun aceeași literă mică pentru cele trei concentrații sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$). Valorile dintr-o coloană care nu împart aceeași literă majusculă a extractului și a inhibitorului standard pentru aceeași concentrație sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$). Măsurătorile sunt exprimate ca media \pm deviația standard a trei rezultate.

Extractul din coajă de sfeclă roșie a prezentat un potențial ridicat de inhibare a enzimelor testate, la concentrații relativ scăzute. Extractul testat a exercitat un efect inhibitor asupra α -amilazei, valoare a IC50 fiind de 4,22 \pm 0,40 $\mu\text{g/mL}$ extract. Acest lucru sugerează că, prin creșterea biodisponibilității compușilor bioactivi (betalaine) din extractul din coajă de sfeclă roșie în corpul uman, acestea ar putea fi implicate în reducerea metabolismului glucozei, α -amilaza fiind o enzimă care catalizează hidroliza amidonului în zaharuri simple.

Extractul optimizat din coajă de sfeclă roșie a prezentat efecte inhibitorii împotriva activității enzimelor analizate cu un procent de inhibare de 53,93 \pm 0,27% asupra α -amilazei, de 66,79 \pm 0,14%, asupra α -glucozidazei, de 93,10 \pm 0,52% asupra lipazei pancreatice precum și de 45,17 \pm 0,33% asupra activității lipoxigenazei în manieră dependentă de concentrație. Din rezultatele obținute s-a constatat că extractul din coajă de sfeclă roșie la toate concentrațiile utilizate (0,5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$) a prezentat un potențial inhibitor mai pronunțat asupra

lipazei pancreatice cu un procent de inhibare variind de la 92,20±0,69 la 93,10±0,52%. Extractul din coajă de sfeclă roșie a prezentat de asemenea o activitate de inhibare, indicată în valori IC50 (μg /mL) de 4,22 ± 0,40 μg /mL pentru α-amilază, de 3,24 ± 0,27 μg /mL pentru α-glucozidazei, de 1,05 ± 0,23 μg /mL pentru lipază și de 5,24 ± 0,59 μg /mL pentru lipoxigenază în comparație cu inhibitorii standard acarboză (IC50 2,69 ± 0,08; IC50 1,78± 0,06), orlistat (IC50 3,35 ± 0,23) și quercetină (IC50 2,40± 0,10).

Tabelul 4.3. Rezultatele inhibării enzimelor (valori IC50; μg/mL) de către extractul obținut din coajă de sfeclă roșie asupra α-amilazei, α-glucozidazei, lipazei și lipoxigenază.

Probă	IC50 (μg/mL)			
	α-Amilază	α-Glucozidază	Lipază	Lipoxigenază
Extract	4,22±0,40 ^a	3,24±0,27 ^a	1,05±0,23 ^b	5,24±0,59 ^a
Acarboză	2,69±0,08 ^b	1,78±0,06 ^b	-	-
Orlistat	-	-	3,35±0,23 ^a	-
Quercetină	-	-	-	2,40±0,10 ^b

Valorile dintr-o coloană care nu împart aceeași literă sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$). Măsurătorile sunt exprimate ca media ± deviația standard a trei rezultate.

4.6. Concluzii parțiale

Cromatograma extractului optimizat din coajă de sfeclă roșie prezintă un pick distinct la un timp de retenție de 1,87 ± 0,2 min corelat cu standardul de betaină.

S-a studiat stabilitatea termică a compușilor biologic activi precum betalaine totale, CTP și activitatea antioxidantă din extractul obținut din coajă de sfeclă roșie în intervalul de temperatură 20-170°C timp de 20 de minute.

În urma studiilor de stabilitate termică conținutul total de betalaine în intervalul de temperatură de 20-90°C a scăzut liniar de la 3,846 la 2,898 mg/g s.u., pe când în intervalul 90-150°C scăderea conținutului a fost graduală. Scăderea conținutului de betalaine la temperatura de 170°C se poate datora unei acumulări de compuși de îmbrunare enzimatică de tipul celor obținuți prin reacția Maillard.

Conținutul de polifenoli totali a scăzut cu 47% în urma tratamentului termic, astfel se poate concluziona că un tratament termic în intervalul de temperatură de 20°-170°C timp de 15 de minute, poate facilita extracția compușilor bioactivi din coajă de sfeclă roșie, însă o durată mai îndelungată a tratamentului termic în combinație cu valori de temperatură ridicate poate exercita un efect degradativ asupra acestor compuși.

În urma studiilor de stabilitate termică, se observă o menținere a activității antioxidante în intervalul de temperatură 20-70°C, urmat de o scădere cu 25,54% la temperatura de 170°C, acest fenomen poate fi explicat printr-o posibilă eliberare a altor tipuri de compuși biologic activi (flavonoide) din matricea analizată în urma tratamentului termic. Degradarea termică a compușilor biologic activi din extractul din coajă de sfeclă roșie se intensifică odată cu creșterea temperaturii de procesare. Prin extinderea duratei tratamentului de procesare la diferite temperaturi, se confirmă faptul că modificarea conținutului de compuși fitochimici și a activității antioxidante este dependentă de temperatură. De aceea utilizarea țintită a compușilor biologic activi din pudra din coajă de sfecla roșie în produsele cu valoare adăugată tratate termic trebuie să țină seama de stabilitatea lor termică.

Studiul a avut de asemenea în vedere evaluarea potentialului antidiabetic, antiobezitate și antiinflamator *in vitro* a extractului din coajă de sfeclă roșie prin determinarea activității acestuia ca potențial inhibitor ai α-glucozidazei, α-amilazei, lipazei și lipoxigenazei, enzime asociate cu sindromul metabolic și procesele pro-inflamatorii.

Rezultatele au demonstrat că acest extract bioactiv optimizat, acționează ca inhibitor al α-glucozidazei, α-amilazei, lipazei și lipoxigenazei, ceea ce sugerează că extractul obținut din coajă de sfeclă are potențialul de a contribui eficient la controlul glicemiei postprandiale, cât și pentru stresul oxidativ celular legat de diabet, precum și asupra bolilor legate de hiperlipidemie.

Studiile experimentale din acest capitol oferă informații științifice importante, cu valoare fundamentală și aplicativă în ceea ce privește procesarea termică industrială a extractului din coajă de sfeclă roșie în vederea asigurării stabilității caracteristicilor funcționale și tehnologice.

Capitolul 5. DEZVOLTAREA UNOR PRODUSE ALIMENTARE CU VALOARE ADĂUGATĂ PRIN ADAOS DE PUDRĂ OBȚINUTĂ DIN COAJĂ DE SFECLĂ ROȘIE

5.1 Aspecte generale

În urma procesării sfeclei roșii rezultă o cantitate importantă de subproduse vegetale, surse importante de compuși de aromă, coloranți și antioxidanți naturali care pot substitui aditivii sintetizați chimic din compoziția produselor alimentare, contribuind la creșterea calității vieții și asigurarea economiei circulare la nivel mondial. În plus, utilizarea compușilor bioactivi din cojile de sfeclă roșie ca și substanțe de aromă, coloranți și antioxidanți naturali conferă protecție antioxidantă produselor alimentare și asigură îmbunătățirea caracteristicilor senzoriale (gust, aromă, culoare), contribuind astfel la creșterea atractivității și diversității produselor alimentare în rândul consumatorilor.

Caracteristicile senzoriale ale alimentelor, în special culoarea, au un impact major asupra percepției, selecției, acceptării și consumului acestora de către consumatori. De aceea, coloranții alimentari naturali sunt considerați de mare importanță. În prezent cererea de coloranți alimentari naturali este în continuă creștere pe piață, în principal datorită conștientizării de către consumatori a multiplelor beneficii pe care aceștia le pot aduce, spre deosebire de coloranții sintetici. Toate aceste cerințe ale consumatorilor deschid oportunități pentru viitoare aplicații pe piața produselor alimentare.

5.2. Obiectivele studiului

Obiectivele specifice ale cercetărilor realizate în acest capitol au vizat: elaborarea unor produse de obținere a trei produse cu valoare adăugată (maioneză, bezele, alviță) care exploatează potențialul funcțional al compușilor biologic activi a pudrei din coajă de sfeclă roșie liofilizată precum și evaluarea caracteristicilor fitochimice, caracteristicilor senzoriale, vâscozității, culorii și proprietăților texturale ale produselor cu valoare adăugată obținute precum și determinarea stabilității la depozitare a potențialului bioactiv a acestora.

5.3. Materiale și metode

5.4.2. Obținerea maionezei cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie

O rețetă de obținere a maionezei a fost dezvoltată prin combinarea următoarelor ingrediente în următoarele proporții de greutate (g/g): ulei de floarea soarelui (80%), pudră de ou (8%), apă (7%), oțet (2%), sare de lămâie (3%), sare (0,3%) și diferite proporții (S1-1,5%, S2-3%, S3-5% și S4-7%) de pudră din coajă de sfeclă roșie hidratată cu apă (1:1).

Pentru început, s-a realizat o emulsie grosieră în apă prin dizolvarea prafului din gălbnuș de ou, sarea de lămâie, sare și oțet. Maioneza a fost preparată prin adăugarea treptată a uleiului în amestecul apos și amestecarea rapidă a componentelor cu un blender de mână Morphy Richards 1.5 (Argos, Milton Keynes, Marea Britanie) timp de 10-15 minute. Pudra din coajă de sfeclă roșie a fost adăugată în continuare la maioneză la patru concentrații diferite de 1,5%, 3%, 5% și 7%, continuând amestecarea până când probele au devenit la culoare violet uniform și au fost codificate S1, S2, S3 și, respectiv, S4. Maioneza – proba de control a fost produsă în același mod ca maioneza experimentală, dar fără adăugarea de pudră din coajă de sfeclă roșie. Probele de maioneză obținute au fost păstrate la 4°C până la efectuarea măsurătorilor.

5.4.3. Obținerea bezelelor cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie

Bezelele cu valoare adăugată au fost obținute din următoarele ingrediente: 27 g pudră de albuș (echivalentul unui ou), apă caldă (40°C), 50 g zahăr pudră și pudră din coajă de sfeclă roșie (B1 - 4%, B2 - 7% și B3 - 10%). Procedul descris este simplu, presupunând amestecarea ingredientelor prezentate mai sus, pudra din coji de sfeclă roșie fiind adăugată ca ingredient.

Procedul de obținere al bezelelor cu valoare adăugată prezintă următoarele etape: pudra de albuș s-a dizolvat în apă ușor încălzită (40°C), în raportul de 1:2., amestecându-se ușor pentru omogenizare; apoi, amestecul a fost omogenizat cu mixerul la viteza mică, pentru 2-3 minute până la apariția spumei, după care a fost adăugat zahărul în cantități mici, treptat; după omogenizarea cantității totale de zahăr, iar albușul a devenit lucios și ferm, se verifică dacă zahărul a fost complet dizolvat în compoziția preparată; iar ulterior s-a adăugat pudra din coajă de sfeclă roșie în prealabil hidratată cu apă caldă. S-a continuat omogenizarea în vederea uniformizării culorii produsului; la final bezelele au fost formate pe o tavă tapetată cu hârtie de copt, după care au fost introduse în cuptor pentru 60-90 min, la temperatura de 90 °C, sau până când devin ferme, fără a-și schimba însă culoarea astfel încât să poată fi îndepărtate cu ușurință de pe hârtia de copt, după care bezelele au fost lasate la uscat circa 4 ore; în final bezelele au fost ambalate în recipiente din plastic, închise ermetic și depozitate în loc uscat și răcoros.

Bezelele rezultate au prezentat o consistență specifică produsului tradițional, o culoare roșie, specifică sfeclei roșii, gust dulce, plăcut și textură omogenă, specifică produsului convențional. Pentru comparație, a fost realizată și o probă martor (B), care a respectat aceeași tehnologie, dar în care nu s-a adăugat pudră din coajă de sfeclă roșie.

