

**UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI**  
**Școala doctorală de Științe Fundamentale și Inginerești**



## **TEZĂ DE DOCTORAT**

**– REZUMAT –**

### **EFECTELE SUBSTITUȚIEI CLORURII DE SODIU ÎN FERMENTAȚIA LACTICĂ A VEGETALELOR**

**Doctorand,**  
**Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU)**

**Conducător științific,**  
**Prof. univ. dr. ing. Elisabeta BOTEZ**

**Seria I.7: INGINERIA PRODUSELOR ALIMENTARE Nr. 28**

**GALAȚI**

**2025**

**UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI**  
**Școala doctorală de Științe Fundamentale și Inginerești**



# **TEZĂ DE DOCTORAT**

## **EFECTELE SUBSTITUȚIEI CLORURII DE SODIU ÎN FERMENTAȚIA LACTICĂ A VEGETALELOR**

**(Rezumat)**

**Doctorand,**  
**Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU)**

|                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Președinte</b>             | <b>Prof univ. dr. ing. habil. RÂPEANU Gabriela</b><br>Director interimar CSUD Universitatea „Dunăre de Jos” din Galați                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Conducător științific,</b> | <b>Prof univ. dr. ing. Elisabeta BOTEZ</b><br>Universitatea „Dunăre de Jos” din Galați                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Referenți științifici</b>  | <b>Prof univ. dr. ing.habil. CODINĂ Georgiana- Gabriela</b><br>Universitatea „Ștefan cel Mare” din Suceava<br><b>Conf. univ. dr. ing. CECLU Liliana</b><br>Universitatea de Stat „Bogdan Petriceicu Hașdeu” din Cahul,<br>Republica Moldova<br><b>Prof univ. dr. ing. habil. STĂNCIUC Nicoleta</b><br>Universitatea „Dunăre de Jos” din Galați |

**Seria I.7: INGINERIA PRODUSELOR ALIMENTARE Nr. 28**

**GALAȚI**  
**2025**

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

**Domeniul fundamental ȘTIINȚE INGINEREȘTI**

- Seria I 1: **Biotehnologii**
- Seria I 2: **Calculatoare și tehnologia informației**
- Seria I 3: **Inginerie electrică**
- Seria I 4: **Inginerie industrială**
- Seria I 5: **Ingineria materialelor**
- Seria I 6: **Inginerie mecanică**
- Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**
- Seria I 8: **Ingineria sistemelor**
- Seria I 9: **Inginerie și management în agricultură și dezvoltare rurală**

**Domeniul fundamental ȘTIINȚE SOCIALE**

- Seria E 1: **Economie**
- Seria E 2: **Management**
- Seria E 3: **Marketing**
- Seria SSEF: **Știința sportului și educației fizice**
- Seria SJ: **Drept**

**Domeniul fundamental ȘTIINȚE UMANISTE**

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

**Domeniul fundamental MATEMATICĂ ȘI ȘTIINȚE ALE NATURII**

- Seria C: **Chimie**

**Domeniul fundamental ȘTIINȚE BIOMEDICALE**

- Seria M: **Medicină**
- Seria F: **Farmacie**

## MULȚUMIRI

*Elaborarea și consolidarea acestei teze de doctorat ar fi fost imposibilă fără sprijinul și îndrumarea constantă a unor oameni frumoși în gândire, dar mai ales frumoși la suflet. După cum spune și citatul "Înțelepciunea unei minți fericite este bunătatea" - Ella Wheeler Wilcox, așa, acești dascăli, cu experiența lor profesională, m-au sprijinit constant, m-au ghidat și m-au ajutat să înțeleg cât de frumoasă este cercetarea, dar și faptul că este nevoie de sacrificii, determinare și perseverență pentru a răzbi.*

*Doresc să îi mulțumesc doamnei profesor coordonator **Prof. dr. ing. Elisabeta BOTEZ** pentru atenta îndrumare și pentru încrederea acordată de-a lungul timpului.*

*Doresc să adresez alese mulțumiri Comisiei de îndrumare și integritate academică, formată din: **Ș.I. dr. ing. Gabriel – Dănuț MOCANU, Ș.I. dr. ing. Oana – Viorela NISTOR, Ș.I. dr. ing. Doina Georgeta ANDRONOIU și Ș.I. dr. ing. Anișoara Arleziana NEAGU** pentru întreg suportul oferit, pentru toleranță, pentru sfaturi și pentru empatia de care au dat dovadă pe parcursul întregului stagi doctoral. Datorită dumnealor m-am dezvoltat atât pe plan personal cât și profesional.*

*De asemenea, le mulțumesc colegilor și cadrelor didactice de la Centrul Integrat de Cercetare, Expertiză și Transfer Tehnologic în Industria Alimentară (BioAliment – TehnIA) respectiv Centrul Român pentru Modelarea Sistemelor Recirculante de Acvacultură (MoRAS) din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați, cu care am colaborat.*

*Mulțumesc cunoștințelor apropiate și colegilor pentru suportul moral și încurajările acordate.*

*Cu recunoștință și dragoste, mulțumesc familiei mele care mi-a fost alături în această perioadă. În mod special vreau să îi mulțumesc soțului meu pentru sprijinul moral, sprijinul financiar și pentru dragostea necondiționată.*

*Pe parcursul acestor ani de cercetare am avut momente de cumpănă, de copleșire și de confuzie. Nu a fost ușor, însă cu ajutorul lui Dumnezeu am reușit să duc la bun sfârșit ceea ce mi-am propus.*

*Dedic această teză de doctorat tatălui meu și bunicilor mei care astăzi nu mai sunt printre noi dar cu siguranță veghează asupra mea.*

**Septembrie 2025, Galați**

**Drd. ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU)**

## CUPRINS

|                                                                                                                             | Pagina<br>din<br>teză | Pagina<br>din<br>rezumat |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| Mulțumiri                                                                                                                   | IV                    | II                       |
| Cuprins                                                                                                                     | 1                     | III                      |
| Table of contents                                                                                                           | 3                     | -                        |
| Introducere                                                                                                                 | 5                     | 1                        |
| Introduction                                                                                                                | 7                     | -                        |
| Notatii și abrevieri                                                                                                        | 10                    | -                        |
| Listă figuri                                                                                                                | 13                    | -                        |
| Listă tabele                                                                                                                |                       | -                        |
| <b>I. STUDIUL DOCUMENTAR</b>                                                                                                | 15                    | 4                        |
| <b>CAPITOLUL 1. Considerații teoretice asupra fermentației lactice a vegetalelor</b>                                        | 15                    | 4                        |
| 1.1. Clasificarea alimentelor fermentate                                                                                    | 15                    | 4                        |
| 1.2. Avantajele fermentării în industria alimentară                                                                         | 17                    | 5                        |
| 1.3. Factorii care influențează fermentarea vegetalelor                                                                     | 18                    | 5                        |
| 1.3.1. Materiale vegetale supuse fermentării                                                                                | 18                    | 5                        |
| 1.3.2. Microorganisme implicate în procesele fermentative ale vegetalelor                                                   | 19                    | 6                        |
| 1.3.3. Mediul de fermentare                                                                                                 | 21                    | 7                        |
| 1.4. Posibilități de reducere a clorurii de sodiu în procesele fermentative                                                 | 23                    | 8                        |
| <b>II. STUDIUL EXPERIMENTAL</b>                                                                                             | 25                    | 9                        |
| <b>CAPITOLUL 2. Variante tehnologice de substituie totală a clorurii de sodiu cu clorură potasiu și clorură de magneziu</b> | 25                    | 9                        |
| 2.1. Scopul și obiectivele studiului                                                                                        | 25                    | 9                        |
| 2.2. Aspecte introductive                                                                                                   | 25                    | -                        |
| 2.3. Materiale și metode                                                                                                    | 26                    | 9                        |
| 2.3.1. Reactivi                                                                                                             | 26                    | -                        |
| 2.3.2. Material vegetal                                                                                                     | 26                    | 9                        |
| 2.3.3. Materiale auxiliare                                                                                                  | 27                    | 10                       |
| 2.3.4. Metode și echipamente                                                                                                | 27                    | -                        |
| 2.4. Rezultate și discuții                                                                                                  | 35                    | 11                       |
| 2.4.1. Analize fizico – chimice                                                                                             | 35                    | 11                       |
| 2.4.2. Analize microbiologice                                                                                               | 41                    | 15                       |
| 2.4.3. Analize fitochimice                                                                                                  | 43                    | 17                       |

|                                                                                   |     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|----|
| 2.5. Concluzii parțiale                                                           | 57  | 24 |
| <b>CAPITOLUL 3. Variante tehnologice de substituire mixtă a clorurii de sodiu</b> | 58  | 25 |
| 3.1. Introducere                                                                  | 58  | 25 |
| 3.2. Materiale și metode                                                          | 60  | 25 |
| 3.2.1. Materiale                                                                  | 60  | 25 |
| 3.2.2. Metode                                                                     | 60  | 26 |
| 3.3. Rezultate și discuții                                                        | 65  | 26 |
| 3.3.1. Rezultatele analizei fizico - chimice                                      | 65  | 26 |
| 3.3.2. Rezultatele analizei fitochimice                                           | 76  | 32 |
| 3.3.3. Rezultatele analizei microbiologice                                        | 82  | 34 |
| 3.4. Concluzii parțiale                                                           | 84  | 36 |
| <b>CAPITOLUL 4. Modelarea matematică a procesului de fermentare</b>               | 86  | 37 |
| 4.1. Introducere                                                                  | 86  | 37 |
| 4.2. Materiale și metode                                                          | 89  | 39 |
| 4.3. Rezultate și discuții                                                        | 90  | 40 |
| 4.3.1. Proiectarea experimentală a procesului de fermentație a tomatelor verzi    | 90  | 40 |
| 4.3.2. Optimizarea și validarea variabilelor dependente                           | 123 | 47 |
| 4.3.3. Proiectarea experimentală a procesului de fermentație ale merelor verzi    | 126 | -  |
| 4.3.4. Optimizarea și validarea variabilelor dependente                           | 153 | -  |
| 4.3.5. Modelarea datelor pentru tomatele verzi fermentate cu ajutorul RNA         | 156 | -  |
| 4.3.6. Modelarea datelor pentru merele verzi fermentate cu ajutorul RNA           | 159 | 49 |
| 4.4. Concluzii parțiale                                                           | 163 | 53 |
| <b>Concluzii generale</b>                                                         | 165 | 54 |
| <b>Contribuții originale și perspective</b>                                       | 167 | 55 |
| <b>Lista lucrărilor publicate și prezentate</b>                                   | 168 | 56 |
| 1. Articole publicate                                                             | 168 | 56 |
| 2. Lucrări prezentate la conferințe                                               | 168 | 56 |
| <b>Bibliografie</b>                                                               | 170 | 58 |

**Cuvinte cheie:** vegetale, substituire totală, compuși biologic activi, culoare, produse fermentate

## **Introducere**

Fermentația lactică este cunoscută din cele mai vechi timpuri ca metodă de conservare, dar și de creștere a palatabilității vegetalelor și nu numai. Cu impact direct asupra microbiomului uman, fermentația lactică atât sub forma ei tradițională cât și sub cea controlată, reprezintă o sursă inepuizabilă de interes atât pentru cercetători cât și pentru consumatori.

Fermentația lactică este recunoscută pentru potențialul ei probiotic, pentru biodisponibilitatea sporită a compușilor bioactivi, îmbunătățirea digestiei și a mecanismelor de reglare a zahărului din sânge și reducerea durerilor musculare. Totuși, dincolo de nenumăratele beneficii pentru sănătate, posedă un dezavantaj reprezentat de conținutul de clorură de sodiu (NaCl), substanță care prin consum în exces este asociată riscului de hipertensiune arterială, afecțiuni cardiovasculare, renale, deshidratare, retenție crescută de apă în organism, etc.

Astfel, alegerea temei tezei de doctorat ***Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor*** s-a bazat pe curente moderne din domeniu cu posibilitatea îmbunătățirii beneficiilor pentru sănătate ale fermentației lactice prin substituirea totală sau parțială a clorurii sodiului cu săruri mai puțin incriminate de efectele negative asupra sănătății consumatorilor sau prin utilizarea de combinații de săruri care să poată asigura calitatea consacrată a produsului finit.

Cercetările au vizat următoarele **obiective științifice**:

- Caracterizarea complexă a procesului de fermentare a tomatelor verzi și a merelor verzi, utilizând medii diferite de fermentare (soluții de clorură de sodiu, clorură de potasiu, clorură de magneziu)
- Analiza influenței mediului de fermentare obținut prin combinarea a două săruri asupra procesului de fermentare a tomatelor necoapte și a merelor verzi
- Modelarea matematică a proceselor de fermentare utilizând metoda suprafeței de răspuns și rețelele neuronale artificiale (RNA)

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

1. **STUDIUL DOCUMENTAR** structurat într-un capitol ce prezintă o selecție de date importante și recente din literatura de specialitate referitoare la perspectivele actuale ale fermentației lactice aplicate materialelor vegetale.
2. **STUDIUL EXPERIMENTAL** structurat în trei capitole, prezintă principalele rezultate ale cercetărilor derulate pe parcursul celor patru ani de studiu ale stagiului doctoral:

**CAPITOLUL 2** cu titlul **VARIANTE TEHNOLOGICE DE SUBSTITUIRE TOTALĂ A CLORURII DE SODIU CU CLORURĂ DE POTASIU ȘI CLORURĂ DE MAGNEZIU** prezintă rezultatele obținute în urma caracterizării complexe a tomatelor, respectiv merelor verzi fermentate lactic

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

folosind ca mediu de fermentare soluții saline de clorură de potasiu și clorură de magneziu ca potențiali substituenți ai clorurii de sodiu.

**CAPITOLUL 3** cu titlul **VARIANTE TEHNOLOGICE DE SUBSTITUIRE MIXTĂ A CLORURII DE SODIU** prezintă rezultatele studiului privind utilizarea unor amestecuri de câte două tipuri de sare ( $\text{NaCl}:\text{MgCl}_2$ ,  $\text{NaCl}:\text{KCl}$ ,  $\text{KCl}:\text{MgCl}_2$ ) la obținerea mediului de fermentare a tomatelor și merelor verzi și implicațiile utilizării acestora în caracteristicile de calitate ale produselor fermentate.

**CAPITOLUL 4** cu titlul **MODELAREA MATEMATICĂ A PROCESELOR DE FERMENTARE** evidențiază importanța unor parametri ai procesului de fermentare și interacțiunile dintre aceștia prin utilizarea metodei cu suprafață de răspuns și rețelelor neuronale artificiale.

Fiecare capitol este structurat după cum urmează: *Aspecte generale, Obiectivele studiului, Materiale și metode, Rezultate și discuții, Concluzii parțiale.*

**CONCLUZII GENERALE** prezintă o selecție a celor mai importante și consistente rezultate ale studiului pornind de la obiectivele propuse în studiul experimental.

**CONTRIBUȚII ORIGINALE ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A CERCETĂRIILOR**

Prezintă principalele contribuții de impact aduse ariei de cercetare propuse și perspective de continuare a prezentului studiu.

**DISEMINAREA REZULTATELOR**

Cuprinde manifestările științifice și principalele publicații din domeniul tezei de doctorat, unde s-au diseminat și validat rezultatele științifice ale tezei de doctorat.

Teza de doctorat cuprinde 151 pagini, în care sunt incluse 72 figuri și 44 tabele. Studiul documentar reprezintă 6 % iar partea experimentală 94 %.

Întregul studiu s-a bazat pe referințe valoroase noi din domeniul Ingineriei Produselor Alimentare pe subiectul fermentației lactice a vegetalelor în număr de 236, dintre care 229 de articole, cărți, capitole de cărți și 7 link-uri.

Rezultatele au fost diseminate în reviste și la manifestări științifice de profil, după cum urmează: 3 articole publicate în reviste prestigioase (Applied Sciences și Innovative Romanian Food Biotechnology), 7 lucrări prezentate la manifestări științifice internaționale.

Cercetările din cadrul tezei de doctorat au fost desfășurate în cadrul Centrului Integrat de Cercetare și Formare pentru Biotehnologie Aplicată în Industria Alimentară (BioAliment – TehnIA) (<https://www.unicer.ugal.ro/index.php/ro/prezentare-tehnia>) și Centrul Român pentru Modelarea Sistemelor Recirculante de Acvacultură (MoRAS) (<https://www.unicer.ugal.ro/index.php/ro/prezentare-moras>), ambele centre aparținând Universității "Dunărea de Jos" din Galați.

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

De asemenea, parte din cercetările prezente au fost finanțate din grantul intern 9186/29.03.2023 intitulat – *Obținerea și caracterizarea unui produs vegetal funcțional de tip RTE (ready-to-eat) și optimizarea tehnologiei de fabricare a acestuia.*

Teza a fost coordonată științific de doamna Prof. univ. dr. ing. Elisabeta BOTEZ, în calitate de conducător de doctorat și de Comisia de Îndrumare și Integritate Academică compusă din: Ș.I. dr. ing. Gabriel – Dănuț MOCANU, Ș.I. dr. ing. Oana – Viorela NISTOR, Ș.I. dr. ing. Doina-Georgeta ANDRONOIU și Ș.I. dr. ing. Anișoara-Arleziana NEAGU.

## STUDIUL DOCUMENTAR

### CAPITOLUL 1. Considerații teoretice asupra fermentației lactice vegetalelor

#### 1.1. Clasificarea alimentelor fermentate

Clasificarea proceselor fermentative este dificilă din cauza complexității procesului dar și a faptului că unii factori implicați în proces sunt interdependenți. Mannaa ș.a. (2021) propun drept criterii de clasificare a alimentelor categoria materiei prime utilizate pentru a fi fermentată (substratul), calea biochimică prin care se realizează procesul, modul în care este indus procesul fermentativ.

**Substratul** care poate fi utilizat pentru fermentare este foarte variat: lapte, cereale, leguminoase, fructe, legume, carne, pește sau diferite plante aromatice (Xiang ș.a., 2019). Combinarea diferitelor substraturi și microorganisme implicate în fermentare poate duce la obținerea a mii de produse fermentate în toată lumea (Mannaa ș.a., 2021). În figura 1-1 sunt prezentate câteva exemple:

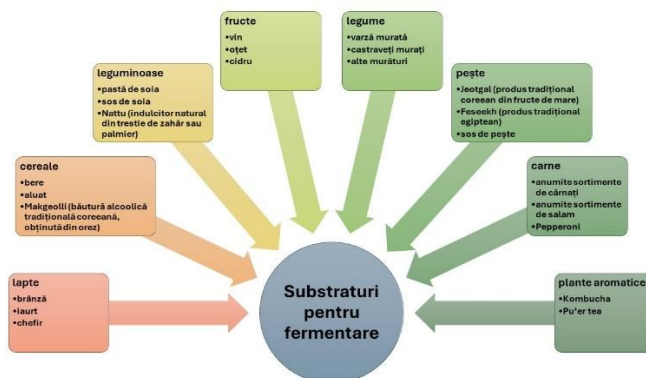


Figura 1 – 1 Substraturi pentru fermentare (după Mannaa et al., 2021)

## **Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

Din punctul de vedere al **căii biochimice** prin care se realizează procesul, fermentarea poate fi clasificată în patru categorii: alcoolică, lactică, acetică și alcalină (Mannaa ș.a., 2021).

În cazul **fermentației lactice** zaharurile sunt convertite în acid lactic, așa cum se întâmplă în cazul iaurtului, a verzei murate sau a cerealelor. Bacteriile lactice sunt principalele microorganisme implicate în acest tip de fermentație (Marco ș.a., 2017). Acestea, la rândul lor, pot fi clasificate în două grupe: homofermentative și heterofermentative, în funcție de mecanismele biochimice de fermentare. Cele homofermentative produc doar acid lactic, în timp ce heterofermentativele produc acid lactic, CO<sub>2</sub>, acid acetic și/sau etanol.

În funcție de **modul în care sunt induse**, procesele de fermentare pot fi spontane sau controlate, prin inocularea culturilor de microorganisme. Cele mai multe alimente fermentate se obțin în mod tradițional prin *fermentare spontană*, sub acțiunea microorganismelor prezente în mod natural pe suprafața materiilor prime. Această categorie de fermentare este utilizată din cele mai vechi timpuri și continuă să se realizeze și în prezent atât în gospodării cât și în unitățile de producție de mici dimensiuni. Pentru realizarea fermentării spontane este necesar să se ajusteze condițiile de mediu astfel încât să se dezvolte numai acele microorganisme care conferă proprietățile senzoriale specifice ale produselor finite și care împiedică dezvoltarea microorganismelor nedorite. Progresul științific în domeniul izolării, identificării și conservării microorganismelor a condus la posibilitatea realizării unor culturi specifice (culturi starter), care se utilizează la nivel industrial pentru a realiza o *fermentare controlată*, creându-se astfel condițiile obținerii unor produse finite cu calități constante. Rolul principal al culturilor starter este de a accelera procesul de fermentare și de a reduce pericolul contaminării cu microorganisme nedorite (Mannaa ș.a., 2021).

### **1.2. Avantajele fermentării în industria alimentară**

În literatura de specialitate (Melini ș.a., 2019; Sharma ș.a., 2020; Xiang ș.a., 2019) sunt enumerate o serie de avantaje ale fermentării:

- au un termen de valabilitate mai îndelungat față de alimentele în stare proaspătă
- prezintă o îmbunătățire a proprietăților senzoriale
- sunt îndepărtați unii compuși dăunători
- îmbunătățirea proprietăților nutriționale datorită microorganismelor responsabile de fermentare
- procesul de fermentare reduce timpul de gătire
- dobândirea unor proprietăți antioxidante

Avantajele alimentelor obținute prin fermentație sunt legate de îmbunătățirea gustului, aromei și texturii, dar și reducerea riscului unor boli cum ar fi bolile cardiovasculare, diabetul de tip 2 și hipertensivitatea (Fuentes ș.a., 2013; Marco ș.a., 2017; Mathur ș.a., 2020). Produsele alimentare fermentate ajută menținerea greutății corporale, reduc bolile inflamatorii intestinale, bolile sistemului imunitar (artrita, scleroza). Castellone ș.a. (2021) a raportat că varza murată prezintă și proprietăți antitumorale prin activarea enzimelor ce elimină xenobioticele și prin creșterea apoptozei celulelor canceroase.

### **1.3. Factorii care influențează fermentarea vegetalelor**

#### **1.3.1. Materiale vegetale supuse fermentării**

În ceea ce privește materialele vegetale care pot fi fermentate, la nivel european se produc mai multe soiuri. Majoritatea acestora suferă o fermentare spontană în condiții anaerobe, concentrații diferite de sare și temperaturi prielnice pentru dezvoltarea bacteriilor lactice.

Unul dintre produsele tradiționale ale țărilor mediteraneene este reprezentat de *măslinile verzi*. La nivel global sunt trei moduri de a obține măslinile fermentate (Dimidi ș.a., 2019): măslinile verzi în saramură în stil spaniol sau sevillian, măslinile negre în saramură în stil californian și măslinile negre în saramură în stil grecesc. Toate aceste metode se bazează pe microbiota indigenă pentru fermentație, unde își fac simțită prezența bacteriile lactice și drojdiile.

*Varza murată* este un produs alimentar fermentat existent în Europa Centrală, de Est și de Vest. Prin procesul de fermentație al verzei se produc acizi organici, vitamine, bacteriocine și compuși aromatici ce conferă produsului finit proprietăți senzoriale caracteristice, dar și un termen de valabilitate mai extins.

*Castraveții* sunt legume fermentate atât în Asia, Europa și SUA. În România castraveții sunt des consumați cel mai frecvent ca și murături. Aceștia sunt stabiliți cu sare și acid lactic. În procedeul de murare al castraveților sunt adăugate și ierburi condimentare cum ar fi mărar, usturoi, hrean, și boabe de muștar și piper. Bacteriile lactice responsabile de fermentarea castraveților sunt prezente în mod natural pe suprafața acestora și sunt reprezentate de speciile *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, și *Pediococcus* (Al-Shawi ș.a., 2021; Kotwaliwale ș.a., 2012).

*Caperele* fermentate provin din Grecia, Turcia, Italia, Maroc și Spania. Acestea, după ce sunt recoltate sunt imersate în apă și supuse fermentației spontane a acidului lactic pe o perioadă de 5-7 zile. După fermentare, caperele sunt introduse în saramură și distribuite către consum.

Un alt produs vegetal fermentat, găsit pe piața europeană este *napul* (Subedi ș.a., 2024). Acesta provine din Asia și este unul dintre alimentele tradiționale, dar se găsește și în Europa. În ceea ce privește procesul de fermentare al napilor, acesta este asemănător cu cel al verzei murate.

*Kimchi* este un produs fermentat care se găsește în Coreea. Acesta este obținut prin fermentație naturală a legumelor la care se adaugă și alte ingrediente precum usturoiul, ceapa, ardeiul iute și sosul de pește. Prin adăugarea acestor ingrediente se ține sub control dezvoltarea microorganismelor patogene și se sporește dezvoltarea microorganismelor benefice.

*Tomatele* sunt o sursă bună de antioxidanți, minerale, vitamine, lycopene,  $\beta$ -caroten, flavonoide și quercetină. Conform studiului publicat de Ricci ș.a. (2020), consumul de roșii este asociat cu o scădere a unor boli cardiovasculare. În ciuda proprietăților nutriționale pe care le au, există un număr limitat de produse fermentate din roșii pe piață.

### **1.3.2. Microorganisme implicate în procesele fermentative ale vegetalelor**

În stadiul incipient al fermentației, enterobacteriile și bacteriile lactice și unele tipuri de drojdii pot fi active, dar acest lucru depinde foarte mult de anumiți factori cum ar fi temperatura, sărurile folosite în saramură dar și oxigenul.

