

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



TEZĂ DE DOCTORAT

STRATEGII INOVATIVE DE REDUCERE A GRADULUI DE ÎMBRUNARE ENZIMATICĂ LA PRELUCRAREA MERELOR ÎN PRODUSE CU FUNCȚIONALITATE RIDICATĂ

(Rezumat)

Drd. ing. Lavinia STAN (căs. BOLDEA)

Președinte:	Prof. univ. dr. ing. Gabriela Elena BAHRIM Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați
Conducător de doctorat	Prof. univ. dr. ing. habil. Nicoleta STĂNCIUC Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați
Referent oficial	Prof. univ. dr. ing. habil. Silvia MIRONEASA Universitatea "Ștefan cel Mare" din Suceava
Referent oficial	Prof. univ. dr. ing. habil. Ersilia Călina ALEXA Universitatea de Științele Vietii "Regele Mihai I" din Timișoara
Referent oficial	Prof. univ. dr. ing. habil. Violeta NOUR Universitatea din Craiova

Seria I 7: Ingineria produselor alimentare nr. 27
GALAȚI
2025

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



TEZĂ DE DOCTORAT

STRATEGII INOVATIVE DE REDUCERE A GRADULUI DE ÎMBRUNARE ENZIMATICĂ LA PRELUCRAREA MERELOR ÎN PRODUSE CU FUNCȚIONALITATE RIDICATĂ (Rezumat)

Drd. ing. Lavinia STAN (căs. BOLDEA)

Președinte:	Prof. univ. dr. ing. Gabriela Elena BAHIM Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați
Conducător de doctorat	Prof. univ. dr. ing. habil. Nicoleta STĂNCIUC Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați
Referent oficial	Prof. univ. dr. ing. habil. Silvia MIRONEASA Universitatea "Ștefan cel Mare" din Suceava
Referent oficial	Prof. univ. dr. ing. habil. Ersilia Călina ALEXA Universitatea de Științele Vietii "Regele Mihai I" din Timișoara
Referent oficial	Prof. univ. dr. ing. habil. Violeta NOUR Universitatea din Craiova

Seria I 7: Ingineria produselor alimentare nr. 27
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 agicultură 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

Fiecare pas, fiecare acțiune și fiecare decizie importantă pe care am luat-o în parcursul meu a fost marcat de oameni; acei oameni care au știut să se îndrepte nu doar cu profesia ci și cu sufletul și privirea asupra mea și a evoluției mele. La finalul stagiului doctoral, doresc să mulțumesc tuturor cadrelor didactice care au contribuit de-a lungul anilor la formarea mea profesională, dar mai cu seama ca **OM**.

Mulțumesc, cu recunoștință și considerație **doamnei Prof. univ. dr. ing. habil. Nicoleta STĂNCIUC, coordonator științific**, pentru răbdarea de care a dat dovada permanent, promptitudinea în răspunsuri, priceperea în coordonarea cercetărilor, profesionalismul demonstrat constant, înțelepciunea dovedită pe parcursul acestor ani de școală doctorală, astfel încât să devin mai motivată pentru finalizarea studiilor. Mulțumesc că ați acceptat să fac parte dintr-un întreg în care m-ați sprijinit constant.

Cu deosebită considerație mulțumesc **comisiei de îndrumare** formată din **Prof. univ. dr. ing. habil. Gabriela RÂPEANU, Prof. univ. dr. ing. habil. Iuliana APRODU, Conf. univ. dr. ing. Liliana MIHALCEA, Cercetător științific grad I dr. ing. Roxana IONETE** pentru timpul valoros acordat, pentru sfaturile științifice și îndrumarea permanentă primită, astfel încât să poată fi realizată această teză de doctorat.

Pe parcursul stagiului doctoral au contribuit și oameni valoroși din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor, **Doina Georgeta Andronoiu, Carmen Chițescu, Ștefania Adelina Milea, Gabriel-Dănuț Mocanu, Oana Viorela Nistor, Bogdan Păcularu-Burada, Mihaela Turturică, Aida Mihaela Vasile**, cărora le mulțumesc!

Mulțumesc colegilor mei, studenți doctoranzi care m-au sprijinit în momentele dificile sau greu realizabile din punct de vedere logistic.

Mulțumesc familiei mele care mi-a fost alături, m-a încurajat și mi-a arătat permanent răbdare, înțelegere, susținere și mai cu seama multă iubire.

Vă mulțumesc!

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Cuprins:

INTRODUCERE	1
CAPITOLUL 3. IDENTIFICAREA ȘI EVALUAREA CAPACITĂȚII DE INHIBARE A UNOR EXTRACTE NATURALE ASUPRA POLIFENOLOXIDAZEI DIN MERE	6
3.1. ASPECTE INTRODUCTIVE	6
3.2. OBIECTIVELE STUDIULUI	7
3.3. MATERIALE SI METODE	8
3.3.1. Material vegetal	8
3.3.2. Reactivi.....	8
3.3.3. Extractia si purificarea PFO	8
3.3.4. Proiectarea experimentală a extracției compușilor biologic active din calixul de <i>Hibiscus sabdariffa L</i>	9
3.3.5. Analizele HPLC si UHPLC ale compușilor bioactivi din extractul optimizat de Hibiscus	10
3.3.6. Determinarea parametrilor optimi de activitate a PFO.....	11
3.3.7. Studiul efectelor de inhibiție	11
3.3. 8. Spectroscopie de fluorescență.....	12
3.3.9. Tratamentul termic al soluțiilor enzimatic.....	13
3.3.10. Parametrii termodinamici.....	13
3.3.11. Cinetica de inactivare termică a PFO.....	13
3.3.12. Modelarea moleculară și analiza de docking molecular.....	14
3.3.13. Analiza statistică	14
3.4. REZULTATE ȘI DISCUȚII	15
3.4.1. Extracția și purificarea PFO	15
3.4.2. Parametrii optimi pentru activitatea enzimatică.....	16
3.4.3. Efectul variabilelor independente asupra extracției antocianilor	16
3.4.4. Analiza cromatografică a compușilor biologic activi din extractul de <i>Hibiscus</i>	18
3.4.5. Efectul inhibitor.....	21
3.4.6. Cinetica inactivării termice	22
3.4.7. Simularea modificărilor conformaționale induse de tratamentul termic prin dinamică moleculară.....	23
3.4.8. Modificări conformaționale monitorizate prin spectroscopie de fluorescență.....	25