5.4.4. Obținerea alviței cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie

Alvița cu valoare adăugată se obține din următoarele ingrediente % (g/g): zahăr (52%), miere de albine (26%), albuș de ou (16%), suc de lămâie (2%), sare (0,2%) și pudră din coajă de sfeclă roșie hidratată anterior cu apă în raport 1:1 (A1 - 2%, A2 - 4% și A3 - 6%), apă (restul, până la 100%).

Procedul de obținere al alviței cu valoare adăugată include următoarele etape: inițial, cu ajutorul unui mixer, albușurile împreună cu zahărul sau omogenizat la viteză mare, timp de 12-15 minute până compoziția a devenit spumoasă și zahărul s-a topit complet; ulterior s-a adăugat sucul de lămâie și s-a omogenizat alte 5 minute, până când s-a obținut o spumă densă, lucioasă, fermă; spuma obținută a fost transferată într-un vas bain-marie, și s-a adăugat în fir subțire mierea de albine fluidă, omogenizându-se timp de 60 minute, până când spuma a pierdut din volum și consistența a devenit lipicioasă, după care produsul s-a îndepărtat din vasul bain-marie și s-a temperat timp de 10 minute; ulterior s-a încorporat pudra din coajă de sfeclă roșie (raportată la cantitatea de produs obținut) hidratată anterior, în așa fel încât compoziția obținută să fie uniformă din punct de vedere al culorii și texturii; compoziția s-a turnat apoi între două foi de napolitane și s-a păstrat în condiții de refrigerare (4-5°C), în vederea realizării studiilor experimentale de caracterizare a produselor obținute.

Alvița cu valoare adăugată a avut o consistență moderată, o culoare roșie-violacee remarcabilă, specifică sfeclei roșii, un gust dulce, plăcut și textură fină, omogenă, specifică produsului convențional. Pentru comparație, a fost realizată și o probă martor, care a respectat aceeași tehnologie, dar în care nu s-a adăugat pudră din coajă de sfeclă roșie.

Procesele tehnologice au fost realizate în cadrul Centrului Integrat de Cercetare, Expertiză și Transfer Tehnologic pentru Industria Alimentară de la Facultatea Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea Dunărea de Jos din Galați (<https://erris.gov.ro/FOOD-BIOTECHNOLOGY>).

5.5. Rezultate și discuții

Încorporarea compușilor cu activitate antioxidantă naturală în produsele alimentare, are un potențial mare de îmbunătățire a stabilității oxidative a produselor alimentare și astfel aceste produse cu valoare adăugată poate atrage un grup mai larg de consumatori deoarece compușii bioactivi din compoziția lor ar putea aduce, beneficii promovând starea de sănătate a acestora (Ghorbani Gorji și colab., 2016).

5.5.1. Caracterizarea pudrei din coajă de sfeclă roșie

Rezultatele obținute în vederea caracterizării fitochimice a extractului din coajă de sfeclă roșie sunt prezentate în **Tabelul 5.1**. Analizând datele prezentate în **Tabelul 5.1**, se poate observa faptul că extractul etanolic din coajă de sfeclă roșie a prezentat un conținut ridicat de compuși biologic activi. Se remarcă un conținut de $2,31 \pm 0,12$ mg betalaine/g coajă de sfeclă roșie și o concentrație mult mai ridicată de polifenoli totali de $281,11 \pm 5,09$ mg EAG/g coajă. Concentrațiile ridicate de compuși bioactivi au determinat obținerea unei activități antioxidante ridicate.

Rezultatele obținute sunt în acord cu datele raportate în alte studii. Cu toate acestea, compoziția fitochimică a extractelor din coajă de sfeclă roșie poate varia în funcție de factori genetici și agronomici, diferite condiții de extracție (de exemplu, tipul de solvent, temperatură, pH, intensitatea luminii) și metodele aplicate de cuantificare a compușilor bioactivi.

Tabel 5.1. Caracteristicile fitochimice ale extractului din pudră din coajă de sfeclă roșie

Caracteristici	Extract din pudră din coajă de sfeclă roșie
Betalaine totale (mg/g s.u.)	$2,31 \pm 0,12^a$
Polifenoli totali (mg EAG/g s.u.)	$281,11 \pm 5,09$
Activitate antioxidantă (mM Trolox/g s.u.)	$47,65 \pm 0,21$

^a-deviația standard

5.5.2. Caracterizarea potențialului bioactiv al probelor de maioneză cu valoare adăugată și stabilitatea la depozitare a acestora

Caracterizarea fitochimică a fost efectuată pentru a evidenția valoarea adăugată a probelor de maioneză. Compoziția fitochimică și activitatea antioxidantă a maionezei cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie este redată în **Tabelul 5.2**, precum și stabilitatea la depozitare pe parcursul a 28 zile la temperatura de 4 °C. Așa cum era de așteptat, conținutul de compuși bioactivi a crescut pe măsură ce a fost adăugată o cantitate mai mare de pudră din coajă de sfeclă roșie în probele de maioneză.

Betalainele nu au fost identificate în proba fără pudră din coajă de sfeclă roșie, iar conținutul de polifenoli a avut un nivel mai scăzut de numai $24,6 \pm 0,06$ mg EAG/100 g. Adaosul de pudră din coajă de sfeclă roșie (1%, 5%, 3%, 5% și 7%) în compoziția de maioneză a determinat o creștere semnificativă ($p < 0,05$) a nivelurilor de compuși bioactivi analizați. Astfel, betalainele au variat de la $1,32 \pm 0,01$ la $5,61 \pm 0,16$ mg/100 g, iar conținutul de polifenoli a avut valori de la $197,10 \pm 1,91$ până la $325,9 \pm 5,61$ mg EAG/100 g pentru maioneza suplimentată cu pudră din coajă de sfeclă roșie. În plus, toate probele (S1, S2, S3 și S4) au avut niveluri considerabil mai mari de compuși bioactivi ($p < 0,05$) în comparație cu proba de control. De asemenea, probele de maioneză suplimentate cu pudră din coajă de sfeclă roșie au prezentat o activitate antioxidantă mai mare $52,09 \pm 2,91$ mM Trolox/100 g în cazul probei S4 comparativ cu proba martor datorită nivelurilor crescute de compuși bioactivi din pudra din coajă de sfeclă roșie $1,81 \pm 0,01$ mM Trolox/100 g.

Tabel 5.2. Caracteristicile fitochimice și activitatea antioxidantă ale probelor de maioneză cu valoare adăugată

Caracteristici fitochimice		Eșantioanele de maioneză				
		S0	S1	S2	S3	S4
Betalaine totale, (mg/100 g)	0 zile	-	$1,32 \pm 0,01^{aD}$	$2,48 \pm 0,06^{aC}$	$4,19 \pm 0,09^{aB}$	$5,61 \pm 0,16^{aA}$
	14 zile	-	$1,10 \pm 0,04^{abD}$	$2,20 \pm 0,02^{bE}$	$3,69 \pm 0,24^{aB}$	$4,86 \pm 0,09^{bA}$
	28 zile	-	$0,82 \pm 0,13^{bD}$	$1,81 \pm 0,02^{cC}$	$2,84 \pm 0,11^{bB}$	$4,12 \pm 0,06^{cA}$
Polifenoli totali,	0 zile	$24,60 \pm 0,06^{aE}$	$197,10 \pm 1,91^{aD}$	$271,4 \pm 11,06^{aC}$	$307,4 \pm 4,06^{aB}$	$325,9 \pm 5,61^{aA}$
	14 zile	$20,85 \pm 0,64^{bE}$	$188,10 \pm 3,96^{aD}$	$251,65 \pm 1,34^{bC}$	$278,95 \pm 3,75^{bB}$	$310,50 \pm 1,27^{bA}$

(mg/100 g)	28 zile	18,15 ± 1,06 ^{bE}	152,15 ± 2,19 ^{bD}	227,50 ± 1,98 ^{cC}	253,85 ± 7,71 ^{cB}	285,05 ± 0,78 ^{cA}
Activitate	0 zile	1,81 ± 0,01 ^{aE}	29,5 ± 0,11 ^{aD}	37,07 ± 0,90 ^{aC}	45,60 ± 0,61 ^{aB}	52,09 ± 2,91 ^{aA}
antioxidantă(14 zile	1,77 ± 0,03 ^{aD}	27,20 ± 0,42 ^{aC}	34,65 ± 1,77 ^{abB}	39,25 ± 1,20 ^{bB}	48,75 ± 1,63 ^{abA}
mM						
Trolox/100 g)	28 zile	1,60 ± 0,10 ^{aE}	21,15 ± 0,6 ^{bD}	30,35 ± 0,78 ^{bC}	34,80 ± 1,27 ^{cB}	46,05 ± 0,21 ^{bA}

Mediile de pe același rând (litere mari) și aceeași coloană (litere mici) pentru fiecare probă analizată care nu au o literă în comun sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$).

În urma depozitării timp de 28 zile la temperatura de 4 °C, se observă o ușoară scădere a conținutului de betalaine totale și polifenoli totali, precum și a activității antioxidante, în toate variantele de maioneză analizate.

Stabilitatea oxidativă a compusului bioactiv a probei de maioneză a evidențiat degradarea polifenolilor ($p > 0,05$) la sfârșitul perioadei de depozitare pentru toate probele analizate. Rezultate similare au fost identificate pentru activitatea antioxidantă, cu o scădere ușoară pentru proba S4.

5.5.3. Caracterizarea fizico-chimică a probelor de maioneză cu valoare adăugată

Probele de maioneză cu valoare adăugată au fost obținute prin adaos de diferite cantități de pudră din coajă de sfeclă roșie (1%, 5%, 3%, 5% și 7%) și a fost evaluată compoziția fizico-chimică a acestora (Figura 5.4., Tabelul 5.3.).



Figura 5.4. Imagini ale probelor de maioneză fără pudră din coajă de sfeclă roșie, martor (S0); maioneza cu 1,5% pudră din coajă de sfeclă roșie (S1); maioneza cu 3% pudră din coajă de sfeclă roșie (S2); maioneza cu 5% pudră din coajă de sfeclă roșie (S3); maioneza cu 7% pudră din coajă de sfeclă roșie (S4).

Compoziția fizico - chimică a maionezei (fără pudră din coajă de sfeclă roșie) a fost de 72,05 ± 0,01 g/100 g pentru lipide, 2,65 ± 0,01 g/100 g pentru carbohidrați și 5,4 ± 0,01 g/100 g, pentru conținutul de proteine. Compoziția maionezei cu pudră din coajă de sfeclă roșie a relevat o diferență semnificativă ($p < 0,05$) între probele analizate.

Rezultatele au arătat că umiditatea a fost mai mică pe măsură ce a fost adăugată pudră din coajă de sfeclă roșie, iar conținutul de cenușă a fost mai mare pe măsură ce s-a realizat îmbogățirea maionezei cu pudră din coji de sfeclă roșie. Mai mult, conținutul de carbohidrați a crescut prin adăugarea de pudră din coajă de de sfeclă roșie.

Tabel 5.3. Caracteristicile fizico-chimice ale probelor de maioneză cu pudră din coajă de sfeclă roșie.

Caracteristici fizico-chimice	S0	S1	S2	S3	S4
Proteine, g/100 g	5,4 ± 0,01 ^a	5,2 ± 0,01 ^b	5,1 ± 0,03 ^c	5,02 ± 0,01 ^d	4,91 ± 0,01 ^e
Lipide, g/100 g	72,05 ± 0,01 ^a	71,6 ± 0,14 ^{ab}	71,3 ± 0,14 ^b	71,7 ± 0,14 ^{ab}	71,5 ± 0,14 ^b
Carbohidrați, g/100 g	2,65 ± 0,01 ^e	3,11 ± 0,03 ^d	3,26 ± 0,01 ^c	3,52 ± 0,01 ^b	3,7 ± 0,01 ^a
Umiditate, g/100 g	18,04 ± 0,01 ^a	17,97 ± 0,01 ^b	17,92 ± 0,01 ^b	17,15 ± 0,01 ^c	17,01 ± 0,01 ^d
Cenușă, g/100 g	1,91 ± 0,01 ^e	2,12 ± 0,01 ^d	2,42 ± 0,01 ^c	2,61 ± 0,01 ^b	2,88 ± 0,01 ^a

Mediile de pe același rând care nu au o literă în comun sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$).