Bacteriile lactice sunt cunoscute pentru proprietatea lor fermentativă și pentru îmbunătățirea atributelor senzoriale. Fructele și legumele fermentate pot fi utilizate ca sursă de probiotice deoarece conțin mai multe bacterii lactice cum ar fi: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus cerevisiae*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus citrovorum*, *Bifidobacterium bifidus* și *Lactobacillus pallas* (Di Cagno ș.a., 2015). Bacteriile lactice sunt caracterizate prin capacitatea de transformare a glucozei și fructozei în acizi organici. Odată cu producerea de acid lactic și acetic are loc și o modificare considerabilă a aromei și gustului produsului finit.

Pe lângă bacteriile lactice, în timpul fermentației, se mai pot dezvolta și anumite drojdii. Acestea predomină în anumite faze ale fermentației și în cazul conservării prin murare a anumitor produse. Măslinile conservate prin fermentație sunt unele dintre aceste produse, iar cele mai des întâlnite tipuri de drojdii sunt cele din genul *Pichia*, *Candida*, *Debaryomyces* și *Saccharomyces*. În cazul fermentației castraveților cornișon sunt întâlnite drojdiile din genul *Torulopsis*, *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Hansenula*, *Torulaspora* și *Kloeckera* (Wei ș.a., 2025).

Prin capacitatea de a produce compuși volatili, drojdiile ajută la dezvoltarea gustului și aromei produsului finit (Bautista-Gallego ș.a., 2020; Behera ș.a., 2020).

### **1.3.3. Mediul de fermentare**

Fermentația lactică este influențată de factori ca materiile prime, materialele auxiliare (săruri, ierburi aromatice, mirodenii), temperatură, timp, pH, existența unor microorganisme concurente la substrat.

La nivel internațional aproape toate materialele vegetale pot fi fermentate. Güleç și Yilmaz (2023) menționează un număr impresionant de fructe și legume care pot fi fermentate pentru obținerea de murături, de la cele mai cunoscute, ca varză, castraveți și ardei, până la unele mai puțin întâlnite în această ipostază, ca merișoare, migdale necoapte, cireșe sau caise.

Dintre materialele auxiliare utilizate la obținerea murăturilor, este de menționat ardeiul iute, care poate fi folosit proaspăt sau uscat. El se utilizează datorită conținutului de capsaicinoide implicate în inhibiția dezvoltării microorganismelor patogene dar și definitivarea proprietăților senzoriale (Kim ș.a., 2022). Conform aceluiași autori, roluri similare pot fi atribuite și altor materiale auxiliare precum ceapă, usturoi, semințe sau frunze de muștar, ghimbir.

Un alt material auxiliar foarte important în dirijarea fermentării este sarea, dincolo de unele aspecte precum concentrația sau tipul ei. Adăugată ca atare sau în saramură, sarea favorizează extracția compușilor nutritivi din

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

fructe și legume, așa cum sunt zahărul, glucoza sau fructoza. În mod tradițional, la obținerea murăturilor se utilizează clorura de sodiu, care are un rol bine definit în dezvoltarea gustului și texturii, precum și în controlul activității microorganismelor și a enzimelor.

În ceea ce privește coordonatele temperatură – timp, fermentația lactică se desfășoară la temperaturi cuprinse între 20 și 30 °C, pe o durată de 7...21 de zile.

**1.4. Posibilități de reducere a clorurii de sodiu în procesele fermentative**

În ultimii ani, sub influența problemelor de sănătate induse de consumul ridicat de sodiu, s-a încercat înlocuirea clorurii de sodiu din alimente cu alte tipuri de sare. Bautista-Gallego ș.a., (2013) au identificat clorurile de potasiu, de magneziu, de calciu și de zinc drept substituenți ai clorurii de sodiu la fermentarea materiilor prime vegetale pe baza similarității structurilor chimice, a efectelor asupra dezvoltării microorganismelor și asupra caracteristicilor senzoriale dar și pe baza reglementărilor legislative din Europa și SUA.

*Tabelul 1-2 Efecte ale aplicării sărurilor clorurate asupra vegetalelor fermentate (după Doyle & Glass, 2010)*

| <b>Săruri clorurate</b> | <b>Aspecte microbiologice</b>                                                     | <b>Aspecte fizico-chimice</b>                        | <b>Aspecte senzoriale</b>                          |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| <b>CaCl<sub>2</sub></b> | Încetinirea dezvoltării microorganismelor, în principal <i>Enterobacteriaceae</i> | Scăderea cantității de acid lactic, scăderea pH-ului | Îmbunătățirea fermității, a gustului și a texturii |
| <b>KCl</b>              | Accelerarea dezvoltării microbiene                                                | Reducerea ușoară a producției de acid lactic         | Salinitate similară cu NaCl, gust îmbunătățit      |
| <b>MgCl<sub>2</sub></b> | Accelerarea dezvoltării microbiene                                                | Reducerea pH-ului și creșterea acidității titrabile  | Proprietăți senzoriale corespunzătoare             |
| <b>ZnCl<sub>2</sub></b> | Încetinirea dezvoltării microorganismelor, în principal <i>Enterobacteriaceae</i> | Consumul redus de zahăr din substrat                 | Îmbunătățirea calităților senzoriale               |

## STUDIUL EXPERIMENTAL

### CAPITOLUL 2. Variante tehnologice de substituire totală a clorurii de sodiu cu clorură de potasiu și clorură de magneziu

#### 2.1. Scopul și obiectivele capitolului

Obiectivul principal al capitolului *Variante de substituire totală a clorurii de sodiu cu clorură de potasiu și clorură de magneziu* a fost caracterizarea complexă a procesului de fermentare a tomatelor verzi și a merelor verzi, utilizând medii diferite de fermentare (soluții de clorură de sodiu, clorură de potasiu, clorură de magneziu).

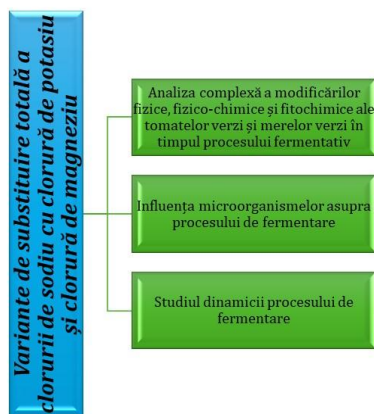


Figura 2-2 Obiectivele cercetării

#### 2.3. Materiale și metode

##### 2.3.2. Material vegetal

Pentru realizarea cercetării au fost supuse procesului de fermentare mere verzi (*Malus domestica*) din soiul Granny Smith și tomate verzi

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

(*Solanum lycopersicum L.*). Acestea au fost achiziționate de la un producător din județul Galați, România. Înainte de a fi procesate, atât merele cât și tomatele verzi au fost spălate cu apă potabilă și uscate prin tamponare cu ajutorul prosoapelor din hârtie. Conținutul inițial de substanță uscată al probelor a fost de:  $14,75 \pm 0,45\%$  în cazul merelor și  $6,81 \pm 0,15\%$  în cazul tomatelor verzi.

### **2.3.3. Materiale auxiliare**

Pentru obținerea soluției saline folosite la fermentarea vegetalelor, dar și pentru spălarea materiilor prime și auxiliare utilizate a fost utilizată apă potabilă.

*Clorura de sodiu* (Salrom, Târgu Ocna, România) – pentru obținerea soluției saline s-a folosit sare gemă mărunță, neiodată pentru industria alimentară achiziționată de la un magazin local. *Clorura de potasiu* (S.C. Amniocen S.R.L., Timișoara, România) – produsul utilizat a fost Kalium Vita respectiv clorura de magneziu (BioSano, Piatra Neamț, România) – produsul folosit a fost Sare Nigari. Ambele tipuri de cloruri au fost achiziționate de la un magazin de produse naturiste din Galați. În Tabelul 2-2 sunt prezentate cele trei tipuri de sare folosite în cadrul experimentului.

*Tabelul 2-2 Clorura de sodiu, potasiu și magneziu*

|                                                                                   |                                                                                   |                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |
| <i>Clorură de sodiu</i>                                                           | <i>Clorură de potasiu</i>                                                         | <i>Clorură de magneziu</i>                                                        |

Dintr-un supermarket din Galați au fost achiziționate următoarele condimente: boabe de piper, boabe de muștar și foi de dafin. Inflorescențele de mărar, hreanul – rădăcină și usturoiul provin de la producători locali, fiind achiziționate dintr-o piață agroalimentară din Galați (Tabelul 2-3).

*Tabelul 2-3 Condimente*

|                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |
| <i>Piper boabe</i>                                                                  | <i>Muștar boabe</i>                                                                 | <i>Foi de dafin</i>                                                                 |

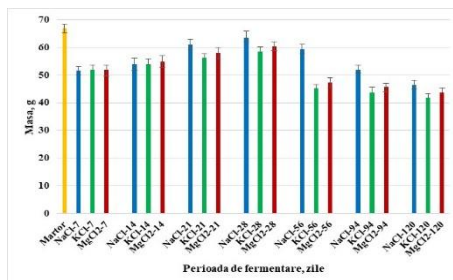


## 2.4. Rezultate și discuții

### 2.4.1. Analize fizico – chimice

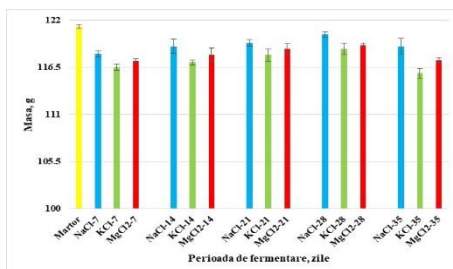
#### Evoluția masei

Pierderea de masă reprezintă unul dintre factorii care pot fi utilizați pentru identificarea calității fizice a produselor fermentate (Fadhil ș.a., 2019). Pierderea de masă în timpul perioadei de fermentare este prezentată în figura 2-14 (a și b). Din acestea se poate observa că pentru ambele tipuri de produse vegetale masa scade în primele 7 zile de fermentare cu aproximativ 20% în cazul gogonelelor și respectiv 3,5% în cazul merelor. După această perioadă masa probelor începe să crească până în ziua 28, perioadă în care atât gogonelele cât și merele probabil că au absorbit o cantitate din soluția salină în care se găsesc. După această perioadă este posibil ca sarea, ce a fost utilizată la obținerea soluției saline, să împingă lichidul acumulat în țesutul produselor vegetale prin procesul de osmoză astfel încât pierderea de masă să crească. Pierderea de masă în timpul celor 120 zile de fermentare a gogonelelor variază între 30,67% (pentru proba cu NaCl) și 37,66% (pentru proba cu KCl).



a)

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**



b)

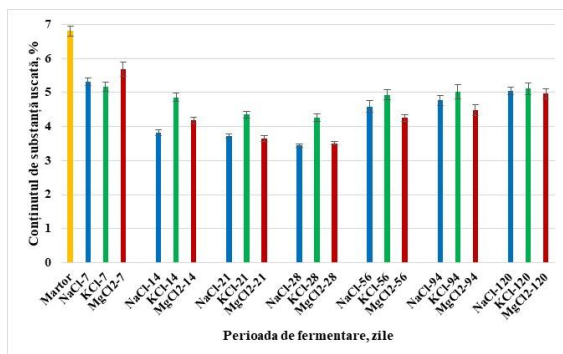
*Figura 2 – 14 Evoluția masei probelor în timpul fermentării: a) gogonele; b) mere soiul Granny Smith*

În cazul merelor, unde perioada de fermentare a fost mai mică (35 zile), pierderea de masă a variat între 1,9% (în cazul probelor cu NaCl) și 4,5% (în cazul probelor cu KCl). Pierderea de masă în cazul produselor vegetale fermentate în soluție salină cu MgCl<sub>2</sub> a fost asemănătoare cu cea obținută în cazul probelor fermentate în soluție salină cu NaCl. Rezultate similare au fost obținute de Fadhil ș.a., (2019) în cazul verzei murate fermentată în soluție salină cu diferite concentrații și de Anoraga ș.a., (2021) în cazul usturoiului negru supus fermentării în diferite medii.

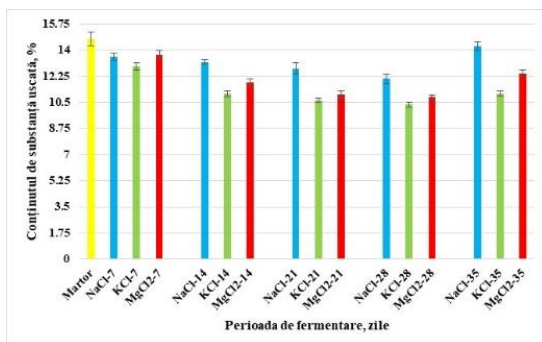
#### **Evoluția conținutului de substanță uscată**

Figura 2-15 (a și b) prezintă evoluția conținutului de substanță uscată în timpul perioadei de fermentare în cazul celor două produse vegetale analizate. Cel mai mare conținut de substanță uscată a fost înregistrat în cazul probelor vegetale proaspete ( $6,81 \pm 0,15\%$  - gogonele respectiv  $14,75 \pm 0,45\%$  - mere). În timpul fermentării conținutul de substanță uscată a scăzut. Astfel în cazul gogonelelor, până la 28 zile de fermentare, valoarea substanței uscate a ajuns la  $3,44 \pm 0,06\%$  pentru proba cu NaCl (reducerea fiind de 49,48%) respectiv  $4,26 \pm 0,11\%$  pentru proba cu KCl (reducerea în acest caz fiind de 37,44%). În cazul merelor cea mai mare reducere a valorii acestui parametru s-a înregistrat în cazul probelor fermentate în soluție salină cu KCl. Astfel în cazul acestor probe valoarea acestui parametru s-a redus cu 29,83% ajungând la o valoare de  $10,35 \pm 0,17\%$ .

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**



a)



b)

Figura 2 – 15 Evoluția conținutului de substanță uscată în timpul fermentării:  
a) gogonele; b) mere soiul Granny Smith

Conform lui Mirwandono ș.a., (2018) această reducere a conținutului de substanță uscată s-ar putea datora bacteriilor lactice care utilizează glucidele, substanțele minerale și alte componente necesare dezvoltării lor în timpul perioadei de fermentare. După 28 de zile de fermentare, conținutul de substanță uscată pentru ambele produse vegetale a început să crească. Motivul acestei creșteri ar putea fi explicat prin diferența de presiune osmotică care există între soluția salină și materialul vegetal (gogonele/mere) supus fermentării respectiv datorită transferului de masă care se realizează prin difuzie. Totdată, aceste două mecanisme sunt influențate și de diferența de densitate care există între medii (Rastogi ș.a., 2002).

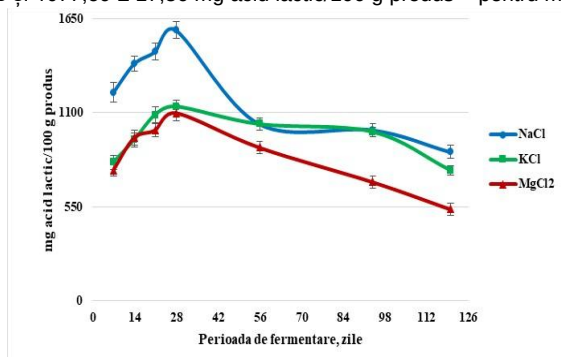
Principalul motiv pentru creșterea conținutului de substanță uscată se datorează cantității de sare care este transferată din soluția salină în materialul vegetal supus fermentării (Şahin ș.a., 2001; Al-Azzawi și Al-

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

Abdullah, 2019; Suna ș.a., 2021). Astfel, la finalul perioadei de depozitare, 120 zile – pentru gogonele și 35 zile – pentru mere, substanța uscată a variat între  $4,97 \pm 0,15\%$  și  $5,11 \pm 0,17\%$  (pentru gogonele) respectiv între  $11,1 \pm 0,18\%$  și  $14,28 \pm 0,29\%$  în cazul merelor.

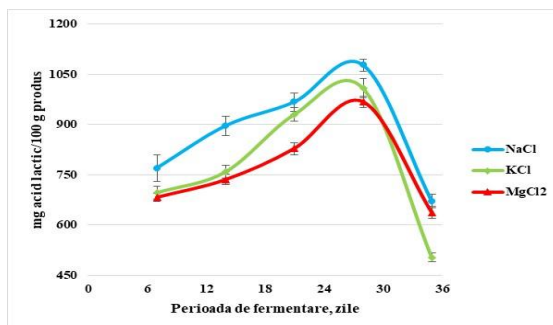
**Evoluția acidului lactic în timpul fermentării și depozitării**

Din figura 2-17 (a și b) se poate constata că, cantitatea de acid lactic a crescut de la a 7 -a până la a 28 – a zi de fermentare atât pentru gogonele cât și pentru mere. După perioada menționată anterior s-a observat că, cantitatea de acid lactic a început să scadă. După 28 de zile de fermentare cea mai mare cantitate de acid lactic, a fost înregistrată pentru probele cu soluție salină cu NaCl ( $1582,88 \pm 48,88$  mg acid lactic/100g produs – pentru gogonele și  $1077,59 \pm 17,56$  mg acid lactic/100 g produs – pentru mere).



a)

O cantitate mai mică de acid lactic a fost stabilită pentru ambele produse vegetale, fermentate în soluție salină cu  $MgCl_2$  ( $1097,71 \pm 47,71$  mg acid lactic/100g produs – pentru gogonele respectiv  $967,64 \pm 17,46$  mg acid lactic/100 g produs – pentru mere). Cantitatea de acid lactic produsă depinde de tipul de sare utilizat pentru obținerea soluției saline și de compoziția substratului de fermentare (Palani ș.a., 2016). Rezultatele obținute sunt corelate cu activitatea bacteriilor lactice.



**b)**

*Figura 2 – 17 Evoluția acidului lactic în timpul fermentării și depozitării: a) gogonele; b) mere soiul Granny Smith*

La sfârșitul perioadei de depozitare (după 120 de zile – în cazul gogonelelor și după 35 de zile – în cazul merelor) cantitatea de acid lactic a scăzut cu maxim 51,17% pentru gogonelele fermentate în soluție salină cu  $MgCl_2$  și cu 50,15% pentru merele fermentate în soluție salină cu KCl. Rezultatele obținute sunt susținute de numeroase studii care au confirmat că acidul lactic reprezintă acidul organic dominant care se găsește în cazul produselor vegetale fermentate în soluție salină. Rezultate similare au fost obținute de Satora ș.a., (2021) în cazul verzei murate, Rao ș.a., (2020) pentru murăturile de tip Sichuan, Kim ș.a., (2017) în cazul produsului Kimchi respectiv Joshi și Sharma (2009) pentru ridichi murate.

### **Distribuția ionilor de sodiu, potasiu și magneziu în produsele obținute prin fermentație lactică**

Mineralele sunt considerate factori esențiali pentru funcționarea corectă a organismului uman. Ele acționează drept co-factori pentru diferite enzime care sunt implicate în diferite procese fiziologice și metabolice (Arivalagan ș.a., 2013; Minh, 2022). Conținutul de sodiu, potasiu și magneziu pentru gogonele respectiv mere proaspete și fermentate este prezentat în Tabelele 2-4 și 2-5. Din tabele se poate observa că există o tendință de creștere a conținutului de minerale de la probele proaspete la cele fermentate în timpul celor 28 zile de fermentare.

*Tabelul 2 – 4 Distribuția ionilor de  $Na^+$ ,  $K^+$  și  $Mg^{2+}$  în gogonelele proaspete și fermentate*

| Perioada de fermentare, zile | Minerale, mg/g |               |                |
|------------------------------|----------------|---------------|----------------|
|                              | $Na^+$         | $K^+$         | $Mg^{2+}$      |
| 0                            | 32,92 ± 2,47   | 40,23 ± 2,74  | 12,25 ± 0,82   |
| 7                            | 179,57 ± 12,07 | 65,07 ± 12,35 | 163,29 ± 11,07 |
| 14                           | 183,56 ± 12,64 | 95,95 ± 5,82  | 197,79 ± 12,78 |
| 21                           | 185,39 ± 13,06 | 106,46 ± 0,47 | 222,72 ± 13,65 |

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

|            |                |                |                |
|------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>28</b>  | 234,1 ± 11,72  | 120,38 ± 11,61 | 328,63 ± 15,38 |
| <b>56</b>  | 134,29 ± 10,18 | 26,71 ± 0,77   | 146,85 ± 14,13 |
| <b>94</b>  | 157,72 ± 9,74  | 43,57 ± 4,59   | 148,68 ± 10,28 |
| <b>120</b> | 208,14 ± 13,51 | 58,1 ± 6,47    | 163,29 ± 11,17 |

Conținutul de ioni de  $\text{Na}^+$  a variat între  $32,92 \pm 2,47 - 234,1 \pm 11,72$  mg/g în cazul gogonelelor și între  $31,75 \pm 4,17 - 129,44 \pm 14,32$  mg/g în cazul merelor, în timp cantitatea de ioni de  $\text{K}^+$  a variat între  $40,23 \pm 2,74 - 120,38 \pm 11,61$  mg/g pentru gogonele respectiv între  $42,99 \pm 4,79 - 139,73 \pm 12,44$  mg/g pentru mere. În cazul probelor fermentate în soluție salină cu  $\text{MgCl}_2$  cantitatea de ioni de  $\text{Mg}^{2+}$  a variat între  $12,25 \pm 0,82 - 328,63 \pm 15,38$  mg/g pentru gogonele și între  $7,42 \pm 1,76 - 233,79 \pm 16,36$  mg/g pentru mere. Rezultate similare au fost obținute și de Abou-Zaid (2015) în cazul castraveților fermentați în diferite soluții saline și de Youssef ș.a., (2017) în cazul murăturilor cu conținut redus de sodiu destinate persoanelor hipertensive.

*Tabelul 2 – 5 Distribuția ionilor de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  și  $\text{Mg}^{2+}$  în merele proaspete și fermentate*

| <b>Perioada de fermentare, zile</b> | <b>Minerale, mg/g</b>           |                                |                                    |
|-------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
|                                     | <b><math>\text{Na}^+</math></b> | <b><math>\text{K}^+</math></b> | <b><math>\text{Mg}^{2+}</math></b> |
| <b>0</b>                            | 31,75 ± 4,17                    | 42,99 ± 4,79                   | 7,42 ± 1,76                        |
| <b>7</b>                            | 33,42 ± 3,43                    | 54,93 ± 3,87                   | 176,29 ± 11,49                     |
| <b>14</b>                           | 55,18 ± 5,38                    | 81,42 ± 4,38                   | 197,29 ± 13,63                     |
| <b>21</b>                           | 73,72 ± 6,54                    | 123,97 ± 11,15                 | 217,50 ± 16,28                     |
| <b>28</b>                           | 129,44 ± 14,32                  | 139,73 ± 12,44                 | 233,79 ± 16,36                     |
| <b>35</b>                           | 77,22 ± 8,79                    | 124,72 ± 12,41                 | 205,77 ± 15,02                     |

În timpul perioadei de depozitare cantitatea de minerale analizate a început să scadă, probabil datorită faptului că o parte din aceștia au migrat din partea lichidă (soluția salină) în cea solidă (materialul vegetal supus fermentării (gogonele/mere)), cele mai mari concentrații ale acestor ioni au rămas probabil în soluția salină.

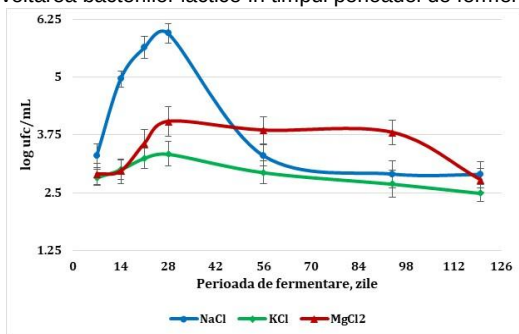
#### **2.4.2. Analize microbiologice**

Procesul de fermentare al gogonelelor respectiv merelor este dominat de creșterea și metabolismul bacteriilor lactice care provin din materiile prime vegetale. Dezvoltarea bacteriilor lactice în soluția salină joacă un rol important pentru gustul și textura produselor vegetale fermentate. Creșterea rapidă a bacteriilor lactice reprezintă un factor important pentru inhibarea sau reducerea microorganismelor patogene. Evoluția bacteriilor lactice în timpul fermentării și depozitării este prezentată în figura 2-18 (a și b).

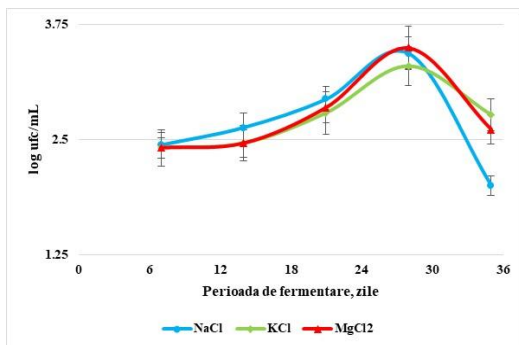
Așa cum se poate observa atât în cazul gogonelelor cât și în cazul merelor numărul bacteriilor lactice a crescut cu o viteză mare până în a 28 – a

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

zi de fermentare. Numărul acestora a variat între  $2,83 \pm 0,18$  log ufc/mL (pentru proba cu KCl) și  $5,95 \pm 0,21$  log ufc/mL (pentru proba cu KCl) în cazul gogonelelor și între  $2,41 \pm 0,11$  log ufc/mL –  $3,50 \pm 0,23$  log ufc/mL (pentru proba cu  $MgCl_2$ ) în cazul merelor. Se observă că bacteriile lactice s-au dezvoltat mai bine în soluțiile saline cu NaCl și  $MgCl_2$ , în timp ce în soluția salină cu KCl numărul acestora a fost mai redus probabil că acest tip de sare a împiedicat dezvoltarea acestora într-un număr mai mare. Rezultatele obținute au arătat că substituția parțială a NaCl cu KCl sau  $MgCl_2$  nu a afectat dezvoltarea bacteriilor lactice în timpul perioadei de fermentare.



a)



b)

*Figura 2 – 18 Evoluția numărului de bacterii lactice în timpul fermentării și depozitării: a) tomate verzi; b) mere soiul Granny Smith*

Numărul total de bacterii lactice a început să scadă începând cu ziua 28 pentru ambele produse fermentate până la sfârșitul perioadei de depozitare constatându-se o reducere a acestora cu maxim 1,5 log ufc/mL în cazul gogonelelor și de 3 log ufc/mL în cazul merelor. Această reducere a bacteriilor lactice s-ar putea datora creșterii acidității respectiv reducerii pH-ului mediului de fermentare. Pentru ambele produse vegetale fermentate cea

mai mare reducere a numărului de bacterii lactice s-a constatat în cazul probelor cu soluție salină cu NaCl. Wouters ș.a., (2013) au arătat că bacteriile lactice pot avea un ciclu metabolic scurt, toleranță redusă la sare și prezintă rezistență în mediu acid. Rezultate similare au fost obținute de Wolkers-Rooijackers ș.a., (2013) în cazul verzei murate unde NaCl din saramură a fost înlocuită parțial cu KCl,  $MgCl_2$  sau  $CaCl_2$  respectiv de Ribeiro ș.a., (2019) în cazul verzei murate unde NaCl din saramură a fost înlocuită parțial cu KCl.