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

3.5. CONCLUZII PARȚIALE	27
3.6. BIBLIOGRAFIE	30
CAPITOLUL 4. ASPECTE TEXTURALE, FITOCHIMICE SI NUTRIȚIONALE ALE PRODUSELOR GELIFIAȚE DIN MERE INFUZATE CU EXTRACT DE HIBISCUS	34
4.1. INTRODUCERE.....	34
1.2. OBIECTIVELE STUDIULUI	35
4.3. MATERIALE ȘI METODE	36
4.3.1. Materii prime	36
4.3.2. Reactivi utilizați.....	36
4.3.3. Pregătirea produselor gelifiate.....	36
4.3.4. Extracția fitochimică	37
4.3.5. Profil polifenolic general	37
4.3.6. Activitatea antioxidantă.....	39
4.3.7. Analiza texturii	39
4.3.8. Parametrii de culoare.....	39
4.3.9. Caracterizarea nutrițională	39
4.3.10. Analiza senzorială	40
4.3.11. Analiza statistică	40
4.4. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	40
4.4.1. Dezvoltarea unei scheme tehnologice generale pentru procesare merelor cu infuzie în extract apos de hibiscus în produse gelifiate.....	40
42	
4.4.2. Profilul fitochimic al produselor gelifiate	43
4.4.3. Analiza texturii	45
1.4.4. Parametrii de culoare	46
1.4.5. Caracterizarea nutrițională	47
4.4.6. Analiza senzorială	48
1.5. CONCLUZII PARȚIALE	50
4.6. BIBLIOGRAFIE	51
CAPITOLUL 5. PROCESAREA MERELOR INFUZATE ÎN EXTRACT APOS DE HIBISCUS ÎN BĂUTURI RĂCORITOARE CU GRAD REDUS DE ÎMBRUNARE ENZIMATICĂ.....	53
5.1. INTRODUCERE.....	53
5.2. OBIECTIVELE STUDIULUI	53
5.3. MATERIALE ȘI METODE	54

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

5.3.1. Materii prime	54
5.3.2. Reactivi utilizați	54
5.3.3. Pregătirea sucurilor	54
5.3.4. Determinarea viabilității celulelor prin metoda de numărare indirectă (metoda culturală Koch)	54
5.3.5. Determinarea conținutului de compuși bioactivi și activitatea antioxidantă	55
5.3.6. Analiza senzorială	55
5.4. REZULTATE ȘI DISCUȚII	55
5.4.1 Dezvoltarea unei scheme tehnologice generale pentru procesare merelor cu infuzie în extract apos de hibiscus în sucuri	55
5.4.2. Randamentul de extracție al sucurilor	55
5.4.3. Efectul pasteurizării asupra conținutului de compuși bioactivi și activitate antioxidantă din sucurile cu și fără infuzie de extract de hibiscus	56
5.4.4. Analiza senzorială a sucurilor	57
5.4.5. Viabilitatea bacteriilor probiotice inoculate în tescovina rezultată de la procesarea merelor în sucuri	58
5.5. CONCLUZII PARȚIALE	59
5.6. BIBLIOGRAFIE	60
CAPITOLUL 6. CERCETARE APLICATIVĂ PRIN UTILIZAREA EXTRACTELOR DE HIBISCUS LA OBTINEREA SNACKS-URILOR DIN MERE PRIN DIFERITE METODE DE USCARE	61
6.1. INTRODUCERE	61
6.2. OBIECTIVUL STUDIULUI	62
6.3. MATERIALE ȘI METODE	63
6.3.1. Materii prime	63
6.3.2. Reactivi	63
6.3.3. Obținerea extractului apos de <i>Hibiscus</i> și infuzia feliilor de mere proaspăt tăiate	63
6.3.4. Procedura experimentală de uscare	63
6.3.5. Modelarea matematică a curbelor de uscare	64
6.3.6. Coeficientul de difuzie efectivă a umidității (D_{eff}) și energia de activare (E_a)	64
6.3.7. Extracția compușilor polifenolici din snacks-urile din mere	65
6.3.8. Analiza cromatografică a polifenolilor	65
6.3.9. Activitate antioxidantă	65

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

6.3.10. Analiza texturii.....	66
6.3.11. Parametri colorimetrici	66
6.3.12. Raportul de rehidratare (RR).....	66
6.3.13. Raport de contracție (SR)	67
6.3.14. Aria feliilor de snacks-uri (A).....	67
6.3.15. Analiza senzorială	67
6.3.16. Analiza statistică	68
6.4. REZULTATE ȘI DISCUȚII	68
6.4.1. Cinetica uscării feliilor de mere imersate în extract de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	68
6.4.2. D_{eff} și E_a	71
6.4.3. Parametrii de culoare a snacks-urilor din mere.....	73
6.4.4. Analiza texturală.....	75
6.4.5. Raportul de rehidratare, raportul de contracție și aria snacks-urilor	76
.....	77
6.4.6. Analiza senzorială	77
6.4.7. Activitatea antioxidantă a snacks-urilor din mere	81
6.4.8. Profilul cromatografic al gustărilor din mere uscate la 70°C.....	81
6.5. CONCLUZII PARTIALE	83
6.6. BIBLIOGRAFIE	84
Capitolul 7. CONCLUZII FINALE	87
Capitolul 8. CONTRIBUȚII ORIGINALE ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A CERCETĂRILOR	90
Capitolul 9. DISEMINAREA REZULTATELOR. LISTA PUBLICAȚIILOR	91
LISTĂ FIGURI.....	93
LISTĂ TABELE.....	94

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

INTRODUCERE

Îmbrunarea enzimatică apare de regulă în timpul recoltării, transportului, prelucrării și depozitării produselor agricole proaspete, în special în fructe și legume. Acest fenomen implică acțiunea catalitică în produsele proaspete și în timpul procesării a peroxidazei, polifenol oxidazei și a fenilalanin-amoniac liazei, care afectează culoarea, aroma, proprietățile nutritive și termenul de valabilitate al produselor alimentare, care au ca efect reducerea gradului de acceptabilitate de către consumatori. Se apreciază că aproximativ 50% din fructe și legume sunt risipite anual datorită îmbrunării enzimatice ([Iqbal și colab., 2019](#)). Prin urmare, controlul corespunzător al îmbrunării poate conduce la reducerea costurilor și a risipei de alimente.