Parametrii de culoare a probelor de maioneză cu valoare adăugată

Probele de maioneză au fost analizate pentru parametrii colorimetrici CIELAB folosind un colorimetru portabil. Rezultatele au fost exprimate ca L^* , a^* și b^* . Valorile parametrilor de culoare, inclusiv L^* (luminozitate), a^* (tendința la roșu pentru a^* „+” sau verde pentru a^* „-“), b^* (tendința la galben pentru b^* „+” sau albastru pentru b^* „-“) și modificarea totală de culoare ΔE au fost analizate (Tabelul 5.4.).

Valoarea parametrului b^* sugerează o culoare mai apropiată de galben. Adaosul de pudră din coajă de sfeclă roșie în maioneză a condus la schimbări importante de culoare. Culoarea roșie a sfeclei roșii a fost atribuită prezenței unor cantități esențiale de betalaine care apar sub două forme, adică betacianina (pigment roșu-violet) și betaxantina (pigment galben-portocaliu) (Chhikara și colab., 2019).

Tabelul 5.4. Parametrii de culoare CIELAB ai probelor de maioneză valoare adăugată

Parametri de culoare CIELAB		Probe de maioneză				
		S0	S1	S2	S3	S4
L^*	0 zile	67,14 ± 0,00 ^{aA}	26,63 ± 0,03 ^{bB}	24,44 ± 0,03 ^{cC}	21,72 ± 1,73 ^{cD}	20,06 ± 0,30 ^{cE}
	14 zile	68,76 ± 0,91 ^{abA}	28,24 ± 0,18 ^{bB}	26,27 ± 0,49 ^{bB}	23,66 ± 0,36 ^{bC}	22,75 ± 0,11 ^{bC}
	28 zile	70,88 ± 1,09 ^{bA}	31,90 ± 1,10 ^{aB}	29,03 ± 0,15 ^{aBC}	26,68 ± 0,05 ^{aCD}	24,71 ± 0,54 ^{aD}
a^*	0 zile	-1,19 ± 0,02 ^{bE}	13,82 ± 0,22 ^{aD}	16,20 ± 0,08 ^{aC}	18,20 ± 0,02 ^{aB}	23,14 ± 0,02 ^{aD}
	14 zile	1,10 ± 0,01 ^{aE}	12,69 ± 0,40 ^{bD}	15,34 ± 0,23 ^{bC}	17,16 ± 0,19 ^{abB}	20,86 ± 0,30 ^{bA}
	28 zile	1,44 ± 0,33 ^{aE}	12,02 ± 0,13 ^{bD}	14,94 ± 0,17 ^{bC}	16,24 ± 0,30 ^{bB}	20,19 ± 0,17 ^{bA}
b^*	0 zile	32,92 ± 0,16 ^{bA}	5,11 ± 0,09 ^{cB}	3,06 ± 0,07 ^{bC}	-1,2 ± 0,01 ^{bD}	-2,01 ± 0,03 ^{bE}
	14 zile	33,82 ± 0,13 ^{bA}	6,72 ± 0,28 ^{bB}	5,84 ± 0,10 ^{aC}	1,42 ± 0,06 ^{aD}	-1,83 ± 0,11 ^{bE}
	28 zile	36,24 ± 0,40 ^{aA}	7,92 ± 0,06 ^{aB}	6,45 ± 0,30 ^{aC}	1,53 ± 0,02 ^{aD}	0,97 ± 0,08 ^{aD}
ΔE	0 zile	-	51,38 ± 0,05 ^{aD}	54,95 ± 0,02 ^{aC}	60,04 ± 0,16 ^{aB}	63,49 ± 0,01 ^{aA}
	14 zile	-	50,12 ± 0,46 ^{bD}	52,37 ± 0,38 ^{bC}	57,37 ± 0,30 ^{bB}	61,04 ± 0,12 ^{bA}
	28 zile	-	49,33 ± 0,15 ^{cD}	52,42 ± 0,24 ^{bC}	57,43 ± 0,13 ^{bB}	60,38 ± 0,51 ^{cA}

*L**—luminozitate; *a**—verde spre roșu; *b**—albastru spre galben. Mediile de pe același rând (litere mari) și aceeași coloană (litere mici) pentru fiecare probă analizată care nu au în comun o literă sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$).

Valorile estimate ale modificării totale de culoare ΔE au indicat diferențe semnificative în toate probele de maioneză analizate. Valoarea totală a diferenței de culoare ΔE în probele de maioneză a crescut cu concentrația de pudră adăugată, iar ΔE a fost mai mare ($63,49 \pm 0,01$) pentru maioneza cu 7% pudră din coajă de sfeclă roșie.

Luminozitatea probelor a scăzut considerabil ($p < 0,05$) odată cu cantitatea de pudră din coajă de sfeclă roșie adăugată în probele de maioneză analizate. Ca urmare a creșterii cantității de pudră din coajă de sfeclă roșie adăugată în probele de maioneză, care furnizează cantități importante de pigmenți de sfeclă roșie, valorile parametrului a^* s-au schimbat de la nuanțe verzui la cele roșii (a^* de 23,14 pentru S4). În schimb, culoarea galbenă a scăzut în intensitate, iar valoarea parametrului b^* a ajuns la -2,01 pentru proba S4.

S-a observat o creștere a luminozității și a intensității culorii galbene în timpul depozitării în toate probele, în timp ce nuanța de roșu a scăzut. La sfârșitul depozitării, proba de maioneză S2 care conține 3% pudră din coajă de sfeclă roșie a avut cele mai mari valori ale parametrului L^* , iar cele mai mici valori ale parametrului a^* au fost regăsite în proba S1, exceptând proba martor.

5.5.5. Proprietățile texturale ale probelor de maioneză cu valoare adăugată

Proprietățile texturale ale maionezei cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie au fost evaluate folosind metoda analizei profilului texturii (TPA). Parametrii texturali analizați au fost: fermitatea (exprimată în N și definită ca rezistență maximă a probei în timpul primului ciclu de

penetrare), adezivitatea (exprimată în mJ și definită ca energia necesară pentru îndepărtarea probei din instrumentul de testare), coeziune (dimensiunea adimensională, definită ca puterea legăturilor interne care dau consistența produsului) și masticabilitatea (exprimată în mJ și definită ca energia necesară pentru mestecatul alimentelor până în faza care precedă înghițirea). Rezultatele au fost procesate folosind software-ul TexturePro CT V1.5 și sunt prezentate în **Tabelul 5.5**.

Toate probele de maioneză au prezentat valori scăzute de fermitate și coezivitate și valori ridicate de adezivitate și masticabilitate, comparabile cu cele raportate în literatură (Rojas și colab., 2019; Di Mattia și colab., 2015).

Tabelul 5.5. Analiza texturii probelor de maioneză cu valoare adăugată

Parametri texturali	S0	S1	S2	S3	S4
Fermitate, N	0,74 ± 0,02 ^b	1,16 ± 0,01 ^a	1,83 ± 0,13 ^a	1,74 ± 0,10 ^a	1,54 ± 0,02 ^a
Adezivitate, mJ	1,82 ± 0,27 ^c	5,32 ± 0,38 ^{ab}	5,68 ± 0,45 ^a	4,63 ± 0,14 ^{ab}	3,93 ± 0,00 ^b
Coezivitate	0,81 ± 0,01 ^a	0,77 ± 0,03 ^{ab}	0,79 ± 0,01 ^{ab}	0,71 ± 0,02 ^{ab}	0,61 ± 0,07 ^b
Masticabilitate, mJ	5,56 ± 0,18 ^b	10,99 ± 0,65 ^{ab}	13,41 ± 1,67 ^a	11,61 ± 1,56 ^{ab}	8,24 ± 1,67 ^{ab}

Mediile de pe același rând care nu au în comun o literă sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$).

Rezultatele arată că adaosul de pudră din coajă de sfeclă roșie în probele de maioneză a determinat valori mai mari ale fermității comparativ cu proba martor. În plus, adaosul de pudră din coajă de sfeclă roșie în compoziția maionezei a îmbunătățit aderența și masticabilitatea, conferind produsului o textură delicată și moale.

5.5.6. Efectul adăugării de pudră din coajă de sfeclă roșie asupra vâscozității maionezei

Variația vâscozității dinamice în funcție de viteza de forfecare indică un comportament reologic tixotrop pentru toate probele de maioneză analizate. Acest tip de comportament este caracterizat prin scăderea vâscozității dinamice pe măsură ce crește viteza de forfecare (**Figura 5.6.**). Cu toate acestea, rezultatele arată că prin adăugarea de pudră din coajă de sfeclă roșie în probele de maioneză, vâscozitatea maionezei este îmbunătățită semnificativ, ajutând la obținerea unei consistențe cremoase. Acest comportament se poate datora conținutului de pectină din pulberea din coajă de sfeclă roșie, care acționează ca agent de îngroșare.

În schimb, după cum arată datele prezentate în **Tabelul 5.6**, indicele de consistență K ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$) a înregistrat valori crescătoare cu creșterea concentrației de pudră din coajă de sfeclă roșie până la 3% (9,97 $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$ pentru 1,5% pudră din coajă de sfeclă roșie și 14,35 $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$ pentru 3% pudră din coajă de sfeclă roșie). Concentrații mai mari adăugate de pudră din coajă de sfeclă roșie (5% și 7%) au determinat o reducere a indicelui de consistență. Acest lucru s-ar putea datora cantității crescute de particule solide, care provoacă perturbarea structurii.

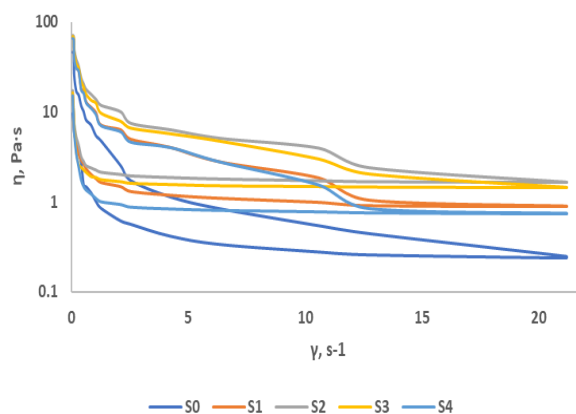


Figura 5.5. Bucla de histererezis pentru probele de maioneză: S0—maioneza fara pudră din coajă de sfeclă roșie, (martor); S1—maioneză cu 1,5% pudră din coajă de sfeclă roșie; S2—

maioneză cu 3% pudră din coajă de sfeclă roșie; S3—maioneză cu 5% pudră din coajă de sfeclă roșie; S4—maioneză cu 7% pudră din coajă de sfeclă roșie.

Tabelul 5.6. Parametrii de potrivire a modelului Power-law pentru probele de maioneză

Parametri	S0	S1	S2	S3	S4
K (Pa·s ⁿ)	4,91	9,97	14,35	12,81	9,46
n	0,07	0,24	0,36	0,33	0,21
R ²	0,93	0,85	0,91	0,91	0,73

5.5.7. Stabilitatea oxidativă a probelor de maioneză cu valoare adăugată

Stabilitatea oxidativă a probelor de maioneză cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie a fost analizată în **Tabelul 5.7**. S-a observat că valoarea indicelui de aciditate crește în timpul depozitării Cu excepția probei S4, nu a existat nicio diferență semnificativă ($p < 0,05$) între probele analizate în a 28-a zi de depozitare. Valoarea mai mică a indicelui de aciditate s-a înregistrat pentru probele S3 și S4, probe cu o concentrație ridicată de pudră din coajă de sfeclă roșie și anume de 5% și respectiv 7%, pudră din coajă de sfeclă roșie care a inhibat creșterea indicelui de aciditate.