### **2.4.3. Analize fitochimice**

#### **Evoluția conținutului de compuși fitochimici în timpul fermentării și depozitării**

În tabelul 2-6 sunt prezentate rezultatele pentru principalii compuși fitochimici din tomatele verzi proaspete și fermentate cu soluții saline de NaCl, KCl și respectiv  $MgCl_2$ .

În primă instanță, raportat la probele martor pentru probele fermentate cu soluție salină de NaCl s-a înregistrat o ușoară creștere (13%) a conținutului total de flavonoide pentru ziua 7 de fermentare, în timp ce pentru celelalte două tipuri de soluții saline, valorile conținutului total de polifenoli (CTP) și respectiv de flavonoide totale (CTF) a scăzut cu 31%, respectiv 13% pentru soluția de KCl și 43%, respectiv 30% pentru soluția de  $MgCl_2$ . În timpul fermentației, bacteriile lactice din microflora spontană acționează asupra vegetalelor contribuind la eliberarea compușilor polifenolici simpli după hidroliza enzimatică a compușilor fenolici polimerizați.

În ceea ce privește conținutul total de polifenoli (CTP) și de flavonoide (CTF) al tomatelor verzi se poate observa că trendul valorilor este crescător atât pe durata fermentație cât și a depozitării pentru toate probele și tipurile de soluții saline. Chiar și așa, se pot sesiza diferențe în ceea ce privește cantitatea de compuși bioactivi și de asemenea biodisponibilitatea lor dependentă de zilele de fermentare ori depozitare. Astfel, CTP și CTF pentru tomatele verzi fermentate cu soluție salină de NaCl prezintă o creștere de 120%, respectiv 76,5%, creșterea valorilor conținutului celor două clase de compuși a fost progresivă pe toată perioada de fermentare și de depozitare, cea mai mare creștere (25,6%) având loc pentru CTP în ziua 56, iar pentru CTF în ziua 28.

Studiile care vizează determinarea CTP și CTF pentru diferite tipuri de vegetale conservate prin fermentație lactică sau mixtă (lactică și acetică) raportează valori foarte diferite între ele și raportate la prezentul studiu. Astfel, în cazul conservării morcovilor utilizând mai multe tipuri de fermentații s-au raportat de către Neis ș.a., (2022) valori de  $843 \pm 38 \mu g \text{ GA/g s.u.}$  pentru CTP, această valoare putând fi justificată prin degradarea termică a compușilor analizați prin dozarea de soluție salină la temperaturi de pasteurizare și de migrarea parțială a acestei clase de compuși în lichid. În ceea ce privește castraveții și morcovii Al-Azzawi și Abdullah, (2019) au raportat pentru CTP valori între 21,12 – 15,52 mgGA/100g s.u.. Raportat la durata maximă aleasă de depozitare de 120 de zile a tomatelor verzi conservate cu soluție de KCl s-

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

a înregistrat o scădere cu aproximativ 13,5% și 8% pentru CTP, respectiv CTF și de 9% și 7% pentru soluția de  $MgCl_2$ .

În ceea ce privește conținutul de carotenoide totale o creștere progresivă a fost înregistrată pentru toate probele. Mapelli-Brahm ș.a., (2020) au afirmat că fermentația crește conținutul total de carotenoide mai mult decât procesele termice precum: prăjirea, blanșarea și uscarea. Probele conservate cu soluția salină cu  $MgCl_2$  au prezentat o cantitate de carotenoide totale cu aproximativ 42% mai mare decât cele fermentate cu soluțiile de NaCl și KCl încă din ziua 7 a fermentației. Similar studiului publicat de Oloo ș.a., (2014) care viza fermentarea cartofilor dulci cu pulpă portocalie se poate afirma că tipul de săruri utilizat a condus la creșterea conținutului de carotenoide totale. Conținutul final de carotenoide după cele 120 de zile de depozitare ( $11,88 \pm 0,08$  mg/g s.u.) fiind aproximativ egal cu cel ( $11,41 \pm 0,18$  mg/g s.u.) obținut pentru probele fermentate cu NaCl.

Valorile aferente conținutului de  $\beta$ -caroten variază diferit pentru cele trei medii de fermentare, astfel, pentru NaCl se înregistrează o creștere de 22% în primele 21 de zile de fermentare, iar apoi o scădere ușoară (13%) până la 120 de zile de depozitare. Pentru celelalte două medii de fermentare valorile conținutului de  $\beta$ -caroten prezintă o evoluție aproximativ constantă.

Valorile conținutului de licopen obținute la 21 de zile de fermentare cresc semnificativ, independent de tipul de soluție salină utilizată. Cunoscând că, în probele inițiale conținutul de licopen a prezentat valori aproape nule, creșterea conținutului de licopen poate fi explicată prin migrarea acestuia din tomatele cu un grad mai avansat de maturare în lichidul de fermentare și de aici în tomatele verzi. Rezultate similare sunt obținute de Janiszewska-Turak ș.a., (2022) în ceea ce privește conținutul în zeaxantină, cis- $\beta$ -caroten,  $\alpha$ -caroten, capsorubina,  $\alpha$ - și  $\beta$ -criptoxantina și luteina la fermentarea ardeilor grași.

Este cunoscut faptul că, pH-ul, durata de fermentare, tipul mediului de fermentare utilizat, a materiei prime și auxiliare utilizate pot influența compoziția fito-chimică, culoarea și textura produselor conservate prin fermentație așa cum a evidențiat și McFeeters, (2004). Clorofilele totale prezintă o variație descendentă indiferent de tipul de soluție salină, în cazul tomatoelor verzi fermentate cu soluției de NaCl valorile clorofilei scad semnificativ de la  $35 \pm 0,20$   $\mu$ g/g s.u. pentru 7 zile de fermentare până la  $14,20 \pm 0,10$   $\mu$ g/g s.u. pentru 120 de zile de depozitare. O evoluție similară a valorilor clorofilei au prezentat și tomatele fermentate în celelalte două tipuri de soluții saline, astfel o scădere de la  $30 \pm 0,20$   $\mu$ g/g s.u. la  $16,10 \pm 0,15$   $\mu$ g/g s.u. a fost înregistrată pentru 7 zile de fermentare respectiv 120 de depozitate pentru KCl și de la  $29 \pm 0,17$   $\mu$ g/g s.u. la  $18,60 \pm 0,18$   $\mu$ g/g s.u. pentru  $MgCl_2$ . Valorile obținute sunt comparabile cu cele raportate într-un studiu referitor la diferite tipuri de vegetale verzi publicat de do Couto în (2016).

**Tabelul 2-6 Compuși fitochimici din tomatele verzi proaspete și fermentate**

| Perioada de fermentare, | Compuși fitochimici |      |     |           |          |           |
|-------------------------|---------------------|------|-----|-----------|----------|-----------|
|                         | CTP,                | CTF, | CT, | $\beta$ - | Licopen, | Clorofile |

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

| <i>zile</i>                        | <i>mg EAG/g<br/>s.u.</i> | <i>mg EQ/g<br/>s.u.</i> | <i>mg/g s.u.</i> | <i>caroten,<br/>mg/g s.u.</i> | <i>mg/g s.u.</i> | <i>totale, µg/g<br/>s.u.</i> |
|------------------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|------------------------------|
| <b>Soluție de NaCl</b>             |                          |                         |                  |                               |                  |                              |
| <b>0</b>                           | 29,93 ±<br>0,94          | 29,86 ±<br>0,40         | 3,89 ±<br>0,09   | 3,43 ±<br>0,12                | 0,00 ±<br>0,00   | 45,00 ±<br>0,12              |
| <b>7</b>                           | 30,00 ±<br>0,39          | 34,26 ±<br>0,89         | 4,34 ±<br>0,08   | 4,25 ±<br>0,23                | 0,00 ±<br>0,00   | 35,00 ±<br>0,20              |
| <b>14</b>                          | 32,09 ±<br>0,43          | 37,44 ±<br>0,11         | 7,17 ±<br>0,67   | 4,14 ±<br>0,10                | 0,00 ±<br>0,00   | 30,00 ±<br>0,15              |
| <b>21</b>                          | 37,50 ±<br>0,71          | 39,69 ±<br>0,54         | 8,12 ±<br>0,05   | 4,20 ±<br>0,67                | 2,62 ±<br>0,00   | 25,00 ±<br>0,12              |
| <b>28</b>                          | 43,04 ±<br>0,63          | 49,64 ±<br>0,46         | 9,06 ±<br>0,25   | 3,60 ±<br>0,06                | 2,76 ±<br>0,13   | 20,70 ±<br>0,17              |
| <b>56</b>                          | 54,63 ±<br>0,37          | 50,24 ±<br>0,99         | 9,52<br>±0,13    | 3,36 ±<br>0,03                | 2,70 ±<br>0,00   | 18,12 ±<br>0,15              |
| <b>94</b>                          | 61,40 ±<br>0,12          | 55,69 ±<br>0,42         | 10,37 ±<br>0,04  | 3,10 ±<br>0,09                | 2,20 ±<br>0,05   | 16,50 ±<br>0,20              |
| <b>120</b>                         | 66,45 ±<br>0,39          | 60,19 ±<br>0,21         | 11,41 ±<br>0,18  | 3,71 ±<br>0,05                | 2,97 ±<br>0,02   | 14,20 ±<br>0,10              |
| <b>Soluție de KCl</b>              |                          |                         |                  |                               |                  |                              |
| <b>7</b>                           | 20,33 ±<br>0,28          | 17,32 ±<br>1,14         | 4,53 ±<br>0,06   | 3,82 ±<br>0,62                | 0,00 ±<br>0,00   | 30,00 ±<br>0,20              |
| <b>14</b>                          | 22,05 ±<br>1,47          | 24,75 ±<br>0,41         | 5,55 ±<br>0,36   | 3,27 ±<br>0,31                | 0,00 ±<br>0,00   | 23,00 ±<br>0,15              |
| <b>21</b>                          | 26,02 ±<br>1,18          | 36,77 ±<br>1,22         | 6,58 ±<br>0,12   | 3,21 ±<br>0,13                | 0,70 ±<br>0,00   | 19,50 ±<br>0,15              |
| <b>28</b>                          | 28,85 ±<br>1,10          | 43,73 ±<br>0,38         | 6,77 ±<br>0,02   | 3,42 ±<br>0,19                | 1,72 ±<br>0,12   | 16,11 ± 0,20                 |
| <b>56</b>                          | 32,06 ±<br>1,22          | 49,05 ±<br>0,76         | 7,79 ±<br>0,03   | 3,31 ±<br>0,03                | 2,33 ±<br>0,22   | 16,50 ±<br>0,20              |
| <b>94</b>                          | 40,80 ±<br>0,78          | 54,59 ±<br>1,11         | 8,45 ±<br>0,08   | 3,27 ±<br>0,04                | 1,93 ±<br>0,00   | 16,90 ±<br>0,15              |
| <b>120</b>                         | 57,10 ±<br>0,57          | 55,02 ±<br>1,18         | 8,95 ±<br>0,13   | 3,54 ±<br>0,11                | 1,97±<br>0,08    | 16,10 ±<br>0,15              |
| <b>Soluție de MgCl<sub>2</sub></b> |                          |                         |                  |                               |                  |                              |
| <b>7</b>                           | 25,20 ±<br>0,42          | 20,92 ±<br>0,58         | 7,48 ±<br>0,62   | 5,14 ±<br>0,00                | 0,00 ±<br>0,00   | 29,00 ±<br>0,17              |
| <b>14</b>                          | 28,00 ±<br>1,28          | 21,79 ±<br>0,85         | 8,18 ±<br>0,11   | 4,89 ±<br>0,08                | 0,00 ±<br>0,00   | 24,00 ±<br>0,10              |
| <b>21</b>                          | 30,94 ±<br>0,25          | 41,97 ±<br>0,39         | 8,72 ±<br>0,23   | 4,80 ±<br>0,21                | 0,73 ±<br>0,01   | 20,15 ±<br>0,12              |
| <b>28</b>                          | 34,65 ±<br>0,41          | 44,00 ±<br>0,49         | 9,45 ±<br>0,31   | 4,93 ±<br>0,32                | 1,90 ±<br>0,22   | 19,30 ±<br>0,10              |
| <b>56</b>                          | 45,20 ±<br>0,65          | 46,75 ±<br>0,42         | 10,02 ±<br>0,04  | 5,31±<br>0,04                 | 2,80 ±<br>0,03   | 19,00 ±<br>0,00              |
| <b>94</b>                          | 57,45 ±<br>0,15          | 50,51 ±<br>0,27         | 11,01 ±<br>0,38  | 5,29 ±<br>0,36                | 2,84 ±<br>0,24   | 18,40 ±<br>0,20              |
| <b>120</b>                         | 60,09 ± 0,11             | 56,10 ±<br>1,05         | 11,88 ±<br>0,08  | 5,37 ±<br>0,12                | 2,94±<br>0,09    | 18,60 ±<br>0,18              |

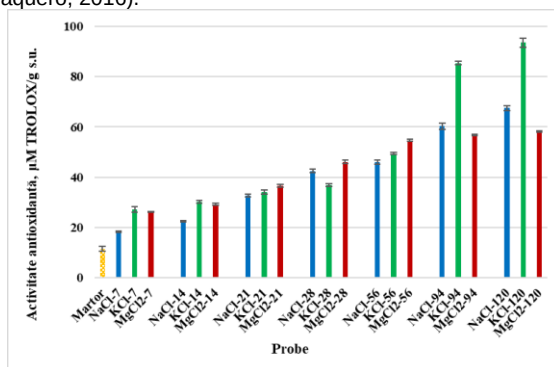
**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

CTP – conținutul total de polifenoli, mg EAG/g s.u., CTF – conținutul total de flavonoide, mg EQ/g s.u., CT – carotenoide totale, mg/g s.u..

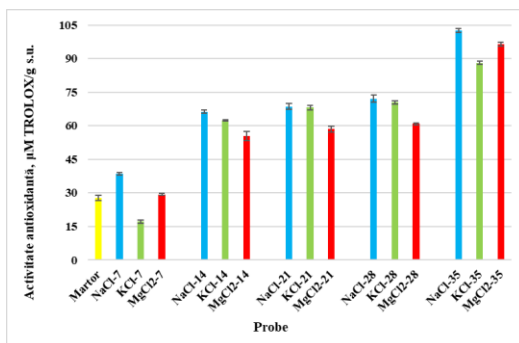
**Efectele fermentației lactice asupra activității antioxidante**

În figura 2-18 (a) este prezentată evoluția activității antioxidante a tomatelor verzi. După cum se poate observa, se înregistrează o creștere progresivă a activității antioxidante pentru toate variantele de fermentare. În cazul fermentării cu NaCl, valoarea activității antioxidante a tomatelor verzi crește cel mai mult și anume cu 594% față de proba martor. O creștere se înregistrează și în cazul fermentării cu KCl (346%), dar și în cazul fermentării cu  $MgCl_2$  (221%). Această afirmație poate fi susținută de creșterea conținutului de compuși bioactivi datorită procesului de fermentare și de tipul de sare adăugat.

Creșterea microorganismelor de fermentare poate contribui direct la modificarea constituenților cu potențial antioxidant în timpul fermentației, astfel prin ruperea pereților celulari se sintetizează și/sau eliberează diferiți compuși bioactivi (Zhao ș.a., 2021). De asemenea, și după ce perioada de fermentație s-a încheiat, creșterea valorilor activității antioxidante poate fi datorată metaboliților proveniți din activitatea bacteriilor lactice, chiar dacă numărul acestora a scăzut semnificativ ori se află în stadiu de letalitate (Hayes și García-Vaquero, 2016).



a)



**b)**

*Figura 2-18 Evoluția activității antioxidante a merelor verzi pe perioada fermentării a) tomate verzi; b) mere soiul Granny Smith*

Activitatea antioxidantă a merelor verzi (figura 2-18 (b)) a înregistrat o creștere în cazul celor trei lichide de fermentare atât în timpul fermentației cât și la depozitare până la 35 de zile. Cea mai mare valoare s-a înregistrat la finalul perioadei de fermentare, în cazul fermentării cu NaCl cu 370% față de proba maror. Acest fenomen este datorat procesului de fermentație și tipului de soluție salină folosită. Producerea unor categorii de compuși precum polizaharide, peptide, aminoacizi, contribuie în mod direct la creșterea valorii activității antioxidante așa cum evidențiază și Mahidsanan ș.a. (2022).

Polifenolii, flavonoidele prezente în merele verzi și alți compuși cu valoare biologică ridicată formați în urma fermentației lactice și a metabolismului bacteriilor lactice au fost eliberați din celule și participat la creșterea valorilor activității antioxidante. În raport cu tomatele verzi se poate observa, că merele fermentate prezintă o creștere a activității antioxidante mai accelerată până în ziua a 14 a de fermentare, după care creșterea variază între 3-9% până în ziua a 28 a de fermentare. După care se înregistrează o creștere de la 35 de zile de aproximativ 29% pentru merele fermentate cu soluție de NaCl, de 19% pentru cele fermentate în soluție de KCl și respectiv de 38% pentru merele fermentate cu soluție de MgCl<sub>2</sub>. Rezultate similare au fost obținute într-un studiu pe fermentarea controlată a pulpei de mere de către Kalinowska ș.a. (2023).

#### **2.4.4. Analiza instrumentală a texturii**

În tabelul 2-9 sunt prezentate valorile parametrilor texturali ai merelor proaspete și fermentate pe durata a 35 zile.

Pentru merele fermentate se constată că evoluția parametrilor texturali este diferită față de cea a tomatoelor verzi, fapt explicabil prin componența fizico-chimică și structurală diferită a acestora. Pentru fermitate se poate remarca o scădere în primele 7 zile de fermentare, cu valori cuprinse între 7,68%, pentru probele cu NaCl și 26,43% pentru cele cu KCl. În cazul probelor cu MgCl<sub>2</sub> scăderea fermității în primele 7 zile de fermentare a fost

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

asemănătoare cu cea înregistrată pentru probele cu NaCl (8,52%). În ultimele trei săptămâni ale intervalului de analiză fermitatea probelor a rămas constantă, valorile înregistrând variații nesemnificative din punct de vedere statistic. Scăderea fermității este atribuită solubilizării și degradării pectinei din pereții celulari ai țesutului merelor și a fost raportată pentru toate produsele vegetale fermentate, inclusiv pentru pericarpul de nucșoară (Putsakum ș.a., 2020).

Aceste procese sunt favorizate de activitatea pectin-metil-esterazelor (Gu ș.a., 1999) produse de bacteriile implicate în procesul de fermentare. Pentru probele cu KCl scăderea mai intensă a fermității poate fi explicată prin efectul mai puțin inhibitor asupra dezvoltării microorganismelor, în comparație cu celelalte săruri. Același efect îl are și clorura de magneziu însă acesta este contracarat de prezența ionilor  $Mg^{2+}$  care formează legături cu grupările carboxilice rămase libere în urma acțiunii pectin-metil-esterazelor, ceea ce duce la creșterea fermității țesutului vegetal (Yoo ș.a., 2006).

Coezivitarea a prezentat cea mai mare valoare,  $0,69 \pm 0,02$  pentru proba proaspătă. În timpul fermentării se constată o evoluție asemănătoare cu a fermității, pentru probele cu NaCl și KCl și o scădere continuă pentru probele cu  $MgCl_2$ . De asemenea, cea mai accentuată scădere a coezivității, pentru toate probele, se înregistrează în primele 7 zile ale procesului de fermentare. La sfârșitul perioadei de analiză cea mai mică valoare a coezivității este atribuită probelor cu KCl. Scăderea coezivității este corelată cu degradarea țesutului vegetal și a fost raportată și pentru alte produse vegetale fermentate precum jalapeno (Gu ș.a., 1999), varză (Kim ș.a., 2018).

Pentru elasticitate se constată o scădere accentuată în primele 14 zile ale intervalului de fermentare, urmată de o scădere mai lentă în următoarele 7 zile, pentru ca apoi să rămână constantă în jurul valorii de 3 mm. Modificările structurale ale țesutului vegetal în timpul fermentării au ca rezultat ruperea acestuia în timpul primului ciclu de penetrare, fapt care face ca deformarea să fie permanentă, nerecuperabilă, motiv pentru care s-au înregistrat valorile descrescătoare ale elasticității. În mod similar, energia necesară dezintegrării probei în timpul celor două penetrări succesive a fost mai mică, relevând valori descrescătoare a le masticabilității. Cea mai mare scădere s-a înregistrat în primul interval de 7 zile de fermentare, cu valori cuprinse între 65,4% (pentru probele cu KCl) și 74,23% (pentru probele cu NaCl). În următoarele 7 zile scăderea este mult mai lentă iar apoi rămâne constantă. O evoluție similară a parametrilor texturali a fost raportată pentru morcovii murați (Llorca ș.a., 2001).

*Tabelul 2-9 Valorile parametrilor texturali ai merelor proaspete și fermentate*

| Parametru<br>textural       | Perioada de fermentare |                   |                   |                   |                   |                   |
|-----------------------------|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                             | 0 zile                 | 7 zile            | 14 zile           | 21 zile           | 28 zile           | 35 zile           |
| <b>Soluție de NaCl</b>      |                        |                   |                   |                   |                   |                   |
| <b>Fermitate, N</b>         | $4,69 \pm 0,11^a$      | $4,33 \pm 0,21^b$ | $5,74 \pm 0,19^c$ | $1,75 \pm 0,22^d$ | $1,70 \pm 0,15^d$ | $1,74 \pm 0,17^d$ |
| <b>Coezivitate</b>          | $0,69 \pm 0,02^a$      | $0,48 \pm 0,03^b$ | $0,53 \pm 0,01^c$ | $0,49 \pm 0,02^d$ | $0,46 \pm 0,02^d$ | $0,44 \pm 0,01^d$ |
| <b>Elasticitate,<br/>mm</b> | $4,64 \pm 0,16^a$      | $2,95 \pm 0,22^b$ | $3,27 \pm 0,19^b$ | $2,66 \pm 0,32^c$ | $2,92 \pm 0,43^c$ | $3,15 \pm 0,35^c$ |

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

|                                    |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>Masticabilitate, mJ</b>         | 5,55 ± 0,15 <sup>a</sup> | 1,43 ± 0,15 <sup>b</sup> | 1,19 ± 0,11 <sup>c</sup> | 0,96 ± 0,19 <sup>c</sup> | 0,66 ± 0,25 <sup>c</sup> | 0,71 ± 0,17 <sup>c</sup> |
| <b>Soluție de KCl</b>              |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
| <b>Fermitate, N</b>                | 4,69 ± 0,11 <sup>a</sup> | 3,45 ± 0,18 <sup>b</sup> | 4,13 ± 0,23 <sup>c</sup> | 3,02 ± 0,22 <sup>d</sup> | 3,14 ± 0,19 <sup>d</sup> | 3,02 ± 0,15 <sup>d</sup> |
| <b>Coezivitate</b>                 | 0,69 ± 0,02 <sup>a</sup> | 0,47 ± 0,01 <sup>b</sup> | 0,51 ± 0,01 <sup>c</sup> | 0,41 ± 0,03 <sup>d</sup> | 0,40 ± 0,02 <sup>d</sup> | 0,41 ± 0,01 <sup>d</sup> |
| <b>Elasticitate, mm</b>            | 4,64 ± 0,16 <sup>a</sup> | 3,7 ± 0,19 <sup>b</sup>  | 2,65 ± 0,21 <sup>c</sup> | 2,56 ± 0,17 <sup>c</sup> | 2,53 ± 0,23 <sup>c</sup> | 2,88 ± 0,16 <sup>c</sup> |
| <b>Masticabilitate, mJ</b>         | 5,55 ± 0,15 <sup>a</sup> | 1,92 ± 0,14 <sup>b</sup> | 1,42 ± 0,15 <sup>c</sup> | 0,76 ± 0,12 <sup>d</sup> | 0,64 ± 0,21 <sup>d</sup> | 0,65 ± 0,14 <sup>d</sup> |
| <b>Soluție de MgCl<sub>2</sub></b> |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
| <b>Fermitate, N</b>                | 4,69 ± 0,11 <sup>a</sup> | 4,29 ± 0,18 <sup>b</sup> | 5,35 ± 0,21 <sup>c</sup> | 4,42 ± 0,13 <sup>d</sup> | 4,98 ± 0,25 <sup>d</sup> | 4,76 ± 0,12 <sup>d</sup> |
| <b>Coezivitate</b>                 | 0,69 ± 0,02 <sup>a</sup> | 0,51 ± 0,03 <sup>b</sup> | 0,46 ± 0,01 <sup>c</sup> | 0,48 ± 0,02 <sup>c</sup> | 0,46 ± 0,01 <sup>c</sup> | 0,46 ± 0,02 <sup>c</sup> |
| <b>Elasticitate, mm</b>            | 4,64 ± 0,16 <sup>a</sup> | 3,47 ± 0,22 <sup>b</sup> | 2,61 ± 0,18 <sup>c</sup> | 2,84 ± 0,17 <sup>c</sup> | 2,95 ± 0,23 <sup>c</sup> | 3,04 ± 0,19 <sup>d</sup> |
| <b>Masticabilitate, mJ</b>         | 5,55 ± 0,15 <sup>a</sup> | 1,69 ± 0,24 <sup>b</sup> | 1,61 ± 0,27 <sup>b</sup> | 1,29 ± 0,19 <sup>c</sup> | 1,34 ± 0,09 <sup>c</sup> | 1,31 ± 0,28 <sup>c</sup> |

Valorile de pe același rând marcate cu litere diferite sunt semnificativ diferite ( $p < 0,05$ ) din punct de vedere statistic

#### 2.4.5. Analiza instrumentală a culorii

În timpul procesului de fermentare culoarea materialelor vegetale se modifică datorită unei combinații de factori chimici și biologici precum scăderea pH-ului, activitatea enzimelor proprii vegetalelor dar și a celor produse de microorganisme implicate în proces, degradarea pigmentilor sau formarea unor compuși noi (Ye ș.a., 2022). Chiar dacă modificările de culoare sunt firești și nu afectează negativ calitatea sau siguranța produselor fermentate, ele sunt importante pentru consumatori.