Principalii mediatori ai reacției de îmbrunare enzimatică sunt polifenol oxidaza (PFO) (E.C. 1.10.3.1) și peroxidaza (PRO) (E.C.1.11.1.7). Mecanismul de acțiune al PFO se bazează pe capacitatea sa de a oxida compușii fenolici. Atunci când țesutul vegetal este deteriorat, având ca efect ruperea plastidelor, compartimentul celular în care se află PFO intră în contact cu compușii fenolici eliberați prin distrugerea vacuolelor, organele majore de stocare a acestor compuși. Se consideră că situsul activ al PFO conține doi atomi de cupru, iar enzima catalizează două reacții diferite în prezența oxigenului molecular: hidroxilarea monofenolilor (activitate monofenolazică) și oxidarea *o*-difenolilor la *o*-chinone (activitatea difenolazică). Această reacție este în general urmată de polimerizarea neenzimatică a chinonelor, cu formarea de melanine, pigmenți de masă moleculară mare și culoare închise.

Implicarea PRO în mecanismele de îmbrunare enzimatică este dependentă de activitatea PFO, mecanismul de reacție fiind dificil de caracterizat, din moment ce unul din substraturile specifice (peroxidul de oxigen) este prezent, în general, în cantități foarte scăzute în celulele plantelor. Studii recente au arătat că PRO poate amplifica reacția de îmbrunare enzimatică mediate de PFO, prin acumularea de chinone care duce la creșterea concentrației de peroxide.

Pentru reducerea efectelor date de îmbrunarea enzimatică se utilizează tehnologii emergente și tradiționale, cele tradiționale implicând fie tratamente fizice fie chimice. Pentru majoritatea produselor din fructe și legume, tehnologiile emergente, precum nanotehnologie și tehnicile de biologie moleculară sunt dificil de transpus în producție reală datorită costurilor ridicate. Pe de altă parte, metodele fizice tradiționale, cum ar fi tratamentul termic, tratamentul cu ultrasunetele sau alte tratamente aplicate cu scopul de a atinge gradul de inhibare enzimatică dorit, au ca efecte secundare reducerea valorii nutritive, degradarea compușilor biologic activi etc ([Umair et al., 2022](#)). Pentru metodele chimice, problemele de siguranță reprezintă o constrângere majoră pentru aplicarea inhibitorilor chimici, deoarece tot mai mulți consumatori caută alimente mai sigure, mai sănătoase și mai ecologice. Prin urmare, identificarea unor inhibitori enzimatici siguri, naturali, care să înlocuiască compușii sintetici utilizați pentru limitarea efectelor îmbrunării enzimatice, fără a compromite

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

proprietățile nutriționale și organoleptice, reprezintă o problemă emergentă pentru tehnologiile actuale de procesare a alimentelor.

Numeroase studii din literatura de specialitate, fundamentate științific, sugerează că un consum regulat de fructe și legume sunt asociate negativ cu riscul de dezvoltare boli cronice. Astfel de efecte pozitive asupra sănătății sunt atribuite bioactivității mai multor molecule nenuțritive conținute în mod natural, inclusiv fibre alimentare, carotenoide și compuși fenolici (Zhu și colab., 2018). Acestea din urmă reprezintă cel mai important și mare grup de compuși bioactive, omniprezenți în plante. Trăsătura moleculară comună a compușilor fenolici este prezența unuia sau mai multor inele aromatice, cu cel puțin o grupare hidroxil. Compușii fenolici pot fi molecule simple cu un singur fenol, cum ar fi acizii fenolici, sau structuri complexe cu două sau mai multe grupări fenolice, cum ar fi stilbenele și flavonoidele. În plus, forma lor nativă este adesea polimerizată sau conjugată cu zaharuri sau acizi organici dând naștere la o varietate de glicozide. Structurile specifice ale compușilor fenolici sunt considerate responsabile pentru o varietate de activități biologice, inclusiv activități antioxidante, antiinflamatorii și imunoreglatoare.

Mărul, cu gustul său crocant, dulce și profilul nutrițional bogat, este cunoscut pentru rolul său în prevenirea bolilor și menținerea sănătății (Musacchi & Serra, 2018). Mărul este unul dintre cele mai consumate fructe din lume, iar producția mondială de mere estimată de către Organizația Națiunilor Unite pentru Alimentație și Agricultură (FAO) a fost în anul 2023-2024 mai mare 83.98 de milioane de tone. Principalele moduri de consum a merelor sunt sub formă proaspătă (70 %) și produsele procesate (25-30 %). Oamenii consumă mere și produse pe bază de mere în principal datorită gustului și beneficiilor lor pentru sănătate. Datorită conținutului ridicat de compuși fenolici, mărul este înalt susceptibil la îmbrunarea enzimatică, ceea ce reduce din acceptabilitatea consumatorilor.

Datorită impactului său economic enorm asupra industriei alimentare, inhibarea îmbrunării enzimatică cauzată de PFO și PRO în produsele alimentare a fost investigată pe scară largă. Cei mai importanți factori care determină rata și gradul de îmbrunarea enzimatică a fructelor implică concentrațiile atât de PFO activă, cât și de compuși fenolici, pH-ul, temperatura, compartimentarea între enzime și substraturi și disponibilitatea la oxigen a țesutului. Înțelegerea procesului de îmbrunarea enzimatică este necesară pentru stabili strategii inovative de control eficient și pentru a obține produse de înaltă calitate, acceptate pentru consumatori.

În acest context, teza de doctorat intitulată *STRATEGII INOVATIVE DE REDUCERE A GRADULUI DE ÎMBRUNARE ENZIMATICĂ LA PRELUCRAREA MERELOR ÎN PRODUSE CU FUNCȚIONALITATE RIDICATĂ* are ca **scop principal** fundamentarea științifică a efectelor de inhibare a unor compuși fenolici extrași din surse naturale asupra PFO din mere și dezvoltarea unor produse alimentare cu grad de îmbrunarea enzimatică redus, din perspectiva menținerii funcționalității native a merelor procesate.