Tabel 5.7. Stabilitatea oxidativă a maionezei cu valoare adăugată

Indici evaluați		S0	S1	S2	S3	S4
Indice de aciditate, mg KOH/g	0 zile	0,96 ± 0,01 ^{cA}	0,85 ± 0,01 ^{cB}	0,85 ± 0,01 ^{cB}	0,85 ± 0,01 ^{cB}	0,85 ± 0,01 ^{bB}
	14 zile	1,21 ± 0,01 ^{aA}	0,96 ± 0,01 ^{bB}	0,91 ± 0,01 ^{bC}	0,89 ± 0,01 ^{bCD}	0,86 ± 0,01 ^{bD}
	28 zile	1,44 ± 0,02 ^{bA}	1,12 ± 0,01 ^{aB}	1,06 ± 0,01 ^{aC}	0,99 ± 0,01 ^{aD}	0,94 ± 0,01 ^{aD}
Indice de peroxid, meq/kg	0 zile	1,81 ± 0,01 ^{cA}	1,76 ± 0,01 ^{cB}	1,76 ± 0,01 ^{cB}	1,76 ± 0,01 ^{bB}	1,76 ± 0,01 ^{bB}
	14 zile	3,03 ± 0,08 ^{bA}	2,06 ± 0,01 ^{bB}	1,91 ± 0,01 ^{bBC}	1,85 ± 0,05 ^{bC}	1,80 ± 0,03 ^{bC}
	28 zile	6,94 ± 0,02 ^{aA}	4,17 ± 0,08 ^{aB}	3,83 ± 0,05 ^{aC}	2,62 ± 0,04 ^{aD}	2,01 ± 0,04 ^{aD}

Mediile de pe același rând (litere mari) și aceeași coloană (litere mici) pentru fiecare probă analizată care nu au în comun o literă sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$).

Valorile indicelui de peroxid au arătat o diferență semnificativă ($p < 0,05$) pentru toate probele de maioneză păstrate la temperatura frigorifică timp de 14 și 28 de zile, cu excepția probelor S3 și S4. Creșterea treptată a valorilor indicelui de peroxid în timpul depozitării a indicat inițierea procesului de rânțezire a probelor de maioneză. Valorile indicelui de peroxid mai mici de 10 au indicat că atât probele cu adaos de pudră, cât și proba de maioneză fără pudră sunt considerate sigure în condiții de refrigerare (Pradhananga și colab., 2016).

5.5.8. Evaluarea senzorială a probelor de maioneză cu valoare adăugată

Caracteristicile senzoriale ale probelor de maioneză îmbogățită cu concentrații diferite de pudră din coajă de sfeclă roșie sunt enumerate în **Tabelul 5.8**. Dintre caracteristicile senzoriale, culoarea este primul semn al calității unui produs care captează atenția consumatorilor. Culoarea maionezei a fost influențată considerabil de concentrația de pudră din coajă de sfeclă roșie ($p < 0,05$).

Tabelul 5.8. Scorurile de acceptabilitate de consum a probelor de maioneză cu valoare adăugată

Caracteristici senzoriale	Control	S1	S2	S3	S4
Culoare	7,2 ± 1,39 ^c	8,25 ± 0,71 ^b	8,65 ± 0,48 ^{ab}	8,80 ± 0,41 ^{ab}	8,95 ± 0,22 ^a
Aroma	6,45 ± 0,99 ^b	7,05 ± 0,94 ^{ab}	7,45 ± 0,99 ^a	7,80 ± 0,69 ^a	7,75 ± 0,96 ^a
Gust	6,8 ± 0,89 ^c	7,3 ± 0,86 ^{bc}	7,8 ± 0,61 ^{ab}	8,45 ± 0,51 ^a	7,85 ± 0,98 ^{ab}

Consistență	7,7 ± 0,73 ^a	7,85 ± 0,67 ^a	8,05 ± 0,99 ^a	8,05 ± 0,99 ^a	7,45 ± 0,94 ^a
Textură	8,5 ± 0,68 ^a	8,65 ± 0,58 ^a	8,65 ± 0,58 ^a	8,80 ± 0,41 ^a	8,95 ± 0,22 ^a
Miros	7,15 ± 1,38 ^a	7,30 ± 1,08 ^a	7,2 ± 1,10 ^a	7,25 ± 1,11 ^a	7,25 ± 1,11 ^a
Aftertaste	7,4 ± 0,82 ^a	7,35 ± 1,03 ^a	7,65 ± 1,18 ^a	7,75 ± 1,25 ^a	7,40 ± 1,35 ^a
Tartinabilitate	8,65 ± 0,48 ^a	8,65 ± 0,48 ^a	8,50 ± 0,51 ^a	8,50 ± 0,51 ^a	8,35 ± 0,58 ^a
Acceptabilitate	8,4 ± 0,68 ^a	8,5 ± 0,60 ^{ab}	8,80 ± 0,41 ^{ab}	8,80 ± 0,41 ^{ab}	8,85 ± 0,36 ^a

Mediile de pe același rând care nu au o literă în comun sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$).

Astfel, proba S4 cu 7% pudră din coajă de sfeclă roșie a primit cel mai mare scor de culoare, urmată de S3 cu 5% pudră din coajă de sfeclă roșie. Îmbogățirea maionezei cu pudră din coajă de sfeclă roșie a creat o culoare roșu-violet atractivă datorită creșterii concentrației pigmentilor betalainici de sfeclă roșie.

Cantitățile de pudră din coajă de sfeclă roșie adăugate în probele de maioneză nu au afectat mirosul, gustul și tartinabilitatea. Cu toate acestea, gustul și textura produselor au fost afectate prin adaosul de procent mai ridicat de pudră din coajă de sfeclă roșie (7%). În plus, este de remarcat faptul că adosul de concentrații mai mari de pudră din coajă de sfeclă roșie în maioneză a condus la un scor de consistență ușor crescut. Nu au existat variații semnificative în acceptabilitatea generală între probele S1, S2 și S3. Cu toate acestea, paneliștii au apreciat proba S4 cu 7% pudră din coajă de sfeclă roșie datorită culorii atractive.

5.5.9 Caracterizarea potențialului bioactiv al probelor de bezele cu valoare adăugată și stabilitatea la depozitare a probelor

În vederea evidențierii valorii adăugate a bezelelor, s-a efectuat caracterizarea fitochimică și s-a determinat activitatea antioxidantă. De asemenea, s-a urmărit stabilitatea compușilor pe perioada depozitării bezelelor la temperatura camerei, ambalate în recipiente de plastic închise ermetic timp de 21 de zile. Rezultatele sunt prezentate în **Tabelul 5.9**.

Din **Tabelul 5.9**, se observă că cele trei variante de bezele cu adaos de pudră din coajă de sfeclă au prezentat concentrații ridicate de betalaine și polifenoli, reflectându-se și în valorile activității antioxidante. De asemenea, se observă că odată cu creșterea concentrației de pudră din coajă de sfeclă roșie adăugată, crește și concentrația de compuși biologic activi și, implicit, activitatea antioxidantă, așa cum era de așteptat. În același timp însă, pe parcursul celor 21 de zile de depozitare, concentrațiile de betalaine și polifenoli totali scad semnificativ ($p < 0,05$) pentru toate variantele tehnologice obținute de bezele.

Tabel 5.9. Caracteristicile fitochimice și activitatea antioxidantă a bezelelor cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie (B- bezele fără adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, B1, B2 și B3 - bezele cu adaos de 4, 7 și 10 % (g/g) pudră din coajă de sfeclă roșie)

Caracterizare fitochimică	Bezele				
	Timp, zile	B	B1 (4%)	B2 (7%)	B3 (10%)
Betalaine totale mg /100g s.u	0	-	4,10 ± 0,02 ^{aA}	6,62 ± 0,05 ^{aB}	9,93 ± 0,38 ^{aC}
	7	-	3,52 ± 0,04 ^{bA}	5,19 ± 0,11 ^{bB}	8,38 ± 0,22 ^{bC}
	14	-	2,85 ± 0,04 ^{cA}	4,58 ± 0,06 ^{cB}	7,24 ± 0,11 ^{cC}
	21	-	1,60 ± 0,09 ^{dA}	3,32 ± 0,18 ^{dB}	5,67 ± 0,15 ^{dC}
Polifenoli totali mg EAG/100 g s.u	0	38,36 ± 0,29 ^{aA}	42,14 ± 1,16 ^{aA}	52,80 ± 1,23 ^{aB}	65,90 ± 0,68 ^{aC}
	7	32,59 ± 0,48 ^{bA}	32,26 ± 1,13 ^{bA}	40,92 ± 1,44 ^{bB}	57,09 ± 0,16 ^{bC}
	14	28,87 ± 0,19 ^{cA}	30,31 ± 0,85 ^{bcA}	36,87 ± 0,29 ^{cB}	43,90 ± 0,55 ^{cC}
	21	26,01 ± 0,51 ^{dA}	28,26 ± 0,41 ^{cA}	31,69 ± 0,32 ^{dB}	31,18 ± 1,11 ^{dB}
Activitate antioxidantă	0	4,19 ± 0,02 ^{aA}	17,15 ± 0,55 ^{aB}	27,59 ± 0,74 ^{aC}	39,06 ± 0,52 ^{aD}

DPPH, mM Trolox/100g	7	3,90 ± 0,12 ^{aA}	14,29 ± 0,98 ^{bB}	26,05 ± 1,04 ^{aC}	35,01 ± 0,68 ^{bD}
s.u.	14	2,38 ± 0,18 ^{bA}	12,49 ± 0,38 ^{bB}	24,65 ± 0,74 ^{aC}	29,87 ± 0,87 ^{cD}
	21	2,14 ± 0,07 ^{bA}	11,94 ± 0,19 ^{bB}	22,33 ± 2,35 ^{aC}	27,06 ± 0,38 ^{dC}

Variația în timp a concentrației de compuși este pusă în evidență prin litere mici pe coloană. Diferențele de concentrații ale compușilor dintre probe este pusă în evidență prin litere mari pe rând. Valorile care împart o literă mică/mare nu sunt diferite semnificativ ($p > 0,05$)

Cu toate acestea, rezultatele prezentate în **Tabelul 5.9.** confirmă valoarea adăugată a bezelelor cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, prin creșterea conținutului total de betalaine și polifenoli, care conduc la obținerea unui produs cu activitate antioxidantă ridicată. Aceste rezultate demonstrează faptul că pudra din coajă de sfeclă roșie poate fi utilizată ca înlocuitor natural pentru antioxidanții chimici.

Deoarece rădăcina de sfeclă este considerată sigură pentru consumul uman, ar putea apărea întrebarea dacă consumul de betalaine sub formă de pulbere este la fel de sigur. Prin urmare, betalainele derivate din sfecla roșie posedă un potențial imens de a fi utilizate ca și colorant natural, precum și ca ingrediente funcționale în formularea de produse alimentare noi.

În urma depozitării timp de 21 zile la temperatura de 4 °C, a bezelelor cu adaos de pudră de coajă din sfeclă roșie, se observă o ușoară scădere a conținutului de betalaine totale și polifenoli totali, precum și a activității antioxidante, în toate variantele de bezele analizate.

5.5.10. Caracterizarea fizico-chimică a probelor de bezele cu valoare adăugată

Bezelele cu valoare adăugată au fost analizate din punct de vedere fizico-chimic, rezultatele fiind prezentate în **Tabel 5.10.**

Din **Tabelul 5.10.** se observă că adaosul de pudră din coajă de sfeclă a dus la o ușoară scădere a conținutului de proteine cu până la 4%.

Totodată, se observă o ușoară creștere a concentrației de glucide odată cu creșterea procentului de pudră adăugat. Astfel, are loc o creștere cu până la 3% a conținutului de glucide la proba B3 față de proba martor.