Se pot remarca variații semnificative între valorile unora parametri, în timp ce alții au valori aproape constante. Astfel, Luminozitatea scade de la  $47,38 \pm 0,02$  până la  $30,10 \pm 1,97$  (pentru proba cu NaCl),  $29,17 \pm 1,50$  (pentru proba cu KCl) și  $31,03 \pm 1,57$  (pentru proba cu  $MgCl_2$ ), ceea ce semnifică o ușoară închidere la culoare a probelor. Se poate remarca faptul că în primele 21 de zile de fermentare această scădere este mai accentuată, urmând ca în ultima parte a intervalului scăderea să fie mult mai lentă.

Componenta verde-roșu ( $a^*$ ) este cea care înregistrează cele mai mari variații, pornind de la valori negative,  $-12,05 \pm 0,04$ , ceea ce indică nuanța inițială verde a tomatelor, dată de existența pigmentilor clorofilieni, până la valori cuprinse între  $3,34 \pm 0,32$  și  $5,68 \pm 2,01$ . Această variație poate fi explicată prin degradarea clorofilelor sub acțiunea acidului lactic produs de bacterii în timpul procesului de fermentare. Ionul de magneziu din structura clorofilelor este înlocuit de doi atomi de hidrogen, rezultând feofitinele care, mai departe, suferă procese de demetilare, transformându-se în feoforbide (McMurtrie și Johanningsmeier, 2018). Virajul nuanței de la verde la roșu se constată după 21 de zile de fermentare pentru probele cu clorură de sodiu și potasiu și după 28 de zile pentru cele cu clorură de magneziu. Se poate remarca faptul că utilizarea clorurii de magneziu a avut efect protector asupra

## **Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

clorofilelor întrucât componenta verde a culorii s-a menținut un timp mai îndelungat comparativ cu celelalte probe.

Componenta albastră-galbenă a culorii ( $b^*$ ) are o variație mică pe durata procesului de fermentare dar neuniformă. Variațiile acestei componente sunt date de mai multe categorii de compuși precum carotenoide, compuși de oxidare, compuși rezultați din metabolismul microorganismelor implicate în procesul de fermentare. McMurtrie și Johanningsmeier (2018) atribuie modificarea culorii castraveților de la verde strălucitor la verde măsliniu, în timpul procesului de fermentare, unui amestec de feofitine și feoforbide rezultate din clorofilă ca urmare a acțiunii soluțiilor saline acide. Valori similare pentru parametri de culoare au fost raportate pentru castraveții murați de către Wilson ș.a., (2015) și McMurtrie și Johanningsmeier (2018).

Pentru toate probele se remarcă o scădere a gradului de saturație al culorii ( $C^*$ ). Cea mai mică scădere a gradului de saturație (cu 30,79%) s-a remarcat pentru probele cu clorură de magneziu, în timp ce scăderea cea mai mare (cu 44,79%) s-a remarcat pentru probele cu clorură de sodiu, fapt care este în concordanță cu variațiile componentelor  $a^*$  și  $b^*$ . Același lucru poate fi afirmat și despre indicele de brun (BI) și cel de galben (YI), care variază proporțional cu componentele menționate anterior. De asemenea, se poate constata corelația dintre luminozitate și gradul de alb.

### **2.5. Concluzii parțiale**

În ceea ce privește cantitatea de acid lactic produsă în timpul fermentației, aceasta a crescut semnificativ în primele 28 de zile, apoi a fost înregistrată o reducere a conținutului de acid lactic pentru toate probele. În cazul acestui parametru, factorii care ar putea influența cantitatea de acid lactic sunt reprezentați de tipul de sare folosit la obținerea soluției saline, precum și compoziția substratului.

În timpul perioadei de depozitare, cantitatea de minerale analizate a început să scadă, probabil datorită faptului că o parte din aceștia au migrat din partea lichidă (soluția salină) în cea solidă (materialul vegetal supus fermentării), cele mai mari concentrații ale acestor ioni au rămas probabil în soluția salină.

Numărul total de bacterii lactice a crescut rapid până în ziua 28, după această zi înregistrându-se o scădere ce poate fi asociată cu ciclul metabolic scurt, toleranța slabă la sare și rezistența la acid a bacteriilor lactice.

Creșterea valorilor atribuite activității antioxidante a tomatelor și merelor verzi pe durata fermentației, dar și a depozitării se datorează creșterii conținutului de polifenoli și flavonoide influențat de hidroliza microbiană.

Valorile clorofilelor și a carotenoidelor totale nu sunt influențate întotdeauna de tipul de soluție salină utilizată în fermentație, ci de tipul de interacțiuni biochimice produse în timpul conservării.

Procesul de fermentare influențează textura materialelor vegetale analizate. În principal, toți parametri texturali scad pe durata acestui proces

## **Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

datorită degradării macromoleculelor care intră în componența pereților celulari ai țesuturilor vegetale. Sărurile adăugate pentru obținerea soluțiilor de fermentare influențează diferit evoluția acestor parametri. Astfel, prin clorura de potasiu conferă cea mai mică fermitate a produselor finite, în timp ce clorura de magneziu ajută la stabilizarea fermității. Coezivitatea, elasticitatea și masticabilitatea evoluează în concordanță cu rezistența țesutului la rupere în timpul penetrării: cu cât țesutul se rupe mai repede, cu atât este mai puțin coeziv, necesită mai puțină energie la masticare și recuperează o parte mai mică din deformare.

Culoarea probelor analizate variază în timpul procesului de fermentare în sensul unei tranziții de la verde-gălbui către verde olive, fenomen datorat în principal degradării clorofililor dar și formării unor compuși de oxidare. Clorura de magneziu are un efect protector asupra culorii, încetinind procesele biochimice pe care le suferă clorofilele.

### **CAPITOLUL 3. Variante tehnologice de substituie mixtă a clorurii de sodiu**

#### **3.1. Introducere**

**Obiectivul principal** al studiului îl constituie analiza influenței mediului de fermentare obținut prin combinarea a două săruri, asupra procesului de fermentare a tomatelor necoapte și a merelor verzi. Pentru realizarea acestui obiectiv au fost obținute trei medii de fermentare diferite, prin combinarea clorurii de sodiu cu clorură de potasiu, a clorurii de sodiu cu clorură de magneziu și a clorurii de potasiu cu clorură de magneziu, în raport 1:1 în toate cele trei situații. **Obiectivele specifice** ale studiului au vizat:

1. Determinarea caracteristicilor fizico-chimice ale tomatelor necoapte și ale merelor verzi, fermentate în cele trei medii
2. Identificarea compușilor fitochimici din materialele vegetale fermentate și a funcției lor antioxidante
3. Analiza influenței mediului de fermentare asupra dezvoltării microorganismelor implicate în procesul de fermentare.

#### **3.2. Materiale și metode**

##### **3.2.1. Materiale**

Pentru realizarea studiului s-au utilizat două tipuri de materiale vegetale: tomate recoltate înainte de a atinge gradul de maturitate, achiziționate de la un producător local din județul Galați și mere verzi, din soiul *Granny Smith*, achiziționate de la un supermarket din municipiul Galați. Pentru obținerea mediilor de fermentare s-a utilizat apă potabilă, de la rețeaua de distribuție, în care au fost adăugate amestecul de săruri și condimentele. Sărurile utilizate au fost: clorura de sodiu – sare gemă, neiodată pentru

## **Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

industria alimentară (Salrom, Târgu Ocna, România), clorura de potasiu – Kalium Vita (SC Amniocen SRL, Timișoara) și clorura de magneziu – sare Nigari (BioSano, Piatra Neamț, România). Condimentele: boabe de piper, boabe de muștar, frunze de dafin, inflorescențe de mărar, rădăcină de hrean și usturoi au fost achiziționate dintr-o piață agroalimentară din Galați.

### **3.2.2. Metode**

#### ***Obținerea probelor***

Pentru obținerea probelor materiile prime vegetale (tomatele necoapte și merele verzi) au fost spălate cu apă de la robinet și tamponate cu prosoape de hârtie, apoi au fost introduse în borcane din sticlă, spălate și sterilizate în prealabil prin menținere într-un cuptor electric de tip casnic, la temperatura de 150°C, timp de 15 minute. Peste acestea au fost adăugate boabe de piper (2 g), frunze de dafin (0,7 g), boabe de muștar (2 g), usturoi (8 g), hrean (3 g), 2 – 3 inflorescențe de mărar (0,5 g). S-a adăugat apoi soluția salină, obținută prin fierberea apei împreună cu amestecul de săruri, răcită la temperatura camerei. Au fost preparate trei tipuri de soluție salină, de concentrație 3,33% (33,3 g amestec de săruri 1:1 dizolvate într-un litru de apă), fiecare conținând câte un amestec din variantele: clorură de sodiu:clorură de potasiu, clorură de sodiu:clorură de magneziu și clorură de potasiu:clorură de magneziu. Borcanele au fost apoi acoperite cu folie de parafilm, închise cu capace Twist Off și depozitate într-o încăpere întunecată și răcoroasă, la o temperatură de  $16 \pm 2^\circ\text{C}$ . Au fost pregătite 7 borcane cu tomate necoapte, câte unul pentru fiecare moment al analizelor (7, 14, 28, 56, 94 și 120 zile) și 5 borcane cu mere (pentru analize efectuate la 7, 14, 28 și 35 zile). În plus, toate determinările au fost efectuate și pentru materialele vegetale aflate în stare proaspătă.

### **3.3. Rezultate și discuții**

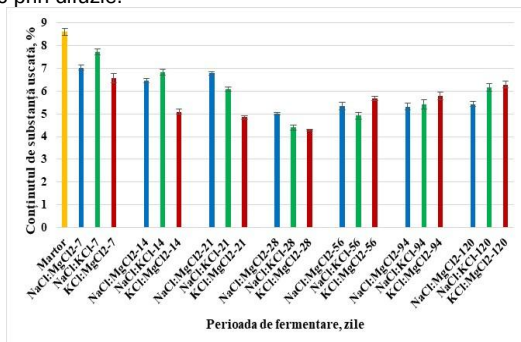
#### **3.3.1. Rezultatele analizei fizico-chimice**

##### **Evoluția conținutului de substanță uscată**

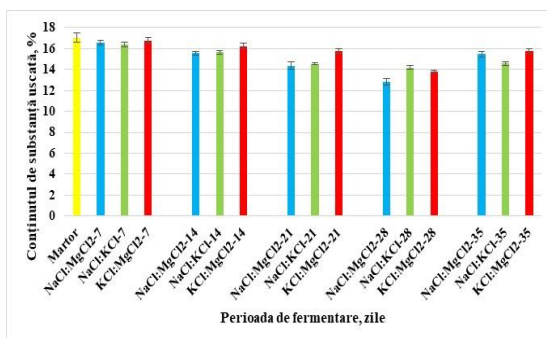
Conținutul de substanță uscată are un impact important asupra proprietăților texturii produselor fermentate (Tang ș.a., 2022). Cel mai mare conținut de substanță uscată (figura 3-7 (a și b)) a fost înregistrat în cazul probelor proaspete ( $17,01 \pm 0,45$  g /100 g produs pentru mere și  $8,62 \pm 0,15$  g /100 g produs pentru gogonele). În timpul fermentației, conținutul de substanță uscată, atât pentru mere cât și pentru gogonele, a scăzut pentru toate probele până în ziua 28. Cea mai mare scădere a acestui parametru în cazul merelor a fost înregistrată pentru probele fermentate în soluție de saramură cu  $\text{NaCl}:\text{MgCl}_2$ . Valoarea substanței uscate a fost redusă cu 24,63%, atingând o valoare de  $12,82 \pm 0,33$  g / 100 g produs. În cazul gogonelelor, cea mai mare scădere a acestui parametru a fost de 50,23% și a fost înregistrată de proba fermentată în soluție  $\text{KCl}:\text{MgCl}_2$  ( $4,29 \pm 0,04$  g /100 g produs). Această reducere a conținutului de substanță uscată s-ar putea datora utilizării de către bacteriile lactice a carbohidraților, mineralelor și altor componente

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

necesare dezvoltării lor în timpul perioadei de fermentație. După 28 de zile de fermentație, substanța uscată pentru toate probele a început să crească. Motivul acestei creșteri ar putea fi diferența de presiune osmotică dintre soluția salină și materialul vegetal fermentat, respectiv transferul de masă care are loc prin difuzie.



a)



b)

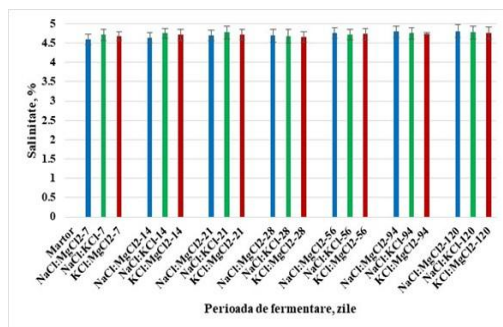
*Figura 3-7 Evoluția conținutului de substanță uscată în timpul fermentării: a) tomate necoapte; b) mere verzi*

La sfârșitul perioadei de depozitare, după 35 de zile, substanța uscată a variat între  $14,56 \pm 0,18$  g /100 g produs (pentru probele fermentate în soluție de saramură de NaCl:KCl) și  $15,74 \pm 0,23$  g /100 g produs (pentru probele fermentate în soluție de saramură de KCl:MgCl<sub>2</sub>). În cazul gogonelelor, la sfârșitul perioadei de depozitare, după 120 de zile, conținutul de substanță uscată a variat între  $5,43 \pm 0,12$  g /100 g produs (pentru probele fermentate în soluție de saramură de NaCl:MgCl<sub>2</sub>) și  $6,17 \pm 0,17$  g /100 g produs (pentru probele fermentate în soluție de saramură de NaCl:KCl).

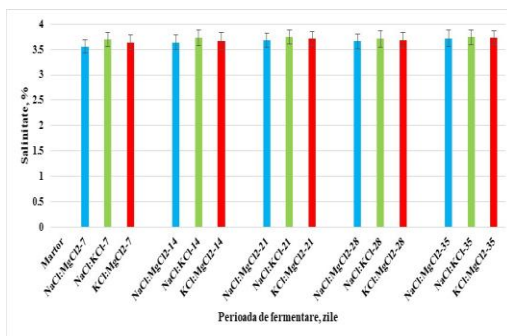
**Evoluția salinității în timpul fermentării și depozitării**

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

Salinitatea joacă un rol important în fermentarea fructelor și legumelor, modificând activitatea microbiană și textura produsului final (Chen ș.a., 2024). Figura 3-8 (a și b) prezintă modificările salinității în timpul perioadei de fermentare și depozitare. Nivelurile de salinitate pentru gogonelele fermentate au crescut treptat de la  $4,59 \pm 0,13$  g/100g la  $4,70 \pm 0,13$  g/100g (probe fermentate în soluție salină de NaCl:MgCl<sub>2</sub>), de la  $4,71 \pm 0,14$  g/100g la  $4,77 \pm 0,16$  g/100g (probe fermentate în soluție salină de NaCl:KCl) și de la  $4,68 \pm 0,12$  g/100g la  $4,72 \pm 0,14$  g/100g (probe fermentate în soluție salină de KCl:MgCl<sub>2</sub>) până în a 21-a zi de fermentare. În cazul merelor nivelurile de salinitate au crescut la fel până în ziua 21 ajungând astfel la  $3,68 \pm 0,14$  g/100g (probe fermentate în soluție salină de NaCl:MgCl<sub>2</sub>), la  $3,75 \pm 0,14$  g/100g (probe fermentate în soluție salină de NaCl:KCl) și la  $3,71 \pm 0,14$  g/100g (probe fermentate în soluție salină de KCl:MgCl<sub>2</sub>). După această perioadă, valorile salinității încep să se stabilizeze până la sfârșitul perioadei de depozitare, ajungând la maximum  $3,74 \pm 0,15$  g/100g (mere fermentate în soluție salină de NaCl:KCl) respectiv la  $4,81 \pm 0,16$ g/100g (tomate fermentate în soluție salină de NaCl:MgCl<sub>2</sub>).



a)



b)

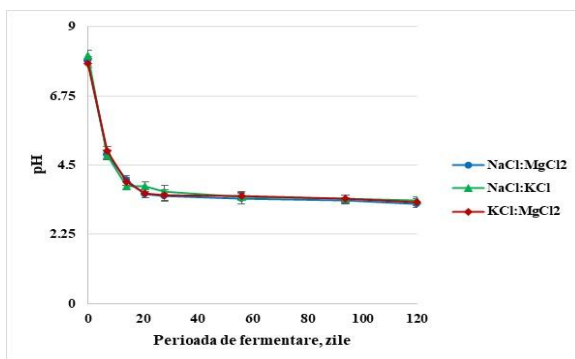
Figura 3-8 Evoluția salinității în timpul fermentării și depozitării: a) tomate necoapte; b) mere verzi

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

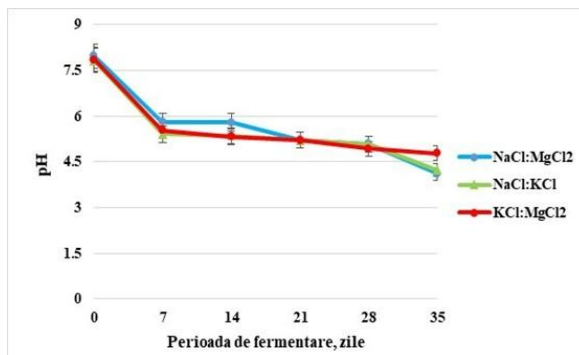
Lee ș.a., (2024) au raportat rezultate similare pentru kimchi în timpul fermentării pe termen lung, în diferite condiții de salinitate. Modele similare de salinitate pentru toate probele sugerează că diferitele tipuri de sare utilizate pentru obținerea soluției saline nu modifică distribuția sării în timpul fermentării și mențin siguranța și calitatea produselor analizate și în timpul depozitării.

**Evoluția pH – lui și acidității titrabile**

Atunci când se discută despre modificările pH – ului în timpul fermentării, este imperios necesar ca aceste valori să fie raportate la interdependența dintre mai mulți factori, cum ar fi reducerea conținutului de glucide, numărul de bacterii lactice și conținutul de acid lactic. Din figura 3-9 (a și b) se poate observa că pH – ul merelor și al gogonelelor, cu o medie de  $7,882 \pm 0,15$  respectiv  $7,922 \pm 0,15$ , indiferent de tipul de soluție salină utilizat, a scăzut rapid în primele 7 zile de fermentare.



a)



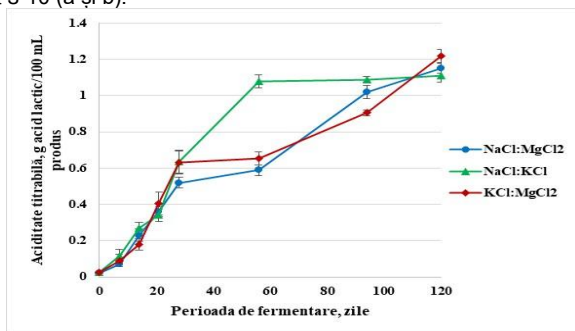
b)

*Figura 3-9 Evoluția pH - ului în timpul fermentării și depozitării: a) tomate necoapte; b) mere verzi*

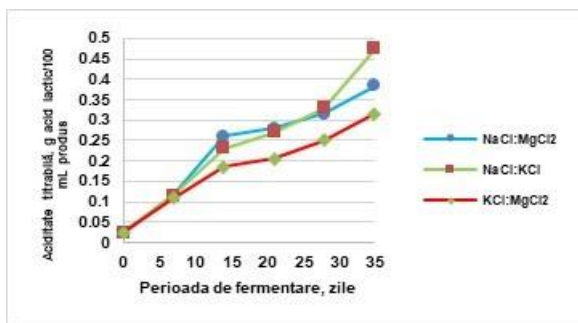
Reducerea valorii pH-ului a fost între 36,46 – 40,43% în cazul gogonelelor și de 27,07 – 30,79% în cazul merelor. Acest aspect era de așteptat, deoarece fermentația în prima etapă este mai intensă, acum conform lui (Rao ș.a., 2004) bacteriile lactice produc acid lactic cu o viteză de 10% din greutatea lor pe minut. Conform lui Dastager, (2013) o valoare a pH – ului cuprinsă între 5,5 și 6,5 poate preveni, în prima etapă de fermentare, atât reducerea activității metabolice cât și pierderea viabilității bacteriene ca urmare a pH-ului extrem de acid. Din a 14-a zi de fermentare și până în a 35 – a zi (în cazul merelor) respectiv până în a 120 – a zi (în cazul gogonelelor), s-a observat o ușoară scădere, similară pentru toate probele testate.

Din prima etapă a fermentației și până în etapa intermediară a acesteia, bacteriile lactice, utilizând glucidele native pe care gogonelele și merele le conțin, produc lactat, acetat și o cantitate mică de dioxid de carbon, ceea ce ar putea fi legat de reducerea valorilor pH-ului, așa cum au raportat și Moore ș.a., (2022). Mai mult, modificările valorilor pH-ului gogonelelor și merelor fermentate ar putea fi atribuite modificării raporturilor dintre populațiile aparținând diferitelor categorii de microorganisme prezente în timpul procesului de fermentație spontană (Lennox și Efiuwwewwere, 2014).

Aciditatea titrabilă și valorile pH-ului reprezintă principalii indicatori ai creșterii microorganismelor și a metaboliților microbieni Zong ș.a. (2024). Modificările acidității titrabile în timpul fermentării și depozitării sunt prezentate în figura 3-10 (a și b).



a)



b)

*Figura 3-10 Evoluția acidității titrabile în timpul fermentării și depozitării: a) tomate necoapte; b) mere verzi*

S-a constatat că, în timpul perioadei de fermentație, aciditatea titrabilă a crescut rapid în primele 21 zile de fermentare. După această perioadă valorile acidității titrabile au devenit relativ stabile și prezentând o creștere lentă până la 28 de zile. Cea mai mare valoare a acidității titrabile în cazul gogonelelor ( $0,635 \pm 0,063$  g acid lactic /100 mL produs) a fost înregistrată pentru probele fermentate cu soluție salină NaCl:KCl, în timp ce cea mai mică valoare în cazul merelor ( $0,25 \pm 0,064$  g acid lactic /100 mL produs) a fost determinată pentru probele fermentate cu soluție salină de KCl:MgCl<sub>2</sub>. Din ziua a 28-a de fermentație până în ziua a 35-a (în cazul merelor), aciditatea titrabilă pentru toate probele a crescut cu 27,07% pentru probele fermentate în soluție salină de NaCl:MgCl<sub>2</sub>, cu 30,79% pentru probele fermentate în soluție salină de NaCl:KCl și cu 26% pentru probele fermentate în soluție salină de KCl:MgCl<sub>2</sub>.

În cazul gogonelelor, aciditatea titrabilă a crescut cu 121,15% pentru probele fermentate în soluție salină de NaCl:MgCl<sub>2</sub>, cu 70,8% pentru probele fermentate în soluție salină de NaCl:KCl și cu 93,65% pentru probele fermentate în soluție salină de KCl:MgCl<sub>2</sub>. Rezultate similare au fost raportate de Yousefi ș.a. (2025), care au constatat că, după o lună de fermentare, aciditatea titrabilă a castraveților murați cu diferite tipuri soluții saline a crescut în această perioadă.

### **Evoluția texturii materialelor vegetale în timpul fermentării**

În tabelul 3-2 se regăsesc valorile parametrilor de textură ai merelor verzi determinați pe o durată de fermentare de 35 zile. Ca și în cazul tomatelor necoapte, se constată o scădere continuă a tuturor valorilor acestor parametri, evoluție mai accentuată în cazul merelor fermentate în soluție de KCl:MgCl<sub>2</sub>. Fermitatea prezintă valori cuprinse între  $6,17 \pm 0,48$  N, pentru merele proaspete și  $3,94 \pm 0,18$  N (pentru merele fermentate în soluție de NaCl:KCl) și  $3,47 \pm 0,32$  N (pentru probele fermentate în soluție de KCl:MgCl<sub>2</sub>), ceea ce reprezintă, în valori procentuale, scăderi cu 36,14, respectiv, 40,52 și 43,76%.