Obiectivele științifice ale tezei de doctorat sunt:

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

- A. Analiza critică a literaturii de specialitate și fundamentarea științifică a mecanismelor de îmbrunare enzimatică și a tehnologiilor actuale de inhibare a PFO, din perspectiva identificării unor soluții naturale, individuale sau combinate cu alte tratamente fizice de obținere a unor produse din mere cu grad redus de îmbrunare.
- B. Caracterizarea fizico-chimică și fitochimică a merelor, selectate ca sisteme model în teza de doctorat, datorită conținutului ridicat de compuși fenolici, producția mondială și profilul de consum.
- C. Cercetare fundamentală avansată de identificare a unor inhibitori naturali, analizând pe baze statistice și cinetice efectul compușilor bioactivi din extractul din calixul de *Hibiscus* asupra PFO din mere.
- D. Cercetare aplicativă pentru stabilirea unei tehnologii de obținere a produselor gelificate din mere infuzate în extract de hibiscus și analiza profilului nutritional, biologic active, textural și sensorial.
- E. Cercetare aplicativă pentru stabilirea unei tehnologii de obținere a unor băuturi pe bază de mere infuzate în extract de *Hibiscus*, cu analiza pierderilor tehnologice de polifenoli la pasteurizare, stabilitate la depozitare, profilare fitochimică și valorificarea borhotului rezultat prin inoculare cu bacterii lactice, cu scopul evidențierii rolului polifenolilor în activitatea metabolică a bacteriilor probiotice și dezvoltarea unor pudre cu înalt profil functional.
- F. Utilizarea tehnicilor de uscare convective în aer cald și infraroșu pentru obținerea de snacks-uri din mere infuzate în extract de hibiscus și analiza profilurilor fitochimice, texturale și sensoriale ale produselor uscate la diferite temperature. Analiza cineticii de uscare pe baze cinetice.

Teza de doctorat este structurată astfel:

Studiul documentar, care cuprinde două capitole cu referire la aspecte referitoare la compoziția chimică și biochimică a merelor și importanța îmbrunării enzimatice în controlul calității produselor alimentare.

Contribuții originale, care cuprinde șase capitole ce prezintă fiecare o scurtă analiză a contextului tematicii abordate, obiectivul studiului, materiale și metode, rezultatele experimentale, concluzii și bibliografie, după cum urmează:

Capitolul 3, intitulat *Identificarea și evaluarea capacității de inhibare a unor extracte naturale asupra polifenoloxidazei din mere* prezintă rezultatele investigațiilor pentru atingerea obiectivului general și a celor specifice, acela de a cerceta efectul inhibitor al compușilor bioactivi din extractul de caliciu de *Hibiscus* asupra PFO din mere. Studiile au folosit o abordare cuprinzătoare, bazată pe extracție, optimizare și validare, caracterizarea interacțională avansată a polifenolilor de PFO și cinetica de inactivare termică. În prima etapă, PFO a fost extrasă, purificată și caracterizată pentru parametrii optimi de activitate.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Sursa de inhibiție a fost extractul de hibiscus. Rezultatele obținute oferă informații utile pentru utilizarea inhibitorilor polifenolici pentru a preveni îmbrunarea enzimatică (cafestol, acid galic, catechina).

Capitolul 4, intitulat *Aspecte texturale, fitochimice și nutriționale ale produselor gelificate din mere infuzate cu extract de hibiscus* prezintă rezultatele investigațiilor privind obținerea unei categorii de produse procesate din mere cu un grad redus de îmbrunare enzimatică, prin exploatarea potențialului unor compuși polifenolici de a inhiba activitatea enzimatică a PFO din mere. A fost adaptată o tehnologie de obținere a produselor gelificate infuzate în extract apos de calix de *Hibiscus sabdariffa* L. și dezvoltarea unei scheme tehnologice generale pentru procesare a merelor cu infuzie în extract apos de hibiscus în produse gelificate.

Capitolul 5, intitulat *Procesarea merelor infuzate în extract apos de Hibiscus în băuturi răcoritoare cu grad redus de îmbrunare enzimatică*, prezintă rezultatele investigațiilor în urma utilizării substanțelor naturale antiîmbrunare aparținând clasei polifenolilor pentru îmbunătățirea calității și a parametrilor nutriționali pentru o băutură pe bază de suc de mere infuzate în extract apos de hibiscus. Determinarea conținutului de antociani a probelor rezultate au fost analizate înainte și după pasteurizare. În studiu se prezintă și capacitatea polifenolilor de a stimula activitatea metabolică a probioticelor din borhotul rezultat de la presarea merelor și extracția sucului, inoculat cu *Lactobacillus casei* și liofilizat.

Capitolul 6, intitulat *Cercetare aplicativă prin utilizarea extractelor de hibiscus la obținerea chipsurilor din mere prin diferite metode de uscare* prezintă rezultatele studiului care s-a concentrat pe testarea a două metode alternative de uscare a merelor cu și fără infuzie în extract de hibiscus, care este bogat în polifenoli și în special antociani în vederea obținerii snacks-urilor din mere. Se prezintă rezultatele efectelor uscării convective în aer cald și respective a uscării în infraroșu asupra parametrilor cinetici, a conținutului de polifenoli și a activității antioxidante. De asemenea, se prezintă rezultate ale caracteristicilor fizice, senzoriale, capacității de rehidratare, raportul de contracție, profilul polifenolic.

În teza de doctorat, structura fiecărui capitol din partea de contribuții proprii este specifică unei lucrări științifice, fiind organizat într-o succesiune de subcapitole, după cum urmează: introducere în care se prezintă oportunitatea cercetărilor, obiectivele specifice, materiale și metode, în care sunt descrise materialele și reactivii utilizați, precum și metodele de investigare, analiză, de prelucrare și interpretare a datelor experimentale, rezultate și discuții, în care sunt reliefate rezultatele originale obținute; concluzii parțiale și bibliografie.

Concluziile finale prezintă concluziile principale rezultate în urma investigațiilor realizate, ce au vizat identificarea unor strategii inovative de inhibare a enzimelor oxidative din mere și dezvoltarea unor tehnologii de procesare pentru obținerea de produse cu grad redus de îmbrunare enzimatică.