Tabel 5.10. Caracteristicile fizico-chimice ale bezelelor cu valoare adăugată (B - bezele fără adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, B1, B2 și B3 - maioneză cu adaos de 4%, 7% și 10% (g/g) pudră din coajă de sfeclă roșie)

Caracteristici fizico -chimice	Bezele			
	B	B1 (4%)	B2 (7%)	B3 (10%)
Proteine, g/100 g	4,81 ± 0,09 ^a	4,63 ± 0,02 ^a	4,61 ± 0,03 ^a	4,60 ± 0,01 ^a
Glucide, g/100 g	84,62 ± 1,52 ^a	85,12 ± 3,14 ^a	86,30 ± 1,09 ^a	87,04 ± 1,88 ^a
Umiditate, g/100 g	9,69 ± 0,01 ^a	9,23 ± 0,18 ^a	7,91 ± 0,36 ^b	7,10 ± 0,49 ^b
Cenusa, g/100 g	0,88 ± 0,02 ^a	1,02 ± 0,01 ^b	1,18 ± 0,01 ^c	1,26 ± 0,02 ^d
Valoare energetică, %:	6,66 ± 0,01 ^a	367,97 ± 0,02 ^a	372,73 ± 0,01 ^{ab}	375,72 ± 0,03 ^c
Kcal/kJ	1534,10 ± 0,01 ^a	1539,58 ± 0,02 ^a	1559,50 ± 0,01 ^{ab}	1572,01 ± 0,03 ^c

Mediile de pe același rând care nu au o literă în comun sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$).

Această creștere se reflectă de asemenea și în valoarea energetică (**Tabelul 5.10.**).

5.5.11. Parametrii de culoare a probelor de bezele cu valoare adăugată

Bezelele au fost analizate din punct de vedere al parametrilor colorimetrici CIELAB folosind un colorimetru portabil cu iluminator C (Chroma Meter, model CR-410, Konica Minolta, Osaka, Japonia). Rezultatele au fost exprimate ca valori ale parametrilor L* (luminozitate), a* (tendința spre roșu pentru un a* "+" sau verde pentru un a* "-") și b* (tendința către galben

pentru b^{**} + „sau albastru pentru b^{**} - „). Posibila modificare a culorii a fost verificată și după cele 21 de zile de depozitare. Rezultatele sunt prezentate în **Tabelul 5.11**.

Conform rezultatelor prezentate în **Tabelul 5.11.**, bezelele cu valoare adăugată se caracterizează prin nuanțe de culoare roșie. Se observă faptul că intensitatea culorii bezelor este direct proporțională cu procentul de pudră adăugat. De asemenea, se observă că odată cu creșterea procentului de pudră adăugat, scade luminozitatea bezelor. În urma depozitării, după 21 de zile se observă o creștere a valorilor prametrilor de culoare pentru toate cele trei probe de bezele cu valoare adăugată.

Aceste rezultate demonstrează faptul că pudra din coajă de sfeclă roșie are puterea mare de colorare și poate fi utilizată ca înlocuitor natural pentru coloranții chimici.

Tabelul 5.11. Parametrii colorimetrici ai bezelor: B- bezele fără adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, B1, B2 și B3 - bezele cu adaos de 4, 7 și 10% (g/g) pudră din coajă de sfeclă roșie

Probe bezele	Timp, zile	L*	a*	b*
B	0	104,42 ± 0,58 ^{Aa}	7,72 ± 0,12 ^{aA}	1,90 ± 0,04 ^{aA}
	21	104,48 ± 0,33 ^{aA}	7,43 ± 0,07 ^{aA}	1,69 ± 0,02 ^{aB}
B1 (4%)	0	60,86 ± 0,77 ^{bB}	26,70 ± 0,49 ^{bB}	2,87 ± 0,05 ^{bC}
	21	70,52 ± 0,19 ^{bC}	27,11 ± 0,72 ^{bB}	3,80 ± 0,12 ^{bD}
B2 (7%)	0	45,93 ± 0,83 ^{cD}	29,92 ± 0,17 ^{cC}	4,48 ± 0,04 ^{cE}
	21	50,95 ± 1,01 ^{cE}	32,24 ± 0,42 ^{cD}	5,37 ± 0,54 ^{cE}
B3 (10%)	0	39,67 ± 0,60 ^{dF}	30,91 ± 0,23 ^{cE}	4,29 ± 0,09 ^{cF}
	21	39,89 ± 0,78 ^{dF}	30,68 ± 1,07 ^{cE}	5,61 ± 0,09 ^{cG}

Variația în timp a culorii este pusă în evidență prin litere mici pe coloană. Diferențele de culoare dintre probe este pusă în evidență prin litere mari pe rând. Valorile care împart o literă mică/mare nu sunt diferite semnificativ ($p > 0,05$)

5.5.12. Proprietățile texturale ale probelor de bezele cu valoare adăugată

Pentru analiza texturală a bezelor s-a utilizat metoda Analizei Profilului Textural (Texture Profile Analysis - TPA), aplicată cu ajutorul unui analizor textural Bookfield CT3. Probele au fost supuse unei penetrări duble cu un cilindru metalic cu diametrul de 4 mm, până la o adâncime de 6 mm, cu o viteză de 0.5 mm/s. Pragul de sensibilitate a fost de 0.067 N. Parametrii texturali – fermitatea, aderența, coezivitatea, elasticitatea și masticabilitatea – au fost determinați cu ajutorul programului TexturePro CT V1.5 (Brookfield Engineering Labs. Inc.). Pentru fiecare probă s-au realizat câte patru determinări iar rezultatele sunt prezentate ca medie în **Tabelul 5.12**.

Tabelul 5.12. Parametrii texturali ai bezelor: B- bezele fără adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, B1, B2 și B3 - bezele cu adaos de 4, 7 și 10% (g/g) pudră din coajă de sfeclă roșie

Parametru	B	B1 (4%)	B2 (7%)	B3 (10%)
Fermitate, N	10,44 ± 0,77 ^a	10,50 ± 0,99 ^a	10,57 ± 0,90 ^a	10,92 ± 0,14 ^a
Aderență, mJ	0,30 ± 0,03 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,31 ± 0,02 ^a
Coezivitate, -	0,05 ± 0,01 ^a	0,06 ± 0,01 ^a	0,06 ± 0,01 ^a	0,06 ± 0,01 ^a
Elasticitate, mm	2,12 ± 0,15 ^{ab}	2,18 ± 0,03 ^{ab}	2,06 ± 0,11 ^a	2,30 ± 0,07 ^b
Masticabilitate, mJ	1,72 ± 0,10 ^a	1,83 ± 0,01 ^{ab}	1,83 ± 0,17 ^{ab}	2,00 ± 0,16 ^b

Diferențele dintre probele analizate au fost puse în evidență prin litere mici pe rând. Valorile mediilor care împart o literă nu sunt diferite semnificativ ($p > 0,05$)

În **Tabelul 5.12.** se poate remarca faptul că valoarea minimă a fermității, 10,44 N, a fost înregistrată pentru proba martor. Pentru celelalte probe valorile fermității au fost în creștere, simultan cu creșterea conținutului de pulbere adăugată. Totuși, analizând aceste rezultate din punct de vedere statistic, se poate remarca faptul că aceste valori nu prezintă diferențe semnificative.

Rezultatele obținute atestă faptul că pudra din coajă de sfeclă poate fi folosită pentru obținerea de bezele cu valoare nutritivă îmbunătățită, fără a influența semnificativ textura.

5.5.13. Evaluarea senzorială a probelor de bezele cu valoare adăugată

Analizând rezultatele evaluării senzoriale a bezelelor cu valoare adăugată (**Figura 5.8.**), se remarcă faptul că variantele de bezele cu adaos de pudră de coajă de sfeclă roșie au fost evaluate ca având culoare echilibrată (**Figura 5.7.**), plăcută, corespunzătoare sfeclei roșii, spre deosebire de varianta martor care a fost cea mai puțin apreciată. Toate probele propuse spre analiză au fost apreciate pozitiv de echipa de degustători, aceștia apreciind bezelele cu valoare adăugată ca având gust și aromă de sfeclă ușor perceptibile.

Cea mai apreciată variantă de bezele a fost B1, cea care conține 4% pudră. Se observă faptul că pe măsură ce procentul de pudră din coajă de sfeclă roșie a crescut, degustatorii au apreciat mai puțin textura, sunetul și aftertaste-ul acestora.

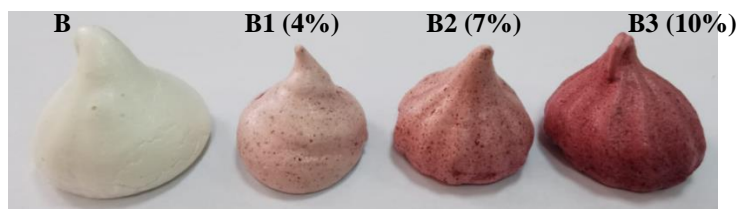


Figura 5.6. Bezelele cu adaos de pulbere din coajă de sfeclă roșie: B- bezele fără adaos de pulbere din coajă de sfeclă roșie, B1, B2 și B3 - bezele cu adaos de 4, 7 și 10% pulbere din coajă de sfeclă roșie

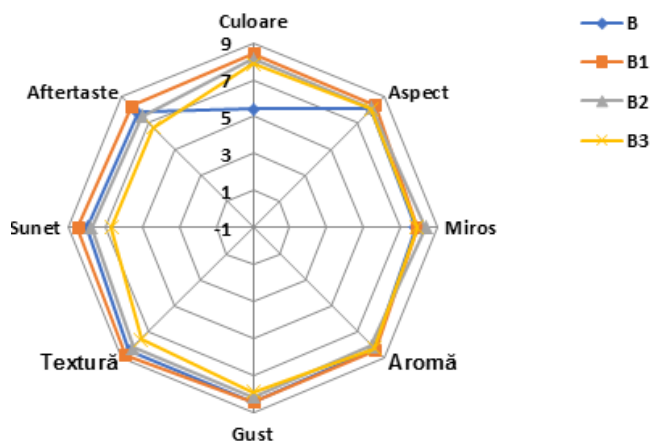


Figura 5.7. Diagrama comparativă a atributelor senzoriale specifice tipurilor de bezele: B- bezele fără adaos de pulbere din coajă de sfeclă roșie, B1, B2 și B3 - bezele cu adaos de 4, 7 și 10% pulbere din coajă de sfeclă roșie

5.5.14. Caracterizarea potențialului bioactiv al alviței cu valoare adăugată și stabilitatea la depozitare a probelor

În **Tabelul 5.13.** este prezentat profilul fitochimic al probelor de alviță cu valoare adăugată, obținute prin încorporarea concentrațiilor crescătoare (2%, 4% și 6%) de pudră de coajă de sfeclă roșie. Rezultatele prezentate în **Tabelul 5.13.** evidențiază valoarea adăugată a probelor de alviță cu adaos de pudră de coajă de sfeclă roșie, prin creșterea conținutului total de betalaine și polifenoli, care conduc la obținerea unui produs cu activitate antioxidantă ridicată.

În **Tabelul 5.14.** sunt prezentate rezultatele obținute în urma evaluării stabilității compușilor bioactivi din alvița cu valoare adăugată pe parcursul a 21 de zile de păstrare. Rezultatele indică faptul că pe parcursul celor 21 de zile de păstrare, conținutul de compuși bioactivi din alvița cu valoare adăugată, prezintă o ușoară scădere și implicit un potențial antioxidant ușor scăzut. Cu toate acestea, probele de alviță suplimentate cu concentrații crescătoare de pudră din coajă de sfeclă roșie, prezintă un profil bogat de betalaine și polifenoli față de produsul convențional (**Tabel 5.14.**).