*Tabelul 3-2 Valorile parametrilor de textură pentru merele verzi*

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

| Tip de saramură    | Parametri texturali | Perioada de fermentare, zile |                |                |                |                |                |
|--------------------|---------------------|------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                    |                     | 0                            | 7              | 14             | 21             | 28             | 35             |
| Na:Mg <sub>2</sub> | Fermitate, N        | 6,17±0,48<br>A               | 5,77±0,39<br>A | 5,20±0,17<br>A | 4,71±0,26<br>B | 4,11±0,13<br>C | 3,94±0,18<br>C |
|                    | Coezivatitate       | 0,69±0,01<br>A               | 0,60±0,05<br>B | 0,52±0,03<br>C | 0,45±0,01<br>D | 0,41±0,02<br>E | 0,38±0,01<br>E |
|                    | Elasticitate, mm    | 3,87±0,38<br>A               | 2,99±0,21<br>B | 2,69±0,11<br>B | 2,46±0,12<br>C | 2,19±0,09<br>D | 2,02±0,03<br>D |
|                    | Masticabilitate, mJ | 4,48±0,61<br>A               | 3,93±0,13<br>A | 3,43±0,16<br>B | 2,58±0,01<br>C | 2,38±0,03<br>D | 2,10±0,07<br>E |
| Na:K               | Fermitate, N        | 6,17±0,48<br>A               | 5,32±0,28<br>B | 4,97±0,17<br>B | 4,54±0,07<br>C | 3,91±0,18<br>D | 3,67±0,27<br>E |
|                    | Coezivatitate       | 0,69±0,01<br>A               | 0,57±0,01<br>B | 0,48±0,02<br>C | 0,42±0,02<br>D | 0,36±0,01<br>E | 0,33±0,01<br>E |
|                    | Elasticitate, mm    | 3,87±0,38<br>A               | 2,59±0,17<br>B | 2,34±0,23<br>C | 2,02±0,13<br>D | 1,94±0,24<br>E | 1,82±0,17<br>E |
|                    | Masticabilitate, mJ | 4,48±0,31<br>A               | 3,52±0,20<br>B | 3,27±0,05<br>C | 2,47±0,15<br>D | 2,18±0,12<br>E | 1,96±0,05<br>E |
| K:Mg <sub>2</sub>  | Fermitate, N        | 6,17±0,48<br>A               | 5,13±0,19<br>B | 4,49±0,16<br>C | 4,40±0,19<br>D | 3,59±0,35<br>E | 3,47±0,32<br>E |
|                    | Coezivatitate       | 0,69±0,01<br>A               | 0,52±0,02<br>B | 0,45±0,01<br>C | 0,39±0,02<br>D | 0,32±0,01<br>E | 0,29±0,04<br>E |
|                    | Elasticitate, mm    | 3,87±0,38<br>A               | 3,32±0,13<br>B | 3,04±0,12<br>C | 1,93±0,16<br>D | 1,78±0,17<br>E | 1,53±0,09<br>E |
|                    | Masticabilitate, mJ | 4,48±0,61<br>A               | 3,47±0,16<br>B | 3,07±0,20<br>C | 2,32±0,13<br>D | 1,99±0,15<br>E | 1,61±0,14<br>E |

Pentru coezivatitate se remarcă scăderi de la  $0,69 \pm 0,01$ , pentru proba proaspătă, până la  $0,38 \pm 0,01$ ,  $0,33 \pm 0,01$  și  $0,29 \pm 0,04$  pentru probele fermentate. Elasticitatea scade de la  $3,87 \pm 0,38$  mm, pentru proba proaspătă, până la  $2,02 \pm 0,03$  mm, respectiv  $1,82 \pm 0,17$  mm și  $1,53 \pm 0,09$  mm. Pentru masticabilitate, scăderile sunt între 53,13 și 64,06%. Literatura de specialitate prezintă puține date referitoare la parametrii texturali ai materialelor vegetale fermentate, cele mai multe făcând referire la castraveți (McMurtrie și Johanningsmeier, 2018) sau la varză (Kim et al., 2017), rezultatele fiind comparabile.

### **3.3.2. Rezultatele analizei fitochimice**

#### **Activitatea antioxidantă**

De activitatea antioxidantă a produselor alimentare este dependentă starea de sănătate a consumatorilor. Prin diferitele tipuri de procesare a materiilor vegetale poate crește activitatea antioxidantă a materiilor prime vegetale. Acest fenomen se poate produce prin ruperea pereților celulari și eliberarea de compuși cu valoare biologică ridicată.

În figurile 3-11 și 3-12 sunt prezentate evoluțiile activității antioxidante (AA) a tomatelor verzi și respectiv a merelor verzi pe perioada fermentării și depozitării.

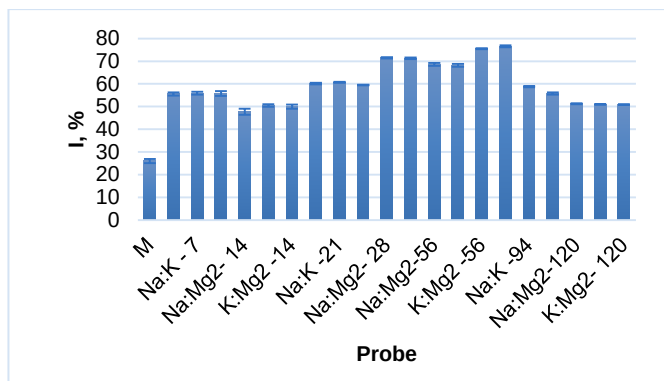


*Figura 3-11 Evoluția activității antioxidante a tomatelor verzi pe perioada fermentării și depozitării*

Diferite studii au investigat efectele antioxidante ale compușilor bioactivi, implicit CTP, CTF,  $\beta$ -caroten, licopen, clorofile și alți compuși similari pentru a examina activitatea antioxidantă a unor probe de produse fermentate (Aludatt ș.a., 2013; Fukumoto & Mazza, 2000). Astfel, în ceea ce privește activitatea antioxidantă ca inhibiție de DPPH, toate probele de tomate verzi fermentate au înregistrat valori care depășesc 50%. Cele mai mari valori fiind atinse în cazul tomatelor verzi fermentate la 56 de zile cu K:Mg<sub>2</sub> ( $75,51 \pm 0,28\%$ ) și respectiv la 94 de zile cu Na:Mg<sub>2</sub> ( $76,59 \pm 0,46\%$ ) prin comparație cu alte rezultate pentru tomate verzi fermentate la 60,9  $\pm$  0,4% (Aludatt ș.a., 2016). Este cunoscut faptul că, fermentația naturală poate îmbunătăți AA a vegetalelor, astfel într-un studiu în care se fermentează controlat ciuperci *Pleurotus eryngii* cu *Lactobacillus plantarum* valori similare a inhibiției DPPH sunt raportate (Wang ș.a., 2021). Ce este de subliniat în prezentul studiu este că fermentația este realizată natural cu microflora spontană specifică fermentației lactice.

Activitatea antioxidantă a tuturor probelor urmează același trend ca și în cazul compușilor bioactivi implicați, astfel: activitatea antioxidantă pentru ziua a 14 -a de fermentare indică valori scăzute (47-51%) a AA și care sunt similare cu cele înregistrate pentru ziua de depozitare 120 zile (aproximativ 51%), pentru toate tipurile de soluții saline folosite. La creșterea AA poate participa acidul lactic sau chiar bacteriile lactice în sine, care posedă mecanisme enzimactice sau non-enzimactice, care minimizează generarea speciilor reactive de oxigen la niveluri neofensive pentru celulă (Lee, 2018).

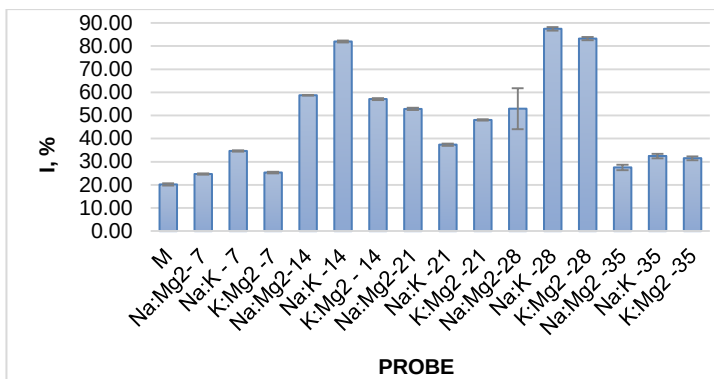


*Figura 3-12 Evoluția activității antioxidante a merelor verzi pe perioada fermentării și a depozitării*

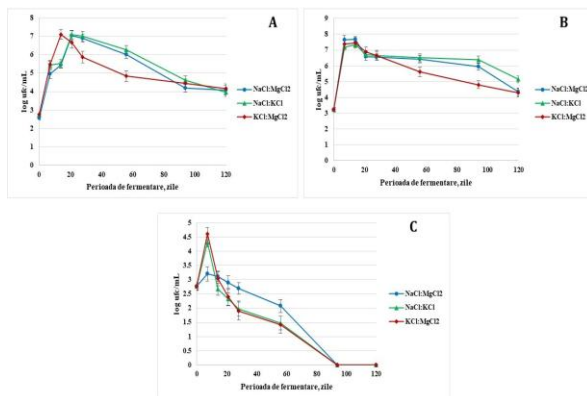
Există o corelație puternică între valorile conținutului de  $\beta$ -caroten și valorile obținute pentru activitatea antioxidantă a merelor verzi fermentate exprimată ca inhibiție de DPPH, evidențiată în special la 14, respectiv 28 de zile de fermentare pentru toate tipurile de soluție salină utilizată. Astfel, este evidentă prezența inhibitorilor radicalilor liberi implicați în limitarea stresului oxidativ, care este direct responsabil de producerea bolilor cronice ori dezvoltarea unor boli de natură genetică (Fiedor & Burda, 2014).

Valori similare cu cele prezentate pentru AA de peste 30% au fost raportate într-un alt studiu, în care sucul de mere este fermentat cu *Saccharomyces cerevisiae* și *Lactobacillus plantarum* și se remarcă, că este îmbunătățită activitatea antioxidantă a produselor supuse fermentației (Li ș.a., 2021).

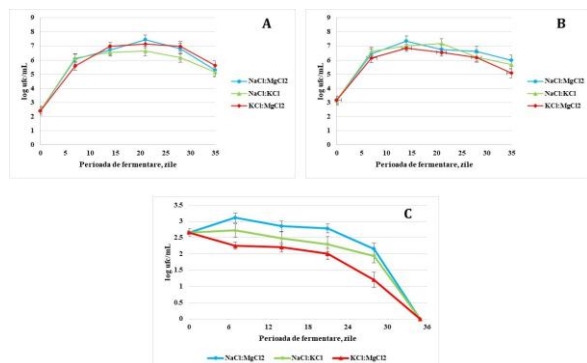
### **3.3.3. Rezultatele analizei microbiologice**

În cadrul acestui studiu s-a urmărit cum procesul de fermentare influențează microbiota bacteriile lactice, drojdiile, mucegaiurile și bacteriile aerobe mezofile pe perioada de depozitare. Evoluția microbiologică a probelor vegetale analizate (gogonele și mere) este prezentată în figura 3-13 (a și b). În timpul fermentării naturale a produselor vegetale în diferite soluții saline pot fi identificate patru etape de dezvoltare microbiană: inițierea, fermentația primară, fermentația secundară și deteriorarea post fermentare (Pérez-Díaz ș.a., 2019).

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**



**a)**



**b)**

**Figura 3-13 Microbiota probelor de tomate necoapte (a) și mere verzi (b) fermentate în diferite soluții saline: bacterii lactice (A), bacterii aerobe mezofile (B) și drozii și mucegaiuri (C)**

După cum se observă în figura 3-13 (A), atât în cazul gogonelelor cât și în cazul merelor numărul total de bacterii lactice a crescut rapid până în a 7-a zi pentru toate probele. Numărul total de bacterii lactice a avut o valoare constantă din ziua a 7-a până în ziua a 21-a crescând pentru probele. La sfârșitul perioadei de depozitare, după 120 de zile în cazul gogonelelor respectiv după 35 de zile în cazul merelor a fost observată o scădere a numărului de bacterii lactice pentru toate probele testate. Reducerea numărului total de bacterii lactice în probe după cea de-a 21-a zi a fermentare poate fi asociată cu faptul că bacteriile lactice pot avea un ciclu metabolic scurt, toleranță redusă la sare și rezistență la acid (Wouters ș.a., 2013). Deoarece pH-ul (figura 3-4) probelor a scut sub valoarea de 4,6 sau chiar mai

## **Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

jos, nu a permis ca majoritatea microorganismelor patogene și de alterare să supraviețuiască.

Constatările noastre, care sunt în concordanță cu cercetările realizate anterior, indică faptul că KCl din soluțiile salină care o conțin, inhibă creșterea majorității tulpinilor de LAB (Karimi ș.a., 2012). Acest lucru poate fi atribuit parțial faptului că NaCl exercită o influență mai mare asupra activității apei decât KCl (Zhang ș.a., 2020). Întrucât fiecare produs alimentar are specificități compoziționale și microbiologice unice care trebuie luate în considerare, înlocuirea parțială a NaCl cu KCl sau  $MgCl_2$ , în raport de 1:1, nu ar trebui să fie o regulă generală în acest sens (Ndiaye ș.a., 2024).

Bacteriile aerobe mezofile figura 3-13 (B) ale gogonelelor și merelor fermentate cu diferite tipuri de soluții salină au variat în timpul depozitării. Probele de gogonele obținute cu o soluție salină NaCl:KCl conținând concentrația cea mai ridicată de celule ( $3,23\text{--}5,15 \log \text{ ufc/mL}$ ). Merele fermentate cu soluție salină KCl: $MgCl_2$  au înregistrat cel mai mic număr de bacterii aerobe mezofile ( $5,08 \log \text{ ufc/mL}$ ) după 35 de zile de depozitare. Numărul de bacterii aerobe mezofile pentru toate probele analizate poate fi considerat sigur dacă numărul de bacterii aerobe este de până la  $5 \log \text{ ufc/mL}$  (Pérez-Díaz ș.a., 2019).

Cel mai mic număr de drojdii și mucegaiuri a fost observat în cazul probelor (atât pentru gogonele cât și pentru mere) fermentate cu soluție salină KCl: $MgCl_2$  ( $2,20 \log \text{ ufc/mL}$  în cazul merelor și  $3,04 \log \text{ ufc/mL}$  în cazul gogonelelor) după 14 zile de fermentare (figura 3-13 (C)). Potrivit studiilor, drojdiile pot crește la un pH relativ scăzut și în concentrații slabe de acid lactic (Aljahani, 2020). După 35 de zile în cazul merelor respectiv după 94 de zile în cazul gogonelelor, numărul de drojdii pentru toate probele testate a fost sub limita de detectare.

### **3.4. Concluzii parțiale**

Studiul de față a avut ca obiectiv principal analiza influenței mediului de fermentare asupra tomatelor necoapte și asupra merelor verzi. Pentru realizarea acestui obiectiv au fost stabilite trei obiective specifice, care au vizat analiza transformărilor acestor materiale vegetale din trei puncte de vedere diferite: fizico-chimic, fitochimic și microbiologic. Din punct de vedere fizico-chimic s-a analizat evoluția masei, a conținutului de substanță uscată, a salinității, a pH-ului și a acidității titrabile, a texturii și culorii.

Substanța uscată a înregistrat o scădere în primele 28 de zile de fermentare, atât pentru tomate cât și pentru mere, indiferent de tipul de soluție utilizată pentru fermentare. După acest interval, valorile substanței uscate cresc, ca urmare a transferului de masă între soluție și materialele vegetale.

Valorile pH-ului au înregistrat o scădere bruscă în primele 7 zile pentru toate probele, urmată de o scădere mai lentă, dar continuă până la sfârșitul intervalului analizat. Această evoluție poate fi corelată cu creșterea acidității titrabile, în mod continuu, pe toată durata procesului de fermentare. Pentru gogonele, cea mai mare creștere a acidității titrabile a fost înregistrată pentru probele fermentate în soluție de NaCl: $MgCl_2$ , iar pentru mere, pentru ce fermentate în soluție de NaCl:KCl.

## **Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

Din punct de vedere textural, s-a remarcat o scădere a valorilor tuturor parametrilor pe durata întregului proces. Din analiza evoluției acestor parametri se poate concluziona faptul că textura tomatelor verzi a fost cel mai bine conservată de către soluția de  $\text{NaCl}:\text{MgCl}_2$  iar cea merelor de soluția de  $\text{NaCl}:\text{KCl}$ .

În ceea ce privește parametrii de culoare, se poate remarca tranziția din zona verde către zona roșie a parametrului  $a^*$  pentru toate probele și scăderi ale componentei galbene  $b^*$ , ceea ce corespunde unei transformări a culorii din verde viu în verde măsliniu. Această transformare este cea mai evidentă în primele 14 zile de fermentare. Pentru tomate, luminozitatea și saturația culorii au fost cel mai puțin afectate de către soluția de  $\text{NaCl}:\text{MgCl}_2$ . Pentru mere, luminozitatea a fost protejată de soluțiile care conțin săruri de magneziu, în timp ce saturația a fost mai intensă în cazul soluției de  $\text{NaCl}:\text{KCl}$ .

Sub aspect fitochimic, a fost analizată concentrația de flavonoide totale, polifenoli totali și carotenoide totale. Compușii fitochimici au variații diferite pe parcursul intervalelor analizate, manifestate prin creșteri și descreșteri succesive, datorate proceselor biochimice de descompunere sau de sinteză care se desfășoară cu viteze variate în diferitele momente ale fermentării. Ca tendință generală, însă, poate fi remarcată creșterea concentrației tuturor compușilor acestor compuși. Cel mai mare conținut de flavonoide a fost înregistrat în ziua a 120a pentru probele fermentate în soluție de  $\text{KCl}:\text{MgCl}_2$ , pentru tomate și în ziua a 14a pentru probele fermentate în soluție de  $\text{NaCl}:\text{KCl}$  în cazul merelor. Activitatea antioxidantă a probelor analizate, este corelată cu concentrația compușilor bioactivi.

Pentru toate speciile de microorganisme analizate au fost puse în evidență cele patru stadii de dezvoltare specifice (inițiere, fermentație primară, fermentație secundară și deteriorare post fermentare), atât în cazul tomatelor cât și al merelor. Cel mai mare număr de bacterii lactice raportat în ultima zi a intervalului de studiu, respectiv, 120 zile pentru gogonele și 35 de zile pentru mere, în cazul probelor fermentate în soluție  $\text{KCl}:\text{MgCl}_2$ , probabil ca urmare a efectului inhibitor pe care îl are sodiul asupra microorganismelor. În același timp însă acest amestec a determinat și cel mai mic număr de drojdii și mucegaiuri precum și de bacterii aerobe mezofile.

## **CAPITOLUL 4. Moderarea matematică a proceselor de fermentare**

### **4.1. Introducere**

În procesul de fermentare factori ca temperatura (Hua ș.a., 2022; Hu ș.a., 2022), pH – ul (Wu ș.a., 2017; Gao ș.a., 2021), oxigenul dizolvat (Rodriguez ș.a., 2017), condițiile nutriționale (sursa de azot (Su ș.a., 2021), sursa de carbon (Birgen ș.a., 2019), sărurile minerale și vitaminele (Comelli ș.a., 2016)), strategia de hrănire (Huang ș.a., 2023) și alții vor avea un impact

puternic asupra randamentului produselor finite, și ar trebui optimizați pentru a exploata pe deplin capacitatea de producție a microorganismelor (Wang ș.a., 2025). Datorită interacțiunii complexe și dinamice dintre microorganisme și mediul de fermentare, aplicarea modelelor de mecanisme pentru a reflecta efectele specifice ale diferitelor condiții de fermentare și a simula funcționarea sistemului de fermentare reprezintă o mare provocare (Pennington și Zhang, 2023).

De exemplu, modelele cinetice ale procesului de fermentare sunt modele matematice care pot descrie: creșterea celulară, utilizarea substratului și generarea de produși de metabolism (Almquist ș.a., 2014). Cu toate acestea, aceste modele se confruntă adesea cu dificultăți în a reprezenta pe deplin procesele metabolice interne complexe din cadrul microorganismelor și nu reușesc întotdeauna să prezică impactul factorilor dincolo de concentrația substratului.

Prin urmare, modelele empirice sunt adesea utilizate pentru a reprezenta relațiile intrare-ieșire dintre diverși factori și rezultatele fermentației (Wang ș.a., 2025). Modelele empirice sunt considerate modele de tip „cutie neagră” care nu iau în considerare mecanismele interne, iar metodele de învățare automată (MÎA), un subset al inteligenței artificiale (IA), sunt utilizate în mod obișnuit pentru a construi astfel de modele (Asrul ș.a., 2022). MÎA se referă la utilizarea datelor empirice și a algoritmilor specifici permițând calculatoarelor să genereze modele de funcții predictive (Jordan și Mitchell, 2015). Acest proces se bazează pe variabilele din datele de antrenament, derivând astfel relații statistice între aceste variabile.

După obținerea datelor aferente procesului de fermentație, algoritmi de învățare automată pot fi utilizați pentru construirea de modele cu ajutorul cărora să se poată prezice rezultatele fermentației în diverse condiții. Pentru realizarea acestui deziderat este necesar un anumit nivel de competență în statistica matematică și tehnologia informatică.

**Metoda Suprafeței de Răspuns (MSR)** este o metodă care face parte din MÎA, și care încearcă să găsească o relație între variabilele de intrare și variabilele de ieșire. MSR este considerată o metodă de modelare simplă și eficientă, care poate fi completată cu ajutorul unui software adecvat de analiză statistică (Berger ș.a., 2017). Pe baza pantei și formei suprafeței de răspuns, este posibil să se observe influența fiecărui factor și interacțiunile dintre aceștia. Cu ajutorul ecuației de regresie obținută, se pot prezice apoi condițiile optime de fermentare (Zhang ș.a., 2013; Ding ș.a., 2017; Fahimitabar ș.a., 2021; Gares ș.a., 2023).

**Rețelele Neuronale Artificiale (RNA)** sunt o metodă destul de populară pentru generarea de date optimizate sau pentru simularea unor procese, pot fi eficiente acolo unde nu există alte metode de a distinge eventualele diferențe dintre date. Analiza datelor cu ajutorul RNA are o acuratețe mai mare decât orice metodă statistică clasică sau metodele de regresie. Lucrează cu modele empirice nonliniare, pe care se bazează în special în procesul de **învățare**. Sunt capabile să învețe toate interacțiunile posibile dintre variabilele de proces, utile în realizarea de aproximări funcționale, recunoașterea tiparelor și predicție.

**Obiectivul general** al prezentului studiu a fost modelarea matematică a proceselor de fermentare utilizând metoda suprafeței de

răspuns și rețelele neuronale artificiale (RNA). **Obiectivele specifice** ale studiului au fost selectate pe baza aspectelor tehnologice ale procesului de fermentare lactică a tomatelor și merelor verzi, în prezența substituției totale respectiv parțiale a NaCl cu KCl și MgCl<sub>2</sub>. Acestea sunt:

- determinarea ecuației care descrie procesul studiat și a coeficienților atașați variabilelor independente (factori) care sunt stabiliți cu ajutorul analizei de regresie.
- modelarea, optimizarea și validarea procesului de fermentație lactică utilizând Metoda Suprafeței de Răspuns (MSR), evidențiind astfel efectele valorilor parametrilor selectați asupra procesului de fermentare lactică și interacțiunea dintre aceștia.
- aplicarea RNA pentru a evalua adaptabilitatea datelor obținute, interdependențele dintre combinațiile de săruri utilizate la fermentarea tomatelor verzi și a merelor verzi și timpul de fermentație în raport cu rezultatele obținute pentru compușii bioactivi determinați prin analiză empirică.

## **4.2. Materiale și metode**

Pentru modelarea datelor obținute în urma procesului de fermentație lactică a tomatelor și merelor verzi s-a optat pentru folosirea Metodei Suprafeței de Răspuns (MSR), utilizându-se un Design Box-Behnken (BBD) cu trei factori, trei niveluri și trei replici în punctele centrale. MSR este o metodă statistică de identificare și cuantificare a legăturii care există între una sau mai multe variabile independente și o variabilă dependentă. Au fost efectuate 15 experimente, iar datele colectate au fost modelate cu ajutorul unui model polinomial de gradul doi, care a fost descris de **Ecuația 4.1.**:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (4.1.)$$

în care:

- Y este răspunsul dat de model pentru variabila dependentă;
- $\beta_0$  – constantă;
- $X_1, X_2, X_3$  – variabile independente;
- $\beta_1, \beta_2, \beta_3$  – coeficienți de regresie ai termenilor liniari;
- $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$  – coeficienți de regresie ai termenilor de interacțiune;
- $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$  – coeficienți de regresie ai termenilor pătratici.

Cele trei variabile independente folosite au fost: perioada de fermentare ( $X_1$ ), pH – ul ( $X_2$ ) și cantitatea de ioni de sodiu/potasiu/magneziu ( $X_3$ ), în timp ce conținutul de bacterii lactice (BL), conținutul total de polifenoli (CTP), activitatea antioxidantă (AA), fermitatea (F), luminozitatea ( $L^*$ ) și indicele de îmbrunare (IÎ) au fost considerate variabile dependente.

Pentru optimizare și validare a fost utilizată funcția de optimizare a răspunsului disponibilă în cadrul software-ului Design – Expert versiunea 13.0 (Stat-Ease, Minneapolis, MN). Cu ajutorul analizei ANOVA aplicată modelului pătratic redus, s-a putut stabili semnificația modelelor și a variabilelor independente în ecuația polinomială de gradul doi, utilizând un nivel de semnificație  $\alpha = 0,05$ . Pentru evaluarea calității modelelor, au fost folosiți următorii indicatori statistici: coeficientul de regresie ( $R^2$ ), coeficientul de

corelație ajustat ( $\text{Adj-R}^2$ ), coeficientul de corelație prezis ( $\text{Pred-R}^2$ ), precizia adecvată (Adeq Precision) și analiza lipsei de potrivire (Lack-of-Fit).