Teza de doctorat cuprinde 154 pagini, în care sunt incluse 25 figuri și 18 tabele. Studiul documentar reprezintă 19 %, iar partea experimentală 81 %.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

În final, sunt prezentate **contribuțiile originale** ale tezei de doctorat, cu impact în dezvoltarea cunoașterii în domeniu și perspectivele pentru continuarea cercetărilor, precum și diseminarea rezultatelor obținute în domeniul de cercetare abordat. Astfel, rezultatele cercetărilor au fost valorificate prin publicarea a **3 articole științifice** în reviste cotate ISI (Journal of Food Science, Food Science and Nutrition și The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI – Food Technology), precum și **8 comunicări** la manifestări științifice reprezentative, naționale și internaționale în domeniul ingineriei produselor alimentare.

Activitățile de cercetare din cadrul tezei de doctorat au fost derulate în cadrul *Centrului integrat de cercetare, expertiză și transfer tehnologic* (BioAliment-TehnIA) (www.bioaliment.ugal.ro), aparținând Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați. Teza s-a realizat sub coordonarea științifică a Prof. univ. dr. ing. habil. Nicoleta STĂNCIUC, în calitate de conducător de doctorat și a comisiei de îndrumare și integritate academică alcătuită din: Prof. univ. dr. ing. habil. Gabriela RÂPEANU, Prof. univ. dr. ing. habil. Iuliana APRODU, Conf. univ. dr. ing. Liliana MIHALCEA și Cercetător științific grad I dr. ing. Roxana IONETE.

Bibliografie:

1. Iqbal, A., Murtaza, A., Hu, W., Ahmad, I., Ahmed, A., & Xu, X. (2019). Activation and inactivation mechanisms of polyphenol oxidase during thermal and non-thermal methods of food processing. *Food and Bioproducts Processing*, 117, 170–182.
2. Musacchi, S., & Serra, S. (2018). Apple fruit quality: Overview on pre-harvest factors. *Scientia Horticulturae*, 234, 409–430.
3. Umair, M., Jabeen, S., Ke, Z., Jabbar, S., Javed, F., Abid, M., Rehman Khan, K., Ji, Y., Korma, S. A., El-Saadony, M. T., Zhao, L., Cacciotti, I., Mariana Gonçalves Lima, C., & Adam Conte-Junior, C. (2022). Thermal treatment alternatives for enzymes inactivation in fruit juices: Recent breakthroughs and advancements. *Ultrasonics Sonochemistry*, 86, 105999.
4. Zhu, F., Du, B., & Xu, B. (2018). Anti-inflammatory effects of phytochemicals from fruits, vegetables, and food legumes: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(8), 1260–1270.

CAPITOLUL 3. IDENTIFICAREA ȘI EVALUAREA CAPACITĂȚII DE INHIBARE A UNOR EXTRACTE NATURALE ASUPRA POLIFENOLOXIDAZEI DIN MERE

3.1. ASPECTE INTRODUCTIVE

Polifenoloxidaza (PFO) mediază reacțiile enzimaticе și conduce la modificări semnificativ de culoare, în timp ce oxidarea polifenolilor afectează negativ gustul, aroma și valoarea nutritivă (Muñoz-Pina și colab., 2022). PFO (EC 1.14.18.1) este o enzimă care conține cupru, aparținând familiei oxidoreductazelor, enzime care au capacitatea de a cataliza oxidarea monofenolilor la *o*-chinone, urmată de o polimerizare neenzimatică a chinonelor, cu formarea pigmentilor melanoidinici, care determină modificarea culorii spre roșcat-marونی (Kanteev și colab., 2015).

Datorită conținutului ridicat de polifenoli, mărul (*Malus domestica*) este predispus la îmbrunarea enzimatică (Martino și colab., 2019), ceea ce conduce la neacceptarea produselor de către consumator, având drept consecință producerea de cantități mari de deșeuri și pierderi economice semnificative (Muñoz-Pina și colab., 2022).

În general, la nivel industrial, sunt utilizate diferite metode fizice și chimice de prevenire a îmbrunării enzimaticе (Silva & Sulaiman, 2019). Cea mai utilizată metodă fizică este prelucrarea termică, care permite inactivarea enzimelor, dar afectează semnificativ valoarea biologică și nutritivă a produselor, prin degradarea compușilor biologic activi și a nutrienților termosensibili (Queiroz și colab., 2008). O practică obișnuită este inhibarea chimică a activității PFO, prin utilizarea inhibitorilor naturali și sintetici, cum ar fi sulfiții, acidul citric și acidul ascorbic, datorită costurilor reduse, manevrabilității, cu modificării minime în concentrația compușilor bioactivi (Muñoz-Pina și colab., 2022). Cu toate acestea, utilizarea inhibitorilor chimici este limitată, datorită impactului lor negativ asupra gustului și potențialul alergen al sulfiților. Diferite studii au sugerat utilizarea inhibitorilor naturali în controlul îmbrunării enzimaticе la cartofi (Lee și colab., 2002), pere (Kim și colab., 2005), și banane (Lee, 2007). Mecanismul de inhibiție a PFO asupra compușilor fenolici fost explicat de Rotbart și colab. (2018), care au sugerat o inhibiție necompetitivă datorită cuplării grupărilor hidroxil din compușii fenolici la complexul enzimă-substrat, care facilitează transferurile de electroni și reducerea concomitentă a compușilor, împiedicând generarea de pigmenti.

După cum sugerează Tinello și Lante (2018), controlul activității PFO în fructe și legume este încă dificil de gestionat, fiind însă determinat de preferințele și exigențele crescute ale consumatorilor referitoare la alimente proaspete și minim procesate. Prin urmare, pentru a păstra proprietățile senzoriale și nutriționale ale alimentelor, sunt necesare strategii noi de identificare a unor noi agenți antiîmbrunare naturali care să înlocuiască tratamentele conventionale.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Extracțele naturale obținute din diferite subproduse și deșeuri agroalimentare au fost testate ca potențiali inhibitori naturali ai PFO. De exemplu, inhibitori naturali competitivi au fost catechinele din extracte de ceai verde (Klimczak & Gliszczyńska-Świątło, 2017), (-)-epigallocatechina și (-)-epigallocatechin galatul din extracte de măceș și rodie (Zocca și colab., 2010), (-)-epigallocatechin galatul din două soiuri de struguri roșii (Tinello & Lante, 2017), quercetină din subproduse de ceapă (Roldán și colab., 2008), acizi citric și malic din struguri (Tinello & Lante, 2017) și sucuri de ananas (Chaisakdanugull și colab., 2007).