În ceea ce privește potențialul antioxidant, probele de alviță cu adaos de pudră (4% și 6%) prezintă un potențial antioxidant superior față de cel al probei martor. Prin urmare, suplimentarea alviței cu concentrații de peste 2% pudră din coajă de sfeclă roșie, contribuie la îmbogățirea acesteia cu compuși bioactivi care conduc la obținerea unui produs cu activitate antioxidantă ridicată.

Tabel 5.13. Caracteristicile fitochimice și activitatea antioxidantă a alviței cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie (H- alviță fără adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, H1, H2 și H3 - alviță cu adaos de 2; 4 și 6 % (g/g) pudră din coajă de sfeclă roșie)

Caracterizare fitochimică	Alviță			
	H	H1 (2%)	H2 (4%)	H3 (6%)
Conținut de betalaine totale, mg /100g s.u	-	1,78 ^c	2,86 ^b	3,77 ^a
Conținut de polifenoli totali, mg EAG/100 g s,u	32,92 ^c	38,63 ^c	53,44 ^b	69,48 ^a
Activitate antioxidantă DPPH, mM Trolox/100g s.u.	2,68 ^d	25,20 ^c	54,94 ^b	73,89 ^a

*Literale diferite (a-b) pe rând pentru același parametru analizat arată diferențe semnificative între medii ($p < 0,05$).

5.5.16. Parametrii de culoare a probelor de alviță cu valoare adăugată

Probele de alviță cu adaos de pulbere din coajă de sfeclă roșie în concentrații diferite au fost analizate din punct de vedere al parametrilor colorimetrici CIELAB folosind un colorimetru portabil cu iluminator C (Chroma Meter, model CR-410, Konica Minolta, Osaka, Japonia),- Rezultatele au fost exprimate ca L * (luminozitate), a * (tendința spre roșu pentru un a* "+" sau verde pentru un a* "-) și b * (tendința către galben pentru b "*" + "sau albastru pentru b "*" - ,,)

(**Tabelul 5.15.**).

Rezultatele prezentate în **Tabelul 5.15.** evidențiază faptul că prin încorporarea pudrei din sfeclă roșie în compoziția alviței, aceasta se caracterizează prin nuanțe de culoare roșie - violacee, intensitatea culorii fiind direct proporțională cu procentul de pudră adăugat (2, 4 și 6%). Acest considerent confirmă că pudra din coajă de sfeclă roșie are o putere mare de colorare și poate fi utilizată ca și colorant natural în compoziția alviței, crescând totodată atractivitatea produsului și interesul consumatorilor față de acest produs (**Figura 5.5.**).

Tabel 5.14. Evaluarea stabilității fitochimice a alviței cu valoare adăugată: H - alviță fără adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, H1, H2 și H3 - probele de alviță cu adaos de 2; 4 și 6% (g/g) pudră din coajă de sfeclă, pe perioada de păstrare de 21 zile

Probă	Compuși bioactivi/activitate antioxidantă	0 zile				7 zile				14 zile				21 zile			
		0 zile				7 zile				14 zile				21 zile			
H	Betalaine (mg /100g g s.u)	Nd*				Nd*				Nd*				Nd*			
	Polifenoli totali (mg EAG/100 g s.u)	32,95 ± 4,19 ^a				30,00 ± 1,99 ^a				26,76 ± 1,82 ^{ab}				21,71 ± 1,20 ^b			
	Activitatea antioxidantă (mM)	2,68 ± 0,36 ^a				2,67 ± 0,09 ^a				2,28 ± 0,02 ^{ab}				2,02 ± 0,05 ^b			

		Trolox/100g s.u.)			
H1	Betalaine (mg /100g g s.u)	1,78 ± 0,08 ^a	1,49 ± 0,03 ^b	1,17 ± 0,06 ^c	1,02 ± 0,09 ^c
	Polifenoli totali (mg EAG/100 g s.u)	38,63 ± 1,26 ^a	33,36 ± 1,81 ^b	30,73 ± 0,93 ^b	25,46 ± 0,90 ^c
	Activitatea antioxidantă (mM Trolox/100g s.u.)	25,20 ± 0,81 ^a	24,51 ± 0,78 ^a	19,40 ± 1,02 ^b	16,21 ± 0,25 ^c
H2	Betalaine (mg /100g g s.u)	2,86 ± 0,03 ^a	2,56 ± 0,04 ^b	2,19 ± 0,16 ^c	1,99 ± 0,06 ^c
	Polifenoli totali (mg EAG/100 g s.u)	53,44 ± 1,33 ^a	50,87 ± 0,62 ^a	46,45 ± 1,67 ^b	40,48 ± 0,76 ^c
	Activitatea antioxidantă (mM Trolox/100g s.u.)	54,94 ± 2,67 ^a	50,55 ± 0,71 ^b	46,42 ± 0,97 ^c	41,47 ± 1,17 ^d
H3	Betalaine (mg /100g g s.u)	3,77 ± 0,09 ^a	3,52 ± 0,09 ^b	3,25 ± 0,11 ^c	2,83 ± 0,08 ^d
	Polifenoli totali (mg EAG/100 g s.u)	69,48 ± 2,88 ^a	66,42 ± 1,82 ^{ab}	61,55 ± 1,34 ^b	53,65 ± 0,89 ^c
	Activitatea antioxidantă (mM Trolox/100g s.u.)	73,89 ± 3,65 ^a	66,86 ± 1,59 ^b	59,91 ± 2,37 ^c	53,33 ± 1,92 ^d

* Nd - nedetectabil

*Literale diferite (a-b) pe rând pentru același parametru analizat arată diferențe semnificative între medii ($p < 0,05$).

Tabel 5.15. Parametrii colorimetrici ai probelor de alviță: H- alviță fără adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, H1, H2 și H3 - formule de alviță cu adaos de 2; 4 și 6% (g/g) pudră din coajă de sfeclă roșie.

Probe alviță	L*	a*	b*
H	104,79 ± 0,45 ^a	7,08 ± 0,06 ^c	5,57 ± 0,48 ^b
H1	75,06 ± 0,35 ^b	36,90 ± 2,59 ^b	5,51 ± 1,16 ^b
H2	53,11 ± 0,50 ^c	42,50 ± 1,33 ^{ab}	6,38 ± 0,90 ^{ab}
H3	41,47 ± 1,10 ^d	45,22 ± 3,57 ^a	8,24 ± 1,03 ^a

*Literale diferite (a-b) pe coloana pentru același parametru analizat arată diferențe semnificative între medii ($p < 0,05$).

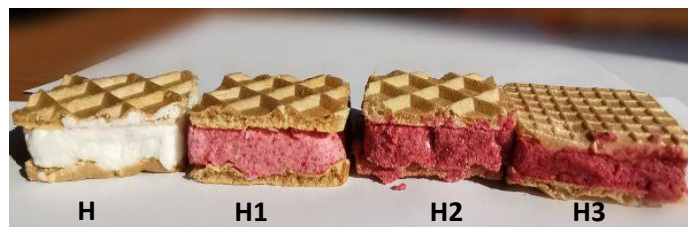


Figura 5.8. Alviță cu adaos de pulbere din coajă de sfeclă roșie, produs cu valoare adăugată: H - alviță fără adaos de pulbere din coajă de sfeclă roșie, H1, H2 și H3 - formule de alviță cu adaos de 2; 4 și 6% (g/g) pulbere din coajă de sfeclă.

5.5.16. Proprietățile texturale ale probelor de alviță cu valoare adăugată

Textura alviței a fost analizată instrumental prin metoda Analizei Profilului Textural. Această metodă constă într-o penetrare dublă, care simulează masticăția. Rezultatele analizei instrumentale a texturii sunt prezentate în **Tabelul 5.16**.

Adaosul de pudră din coajă de sfeclă a dus la creșterea fermității și aderenței probelor de alviță. Dacă între proba martor și proba cu 2% adaos de pudră diferențele nu sunt semnificative, la creșterea cantității de pudră adăugată aceste devin mai evidente, proba cu 6% adaos înregistrând o valoare a fermității de aproape trei ori mai mare comparativ cu proba martor.

Evoluția fermității se datorează creșterii densității și consistenței pastei la adăugarea pudrei. Fermitatea și aderența influențează pozitiv păstrarea formei produsului în timpul perioadei de depozitare. În același timp, particulele din pudră din coajă de sfeclă roșie duc la fragmentarea matricei proteice și la slăbirea legăturilor interne, fapt demonstrat de scăderea coezivității odată cu creșterea cantității de pudră adăugată. Acest lucru face ca probele să devină mai ușor de dezintegrat în cavitatea bucală în timpul masticăției. În **tabelul 5.13**, se poate remarca faptul că energia necesară dezintegrării probei (masticabilitatea) scade de la $1,06 \pm 0,06$ mJ pentru proba martor, până la $0,41 \pm 0,01$ mJ pentru proba cu cel mai mare procent de pulbere adăugată. Pudra din coajă de sfeclă roșie adăugată în alviță influențează și elasticitatea probelor. Dacă proba martor are capacitatea de a recupera $3,65 \pm 0,005$ mm din deformație, pentru celelalte probe această capacitate scade proporțional cu procentul de pulbere, ajungând ca la 6% să recupereze mai puțin de jumătate ($1,28 \pm 0,01$ mm). Acest comportament denotă destructurarea ireversibilă a matricei proteice în timpul testării.

Tabel 5.16. Parametrii texturali ai probelor de alviță: H - alviță fără adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, H1, H2 și H3 - alviță cu adaos de 2; 4 și 6% (g/g) pudră din coajă de sfeclă roșie

Parametru analizat	H	H1	H2	H3
Fermitate, N	$0,54 \pm 0,05^a$	$0,56 \pm 0,01^a$	$1,06 \pm 0,12^b$	$1,51 \pm 0,03^c$
Aderență, mJ	$1,00 \pm 0,03^a$	$1,11 \pm 0,18^a$	$1,42 \pm 0,02^a$	$1,55 \pm 0,03^a$
Coezivitate	$0,57 \pm 0,03^a$	$0,45 \pm 0,01^a$	$0,43 \pm 0,01^a$	$0,38 \pm 0,005^a$
Elasticitate, mm	$3,65 \pm 0,005^a$	$3,23 \pm 0,05^a$	$2,32 \pm 0,15^a$	$1,28 \pm 0,01^a$
Gumozitate, N	$0,29 \pm 0,005^a$	$0,26 \pm 0,04^a$	$0,23 \pm 0,02^a$	$0,17 \pm 0,05^a$
Masticabilitate, mJ	$1,06 \pm 0,06^a$	$0,70 \pm 0,02^{ab}$	$0,52 \pm 0,01^{ab}$	$0,41 \pm 0,01^c$

Diferențele dintre probele analizate au fost puse în evidență prin litere mici pe rând. Valorile mediilor care împart o literă nu sunt diferite semnificativ ($p > 0,05$)

În concluzie, se poate afirma ca adaosul de pudră din coajă de sfeclă roșie are un efect pozitiv asupra texturii alviței prin îmbunătățirea fermității și facilitarea masticăției.

5.5.17. Evaluarea senzorială a probelor de alviță cu valoare adăugată

Analizând rezultatele evaluării senzoriale a alviței cu valoare adăugată (**Figura 5.9.**), se remarcă faptul că variantele de alviță cu adaos de pudră de coajă de sfeclă roșie au fost evaluate ca având culoare echilibrată, plăcută, corespunzătoare sfeclei roșii, spre deosebire de varianta martor care a fost cea mai puțin apreciată.

Aprecieri pozitive au fost primite din partea degustătorilor, aceștia apreciind alvița cu valoare adăugată ca având gust și aromă de sfeclă ușor perceptibile.