De asemenea s-a optat pentru utilizarea Rețelelor Neuronale Artificiale (RNA) care constau în adaptarea neuronilor la dinamica procesului de fermentație și care pot modela date neliniare complexe în vederea predicționării unor viitoare procese. S-a folosit software-ul [EasyNN-plus V7](#).

Modelul RNA utilizat pentru variantele de tomate verzi, respectiv mare fermentate este un perceptron multistrat (o rețea neuronală de tip feed-forward) cu un *strat de intrare*, un *strat ascuns* și un *strat de ieșire*. Stratul de intrare conține neuroni corespunzători variabilelor independente din experiment. Stratul ascuns constă într-un anumit număr de neuroni (determinat empiric pentru a oferi cea mai bună capacitate de predicție fără supraantrenare – de exemplu, s-au testat 7, 9, 11 neuroni ascunși). Fiecare neuron ascuns calculează o combinație liniară a semnalelor de intrare (suma ponderată a fiecărei intrări plus un termen de bias), asupra căreia aplică o funcție de activare neliniară (de obicei s-a folosit funcția sigmoidă hiperbolică *tanh* în stratul ascuns, pentru a permite modelarea relațiilor neliniare complexe. Stratul de ieșire al rețelei conține câte un neuron pentru fiecare parametru bioactiv de prezis, care efectuează o combinație ponderată a semnalelor provenite de la stratul ascuns și pot folosi o funcție de activare liniară sau sigmoidă, în funcție de necesitatea de a prezice un interval numeric ([https://jmeche.uitm.edu.my/wp-content/uploads/2022/11/20.ICSEST2022-EK5.pdf#:~:text=Levenberg,mM%20TE%2Fg%20dm%2C%20respectively%2C%20as](https://jmeche.uitm.edu.my/wp-content/uploads/2022/11/20.ICSEST2022-EK5.pdf#:~:text=Levenberg,mM%20TE%2Fg%20dm%2C%20respectively%2C%20as).)).

### 4.3. Rezultate și discuții

#### 4.3.1. Proiectarea experimentală a procesului de fermentație a tomatelor verzi

În Tabelele 4-1, 4-2 și 4-3 sunt prezentate nivelul de codificare a variabilelor independente luate în considerare în cazul fermentării tomatelor verzi în soluție de salină cu NaCl/KCl/MgCl<sub>2</sub>. Intervalele propuse pentru fiecare variabilă independentă au fost stabilite pe baza unor studii desfășurate anterior (Mocanu ș.a., 2022).

*Tabelul 4-1 Nivelul de codificare a variabilelor independente luate în considerare pentru proiectarea experimentală – soluție salină cu NaCl*

| Nivelul factorial | Variabile independente        |                |                      |
|-------------------|-------------------------------|----------------|----------------------|
|                   | Perioada de fermentare (zile) | pH             | Ioni de sodiu (mg/g) |
|                   | X <sub>1</sub>                | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub>       |
| -1                | 0                             | 3,440          | 32,90                |
| 0                 | 60                            | 5,745          | 133,5                |
| +1                | 120                           | 8,050          | 234,1                |

*Tabelul 4-2 Nivelul de codificare a variabilelor independente luate în considerare pentru proiectarea experimentală – soluție salină cu KCl*

| Nivelul factorial | Variabile independente |  |  |
|-------------------|------------------------|--|--|
|                   |                        |  |  |

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

|    | Perioada de<br>fermentare (zile) | pH<br>X <sub>2</sub> | Ioni de potasiu<br>(mg/g)<br>X <sub>3</sub> |
|----|----------------------------------|----------------------|---------------------------------------------|
| -1 | 0                                | 3,680                | 40,30                                       |
| 0  | 60                               | 5,925                | 80,35                                       |
| +1 | 120                              | 8,170                | 120,4                                       |

*Tabelul 4-3 Nivelul de codificare a variabilelor independente luate în  
considerare pentru proiectarea experimentală – soluție salină cu MgCl<sub>2</sub>*

| Nivelul factorial | Variabile independente           |                      |                                              |
|-------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------------------------------|
|                   | Perioada de<br>fermentare (zile) | pH<br>X <sub>2</sub> | Ioni de magneziu<br>(mg/g)<br>X <sub>3</sub> |
|                   | X <sub>1</sub>                   |                      |                                              |
| -1                | 0                                | 3,710                | 12,30                                        |
| 0                 | 60                               | 5,685                | 170,45                                       |
| +1                | 120                              | 7,660                | 328,60                                       |

În tabelele 4-4, 4-5 și 4-6 sunt prezentate condițiile experimentale și variabilele dependente studiate pentru fiecare tip de soluție salină.

*Tabelul 4-4 Condițiile experimentale<sup>a</sup> și variabilele dependente studiate –  
gogonele fermentate în soluție salină cu NaCl*

| Nr.<br>ordine | Factor 1<br>X <sub>1</sub> :<br>Perioada<br>de<br>fermenta<br>re (zile) | Factor 2<br>X <sub>2</sub> : pH | Factor 3<br>X <sub>3</sub> : Ioni<br>de<br>sodiu<br>(mg/g) | R <sub>1</sub> : BL<br>(log<br>ufc/mL) | R <sub>2</sub> : CTP<br>(mg<br>EAG/g<br>s.u.) | R <sub>3</sub> : AA<br>(μMol<br>Trolox/g<br>s.u.) | R <sub>4</sub> : F<br>(N) | R <sub>5</sub> :<br>L* | R <sub>5</sub> : Îf |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------|------------------------|---------------------|
| 1             | 60                                                                      | 3,44                            | 32,9                                                       | 5,17                                   | 43,04                                         | 42,84                                             | 6,35                      | 42,89                  | 42,56               |
| 2             | 0                                                                       | 5,745                           | 234,1                                                      | 4                                      | 41,69                                         | 60,33                                             | 5,81                      | 43,89                  | 38,46               |
| 3             | 0                                                                       | 5,745                           | 32,9                                                       | 2,89                                   | 38,96                                         | 42,48                                             | 8,81                      | 44,51                  | 36,22               |
| 4             | 120                                                                     | 3,44                            | 133,5                                                      | 2,35                                   | 30                                            | 18,14                                             | 9,05                      | 46,27                  | 28,02               |
| 5             | 60                                                                      | 8,05                            | 32,9                                                       | 5,5                                    | 54,63                                         | 63,27                                             | 5,88                      | 42,11                  | 45,97               |
| 6             | 60                                                                      | 5,745                           | 133,5                                                      | 5,95                                   | 63,56                                         | 67,31                                             | 4,53                      | 31,37                  | 61,74               |
| 7             | 60                                                                      | 8,05                            | 234,1                                                      | 5,9                                    | 62,18                                         | 66,57                                             | 4,02                      | 36,3                   | 55,87               |
| 8             | 0                                                                       | 3,44                            | 133,5                                                      | 2,1                                    | 29,93                                         | 11,37                                             | 9,15                      | 47,38                  | 30,2                |
| 9             | 60                                                                      | 3,44                            | 234,1                                                      | 5,62                                   | 61,43                                         | 65,98                                             | 4,14                      | 40,39                  | 50,16               |
| 10            | 0                                                                       | 8,05                            | 133,5                                                      | 2,47                                   | 32,09                                         | 22,37                                             | 8,89                      | 45,86                  | 33,39               |
| 11            | 60                                                                      | 5,745                           | 133,5                                                      | 5,8                                    | 65,01                                         | 66,89                                             | 4,66                      | 31,64                  | 62,03               |
| 12            | 120                                                                     | 8,05                            | 133,5                                                      | 3,3                                    | 37,5                                          | 32,6                                              | 8,62                      | 44,71                  | 35,15               |
| 13            | 120                                                                     | 5,745                           | 32,9                                                       | 3,85                                   | 40,13                                         | 55,97                                             | 6,95                      | 44,12                  | 37,54               |
| 14            | 120                                                                     | 5,745                           | 234,1                                                      | 4,95                                   | 42,47                                         | 61,78                                             | 7,17                      | 43,51                  | 40,17               |
| 15            | 60                                                                      | 5,745                           | 133,5                                                      | 5,95                                   | 66,45                                         | 67,49                                             | 4,61                      | 30,64                  | 59,63               |

s.u. – substanță uscată

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

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

*Tabelul 4-5 Condițiile experimentale<sup>a</sup> și variabilele dependente studiate –  
gogonele fermentate în soluție salină cu KCl*

| Nr. ordine | Factor 1<br>X <sub>1</sub> :<br>Perioada<br>de<br>fermenta<br>re (zile) | Factor 2<br>X <sub>2</sub> : pH | Factor 3<br>X <sub>3</sub> : Ioni<br>de<br>sodiu<br>(mg/g) | R <sub>1</sub> : BL<br>(log<br>ufc/mL) | R <sub>2</sub> : CTP<br>(mg<br>EAG/g<br>s.u.) | R <sub>3</sub> : AA<br>(μMol<br>Trolox/g<br>s.u.) | R <sub>4</sub> : F<br>(N) | R <sub>5</sub> :<br>L* | R <sub>5</sub> : Î |
|------------|-------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------|
| 1          | 0                                                                       | 5,925                           | 40,3                                                       | 2,73                                   | 27,29                                         | 36,78                                             | 5,27                      | 54,29                  | 65,72              |
| 2          | 0                                                                       | 5,925                           | 120,4                                                      | 2,99                                   | 29,93                                         | 57,72                                             | 5,19                      | 43,12                  | 53,28              |
| 3          | 60                                                                      | 3,68                            | 40,3                                                       | 2,2                                    | 35,73                                         | 61,93                                             | 4,87                      | 49,11                  | 60,13              |
| 4          | 60                                                                      | 3,68                            | 120,4                                                      | 2,52                                   | 43,11                                         | 80,14                                             | 5,32                      | 57,68                  | 48,01              |
| 5          | 120                                                                     | 5,925                           | 40,3                                                       | 2,94                                   | 28,14                                         | 49,43                                             | 5,2                       | 70,76                  | 60,02              |
| 6          | 60                                                                      | 8,17                            | 120,4                                                      | 3,05                                   | 47,63                                         | 85,39                                             | 4,11                      | 40,17                  | 66,71              |
| 7          | 60                                                                      | 5,925                           | 80,35                                                      | 3,3                                    | 51,35                                         | 91,88                                             | 3,46                      | 32,81                  | 73,28              |
| 8          | 120                                                                     | 8,17                            | 80,35                                                      | 2,88                                   | 26,02                                         | 34,2                                              | 7,33                      | 68,96                  | 46,01              |
| 9          | 60                                                                      | 8,17                            | 40,3                                                       | 2,65                                   | 40,8                                          | 77,29                                             | 4,63                      | 57,29                  | 62,11              |
| 10         | 0                                                                       | 3,68                            | 80,35                                                      | 2,21                                   | 20,33                                         | 11,68                                             | 9,15                      | 47,38                  | 30,3               |
| 11         | 120                                                                     | 5,925                           | 120,4                                                      | 3,12                                   | 32,06                                         | 62,12                                             | 5,02                      | 73,74                  | 69,68              |
| 12         | 60                                                                      | 5,925                           | 80,35                                                      | 3,34                                   | 53,13                                         | 90,17                                             | 3,59                      | 32,66                  | 74,02              |
| 13         | 0                                                                       | 8,17                            | 80,35                                                      | 2,64                                   | 22,05                                         | 30,14                                             | 7,42                      | 43,97                  | 39,12              |
| 14         | 60                                                                      | 5,925                           | 80,35                                                      | 3,25                                   | 54,55                                         | 93,59                                             | 3,57                      | 32,17                  | 73,68              |
| 15         | 120                                                                     | 3,68                            | 80,35                                                      | 2,41                                   | 21,11                                         | 27,04                                             | 8,64                      | 69,47                  | 33,3               |

s.u. – substanță uscată

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

*Tabelul 4-6 Condițiile experimentale<sup>a</sup> și variabilele dependente studiate –  
gogonele fermentate soluție salină cu MgCl<sub>2</sub>*

| Nr. ordine | Factor 1<br>X <sub>1</sub> :<br>Perioada<br>de<br>fermenta<br>re (zile) | Factor 2<br>X <sub>2</sub> : pH | Factor 3<br>X <sub>3</sub> : Ioni<br>de<br>sodiu<br>(mg/g) | R <sub>1</sub> : BL<br>(log<br>ufc/mL) | R <sub>2</sub> : CTP<br>(mg<br>EAG/g<br>s.u.) | R <sub>3</sub> : AA<br>(μMol<br>Trolox/g<br>s.u.) | R <sub>4</sub> : F<br>(N) | R <sub>5</sub> :<br>L* | R <sub>5</sub> : Î |
|------------|-------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------|
| 1          | 60                                                                      | 3,71                            | 12,3                                                       | 3,4                                    | 31,25                                         | 14,18                                             | 8,65                      | 51,56                  | 60,71              |
| 2          | 60                                                                      | 5,685                           | 170,45                                                     | 2,61                                   | 55,19                                         | 54,57                                             | 4,65                      | 69,89                  | 91,37              |
| 3          | 120                                                                     | 7,66                            | 170,45                                                     | 3,56                                   | 31,75                                         | 36,55                                             | 5,21                      | 53,29                  | 56,33              |
| 4          | 60                                                                      | 5,685                           | 170,45                                                     | 2,67                                   | 58,21                                         | 56,18                                             | 4,41                      | 71,65                  | 100,2              |
| 5          | 60                                                                      | 5,685                           | 170,45                                                     | 2,7                                    | 56,85                                         | 55,38                                             | 4,51                      | 72,15                  | 95,79              |
| 6          | 0                                                                       | 3,71                            | 170,45                                                     | 2,5                                    | 29,93                                         | 11,54                                             | 9,15                      | 47,38                  | 30,2               |

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

|    |     |       |        |      |       |       |      |       |        |
|----|-----|-------|--------|------|-------|-------|------|-------|--------|
| 7  | 0   | 7,66  | 170,45 | 2,16 | 28    | 19,14 | 6,11 | 52,56 | 41,56  |
| 8  | 60  | 3,71  | 328,6  | 3,12 | 48,31 | 28,28 | 6,7  | 61,23 | 75,29  |
| 9  | 60  | 7,66  | 328,6  | 3    | 52,96 | 35,71 | 5,36 | 64,11 | 80,17  |
| 10 | 120 | 5,685 | 12,3   | 4,04 | 45,2  | 54,61 | 4,1  | 27,34 | 80,37  |
| 11 | 120 | 3,71  | 170,45 | 2,9  | 25,2  | 26,2  | 7,29 | 50,63 | 33,22  |
| 12 | 0   | 5,685 | 328,6  | 2,77 | 57,45 | 56,84 | 4,05 | 25,03 | 84,35  |
| 13 | 120 | 5,685 | 328,6  | 3,8  | 60,09 | 58,16 | 4    | 31,5  | 103,12 |
| 14 | 0   | 5,685 | 12,3   | 3,15 | 34,65 | 36,1  | 5,62 | 32,89 | 80,32  |
| 15 | 60  | 7,66  | 12,3   | 3,35 | 36,87 | 27,26 | 5,87 | 54,62 | 66,98  |

s.u. – substanță uscată

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

### **Efectul variabilelor independente asupra conținutului de bacterii lactice (BL)**

Studiul de optimizare realizat a avut drept scop determinarea efectului pe care variabilele independente selectate I – a avut asupra conținutului de bacterii lactice. Din Tabelele 4-4, 4-5 și 4-6 se poate observa că, conținutul de BL a variat, în funcție de condițiile experimentale aplicate, de la 2,1 până la 5,95 log ufc/mL (pentru soluția salină cu NaCl), de la 2,2 până la 3,34 log ufc/mL (pentru soluția salină cu KCl) respectiv de la 2,5 la 4,04 log ufc/mL (pentru soluția salină cu MgCl<sub>2</sub>).

Analiza variației (ANOVA) a fost utilizată pentru a evalua efectul variabilelor independente, a interacțiunii lor și a pătratelor acestora asupra variabilei răspuns reprezentată de conținutul de BL. Testul ANOVA a arătat că, coeficientului de corelație R<sup>2</sup> pentru determinarea conținutului de BL a fost de 0,9867 (pentru soluția salină cu NaCl), 0,9919 (pentru soluția salină cu KCl) și de 0,992 (pentru soluția salină cu MgCl<sub>2</sub>), ceea ce arată că o astfel de varianță poate fi explicată cu ajutorul modelului obținut (**Ecuatiile 4.2., 4.3. și 4.4.**). Pe baza valorilor coeficienților de evaluare a calității modelelor (Adj-R<sup>2</sup> și Pred-R<sup>2</sup>) care au avut valori ridicate și apropiate, conform studiilor lui Kishor ș.a., (2006), putem spune că există o bună concordanță între valorile experimentale și cele prezise pentru conținutul de BL.

Precizia adecvată (Adeq Precision) măsoară raportul semnal – zgomot. În cazul prezentelor determinări valoarea Adeq Precision a fost de 17,74 (pentru soluția salină cu NaCl), de 23,53 (pentru soluția salină cu KCl) și de 21,48 (pentru soluția salină cu MgCl<sub>2</sub>) valori care au fost mai mari de 4 ceea ce indică un semnal adecvat (Joshi ș.a., 2015; Pușcaș și Mureșan, 2022; Teixeira ș.a., 2024). Acest aspect confirmă de asemenea faptul că modelele obținute pot fi utilizate pentru a prezice conținutul de BL.

Valoarea ridicată a parametrului F-value, de 41,29 pentru conținutul de BL din soluția cu NaCl, de 67,83 pentru conținutul de BL din soluția cu KCl și de 56,33 pentru conținutul de BL din soluția cu MgCl<sub>2</sub> indică faptul că modelele obținute au semnificație statistică. Parametrii ANOVA au indicat de asemenea faptul că valoarea *p* a regresiei de ordinul doi a fost semnificativă (*p* < 0,05), demonstrând că modelele polinomiale obținute pot fi utilizate

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

pentru modelarea rezultatelor experimentale. Lipsa de semnificație statistică al Lack-of-Fit-ului, confirmă potrivirea și acuratețea datelor experimentale cu valorile răspunsurilor obținute pentru modelele analizate (**Ecuatiile 4.2., 4.3. și 4.4.**).

$$R_1: BL_{\text{soluție salină cu NaCl}} = 5,9 + 0,3737X_1 + 0,2412X_2 + 0,3825X_3 + 0,145X_1X_2 - 0,0025X_1X_3 - 0,0125X_2X_3 - 2,48X_1^2 - 0,86X_2^2 - 0,5075X_3^2 \quad (4.2.)$$

$$R_1: BL_{\text{soluție salină cu KCl}} = 3,3 + 0,0975X_1 + 0,235X_2 + 0,145X_3 + 0,01X_1X_2 - 0,02X_1X_3 + 0,02X_2X_3 - 0,2108X_1^2 - 0,5508X_2^2 - 0,1408X_3^2 \quad (4.3.)$$

$$R_1: BL_{\text{soluție salină cu MgCl}_2} = 2,66 + 0,465X_1 + 0,0188X_2 - 0,1563X_3 + 0,25X_1X_2 + 0,035X_1X_3 - 0,0175X_2X_3 + 0,1712X_1^2 - 0,0513X_2^2 + 0,6088X_3^2 \quad (4.4.)$$

unde:  $X_1$  este perioada de fermentare (zile),  $X_2$  este pH – ul și  $X_3$  este este cantitatea de ioni de sodiu/ de potasiu/ de magneziu (mg/g).

Din ecuațiile de regresie obținute se poate observa că în termeni liniari, în marea majoritate a cazurilor variabilele independente au avut un efect pozitiv asupra conținutului de bacterii lactice, excepție face cantitatea de ioni de magneziu care a avut un efect negativ semnificativ la  $p < 0,01$ .

În termeni de interacțiune bidirecțională, perioada de fermentare și pH – ul au arătat un efect pozitiv, în timp ce interacțiunea dintre pH și conținutul de ioni de sodiu respectiv dintre pH și conținutul de ioni de magneziu au arătat un efect negativ asupra conținutului de bacterii lactice conducând la reducerea vitezei de creștere a bacteriilor lactice și implicit la reducerea activității lor enzimatică. Rezultate similare au fost observate și în studiul realizat de Dalcanton ș.a., (2018) ce a urmărit efectul temperaturii, pH-ului, concentrația de clorură de sodiu respectiv lactat de sodiu asupra vitezei de creștere a lui *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014.

În termeni pătratici, variabilele independente selectate au exercitat un efect negativ asupra conținutului de BL, în timp ce, conform **Ecuatiei 4.3.** perioada de fermentare și conținutul de ioni de magneziu au influențat pozitiv conținutul de BL. În concluzie pe baza coeficienților obținuți, putem spune că modelele matematice generate pot fi utilizate pentru a prezice condițiile optime de dezvoltare a bacteriilor lactice.

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

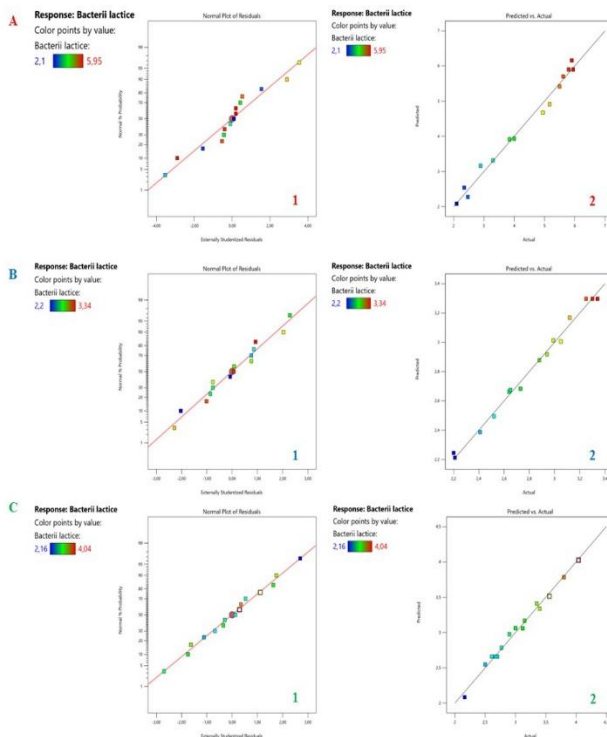


*Figura 4-3 (1) – Diagrama de normalitate a reziduurilor pentru răspunsul conținut de BL și (2) – Corelație între valorile prezise și cele reale pentru răspunsul conținut de BL: A – soluție salină cu NaCl; B – soluție salină cu KCl; C – soluție salină cu MgCl<sub>2</sub>*

În Figura 4-3 (1) este prezentată diagrama de normalitate a reziduurilor pentru răspunsul BL. După cum se poate observa, pentru toate cele trei variante experimentale s-a putut construi o dreaptă prin punctele reprezentate grafic, astfel că presupunerea de normalitate este considerată rațională.

În Figura 4-3 (2) este prezentată corelația între valorile prezise și cele reale pentru răspunsul BL. Toate punctele de date obținute sunt fost apropiate de dreaptă. Mai mult, putem considera că modelele obținute sunt adecvate pentru a prezice conținutul de BL.

Graficele de perturbare evidențiază impactul individual al fiecărei variabile independente studiată ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ) asupra variabilei de răspuns (BL). Analiza curbelor de perturbare generate pentru fiecare factor permit evaluarea efectelor acestora și identificarea celor cu impactul cel mai ridicat asupra

răspunsului. O reprezentare grafică a efectelor parametrilor examinați și a semnificației acestora asupra răspunsului poate fi vizualizată în Figura 4-5.

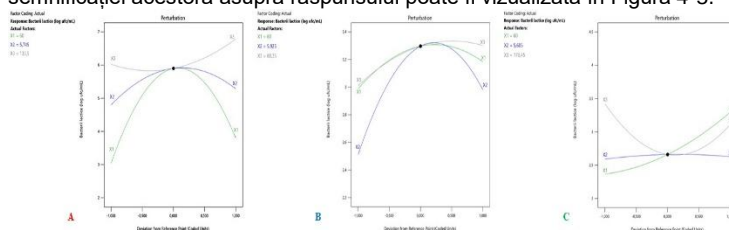


*Figura 4-5 Graficele de perturbație pentru analiza efectului variabilelor independente (perioada de fermentare ( $X_1$ ), pH – ul ( $X_2$ ) și cantitatea de ioni de sodiu/potasiu/magneziu ( $X_3$ )) asupra răspunsului: conținut de BL*

Tipurile de linii dintr-un grafic de perturbații sunt direct legate de tipul de efect pe care parametrul îl are asupra răspunsului. De exemplu, dacă variația acestui parametru determină un comportament linear atunci acesta are o influență mai mică asupra răspunsului. Acest lucru poate fi observat pentru parametrul pH din Figura 4-5 C. Cu alte cuvinte, prin creșterea valorii pH – lui crește și conținutul de bacterii lactice. În al doilea rând, dacă dispunerea valorilor variabilelor independente se prezintă sub forma unei parabole, atunci termenul pătratic al acestui parametru are un efect semnificativ asupra răspunsului. Acest lucru poate fi observat pentru parametrul  $X_1$  (perioada de fermentare) din Figura 4-5 A, B și C, pentru parametrul  $X_2$  (pH) din Figura 4-5 A și B, precum și pentru parametrul  $X_3$  (cantitatea de ioni de sodiu/potasiu/magneziu) din Figura 4-5 A, B și C.