Având în vedere interesul crescând pe piețele internaționale pentru arome și culori exotice, hibiscus (*Hibiscus sabdariffa* L) este consumat pe scară largă în regiunile subtropicale și tropicale sub formă de dulceață, jeleu și băuturi răcoritoare, în timp ce calixul este folosit în principal pentru prepararea ceaiului (Monteiro și colab., 2017). Caliciul de *Hibiscus* este bogat în diferiți antociani (cianidin-3-*O*-sambubiozidă, delfinidin-3-*O*-sambubiozidă și cianidin-3-*O*-glucozidă) și acizi organici (acid hibiscus, acid galic, acid malic și acid citric) (Preciado-Saldaña și colab., 2019), zaharuri, flavonoide și acizi fenolici, cum ar fi quercetina și hibiscetina, galocatechin galat, acidul protocatecuic, acidul cafeic, catehina etc. (Da-Costa-Rocha și colab., 2014).

3.2. OBIECTIVELE STUDIULUI

Pe baza acestor caracteristici cheie, obiectivul general al acestui studiu a fost acela de a investiga efectul inhibitor al compușilor bioactivi din extractul din calixul de *Hibiscus sabdariffa* L asupra PFO din mere. Obiectivele specifice ale studiului au fost:

1. Extracția, separarea și purificarea PFO din mere autentice și stabilirea parametrilor optimi de activitate (pH și temperatură) utilizând pirocatecolul ca substrat.
2. Optimizarea și validarea parametrilor de extracției a compușilor biologic active din calixul de *Hibiscus sabdariffa* L, cu ajutorul metodologiei suprafaței de răspuns (RSM) și a matricii design Box-Behnken (BBD).
3. Profilarea fitochimică avansată a compușilor biologic activi din extractul optimizat și validat de *Hibiscus sabdariffa* L prin cuplarea cromatografiei lichide de înaltă performanță (HPLC) cu ultra-HPLC (UHPLC).
4. Studiul cineticii de inactivare a PPO din măr și estimarea parametrilor de inactivare.
5. Studiul efectului de inhibare a unor compuși fenolici individuali (standarde) și în combinație și a extractului de *Hibiscus sabdariffa* L asupra PFO. Rezultatele au fost comparate cu cinetica de inactivare termică a PFO în intervalul de temperatură 25°C- 90°C pentru 5 min.
6. Studii pentru evidențierea efectului extractului asupra structurii și conformației PFO din măr utilizând metode complementare de analiză, bazate pe spectroscopia de fluorescență și modelarea moleculară.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Rezultatele au arătat că o strategie importantă de inhibare a PFO din măr poate implica combinarea efectului chimic al compusilor biologic activi din extractul de hibiscus cu o procesare termică minimă.

3.3. MATERIALE SI METODE

3.3.1. Material vegetal

În studiile efectuate, s-a utilizat o varietate autohtonă de măr (Frumosul de Voinești), achiziționat de la un producător local (Dâmbovița, România). Fructele au fost spălate și utilizate pentru extracția și purificarea PFO. Calixul uscat de *Hibiscus sabdariffa* L. a fost achiziționat de la un market local (Galați, România). Calixul uscat a fost cântărit, măcinat până la obținerea unei pulberi fine, cu ajutorul unei râșnițe de laborator și utilizat în experimentele de optimizare a extracției.

3.3.2. Reactivi

În experimente s-au utilizat următorii reactivi: acid acetic, acetonă, acetonitril, acid formic, metanol, etanol, cafestol, procianidina A1, procianidina B1, catehină, acid galic, acid cafeic, acid siringic, acid 3,4-dihidroxibenzoic, acid clorogenic, acid ferulic, acid elagic, p-acid cumaric, acid sinapic, quercetin 3-glucozid, quercetin 3-d-galactozid, luteolina, delphinidin-3-O- β -d-glucozid, pelargonidin-3-O-glucozid, clorura de malvidină, quercetină, rutina trihidrat, rutina (quercetin 3-rutinozid), kaempferol, naringenin, crisina, acid 3,4 hidroxibenzoic și miricetină (de puritate HPLC), care au fost achiziționate de la Sigma-Aldrich. Toate substanțele chimice și reactivii utilizați în experimente au fost de puritate analitică.

3.3.3. Extractia si purificarea PFO

Pentru extracția și purificarea PFO, a fost utilizată metoda descrisă de [Ioniță și colab. \(2017\)](#), cu unele modificări. Înainte de extracție și purificare, merele au fost spălate cu apă distilată și curățate de semințe, urmate de omogenizare cu ajutorul unui blender (Seria 5000 BlenderCoreHR3573/91, Phillips). O cantitate de 500 g de fructe măcinate a fost imersată în apă Milli Q în raport de 1:1 (w/v) și omogenizate. Amestecul a fost filtrat de trei ori, printr-o pânză filtrantă cu trei straturi și centrifugat timp de 2 ore, la 15.000×g, la 4°C (centrifugă Universal-320 RHettich). Precipitatul obținut a fost dizolvat într-un volum de 300 mL soluție tampon McIlvaine (acid citric 0,1 M și fosfat disodic 0,2 M) cu 1,5% Triton-X și 2% polivinil pirolidonă insolubilă (pH 5,5), urmată de agitare timp de 1 oră, la 4°C. În plus, amestecul a fost centrifugat timp de 1 oră la 15.000×g, la 4°C, în timp ce supernatantul rezultat a fost supus la o precipitare cu sulfat de amoniu 30%, urmată de centrifugare timp de 2 ore la 15.000×g și 4°C.