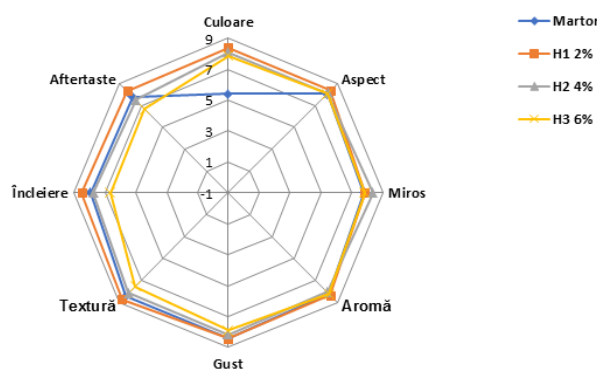


Figura 5.9. Diagrama comparativă a atributelor senzoriale specifice probelor de alviță: H- alviță fără adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, H1, H2 și H3 - alviță cu adaos de 2, 4 și 6% pudră din coajă de sfeclă roșie

Cea mai apreciată variantă de bezele a fost H1, cea cu un conținut de 2% pudră. Se observă faptul că pe măsură ce procentul de pudră din coajă de sfeclă roșie a crescut, degustătorii au apreciat mai puțin textura și aftertaste-ul acestora.

Tendința consumatorilor de a opta către consumul de produse sănătoase, naturale, a condus la dezvoltarea unui produs natural, inovativ, cu proprietăți senzoriale (gust, aromă, culoare, textură) îmbunătățite, răspunzând cererii și necesității consumatorilor. Astfel, obținerea unui nou sortiment de alviță, cu adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie, se remarcă printr-o culoare roșie-violacee, conferită de adaosul de pudră bogată în pigmenții (betalaine) din sfecla roșie, atractivă pentru consumatori, în special pentru copii.

Valoarea adăugată a produsului se evidențiază prin aportul ridicat de antioxidanți naturali prezenți în coajă de sfeclă roșie, care prezintă un potențial antioxidant remarcabil și sunt lipsiți de toxicitate. În plus, substituirea aditivilor de sinteză chimică cu cei naturali, prezenți în coajă de sfeclă roșie, aduce numeroase beneficii și contribuie în mod direct la creșterea calității vieții.

5.6. Concluzii parțiale

Studiul actual propune o strategie unică pentru valorificarea subproduselor din sfeclă roșie ca sursă de substanțe bioactive pentru a dezvolta noi produse cu valoare adăugată. Caracterizarea extractului din pudră din coajă de sfeclă roșie a evidențiat o concentrație mare de compuși polifenolici și a prezentat o activitate antioxidantă semnificativă.

Funcționalitatea pudrei din coajă de sfeclă roșie a fost evaluată prin adăugarea acesteia în diverse produse alimentare cu valoare adăugată, cu potențial funcțional îmbogățit, precum maioneză, bezele și alviță.

Activitatea antioxidantă a probelor de maioneză a crescut odată cu conținutul de pudră din coajă de sfeclă roșie și, datorită conținutului sporit de polifenoli, a prezentat o calitate nutrițională mai mare comparativ cu proba martor. Datorită prezenței unor niveluri considerabile de pigmenți de sfeclă roșie, adăugarea de pudră din coajă de sfeclă roșie a dus la o creștere a valorii parametrului a^* (culoarea roșie) de la $13,82 \pm 0,22$ pentru proba S1 cu 1,5% pudră la valoarea de $23,14 \pm 0,02$ pentru proba S4 cu 7% pudră din coajă de sfeclă roșie. De asemenea s-a înregistrat o reducere a valorii parametrului b^* (culoarea galbenă) de la valoarea de $6,72 \pm 0,28$ a probei S1 la valoarea de $-1,83 \pm 0,11$ a probei S4. Mai mult, adăugarea de pudră din coajă de sfeclă roșie în probele de maioneză a determinat o fermitate mai mare și o îmbunătățire a aderenței și masticabilității, dând produsului o textură moale. Vâscozitatea maionezei a fost, de asemenea, îmbunătățită semnificativ, indicele de consistență K înregistrând valori crescătoare odată cu creșterea concentrației de pudră din coajă de sfeclă roșie până la 3% ($9,97 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ pentru 1,5% pudră din coajă de sfeclă roșie și $14,35 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ pentru 3% pudră din coajă de sfeclă roșie). Evaluarea senzorială a maionezei cu valoare adăugată a indicat că adăugarea de pudră din coajă de sfeclă roșie a îmbunătățit atributele de culoare ale

produsului și nu a cauzat niciun impact asupra mirosului, gustului și scorului de acceptare generală al probelor.

Rezultatele obținute în prezentul studiu susțin multifuncționalitatea pudrei din coajă de sfeclă roșie în bezele, ca sursă de coloranți naturali cu activitate antioxidantă, care îmbunătățesc caracteristicile senzoriale. Adăugarea de pudră din coajă de sfeclă roșie în probele de bezele nu au adus nici o modificare în ceea ce privește textura acestora. În urma depozitării, după 21 de zile se observă o creștere a valorilor parametrilor de culoare pentru toate cele trei probe de bezele cu valoare adăugată astfel valoarea parametrului a crește între 25 și 29% în cazul bezelelor cu adaos cuprins între 4 - 10% pudră din coaja de sfeclă roșie. Evaluarea senzorială a bezelelor cu valoare adăugată a indicat că adăugarea de pudră din coajă de sfeclă roșie a îmbunătățit de asemenea atributele de culoare ale produsului și nu a cauzat niciun impact asupra mirosului, gustului și scorului de acceptare generală al probelor. Activitatea antioxidantă a probelor de bezele a crescut odată cu creșterea conținutului de pudră din coajă de sfeclă roșie respectiv $39,06 \pm 0,52$ mM Trolox/100 g s.u. pentru proba B3 cu 10% pudră. De asemenea a crescut și conținutul de betalaine ($9,93 \pm 0,38$ mg/100g s.u.) pentru proba B3 cu 10% adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie și de polifenoli ($65,90 \pm 0,68$ mg EAG/100 g s.u.) comparativ cu proba martor.

Prin caracterizarea alviței cu valoare adăugată se demonstrează multifuncționalitatea pudrei obținute din coajă de sfeclă roșie în compoziția alviței, ca sursă importantă de compuși naturali cu activitate antioxidantă, colorantă, aromatizantă, care îmbunătățește caracteristicile senzoriale, precum culoarea, aroma și textura produsului, contribuind direct la creșterea diversității și atractivității consumatorilor. Acest lucru este evidențiat prin creșterea conținutului total de betalaine ($3,77 \pm 0,09$ mg/g s.u.) și polifenoli ($69,48 \pm 2,88$ mg EAG/100g s.u.), care conduc la obținerea unei alvițe cu activitate antioxidantă ridicată ($73,89 \pm 3,65$ mM Trolox/100 g s.u.) pentru proba H3 cu 6% adaos de pudră din coajă de sfeclă roșie. Datorită prezenței sporite de pudră din coajă de sfeclă roșie în compoziția alviței, acest lucru a crescut atractivitatea produsului și interesul consumatorilor față de acest produs datorită puterii de colorare a acesteia. Adaosul de pudră din coajă de sfeclă a dus la creșterea fermității și aderenței probelor de alviță. De asemenea adaosul de pudră din coajă de sfeclă roșie are un efect pozitiv asupra texturii alviței prin îmbunătățirea fermității și facilitarea masticăției.

În plus, utilizarea subproduselor obținute în urma prelucrării industriale a sfeclei roșii, considerându-le o sursă de compuși biologic activi, poate deveni o alternativă viabilă la variantele de coloranți, aromatizanți și antioxidanți de sinteză. Acestea pot avea multiple utilizări în industria alimentară și pot contribui la reducerea deșeurilor și implementarea unui model economic circular pentru protecția mediului.

Capitolul 6. CONCLUZII FINALE

Obiectivul de a stimula producția de alimente la nivel mondial nu este doar o provocare, ci necesită un angajament extraordinar din partea guvernelor naționale, agențiilor, organizațiilor, industriilor și indivizilor. Cu toate acestea, în timp ce se explorează strategii pentru a atinge suficiența alimentară, este important să se adopte abordări durabile care să asigure utilizarea adecvată și rațională a produselor disponibile.

Este un fapt cert că subprodusele provenite din procesarea alimentelor reprezintă tone de deșeuri care sunt deseori irosite în mod necorespunzător în mediu, ceea ce conduce la poluare, mai ales în țările în curs de dezvoltare. Numeroase produse secundare provenite din producția și procesarea alimentelor conțin nutrienți valoroși, precum compuși bioactivi, vitamine, lipide, proteine și fibre dietetice. Prin utilizarea proceselor biotehnologice, factorii precum gustul de pământ al sfeclei roșii sau mirosul înțepător specific de sfeclă pot fi minimizați pentru o utilizare la scară cât mai largă a acestei legume cât și a subproduselor rezultate la prelucrarea ei, ca aditivi alimentari sau în formularea de noi alimente cu valoare adăugată.

În prezenta teză de doctorat s-a urmărit caracterizarea principalilor compuși biologic activi din coaja de sfeclă roșie pentru în vederea utilizării pudrei din coajă de sfeclă roșie ca ingredient natural cu valoare adăugată care ar putea avea diferite scopuri. Prin urmare studiile realizate în cadrul tezei de doctorat, intitulată **"VALORIFICAREA SUBPRODUSELOR REZULTATE LA PRELUCRAREA SFECLII ROȘII"** au urmărit valorificarea compușilor bioactivi din coajă de sfeclă roșie în vederea dezvoltării unor ingrediente funcționale care să vină în sprijinul dorințelor consumatorilor privind consumul de alimente cu beneficii pentru sănătate.

- ✓ S-au utilizat patru metode de extracție diferite. La toate aceste metode s-au variat concentrația de etanol, acid citric, timpul și temperatura de extracție. Astfel, combinația dintre etanol de concentrație 20% acidificat cu acid citric 0,1% a permis obținerea celei mai mari cantități de compuși betalainici. Valorile cele mai mari ale conținutului de polifenoli totali au fost obținute prin extracția convențională având ca parametri de extracție etanol de concentrație 20% și acidul citric 1%. Preparatul enzimatic cu activitate pectolitică (Zymorouge), a condus la obținerea unui randament ridicat de extracție, a compușilor betalainici extractul obținut a prezentat o activitate antioxidantă ridicată.
- ✓ Matricea de proiecție Central Composite Design (CCD) a fost folosită cu scopul de a investiga efectul parametrilor de extracție în vederea optimizării extracției betalainelor și a polifenolilor totali din coaja de sfeclă roșie. Condițiile optimizate pentru extracția maximă a betalainelor și a compușilor polifenolici au fost: concentrația acidului citric de 1,5%, concentrația etanolului de 50%, temperatura de 52,52°C și timpul de extracție de 49,9 min.
- ✓ Cromatograma extractului din coajă de sfeclă roșie prezintă un pic distinct la un timp de retenție de $1,87 \pm 0,2$ min corelat corespunzător cu standardul de betanină.
- ✓ În urma studiilor de stabilitate termică conținutul total de betalaine urmează o tendință descendentă în intervalul de temperatură de 20-170°C utilizat. Conținutul de polifenoli totali din extractul din coajă de sfeclă roșie a prezentat o reducere constantă în tot intervalul de temperatură studiat de la 20°C la 170°C. Activitatea antioxidantă are o tendință de scădere similară cu cea a conținutului polifenolic. În urma studiilor de stabilitate termică, se observă o menținere a activității antioxidante în intervalul de temperatură de 20-70°C, urmat de o scădere la temperatura de 170°C, acest fenomen poate fi explicat printr-o posibilă eliberare a altor tipuri de compuși biologic activi (flavonoide) din matricea analizată în urma tratamentului termic.
- ✓ Deoarece conținutul fitochimic și capacitatea antioxidantă sunt dependente de temperatură, alegerea utilizării țintite a compușilor biologic activi din sfecla roșie de către produsele încorporate în alimentele tratate termic trebuie să țină seama de stabilitatea lor termică.
- ✓ Rezultatele au demonstrat că extractul din coajă de sfeclă roșie, acționează ca inhibitor al activității α -glucozidazei, α -amilazei, lipazei și lipoxigenazei, sugerând că prezenta compușilor biologic activi are potențialul de a contribui eficient la controlul glicemiei postprandiale, cât și pentru stresul oxidativ celular legat de diabet, precum și asupra bolilor legate de hiperlipidemie.
- ✓ Pentru a evalua potențialul de aplicare industrială a ingredientelor naturale din coaja de sfeclă roșie, au fost elaborate diferite variante tehnologice de obținere a trei produse cu valoare adăugată, funcționalitatea acestora fiind evaluată prin conținutul de compuși fitochimici și activitatea antioxidantă.
- ✓ Adaosul de pudră din coajă de sfeclă roșie în probele de maioneză a determinat o îmbunătățire a fermității, aderenței și masticabilității, conferind produsului o textură moale. Vâscozitatea maionezei a fost, de asemenea, îmbunătățită semnificativ. Evaluarea senzorială a maionezei cu valoare adăugată a indicat o îmbunătățire a atributelor de culoare ale produsului și nu a cauzat niciun impact asupra scorului de acceptare generală al probelor de maioneză.
- ✓ Rezultatele obținute în ceea ce privește produsul de tip beza susțin multifuncționalitatea pudrei din coajă de sfeclă roșie, ca sursă de coloranți naturali cu activitate antioxidantă, care îmbunătățesc caracteristicile senzoriale.