### **Efectul variabilelor independente asupra activității antioxidante (AA)**

Valorile prezise ale activității antioxidante (AA) sunt prezentate în Tabelele 4-4, 4-5 și 4-6. Se poate observa că activitate antioxidantă a probelor de gogonele fermentate, în funcție de condițiile experimentale aplicate, a variat între 11,37 și 66,45  $\mu\text{Mol Trolox/g s.u.}$  în cazul probelor fermentate în soluție salină cu NaCl și între 11,68 și 91,88  $\mu\text{Mol Trolox/g s.u.}$  în cazul probelor fermentate în soluție salină cu KCl. În schimb, pentru probele fermentate în soluție salină cu  $\text{MgCl}_2$ , valorile acestor variabile dependente au variat între 11,54 și 58,16  $\mu\text{Mol Trolox/g s.u.}$

Impactul linear, de interacțiune și pătratic al variabilelor independente ale procesului de fermentație asupra variabilei răspuns AA a probelor de gogonele fermentate în diferite tipuri de soluții saline a fost evaluat prin influența pe care o are fiecare coeficient asupra valorilor  $p$  (Tabelul 4-9). Valoarea  $p$  mai mică de 0,05 ( $< 0,0001$ ), indică faptul că modelele obținute pot fi utilizate pentru modelarea rezultatelor experimentale. Cu alte cuvinte, variabilele independente din modelele obținute (Ecuatiile 4.8., 4.9. și 4.10.) prezintă un efect semnificativ asupra răspunsului.

$$R_3: \text{AA soluție salină cu NaCl} = 67,23 + 3,99X_1 + 5,81X_2 + 6,26X_3 + 0,865X_1X_2 - 3,01X_1X_3 - 4,96X_2X_3 - 25,32X_1^2 - 20,79X_2^2 + 13,23X_3^2 \quad (4.8.)$$

$$R_3: \text{AA}_{\text{soluție salină cu KCl}} = 91,88 + 4,60X_1 + 5,82X_2 + 7,49X_3 - 2,90X_1X_2 - 2,06X_1X_3 - 2,53X_2X_3 - 45,438X_1^2 - 20,76X_2^2 + 5,07X_3^2 \quad (4.9.)$$

$$R_3: \text{AA}_{\text{soluție salină cu MgCl}_2} = 55,38 + 6,51X_1 + 4,83X_2 + 5,86X_3 + 0,645X_1X_2 - 4,30X_1X_3 - 1,41X_2X_3 - 3,50X_1^2 - 28,57X_2^2 - 0,4533X_3^2 \quad (4.10.)$$

Calitatea modelelor statistice și fitarea rezultatelor pentru variabila dependentă AA, sunt evidențiate prin valori  $R^2$ , Adj- $R^2$ , Pred- $R^2$  mai mari de 90%, Adeq Precision mai mare de 4, lipsa semnificației statistice a Lack-of-Fit și valorile ridicate ale lui F-value, de 743,41 pentru soluția salină cu NaCl, de 328,86 pentru soluția salină cu KCl și de 435 pentru soluția salină cu MgCl<sub>2</sub>. Rezultate similare au fost obținute și de Kunarto ș.a., (2023) în cazul băuturii tip Kombucha pe bază de struguri asiatici (*Medinilla speciosa*).

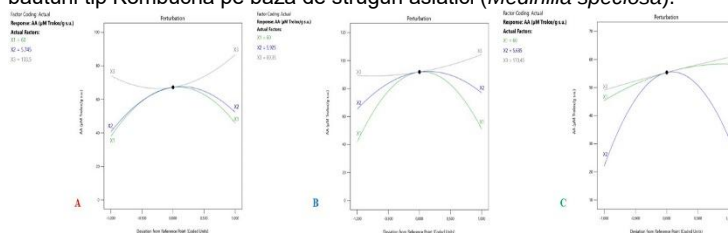


**Figura 4-11 Graficele de perturbație pentru analiza efectului variabilelor independente (perioada de fermentare ( $X_1$ ), pH – ul ( $X_2$ ) și cantitatea de ioni de sodiu/potasiu/magneziu ( $X_3$ )) asupra răspunsului: AA**

Pentru a explora impactul diferitelor variabile independente asupra AA, au fost trasate diagrame de perturbații (Figura 4-11) care sunt folosite ca instrumente pentru compararea tuturor factorilor (variabile independente) în puncte specifice din zona de proiectare specificată. Datele sunt considerate sensibile la un factor dacă linia de pe graficul de perturbații prezintă o pantă abruptă și curbă. În schimb, comportamentul liniar indică faptul că răspunsul este considerat insensibil la modificările cauzate de acel factor specific (Gavril și colab., 2024).

Din investigația noastră, se poate observa că în cazul Figurilor 4-11 A și B toți cei trei factori (perioada de fermentare ( $X_1$ ), pH – ul ( $X_2$ ) și cantitatea de ioni de sodiu respectiv potasiu ( $X_3$ )) au un impact semnificativ asupra activității antioxidante, deoarece aceștia prezintă o formă de curbă Gaussiană. Din Figura 4-11 C factorul principal care are cel mai mare impact asupra activității antioxidante este reprezentat de pH ( $X_2$ ), care prezintă o formă de curbă Gaussiană. Factorii secundari care au o influență mai mică sunt perioada de fermentare ( $X_1$ ) și cantitatea de ioni de magneziu ( $X_3$ ). În plus, se poate observa că aceștia au o pantă mai mică în comparație cu pH – ul, indicând un impact mai mic asupra activității antioxidante.

#### **4.3.2. Optimizarea și validarea variabilelor dependente**

În Tabelul 4-13 sunt prezentate valorile răspunsurilor analizate, obținute în urma realizării a trei fermentații în condițiile optime ale variabilelor

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

independente ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ), prezise de modelul matematic. Aceste condiții au fost sugerate pe baza maximizării răspunsurilor dorite (BL, CTP, AA, F, L\*, Î), conform Figurii 4-18. În Tabelul 4-13 se poate vizualiza valoarea prezisă pentru celor 6 răspunsuri, asociate planurilor experimentale, precum și valorile experimentale care validează condițiile prezise. Combinația celor trei variabile independente studiate, trebuie să conducă la o valoare a „desirability” cât mai apropiată de ideal (1), ceea ce evidențiază faptul că utilizarea acestora va conduce la obținerea răspunsului dorit.

*Tabelul 4-13 Validarea modelelor matematice pentru cele trei planuri  
experimentale*

| Tip<br>soluție<br>salină                              | Variabilă<br>răspuns           | Valoare<br>prezisă | Valoare<br>minimă<br>pentru<br>intervalul<br>de<br>încredere<br>de 95% | Valoare<br>maximă<br>pentru<br>intervalul<br>de<br>încredere<br>de 95% | Valoare<br>experimentală |
|-------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| <b>Soluție<br/>salină<br/>cu NaCl</b>                 | BL, log<br>ufc/mL              | 5,90               | 5,07                                                                   | 6,73                                                                   | $6,02 \pm 0,67^A$        |
|                                                       | CTP , mg<br>EAG/g s.u.         | 65,01              | 54,63                                                                  | 75,38                                                                  | $65,81 \pm 1,13^A$       |
|                                                       | AA, $\mu$ Mol<br>Trolox/g s.u. | 67,23              | 64,53                                                                  | 69,93                                                                  | $68,13 \pm 0,30^B$       |
|                                                       | F, N                           | 4,60               | 3,98                                                                   | 5,22                                                                   | $4,95 \pm 0,10^A$        |
|                                                       | L*                             | 31,22              | 27,59                                                                  | 34,85                                                                  | $31,79 \pm 0,75^B$       |
|                                                       | Î                              | 61,13              | 54,49                                                                  | 67,78                                                                  | $62,18 \pm 1,47^C$       |
| <b>Soluție<br/>salină<br/>cu KCl</b>                  | BL, log<br>ufc/mL              | 3,30               | 3,13                                                                   | 3,46                                                                   | $3,33 \pm 0,11^B$        |
|                                                       | CTP , mg<br>EAG/g s.u.         | 53,01              | 48,05                                                                  | 57,97                                                                  | $55,81 \pm 1,07^C$       |
|                                                       | AA, $\mu$ Mol<br>Trolox/g s.u. | 91,88              | 86,41                                                                  | 97,35                                                                  | $92,11 \pm 1,67^A$       |
|                                                       | F, N                           | 3,54               | 2,84                                                                   | 4,24                                                                   | $3,95 \pm 0,11^B$        |
|                                                       | L*                             | 32,55              | 29,93                                                                  | 35,17                                                                  | $32,89 \pm 0,37^B$       |
|                                                       | Î                              | 73,66              | 71,27                                                                  | 76,06                                                                  | $74,09 \pm 1,47^B$       |
| <b>Soluție<br/>salină<br/>cu<br/>MgCl<sub>2</sub></b> | BL, log<br>ufc/mL              | 2,66               | 2,41                                                                   | 2,91                                                                   | $2,73 \pm 0,11^C$        |
|                                                       | CTP , mg<br>EAG/g s.u.         | 56,75              | 48,76                                                                  | 64,74                                                                  | $60,78 \pm 1,58^B$       |
|                                                       | AA, $\mu$ Mol<br>Trolox/g s.u. | 55,38              | 49,20                                                                  | 61,55                                                                  | $58,66 \pm 1,43^C$       |
|                                                       | F, N                           | 4,52               | 3,67                                                                   | 5,37                                                                   | $4,83 \pm 0,18^A$        |
|                                                       | L*                             | 71,23              | 60,14                                                                  | 82,32                                                                  | $72,89 \pm 0,58^A$       |
|                                                       | Î                              | 95,79              | 82,04                                                                  | 109,53                                                                 | $97,36 \pm 0,61^A$       |

## Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor

Literele mari ca suprascript diferite indică diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ) între probele obținute și analizate în ceea ce privește variabilele răspuns (BL, CTP, AA, F, L\*, IÎ), conform rezultatelor testului Tukey.

În Figura 4-18 (A-1) (B-1) și (C-1) sunt reprezentate graficele cu bare, care evidențiază valorile „*desirability*” pentru factori, răspunsuri și combinația acestora, obiectivul țintă fiind de a înregistra o valoare cât mai apropiată de 1. Graficele de tip rampă (Figura 4-18 (A-2) (B-2) și (C-2)) pentru variabilele independente și dependente pentru cele trei tipuri de soluții salină. Punctele roșii de pe graficele tip rampă, indică zona în care a fost identificată soluția optimă pentru generarea răspunsurilor, în timp ce punctele albastre sunt asociate valorilor impuse în scopul maximizării valorii variabilelor dependente (Pușcaș și Mureșan, 2022).

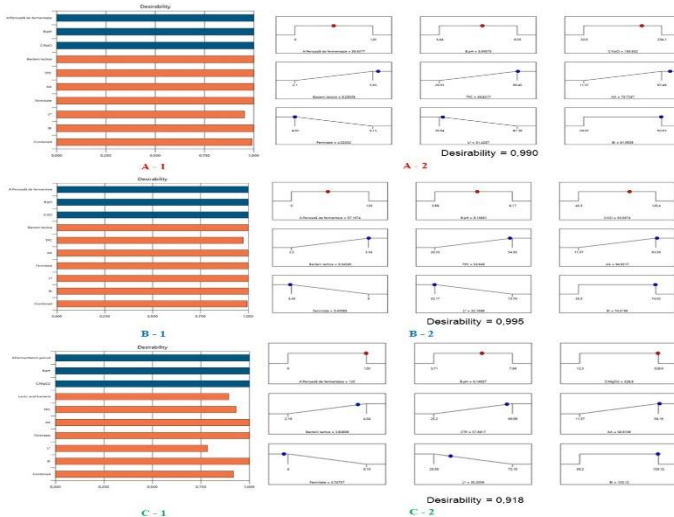


Figura 4-18 Grafice tip bară (1) și tip rampă (2) pentru condițiilor optime de fermentare a gogonelelor în: **A** – soluție salină cu NaCl; **B** – soluție salină cu KCl; **C** – soluție salină cu MgCl<sub>2</sub>

Valorile funcției „*desirability*” pentru combinația tuturor variabilelor a fost de 0,990 pentru probele de gogonele fermentate în soluție salină cu NaCl, de 0,995 pentru probele de gogonele fermentate în soluție salină cu KCl respectiv 0,918 pentru probele de gogonele fermentate în soluție salină cu MgCl<sub>2</sub>, ceea ce demonstrează că, condițiile selectate au fost adevărate.

### 4.3.6. Modelarea datelor pentru merele verzi fermentate cu ajutorul RNA

La fel ca și în cazul tomatelor verzi, s-a păstrat același design format din 4 neuroni de intrare (raportul de săruri și timpul de fermentare), un strat ascuns cu 9 neuroni și 5 neuroni de ieșire (parametri: substanță uscată, conținut total de flavonoide (CTF), conținut total de polifenoli (CTP), inhibiție de DPPH (I),

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

conținut de carotenoide totale (CT) (Figura 4-36). Acest tip de arhitectură **4-9-5** a fost antrenată pe principiul propagării inverse pentru a evidenția influența tipului de săruri adăugate asupra compoziției firochimice, marcate de către parametrii de ieșire (s.u., CTF, P+CTP, CT).

Rețeaua de antrenare a implicat 18 exemple repetitive, ajustând ponderile 4→9 și 9→5 folosind algoritmul de retropropagare. Deoarece cei 9 neuroni sunt perfect conectați la cele 4 intrări și cele 5 ieșiri, rețeaua are un număr exact de 81 de ponderi antrenabile (numărul exact depinde de numărarea separată a conexiunilor de polarizare).

Acest număr crescut de ponderi asociate la 18 cicluri de antrenare înseamnă că rețeaua are suficientă capacitate de a memora datele de antrenare. Analizând arhitectura rețelei neuronale, este sesizabil că neuronii de intrare (marcați cu galben) conectați cu neuronii ascunși (marcați cu albastru) crează legătură clară cu neuronii de ieșire (marcați cu purpuriu). Liniile verzi indică ponderi pozitive, în timp ce liniile roșii reprezintă corelația negativă.

Liniile mai groase indică ponderi cu pondere mai mare, în timp ce liniile foarte subțiri sau punctate indică ponderi aproape de zero (nesemnificative). Această reprezentare dezvăluie ce intrări influențează puternic fiecare neuron ascuns și cum acești neuroni ascunși influențează, la rândul lor, fiecare ieșire.

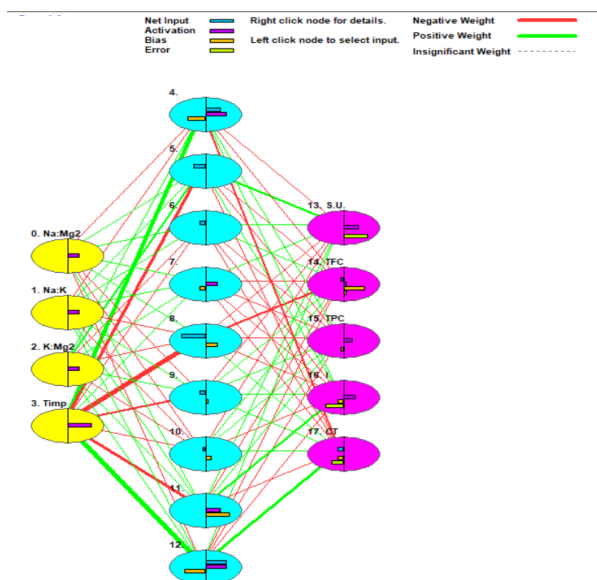


*Figura 4-36 Arhitectura rețelei neuronale*

## **Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

De exemplu, unele conexiuni ascunse sunt verzi marcate cu line groasă (corelație pozitivă puternică) sau roșii (corelație negativă puternică), sugerând că rețeaua a identificat acele caracteristici de intrare ca fiind importante pentru prezicerea anumitor ieșiri. În schimb, unele conexiuni sunt practic eliminate (punctate), ceea ce înseamnă că rețeaua a considerat că acele ponderi nu sunt utile și a ignorat efectiv acele căi. Astfel de modele de ponderi sunt rezultatul învățării de către rețea a relațiilor de date subiacente în timpul antrenamentului de retropropagare. Din vizualizarea ponderilor, putem deduce că rețeaua și-a concentrat probabil capacitatea asupra anumitor relații cheie.

Câțiva neuroni ascunși au mai multe ponderi de intrare puternice (fie pozitive, fie negative), ceea ce înseamnă că acei neuroni au devenit detectori specializați ai unor combinații specifice de intrări (de exemplu, poate un neuron ascuns răspunde puternic la raportul Na:K (intrare 1), în timp ce altul este influențat mai puternic de către timp (intrare 3).

În cazul ieșirilor, modelul verde/roșu de la nodurile ascunse către ieșiri arată cum fiecare ieșire este calculată ca un amestec de semnale neuronale ascunse. Astfel, dacă un nod de ieșire are linii de intrare predominant verzi de la anumiți neuroni ascunși, înseamnă că acei neuroni ascunși contribuie pozitiv la acea ieșire; pe când o linie roșie înseamnă că activarea unui neuron ascuns inhibă sau scade din predicția ieșirii.

În timpul antrenamentului, fiecare ciclu (epocă) prezintă toate cele 18 exemple (eventual într-o manieră online/secvențială) și ar actualizează ponderile. Combinația dintre rata de învățare relativ ridicată (0,6) și impuls (0,8) a însemnat că rețeaua a făcut inițial ajustări mari ale ponderilor, apoi a folosit impulsul pentru a continua să se miște într-o direcție consistentă în spațiul ponderilor.

Procesul de învățare a vizat o eroare medie de antrenament sub 0,01. Într-adevăr, jurnalul de antrenament arată că rețeaua a condus către o eroare foarte scăzută: după aproximativ 701 cicluri de antrenament, eroarea medie a scăzut sub ținta de 0,010 (adică sub 1% pe scara de eroare normalizată). În acest moment, antrenamentul a fost oprit (deoarece criteriul a fost îndeplinit). Obținerea unei erori  $<0,01$  înseamnă că, în medie, predicțiile rețelei au fost extrem de apropiate de valorile țintă pentru datele de antrenare (deoarece ieșirile și țintele au fost probabil normalizate între 0 și 1). În termeni practici, rețeaua învățase cartografierea aproape perfect pentru eșantioanele de antrenament.

În Figura 4-38 se pot observa valorile de ieșire prezise și reale pe setul de antrenare pentru cei cinci parametri de ieșire. Fiecare punct colorat corespunde uneia dintre variabilele de ieșire (s.u., CTF, CTP, I, CT), cu valorile reale și cele prezise normalizate la 0,1. Linia diagonală reprezintă o concordanță perfectă. Observăm că majoritatea punctelor se află foarte aproape de această linie, indicând faptul că predicțiile rețelei se potrivesc aproape cu valorile reale pentru eșantioanele de antrenament.

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

Această potrivire aproape perfectă a datelor de antrenament este un rezultat direct al reducerii erorii de antrenament sub 0,01. Precizia predicției rețelei asupra datelor de antrenament a devenit foarte mare, după cum o demonstrează eroarea scăzută.

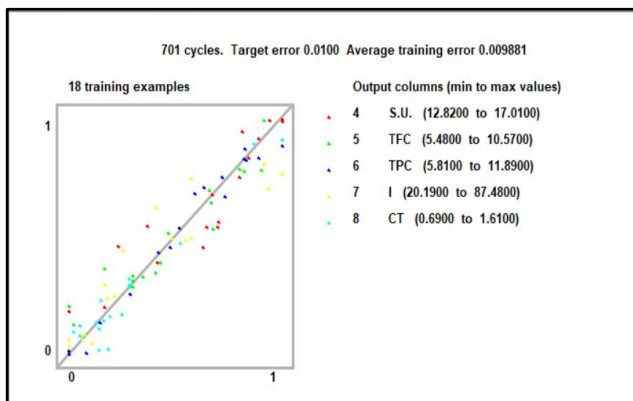


Figura 4-38 Precizia predicției

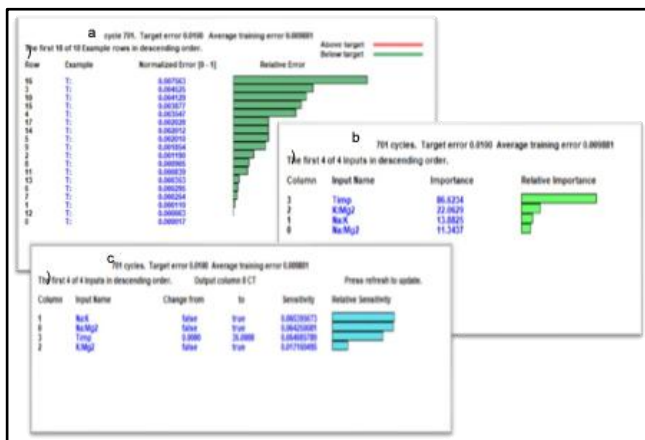


Figura 4-39 Valorile erorii relative normalizate (a), importanței relative (b) și a sensibilității relative (c)

În Figura 4-39 sunt prezentate valorile erorii relative normalizate, importanței relative și a sensibilității relative. Eroarea rețelei neuronale artificiale se calculează ca o medie pătratică a diferențelor între valorile exacte

și cele approximate la simularea funcționării rețelei. RNA furnizează rezultate dependente de eficiența învățării rețelei, iar eroarea medie pătratică obținută este mai mică decât cea generată de metodele de modelare numerică ([https://rria.ici.ro/documents/307/10-art.8-Tudor\\_Moise-OK-3.pdf](https://rria.ici.ro/documents/307/10-art.8-Tudor_Moise-OK-3.pdf)).

Contribuția fiecărei variabile de intrare la predicția variabilelor dependente se referă la importanța relativă a acelei variabile (Agwuq ș.a., 2020). Se poate observa că variabila timp marchează o importanță relativă net superioară tipurilor de soluții saline, fapt ce poate fi corelat cu procesele reale de fermentație date.

Senzitivitatea relativă indică că oriunde există variații corelate cu datele empirice, acuratețea predicției generale rămâne robustă în diferitele scenarii. Aceasta sugerează că modelul propus poate fi generalizat în ciuda distribuției inegale a punctelor (Lv ș.a., 2024).

#### **4.4. Concluzii parțiale**

Pe baza datelor obținute, valoarea  $p$  a regresiei de ordinul doi a fost semnificativă ( $p < 0,05$ ), ceea ce indică faptul că modelele polinomiale obținute sunt precise, putând fi utilizate pentru modelarea rezultatelor experimentale. Pe baza valorii coeficientului  $R^2$ , modelele derivate sunt capabile să explice peste 90% din variația variabilelor dependente selectate.

Graficele de perturbare au putut demonstra care este impactul individual al fiecărei variabile independente studiată (perioada de fermentare –  $X_1$ , pH –  $X_2$  și cantitatea de ioni de sodiu/potasiu/magneziu –  $X_3$ ) asupra variabilelor răspuns selectate.

Modelele matematice obținute atât în cazul tomatoelor cât și în cazul merelor verzi pot explica bine rezultatele experimentale obținute.

Diagrama de probabilități normale a reziduurilor a arătat că punctele reprezentate grafic sunt apropiate de o dreaptă, ceea ce indică faptul că modelele matematice obținute au fost bine ajustate cu rezultatele experimentale.

Relația dintre răspunsurile experimentale și cele prezise arată că marea majoritate a punctelor de date se potrivesc îndeaproape cu dreptele generate, indicând faptul că modelele matematice obținute pot explica bine rezultatele experimentale.

Au fost stabilite condițiile optime atât pentru fermentarea gogonelelor cât și pentru fermentarea merelor verzi în trei tipuri diferite de soluții saline.

Modelul de rețea neuronală artificială dezvoltat pentru tomatele verzi a atins o precizie foarte bună în predicția parametrilor fitochimici, permițând totodată identificarea influenței factorilor de intrare asupra fiecărui parametru.

Eroarea medie finală 0,009995 (sub ținta 0,01) arată că modelul a fost antrenat cu succes pe datele date și a minimizat foarte bine diferența dintre valori prezise și cele reale pe setul de antrenament. Acest nivel de eroare ( $\approx 0,01$  normalizat) poate fi considerat excelent în antrenarea rețelei.

Un avantaj al modelării cu rețele neuronale artificiale constă în posibilitatea de a captura relații neliniare și interdependențe între variabilele de intrare (factorii de proces) și variabilele de ieșire (determinările fitochimice).

## **Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

În acest experiment, variabilele de intrare au fost legate de compoziția sărurilor folosite în saramură (tipul de amestec Na:Mg<sub>2</sub>, Na:K sau K:Mg<sub>2</sub>) și potențial alți factori precum durata fermentării.

O analiză comparativă a celor trei metode de fermentație sugerează că NaCl poate fi substituită total sau parțial cu succes de KCl sau MgCl<sub>2</sub> pentru obținerea acestui tip de produs.

### **Concluzii generale**

Caracteristicile fizico-chimice ale tomatelor verzi și ale merelor fermentate sunt influențate cel mai mult de tipul de material vegetal și de durata de fermentare. Tipul de sare sau combinațiile de săruri influențează în mică măsură aceste caracteristici. Pentru masă, substanță uscată, pH și aciditate se constată aceleași trenduri de evoluție, delimitându-se două intervale distincte: intervalul 0-28 de zile, în care au loc cele mai semnificative variații și intervalul 28-120 zile (pentru tomate), respectiv 28-35 zile (pentru merele verzi), interval în care variațiile sunt mai lente. Aceste intervale coincid cu ciclul de dezvoltare a microorganismelor, fiind direct dependente de acesta. În cazul înlocuirii totale a sodiului, rezultatele cele mai apropiate de ale probei martor (proba în care s-a utilizat clorură de sodiu) au fost obținute de probele cu clorură de magneziu iar în cazul substituirii parțiale cele mai bune rezultate au fost obținute pentru probele realizate în soluție de săruri combinate de sodiu cu magneziu.

Pe toată durata analizată, parametrii texturali ai materialelor vegetale au înregistrat scăderi determinate de destructurarea pereților celulari din țesuturile vegetale. Cele mai mari variații s-au înregistrat în cazul probelor cu potasiu, atât pentru tomate, cât și pentru merele verzi. Aceste rezultate demonstrează efectul protector asupra texturii dat de clorura de sodiu dar și eficiența clorurii de magneziu în cazul scăderii conținutului de sodiu. Același efect benefic al magneziului s-a remarcat și în cazul culorii, probele cu magneziu prezentând cea mai mică variație a luminozității, a parametrilor a\* și b\*.