A doua etapă de precipitare, cu sulfat de amoniu 90% a fost efectuată utilizând supernatantul obținut din etapa anterioară, sub agitare. După 90 de minute de agitare, amestecul a fost centrifugat timp de 90 de minute la 15.000×g și 4°C. Precipitatele obținute au fost colectate împreună și redizolvate în 100 mL soluție tampon McIlvaine (pH 6,25). Amestecul a fost dializat în apă Milli-Q cu ajutorul unei membrane Spectra/Por cu

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

dimensiuni de 12-14 kDa activată în prealabil, pentru a elimina sărurile. Frațiile enzimatică dializate au fost liofilizate, folosind aparatul ALPHA 1-4 LD. Pentru a obține un grad mai mare de puritate, enzima a fost introdusă în coloane cromatografice cu ajutorul echipamentului ÄKTA pure 25 (GE Healthcare), pe o coloană de schimb ionic Mono Q 5/50 GL Fast Flow echilibrată anterior cu o soluție tampon fosfat de 20 mM (pH 7,52). Coloana cromatografică a fost eluată cu NaCl prin aplicarea unui gradient liniar care a crescut de la 0 la 1,0 M în tampon fosfat 20 mM (pH 7,52), la un debit de 1 ml/min.

Activitatea enzimatică a fost testată folosind pirocatecolul ca substrat. Frațiile care au prezentat cele mai mari activități enzimatică au fost colectate și omogenizate pentru analize ulterioare. Concentrația de proteine a fost evaluată prin metoda Bradford utilizând ca standard albumină serică bovină.

3.3.4. Proiectarea experimentală a extracției compușilor biologic active din calixul de *Hibiscus sabdariffa L*

Pentru a obține un extract îmbogățit în antociani, condițiile de extracție pentru hibiscus au fost optimizate folosind RSM. S-au utilizat pentru extracția asistată de ultrasunete un amestec solid-lichid în raport de 1:9, folosind un design Box-Behnken (BBD) cu trei factori, trei niveluri și trei replici în punctele centrale. Cele trei variabile independente folosite au fost: concentrația de etanol (X1), temperatura (X2) și timpul de extracție la ultrasunete (X3), în timp ce conținutul total de antociani (CTA) a fost considerat variabila dependentă (**Tabel 3.1.**). Raportul final solid/solvent a fost menținut la o valoare constantă de 1:9 w/v. Acest raport a fost ales pe baza studiului anterior raportate ([Dumitrascu și colab., 2019](#)). Toate extracțiile (15 experimente) au fost efectuate în trei exemplare. Etapa de ultrasunete s-a realizat cu ajutorul unei băi de ultrasunete (MRC Scientific Instruments), la putere constantă (100 W) și frecvență constantă (40 kHz). După extracție, probele rezultate au fost centrifugate la 9000×g, timp de 10 minute la 4°C, iar supernatantul a fost analizat pentru conținutul în antociani monomerici totali (CTA) ([Dumitrașcu și colab., 2019](#)) și exprimat ca mg delfinidin-3-O glicozid (D3G)/g material vegetal (**Tabel 3.2.**). Datele colectate în cele 15 experimente pentru conținutul de antociani cu ajutorul BBD au fost modelate cu ajutorul unui model polinomial de ordinul doi, descris de ecuația 3.1:

$$Y = \beta_0 + \sum_{k=1}^3 \beta_{ixi} + \sum_{k=1}^3 \beta_{iix2i} + \sum_{j=1}^3 \sum_{k=2}^3 \beta_{ijxixj} \quad (3.1)$$

În care: Y este răspunsul dat de model pentru conținutul de antociani, valorile xi, xj sunt variabilele independente (cu i și j variind între 1 și 3), β_0 este constantă, în timp ce β_i , β_{ii} , și β_{ij} sunt coeficienții de regresie ai termenilor liniari, pătratici și de interacțiune, k este numărul de variabile independente. Optimizarea și validarea condițiilor de extracție pentru CTA a fost efectuată folosind funcția de optimizare a răspunsului disponibilă în software-ul Minitab 21.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 3.1. Nivelul de codificare a variabilelor independente luate în considerare în design-ul Box-Behnken ([Stan \(Boldea\) și colab., 2023](#))

Nivelul factorial	Variabile independente		
	Concentrația de etanol (%)	Temperatura (°C)	Timp (min)
	X ₁	X ₂	X ₃
-1	30	25	0
0	55	32.5	15
+1	80	40	30

3.3.5. Analizele HPLC și UHPLC ale compușilor bioactivi din extractul optimizat de Hibiscus

În cazul analizei HPLC, s-a utilizat un solvent de extracție format din acetonă, apă ultrapură și acid acetic (70:29,50:0,50 v/v/ v) ([Liao și colab., 2021](#)). Volume egale de extract de hibiscus optimizat și solvent de extracție au fost mixate și injectate pentru separare în coloana la 30°C și 0,65 ml/min (Agilent 1200), cu un sistem de eluare binară format din acid acetic 1% (v/v) și acetonitril, conform metodei descrise de [Vlad și colab., \(2022\)](#). Conținutul de compuși fenolici a fost identificat la 280 și 320 nm, în timp ce antocianii au fost identificați la 520 nm. Concentrația compușilor individuali s-a fost exprimat în μg/g substanță uscată (SU) pe baza curbelor de calibrare. Pentru analiza UHPLC, a fost utilizat un echipament Thermo Scientific cuplat cu o pompă Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 Series RS, cu compartimente pentru coloană Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 Series TCC-3000 RS și un Thermo Fisher Scientific Ultimate 3000 Series WPS-3000RS, cu autosampler controlat de Chromeleon Software, version 7.20.

A fost utilizată metoda descrisă de [Anghel și colab. \(2023\)](#), cu un gradient liniar (faza mobilă a constatat din apă ultrapură acidificată în raport de 500 μL/L acid formic (la pH de 2,5) și metanol ca eluent B, pe o coloană Accucore U-HPLC C18 (150 ×2,1 mm, 2,6μm) (Thermo Fisher Scientific).