- ✓ Produsul de tip alviță demonstrează multifuncționalitatea pudrei obținute din coajă de sfeclă roșie în compoziția acesteia, ca sursă importantă de compuși naturali cu activitate antioxidantă, colorantă, aromatizantă, care îmbunătățesc caracteristicile senzoriale, precum culoarea, aroma și textura produsului, contribuind direct la creșterea diversității și atractivității consumatorilor.

Capitolul 7. CONTRIBUȚII PERSONALE ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A STUDIILOR

Teza de doctorat cu titlul **”VALORIFICAREA SUBPRODUSELOR REZULTATE LA PRELUCRAREA SFECLII ROȘII”** reprezintă un studiu de cercetare original, care a permis parcurgerea unor stadii precise ce au avut ca țintă bine definită modalitățile de recuperare și reintegrare în diverse produse alimentare a unor compuși bioactivi cu beneficii pentru sănătatea umană, compuși care sunt de interes major.

Contribuțiile originale ale tezei de doctorat se bazează pe aspecte precum:

- ✓ Alegerea unei metode de extracție eficiente în vederea obținerii unor extracte bogate în compuși biologic activi de interes major;
- ✓ Caracterizarea avansată a extractelor din coajă de sfeclă roșie prin determinarea profilului fitochimic și activitatea antioxidantă, a stabilității termice, cu scopul de a determina condițiile optime de obținere, prelucrare și depozitare a produselor bogate în compuși betalainici;
- ✓ Testarea *in vitro* a activității biologice a extractului din coajă de sfeclă roșie;
- ✓ Dezvoltarea de diferite variante tehnologice de obținere a unor produse alimentare cu valoare adăugată prin încorporarea compușilor bioactivi din coaja de sfeclă roșie și caracterizarea acestora din punct de vedere fizico-chimic, fitochimic, senzorial, etc, evidențiind conceptul de economie circulară în țara noastră.

În perspectiva unor **cercetări viitoare** se conturează ideea utilizării produselor derivate din sfeclă roșie (extracte, pudre) ca ingrediente funcționale pentru formularea altor produse alimentare diverse (băuturi precum sucuri; produse de panificație precum pâine, biscuiți, briose chec, cozonac, blat de tort, etc.; produse lactate fermentate precum iaurt, brânză, cremă de brânză, chefir, sana, etc).

Se prevede de asemenea determinarea activității antibacteriene și/sau antifungice a extractelor din coajă de sfeclă roșie, precum și testarea potențialului citotoxic, antiproliferativ și chiar probiotic al pudrelor din coajă de sfeclă roșie.

Extractul din coajă de sfeclă roșie este solubil în apă ușurând utilizarea acestuia în industria alimentară și chiar farmaceutică, cu scopul de a produce nutraceutice, iar capacitatea antioxidantă ridicată permite utilizarea acestuia ca fortifiant în produsele alimentare.

Capitolul 8. LISTA PUBLICAȚIILOR

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

8.1. Articole publicate în reviste indexate/cotate ISI

1. Lazăr (Mistrieanu)*, S., Constantin, O.E., Stănciuc, N., Aprodu, I., Croitoru, C., Râpeanu, G. Optimization of Betalain Pigments Extraction Using Beetroot by-Products as a Valuable Source. *Inventions* 2021, 6(3), 50. <https://doi.org/10.3390/inventions6030050>

2. Lazăr (Mistrieanu)*, S., Constantin, O.E., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Mureșan, C., Râpeanu, G. Beetroot By-Product as a Functional Ingredient for Obtaining Value-Added Mayonnaise. *Processes*, 2022, 10(2), 227. <https://doi.org/10.3390/pr10020227> **Q3**, Impact Factor = 3,352

8.2. Cereri de brevet

1. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Râpeanu, G., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Constantin, O.E., 2022. Maioneză cu adaos de pudră din coji de sfeclă roșie – produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere, nr. de înregistrare la OSIM A/00384/03.06.2021, publicat în BOPI https://osim.ro/images/Publicatii/Inventii/2023/bopi_inv_022023.pdf.
2. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Râpeanu, G., Condurache (Lazăr) N.N., Stănciuc, N., Aprodu, I., Constantin, O.E., Andronoiu, D.G., Croitoru, C. 2022. Bezele cu adaos de pudră de coji de sfeclă roșie – produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere, nr. de înregistrare la OSIM A/00132/16.03.2022
3. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Râpeanu, G. 2022. Alviță cu adaos de pudră din coji de sfeclă roșie – produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere, nr. de înregistrare la OSIM A/00518/25.08.2022

8.3. Participări la conferințe și simpozioane naționale și internaționale

1. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Râpeanu, G., Stănciuc, N., Georgescu, L., Aprodu, I. 2020. Betalains from red beetroot: natural pigments with potential application in food industry, poster, *8th edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG, "Dunarea de Jos" University of Galați*
2. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Râpeanu, G., Stănciuc, N., Constantin, O.E., Aprodu, I. 2020. Betalains recovery from beetroot skins using different extraction methods, poster, *Scientific Symposium "Young people and multidisciplinary research in applied life sciences", 7th edition, Section: Food Engineering, Banat's University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine "King Michael I of Romania" Timisoara*
3. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Râpeanu, G., Stănciuc, N., Aprodu, I., Constantin, O.E. 2021. Thermal stability of betalains recovered from red beetroot peels, poster, *9th edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG, "Dunarea de Jos" University of Galați*
4. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Râpeanu, G., Stănciuc, N., Aprodu, I., Constantin, O.E. 2021. Red beetroot by products as valuable source of natural colorants, poster, *9th edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG, "Dunarea de Jos" University of Galați*
5. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Râpeanu, G., Stănciuc, N., Aprodu, I., Constantin, O.E. 2021. Thermostability of biological active compounds extracted red beetroot by products, poster, *Multidisciplinary Conference on Sustainable, Development, Section: Food Chemistry, Engineering & Technology, Faculty of Food Engineering Timișoara*
6. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Constantin, O.E., Râpeanu, G., Stănciuc, N., Aprodu, I., 2021 optimization of conventional extraction of betalain compounds from beetroot peels, poster, *EuroAliment, "Dunărea de Jos" University of Galați*
7. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Constantin, O.E., Râpeanu, G. 2021. Value added mayonnaise enriched with red beetroot peels powder, poster, *International scientific symposium "Young researchers and scientific research in life sciences" Banat's University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine "King Michael I of Romania" Timișoara*
8. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Constantin, O.E., Râpeanu, G. 2021. Stability of mayonnaise enriched with red beetroot peels powder, poster, *PhD students' days Faculty of Food Engineering, Tourism, and Environmental Protection The First Edition, Arad*
9. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Râpeanu, G., Stănciuc, N., Aprodu, I., Constantin, O.E. 2022. Red beetroot peels valorisation as a source of natural dyes with health benefits, poster, *10th edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG, "Dunarea de Jos" University of Galați*
10. Lazăr (Mistriuanu)*, S., Râpeanu, G., Constantin, O.E., Aprodu, I., Stănciuc, N. 2023. Valorisation of red beet by-products to develop functional food products peels as a source of natural dyes with health benefits, poster, *11th edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG, "Dunarea de Jos" University of Galați*

8.4. Premii

1. Premiul III, Poster, *Betalains recovery from beetroot skins using different extraction methods*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Râpeanu, G., Stănciuc, N., Constantin, O.E., Aprodu, I. Scientific Symposium "Young people and multidisciplinary research in applied life sciences", 7th edition, Section: Food Engineering, Banat's University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine "King Michael I of Romania" 27 november, 2020 Timisoara.
2. Honorable Mention, Prezentare, *Thermal stability of betalains recovered from red beet peels*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Râpeanu, G., Stănciuc, N., Aprodu, I., Constantin, O.E., 9th edition of Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG, "Dunarea de Jos" University of Galați, 10-11th of June 2021.
3. Medalia de aur, *Maioneză cu adaos de pudră din coji de sfeclă roșie – produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Râpeanu, G., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Constantin, O.E., UGAL INVENT, 12-12 noiembrie 2021, Galați.
4. Premiul III, poster, *Value added mayonnaise enriched with red beetroot peels powder*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Constantin, O.E., Râpeanu, G., simpozionul științific "Young people and multidisciplinary research in applied life sciences, 25 noiembrie 2021, Timișoara.
5. Medalia de aur, *Mayonnaise with beetroot peels powder – value-added product and obtaining method*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Râpeanu, G., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Constantin, O.E., INVENTICA, 22-24 iunie 2022, Iași.
6. Medalia de argint, *Alviță cu adaos de pudră din de sfeclă roșie – produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Râpeanu, G., Salonul internațional al Cercetării Științifice, Inovării și Inventicii "PRO INVENT", 26-28 octombrie 2022, Cluj-Napoca.
7. Diploma de excelență și medalia de aur, *Alviță cu adaos de pudră din coji de sfeclă roșie – produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Râpeanu, G., Salonul internațional al Cercetării Științifice, Inovării și Inventicii "PRO INVENT", 26-28 octombrie 2022, Cluj-Napoca.
8. Diploma de excelență și medalia de aur, *Bezele cu adaos de pudră de coji de sfeclă roșie – produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Râpeanu, G., Condurache (Lazăr) N.N., Stănciuc, N., Aprodu, I., Constantin, O.E., Andronoiu, D.G., Croitoru, C., Salonul internațional al Cercetării Științifice, Inovării și Inventicii "PRO INVENT", 26-28 octombrie 2022, Cluj-Napoca.
9. Premiul special, *Alviță cu adaos de pudră din coji de sfeclă roșie – produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Râpeanu, G., The International Exhibition of Research, Innovations and Inventions PRO INVENT, XX Edition, Cluj-Napoca, 26-28 octombrie 2022.
10. Diplomă de excelență pentru cererea de brevet *Alviță cu adaos de pudră din coji de sfeclă roșie – produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Horincar, G., Andronoiu, D.G., Stănciuc, N., Râpeanu, G., Susținerea cercetării de excelență în activitatea CDI din Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați – CEREX UDJG 2022.
11. Diplomă de excelență pentru cererea de brevet *Bezele cu adaos de pudră de coji de sfeclă roșie – produs cu valoare adăugată și tehnologia de obținere*, Lazăr (Mistrieanu)*, S., Râpeanu, G., Condurache (Lazăr) N.N., Stănciuc, N., Aprodu, I., Constantin, O.E., Andronoiu, D.G., Croitoru, C., Susținerea cercetării de excelență în activitatea CDI din Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați – CEREX UDJG 2022.