Din punct de vedere fitochimic se constată că scăderea concentrației de clorură de sodiu nu influențează în mod semnificativ procesele de biosinteză a flavonoidelor, polifenolilor și carotenoidelor. Pe durata proceselor fermentative, atât pentru tomate cât și pentru mere, concentrațiile acestor compuși au prezentat variații succesive, însă la sfârșitul perioadelor analizate acestea au fost mai mari decât în cazul vegetalelor proaspete. Potasiul și magneziul au influențat pozitiv evoluția acestor compuși.

Sub aspect microbiologic s-a remarcat faptul că reducerea conținutului de clorură de sodiu a influențat pozitiv dezvoltarea bacteriilor lactice, evoluție explicabilă prin slaba toleranță a acestora la mediul salin.

Datele rezultate în urma analizei proceselor de fermentație lactică a tomatelor necoapte și a merelor verzi, în condiții hiposodice, au fost evaluate prin generarea unor modele matematice, utilizând metodologia suprafeței de răspuns și pe cea a rețelelor neuronale artificiale. Toate modelele generate au

## **Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

indicat o predicție foarte bună a parametrilor fizico-chimici și fitochimici analizați și permit optimizarea proceselor fermentative ale materialelor vegetale la reducerea conținutului de clorură de sodiu.

Pentru a valida posibilitatea înlocuirii totale sau parțiale a clorurii de sodiu cu clorură de potasiu sau de magneziu în procesele industriale de obținere a vegetalelor fermentate se impun studii suplimentare pentru determinarea impactului asupra acceptabilității și a contraindicațiilor pentru anumite categorii de consumatori

### **Contribuții originale și perspective**

S-a realizat o bază documentară importantă pentru subiectul ales, efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor.

Fermentația lactică a tomatelor și merelor verzi poate fi implicată în profilaxia unor boli digestive, a diabetului zaharat, steanozei hepatice, deasemenea în prevenirea bolilor cardiace și a producerii carcinomului.

S-a validat posibilitatea substituiri clorurii de sodiu cu alte două tipuri de cloruri mai puțin incriminate de potențialele efecte negative asupra sănătății consumatorilor.

S-au obținut 6 variante de produse vegetale (tomate și mere verzi) fermentate utilizând fermentația spontană utilizând ca mediu de fermentare trei tipuri de soluții saline diferite: NaCl, KCl și  $MgCl_2$ .

S-au obținut șase variante de produse fermentate, care nu se regăsesc pe piața românească, respectiv de tomate și mere utilizând trei tipuri de combinații de soluții KCl: $MgCl_2$  și NaCl: $MgCl_2$ .

Scalarea la nivel industrial se poate aplica cu succes în cazul variantelor NaCl: $MgCl_2$  pentru tomate și NaCl:KCl pentru merelor verzi.

La modelarea rezultatelor empirice obținute s-a utilizat un Design Box-Behnken (BBD) cu trei factori, trei niveluri și trei replici în punctele centrale și arhitecturi de rețele neuronale artificiale (RNA).

Ca perspective viitoare ale prezentului studiu pot fi considerate următoarele:

- Utilizarea fermentației controlate la fermentarea tomatelor verzi și a merelor
- Extinderea studiilor postfermentative și monitorizarea principalilor compuși derivați din activitatea microorganismelor implicate
- Optimizarea procesului de fermentare controlată
- Utilizarea altor materiale vegetale autohtone la fermentația lactică cu diferite tipuri sau combinații de soluții saline

## **Lista lucrărilor publicate și prezentate**

### **1. Articole publicate**

1. **Constandache (Lungeanu) Daniela**, Doina-Georgeta Andronoiu, Oana Viorela Nistor, Oana Emilia Constantin, Dana Iulia Moraru, Ira-Adeline Simionov, Elisabeta Botez, and Gabriel-Dănuț Mocanu. 2025. **The Impact of Total Replacement of Sodium Chloride with Potassium and Magnesium Chloride on Pickling of Granny Smith Apples** Applied Sciences 15, no. 7: 3924. <https://doi.org/10.3390/app15073924> - factor de impact 2,5
2. **Constandache (Lungeanu) Daniela**, Doina-Georgeta Andronoiu, Oana Viorela Nistor, Dana Iulia Moraru, Ira-Adeline Simionov, Elisabeta Botez, and Gabriel-Dănuț Mocanu. 2025. **Insights into Native Fermentation Process of Apples (*Malus domestica*) in Low Sodium Conditions** Applied Sciences 15, no. 14: 7799. <https://doi.org/10.3390/app15147799> - factor de impact 2,5
3. **Constandache (Lungeanu) Daniela**, Nistor Oana-Viorela, Mocanu Gabriel-Dănuț, Andronoiu Doina-Georgeta, Botez Elisabeta. 2025. **General Insights into Fruits and Vegetables Lactic Fermentation – a minireview** Innovative Romanian Food Biotechnology, vol 27.

### **2. Lucrări prezentate la conferințe**

1. **Constandache, D.**, Andronoiu, D.G., Nistor, O.V., Mocanu G.D., Botez E., **Influence of sodium chloride substitution on lactic fermentation of vegetables – a review**, Scientific Conference of Doctoral Schools, 10th Edition, 10 – 11 iunie 2022, Galați România, [http://www.cssd-udig.ugal.ro/files/2022/1/Program\\_detaliat\\_al\\_conferintei\\_2022.pdf](http://www.cssd-udig.ugal.ro/files/2022/1/Program_detaliat_al_conferintei_2022.pdf)
2. **Constandache D.**, Andronoiu DG, Mocanu GD, Nistor OV, Constantin OE, Simionov IA, Botez E. **Sodium reduction in green apples (*Malus domestica*) pickling: effects on quality characteristics**. International Congress on Engineering and Sustainability in the XXI Century. 5-7 July 2023, Algarve – Faro, Portugal
3. **Constandache D.**, Andronoiu DG, Nistor OV, Mocanu GD, Botez E. **Evolution of quality characteristics of green tomatoes during fermentation in lowsodium regime**. Multidisciplinary Conference on Sustainable Development Section: Food Chemistry, Engineering & Technology, 25-26 May 2023, Timișoara, România, [https://www.usab-tm.ro/utilizatori/tpa/file/conferinta/2023/01\\_Book%20of%20abstract\\_25%20mai%202023\\_Multidisciplinary%20Conference%20on%20Sustainable%20Development\\_FIA\\_site.pdf](https://www.usab-tm.ro/utilizatori/tpa/file/conferinta/2023/01_Book%20of%20abstract_25%20mai%202023_Multidisciplinary%20Conference%20on%20Sustainable%20Development_FIA_site.pdf)

4. **Constandache D., Andronoiu DG, Mocanu GD, Nistor OV, Botez E. Influence of brine composition on the quality characteristics of pickled green apples (*Malus domestica*).** The 11th Euroaliment International Symposium, 19-20 October 2023, Galați, România
5. **Constandache D., Andronoiu DG, Mocanu GD, Nistor OV, Botez E. Chlorine salt mixtures used for sodium reduction in green tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) pickling: effects on quality characteristics during fermentation.** Scientific Conference of Doctoral Schools – Perspectives and challenges in doctoral research, 8-9 iunie 2023, Galați, <https://cssd-udig.ugal.ro/archive/2023/images/2023/08/Program%20CSSD%202023.pdf>
6. **Constandache D., Doina-Georgeta Andronoiu, Gabriel-Dănuț Mocanu, Oana-Viorela Nistor, Elisabeta Botez. Evaluation of Pickled Green Tomatoes Texture and Color During Storage in Low Sodium Conditions.** Conference of Doctoral Schools – Perspectives and challenges in doctoral research, 6-7 iunie 2024, Galați, [https://cssd-udig.ugal.ro/archive/2024/media/attachments/2024/06/13/program\\_sdsfi\\_s3\\_s7-de-listat-110-buc-1-1.pdf](https://cssd-udig.ugal.ro/archive/2024/media/attachments/2024/06/13/program_sdsfi_s3_s7-de-listat-110-buc-1-1.pdf)
7. **Constandache (Lungeanu) Daniela, Nistor Oana-Viorela, Mocanu Gabriel-Dănuț, Andronoiu Doina-Georgeta, Botez Elisabeta. Study upon the influence low sodium environment on quality characteristics of pickled unripe tomatoes during storage.** Conference of Doctoral Schools – Perspectives and challenges in doctoral research, 12-13 iunie 2025, Galați, [https://www.cssd-udig.ugal.ro/media/attachments/2025/06/20/program-sd-sfi-2025\\_s3-s7.pdf](https://www.cssd-udig.ugal.ro/media/attachments/2025/06/20/program-sd-sfi-2025_s3-s7.pdf)

### **Bibliografie selectivă**

1. Abdel – Aty, A.M., Barakat, A.Z., Bassuiny, R.I., Mohamed, S.A. (2022). Improved production of antioxidant-phenolic compounds and certain fungal phenolic-associated enzymes under solid-state fermentation of chia seeds with *Trichoderma reesei*: response surface methodology-based optimization. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16, 3488–3500, <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01447-6>.
2. Ashaolu, T. J., & Reale, A. (2020). A Holistic Review on Euro-Asian Lactic Acid Bacteria Fermented Cereals and Vegetables. *Microorganisms*, 8(8), 1176. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081176>
3. Asrul, M.A.M., Atan, M.F., Yun, H.A.H., Lai, J.C.H. (2022). A review of advanced optimization strategies for fermentative biohydrogen production processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 47(38), 16785–16804, <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.03.197>.
4. Behera, S. S., El Sheikha, A. F., Hammami, R., & Kumar, A. (2020). Traditionally fermented pickles: How the microbial diversity associated with their nutritional and health benefits? *Journal of Functional Foods*, 70, 103971. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103971>
5. Berger, P.D., Maurer, R.E., Celli, G.B. (2017). Introduction to Response-Surface Methodology În: *Experimental Design With Applications in Management, Engineering, and the Sciences*, pg. 533–584, [https://doi.org/10.1007/9783-319-64583-4\\_16](https://doi.org/10.1007/9783-319-64583-4_16).
6. Castellone, V., Bancalari, E., Rubert, J., Gatti, M., Neviani, E., & Bottari, B. (2021). Eating Fermented: Health Benefits of LAB-Fermented Foods. *Foods*, 10(11), 2639. <https://doi.org/10.3390/foods10112639>
7. Chen, Y., Gong, H., Wang, J., Liu, T., Zhao, M., & Zhao, Q. (2024). Study on the Improvement of Quality Characteristics of Pickles During Fermentation and Storage. *Foods*, 13(24), Articolul 24. <https://doi.org/10.3390/foods13243989>
8. Constandache (Lungeanu), D., Andronoiu, D.-G., Nistor, O. V., Constantin, O. E., Moraru, D. I., Simionov, I.-A., Botez, E., & Mocanu, G.-D. (2025). The Impact of Total Replacement of Sodium Chloride with Potassium and Magnesium Chloride on Pickling of Granny Smith Apples. *Applied Sciences*, 15(7), Articolul 7. <https://doi.org/10.3390/app15073924>
9. Constandache, D., Andronoiu, D.-G., Nistor, O.V., Moraru, D.I., Simionov, I.-A., Botez, E., Mocanu, G.-D. (2025). Insights into Native

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției  
clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**

- Fermentation Process of Apples (*Malus domestica*) in Low Sodium Conditions. *Applied Science*, 15(14), 7799. <https://doi.org/10.3390/app15147799>.
10. De Roos, J., & De Vuyst, L. (2018). Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 115-119. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.007>
11. Degrain, A., Manhivi, V., Remize, F., Garcia, C., & Sivakumar, D. (2020). Effect of Lactic Acid Fermentation on Color, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in African Nightshade. *Microorganisms*, 8(9), 1324. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091324>
12. Erdoğan, A.K., Filiz, B.E. (2023). Menaquinone content and antioxidant properties of fermented cabbage products: Effect of different fermentation techniques and microbial cultures. *Journal of Functional Foods*, 102, 105467, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105467>.
13. Farouk, A., El-Mageed, M.A., Shaaban, H. (2022). Influence of Appropriate Starter Cultures on the Sensory Qualities and Volatiles of Fermented Broccoli and Onion Pickles. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65 (2), 93–101, <http://doi.org/0.21608/ejchem.2021.80141.3998>.
14. Gambir, J., Ishmayana, S., Siahaan, S., Mulyanita, Sulistyaningsih, I.W. (2024). Investigation of total flavonoid, phenolic and antioxidant activity of fermentation broth of fermented climbing swamp fern (*Sthenochlaena palustris*). *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 16(2), 66 – 74, <https://doi.org/10.34302/crpjfst/2024.16.2.5>.
15. Gares, M., Benaissa, A., Hilgsmann, S., Cherfia, R., Flahaut, S., Alloun, W., Djelid, H., Chaoua, S., Kacem Chaouche, N. (2023). Box-Behnken design optimization of xylanase and cellulase production by *Aspergillus fumigatus* on *Stipa tenacissima* biomass. *Mycologia*, 115(4), 437–455, <https://doi.org/10.1080/00275514.2023.2205331>.
16. Gavril, R.N., Constantin, O.E., Enachi, E., Stoica, F., Lipșa, F.D., Stănciuc, N., Aprodu, I., Răpeanu, G. (2024). Optimization of the Parameters Influencing the Antioxidant Activity and Concentration of Carotenoids Extracted from Pumpkin Peel Using a Central Composite Design. *Plants*, 13(11), 1447, <https://doi.org/10.3390/plants13111447>.
17. Gbashi, S., Maselesele, T.L., Njobeh, P.B., Molelekoa, T.B.J., Oyeyinka, S.A., Makhuvele, R., Adebo, O.A. (2023). Application of a generative adversarial network for multi-featured fermentation data synthesis and artificial neural network (ANN) modeling of bitter melon–grape beverage production. *Scientific Reports*, 13, 11755, <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38322-3>.
18. Hua, J., Wang, H., Yuan, H., Yin, P., Wang, J., Guo, G., Jiang, Y. (2022). New insights into the effect of fermentation temperature and duration on catechins conversion and formation of tea pigments and theasinensins in black tea. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 102(7), 2750–2760, <https://doi.org/10.1002/jsfa.11616>.
19. Huang, J., Li, C., Zhao, H., Yu, M., Zhang, A., Fang, B. (2023). Artificial intelligence system for enhanced automated 1,3-propanediol green biosynthesis. *Green Chemistry*, 25(22), 9175–9186, <https://doi.org/10.1039/D3GC01586F>.
20. Janiszewska-Turak, E., Tracz, K., Bielinska, P., Rybak, K., Pobiega, K., Gniewosz, M., Wozniak, Ł., Gramza-Michałowska, A., 2022. The Impact of the

- Fermentation Method on the Pigment Content in Pickled Beetroot and Red Bell Pepper Juices and Freeze-Dried Powders. *Applied Sciences*, 12(12), 5766. <https://doi.org/10.3390/app12125766>.
21. Jordan, M.I., Mitchell, T.M. (2015). Machine learning: trends, perspectives, and prospects. *Science*, 349(6245), 255–260, <https://doi.org/10.1126/science.aaa8415>.
22. Joshi, V.K., Chauhan, A., Devi, S., Kumar, V. (2015). Application of response surface methodology in optimization of lactic acid fermentation of radish: effect of addition of salt, additives and growth stimulators. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 4935–4944, <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1570-9>.
23. Kalinowska, M., Golebiewska, E., Zawadzka, M., Choińska, R., Koronkiewicz, K., Piasecka-Jóźwiak, K., Bujak, M., 2023. Sustainable extraction of bioactive compound from apple pomace through lactic acid bacteria (LAB) fermentation. *Scientific Reports*, 13:19310. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46584-0>.
24. Kesika, P., Thangaleela, S., Sivamaruthi, B. S., Bharathi, M., & Chaiyasut, C. (2022). Fermented Foods and Their Role in Respiratory Health: A Mini-Review. *Fermentation*, 8(4), 162. <https://doi.org/10.3390/fermentation8040162>
25. Kim, S., Park, H., Kim, J., & Moon, B. (2022). Effect of main vegetable ingredient on the glucosinolate, carotenoids, capsaicinoids, chlorophylls, and ascorbic acid content of kimchis. *Journal of Food Composition and Analysis*, 110, 104523. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104523>
26. Kishor, C., Trivedi, U., Patel, K.C. (2006). Application of Response Surface Methodology for Optimization of Lactic Acid Production Using Date Juice. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16(9), 1410 – 1415.
27. Knez, E., Kadac-Czapska, K., & Grembecka, M. (2023). Fermented Vegetables and Legumes vs. Lifestyle Diseases: Microbiota and More. *Life*, 13(4), 1044. <https://doi.org/10.3390/life13041044>
28. Kumar, M., Barbhai, M.D., Esatbeyoglu, T., Zhang, B., Sheri, V., Dhupal, S., Rais, N., Radha, Al Masry, E.M.S., Chandran, D., Pandiselvam, R., Senapathy, M., Dey, A., Deshmukh, S.V., El Sayed Negm, M., Vishvanathan, M., Sathyaseelan, S.K., Viswanathan, S., Mohankumar, P., Lorenzo, J.M., 2022. Apple (*Malus domestica* Borkh.) seed: A review on health promoting bioactivities and its application as functional food ingredient. *Food Bioscience*, 50(Part B), 102155. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102155>..
29. Lee, D.-Y., Park, S.-E., Kim, E.-J., Kim, H.-W., Cho, K.-M., Kwon, S. J., Roh, S. W., Kwak, S., Whon, T. W., Son, H.-S. (2024). A comparative study of the physicochemical, microbial, and metabolic profiling of kimchi during long-term fermentation under varying salinity conditions. *LWT*, 196, 115838. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115838>
30. Li, H., Huang, J., Wang, Y., Wang, X., Ren, Y., Yue, T., Wang, Z., & Gao, Z. (2021). Study on the nutritional characteristics and antioxidant activity of dealcoholized sequentially fermented apple juice with *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* fermentation. *Food Chemistry*, 363, 130351. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130351>

31. Li, Z., Xie, S., Sun, B., Zhang, Y., Liu, K., & Liu, L. (2022). Effect of KCl replacement of NaCl on fermentation kinetics, organic acids and sensory quality of sauerkraut from Northeast China. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(9), e16622. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16622>
32. Lv, W., Xu, Z., Jia, X., Duan, S., Liu, J., Song, X. (2024). Prediction of particle settling velocity in newtonian and power-law fluids using artificial neural network model. *Applied Sciences*, 14(2), 826, <https://doi.org/10.3390/app14020826>.
33. Mani, A., & Paul, P. K. (2020). Effect of Sodium Substitution on Sensory and Quality Parameters in Mango Pickle. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, 45-55. <https://doi.org/10.9734/irjpac/2020/v21i1630259>
34. Minh, N.P., 2022. Effect of Brine fermented Pickling to Physicochemical, Anti-nutritional, and Microbiological Attributes of Pickled gboma Eggplant (*Solanum macrocarpon*). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 16(1), 263-275. <https://doi.org/10.22207/JPAM.16.1.15>
35. Mocanu, G.-D., Nistor, O.-V., Constantin, O.E., Andronoiu, D.G., Barbu, V.V., Botez, E., 2022. The Effect of Sodium Total Substitution on the Quality Characteristics of Green Pickled Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). *Molecules*, 27(5), 1609. <https://doi.org/10.3390/molecules27051609>.
36. Montesinos López, O.A., Montesinos López, A., Crossa, J. (2022). Fundamentals of artificial neural networks and deep learning. În: *Multivariate Statistical Machine Learning Methods for Genomic Prediction*, Springer, Cham, pg. 379–425, [https://doi.org/10.1007/978-3-030-89010-0\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-89010-0_10).
37. Moore, J. F., DuVivier, R., & Johanningsmeier, S. D. (2022). Changes in the free amino acid profile of pickling cucumber during lactic acid fermentation. *Journal of Food Science*, 87(2), 599-611. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15990>
38. Mounir, S., Ghandour, A., Téllez-Pérez, C., Aly, A.A., Mujumdar, A.S., Allaf, K. (2021). Phytochemicals, chlorophyll pigments, antioxidant activity, relative expansion ratio, and microstructure of dried okra pods: Swell-drying by instant controlled pressure drop versus conventional shade drying. *Drying Technology*, 39(15), 2145–2159, <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1756843>.
39. Ndiaye, A., Fliss, I., & Filteau, M. (2024). High-throughput characterization of the effect of sodium chloride and potassium chloride on 31 lactic acid bacteria and their co-cultures. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1328416>
40. Neis, E.R., Covinich, M.M., Scipioni, G.P., 2022. Polyphenol content, color and acceptability of carrot pickles added with yerba mate powder extract. *Brazilian Journal of Food Technology*, 25, e2021013. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.01321>.
41. Öztürk Güngör, F., Özdestan Ocak, Ö., & Ünal, M. K. (2022). Effects of different preservation methods and storage on Spanish-style domat olives fermented with different chloride salts. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(5), e15236. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15236>
42. Pennington, O., Zhang, D. (2023). Comparing different modelling approaches for metabolic network dynamic simulation under uncertainty.

- Computer Aided Chemical Engineering*, 52, 2589–2594,  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15274-0.50411-X>.
43. Pérez-Díaz, I. M., Hayes, J. S., Medina, E., Webber, A. M., Butz, N., Dickey, A. N., Lu, Z., & Azcarate-Peril, M. A. (2019). Assessment of the non-lactic acid bacteria microbiota in fresh cucumbers and commercially fermented cucumber pickles brined with 6% NaCl. *Food Microbiology*, 77, 10-20.  
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.08.003>
44. Pires-Cabral, P., Pires-Cabral, P., Mira, H., & Quintas, C. (2025). The Effect of Calcium in the Fermentation of White Cabbage with *Salicornia*. *Fermentation*, 11(2), 91, <https://doi.org/10.3390/fermentation11020091>
45. Puksza, T., Ociecek, A., Rudnik, K. (2023). Changes in the Pro-Health Potential of Pickled Stone Fruits – Pilot Studies. *Polish Journal of Environmental Studies*, 32(5), 4771 – 4779,  
<https://doi.org/10.15244/pjoes/168802>.
46. Saritaş, S., Portocarrero, A.C.M., López, J.M.M., Lombardo, M., Koch, W., Raposo, A., El-Seedi, H.R., de Brito Alves, J.L., Esatbeyoglu, T., Karav, S., Witkowska, A.M. (2024) The Impact of Fermentation on the Antioxidant Activity of Food Products. *Molecules*, 29(16), 3941,  
<https://doi.org/10.3390/molecules29163941>.
47. Shang, Z., Li, M., Zhang, W., Cai, S., Hu, X., & Yi, J. (2022). Analysis of phenolic compounds in pickled chayote and their effects on antioxidant activities and cell protection. *Food Research International*, 157, 111325.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111325>
48. Wang, Z.-Z., Zeng, D.-W., Zhu, Y.-F., Zhou, M.-H., Kondo, A., Hasunuma, T., Zhao, X.-Q. (2025). Fermentation design and process optimization strategy based on machine learning. *BioDesign, Research*, 7, 100002. <https://doi.org/10.1016/j.bidere.2025.100002>.
49. Wei, L., Van Beeck, W., Hanlon, M., DiCaprio, E., & Marco, M. L. (2025). Lacto-Fermented Fruits and Vegetables: Bioactive Components and Effects on Human Health. *Annual Review of Food Science and Technology*, 16(1), 289-314. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-052924-070656>
50. Widjaja, G., Doewes, R.I., Rudiansyah, M., Sultan, M.Q., Ansari, M.J., Izzat, S.E., Al Jaber, M.S., Kzar, H.H., Mustafa, Y.F., Hammid, A.T., Jalil, A.T., Aravindhana, S., 2022. Effect of tomato consumption on inflammatory markers in health and disease status: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Clinical Nutrition ESPEN*, 50, 93-100.  
<https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2022.04.019>.
51. Ye, Z., Shang, Z., Li, M., Zhang, X., Ren, H., Hu, X., & Yi, J. (2022). Effect of ripening and variety on the physiochemical quality and flavor of fermented Chinese chili pepper (*Paojiao*). *Food Chemistry*, 368, 130797.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130797>
52. Yousefi, M., Arianfar, A., Hakimzadeh, V., & Rafe, A. (2025). Enhancing the Texture and Sensory Properties of Pickled Cucumbers with Different Brine Solutions. *Foods*, 14(3), 336.  
<https://doi.org/10.3390/foods14030336>
53. Youssef, M.E., Bhnsawy, R.M.E., Gabal, S.S., 2017. Production of Low-Sodium Pickles for Hypertensive Patients. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 6(1), 99-106  
(<https://www.curreweb.com/mejar/mejar/2017/99-106.pdf>).

54. Zhao, Y.-S., Eweys, A. S., Zhang, J.-Y., Zhu, Y., Bai, J., Darwesh, O. M., Zhang, H.-B., Xiao, X., 2021. Fermentation Affects the Antioxidant Activity of Plant-Based Food Material through the Release and Production of Bioactive Components. *Antioxidants*, 10(12), 2004. <https://doi.org/10.3390/antiox10122004>.
55. Zinno, P., Guantario, B., Perozzi, G., Pastore, G., & Devirgiliis, C. (2017). Impact of NaCl reduction on lactic acid bacteria during fermentation of Nocellara del Belice table olives. *Food Microbiology*, 63, 239-247. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.001>
56. Zong, K., Jin, F., Wang, D., Hu, H., Cui, H., & Yang, J. (2024). Effects of different pickling methods on physicochemical properties and flavor profiles of Tongling white ginger: Dry-salting, brine-pickling, and inoculation-pickling. *Food Science & Nutrition*, 12(4), 2597-2610. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3942>

**Drd. Ing. Daniela CONSTANDACHE (LUNGEANU) – Efectele substituției clorurii de sodiu în fermentația lactică a vegetalelor**