Gradientul a urmat mai multe etape: 0–1 min 100% A, 1–10 min creștere liniară la 30% B, 10–26 creștere liniară până la 100% B și menținut timp de 4,0 min, 30–32,5 scădere la 0% B, la un debit de 0,4 ml/min. Pentru ionizare a fost utilizată o sursă de ioni Heated Electrospray, cu parametri optimizați. Compușii vizați au fost separați, identificați și detectați folosind spectrometrul de masă Q-Exactive, în modul negativ, la o putere de 70.000 FWHM, 200 m/z, cu un interval de scanare de 100–1000 Da de m/z. Controlul automat a fost stabilit la 3e6, timpul de injectare a fost stabilit la 200 ms, cu o rată de scanare setată la 2 scanări/s, un eveniment de scanare completă implicând cinci evenimente MS-MS. Evenimentele de scanare MS2 au vizat ionii precursori, cu variații între 95 și 10.005 m/z. Fragmentarea are loc într-o celulă de disociere de coliziune, cu energie mai mare și a fost evaluată în cinci scanări Orbitrap separate, la o putere de rezoluție de 35.000 FWHM. Datele colectate au fost evaluate de Quan/Qual Browser Xcalibur 2.3 (Thermo Fisher). Toleranță de masă a fost setată la 5 ppm pentru cele două moduri de analiză. Pentru analiza MS/MS,

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

detectarea a cel puțin două fragmente ionice cu raportul ionic adecvat a fost efectuată prin compararea cu standardele de referință. Pentru compușii pentru care nu sunt disponibile curbe de calibrare, au fost utilizate diferite baze de date cu scopul identificării formulei moleculare cele mai rezonabile, cu o eroare de masă mai mică (ChemSpider, www.chemspider.com). Având în vedere faptul că flavonele, izoflavonele și acizii fenolici au același schelet chimic, ionii obținuți în urma fragmentării prin analiza MS-MS au fost utilizați pentru a confirma în continuare structura chimică cu ajutorul NORMAN MassBank (<https://massbank.eu/MassBank/>), mzCloud Advanced Mass Spectral Database (<https://www.mzcloud.org/>), și PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Software-ul ACDLabs MS Fragmenter 2019.2.1 a fost utilizat pentru a genera un model de fragmentare al compușilor identificați pentru analiza comparativă.

3.3.6. Determinarea parametrilor optimi de activitate a PFO

Preparatul enzimatic liofilizat (PFO) a fost dizolvat într-o soluție tampon McIlvaine (acid citric 0,1 M și fosfat disodic 0,2 M, pH 6,5) la o concentrație de 0,2 mg/mL. Pentru a determina pH-ul optim, s-au folosit diferite soluții tampon McIlvaine la diferite valori ale pH-ului cuprinse între 5,0 și 8,0. Pentru a stabili temperatura optimă pentru activitatea enzimatică, soluția de substrat (pirocatecol) a fost incubată timp de 10 minute la temperaturi cuprinse între 4 și 50°C, folosind o baie de apă (Julabo F33 MC). Secvențial, au fost studiate diferite concentrații de substrat, variind între 0 și 0,3 M dizolvate în soluție tampon McIlvaine la pH-ul corespunzător. Reacția enzimatică a fost inițiată prin combinarea a 0,9 ml de pirocatecol 0,03 M cu 0,1 ml soluție de enzimă, urmată de măsurarea imediată a oxidării pirocatecolului la 420 nm timp de 2,0 min (A_{420}). Activitatea specifică a PFO a fost calculată ca panta a regresiei liniare, cu ajutorul ecuației 3.2 (Zhou și colab., 2017):

$$\text{Activitate specifică (Abs/min)} = A_{420} / 2.0 \text{ min} \times 1 / 0.1 \text{ mL soluție PFO} \quad (3.2)$$

În care, A_{420} este absorbanța măsurată la 420 nm, timp de 2 min, 1 este valoarea corespunzătoare volumului final al amestecului; 0,1 este volumul soluției de PFO adăugat în amestec.

3.3.7. Studiul efectelor de inhibiție

Înainte de a testa capacitatea extractului de *Hibiscus* de a inhiba activitatea PFO, au fost efectuate studii control, folosind mai multe standarde de compuși polifenolici, individual și în combinație, și anume, acid galic, quercetină, acid clorogenic, acid cafeic și acid 3,4 hidroxibenzoic în concentrații cuprinse între 0 și 0,75 mmol. Aceiași compuși au fost amestecați într-un raport de 1:1:1:1 (la o concentrație de 0,75 mmol) și testați pentru potențialul inhibitor.

Efectele inhibitoare ale standardelor polifenolice și ale extractului de *Hibiscus* au fost testate folosind pirocatecol 0,03 mol ca substrat. Extractul de *Hibiscus* a fost diluat cu soluție tampon McIlvaine pH 6,5 într-un raport de 1:30. Experimentele de inhibare au fost determinate prin amestecarea unui volum de 0,8, 0,81, 0,82, 0,83, 0,84, 0,85, 0,86, 0,87, 0,88

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

și 0,89 ml de pirocatecol (preparat în soluția tampon McIlvaine de inhibitor de pH 6,5) cu un volum corespunzător de soluție inhibitoare (concentrația variind de la 0 la 817,58 mg D3G/mL), respectiv 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 și 10 μL , menținând constant volumul enzimei la 100 μL . Proba martor a fost determinată similar, cu înlocuirea soluției inhibitoare cu 100 μL soluție tampon McIlvaine, pH 6,5. În toate cazurile, activitatea enzimatică a fost măsurată după protocolul descris în secțiunea 3.3.6. Efectul inhibitor a fost estimat pe baza ecuației 3.3:

$$\text{EI (\%)} = \left(1 - \frac{A_e}{A_0}\right) \times 100 \quad (3.3)$$

În care: A_e este activitatea PFO în prezența standardelor de polifenoli/extract (abs/min) și A_0 este activitatea PFO fără inhibitor (abs/min). Cl_{50} , reprezentând concentrația de inhibitor necesară pentru inhibarea a 50% din activitatea enzimatică a fost estimată ca panta regresiei neliniare a graficului obținut prin reprezentarea logaritmului din concentrațiile de inhibitor versus efectul de inhibiție (EI) (%).

3.3. 8. Spectroscopie de fluorescență

Spectrele de fluorescență au fost obținute utilizând un Spectrometru de luminescență LS-55 (Perkin Elmer), folosind o celulă de cuarț de 1,0 cm și o baie cu termostat, care a permis menținerea unei temperaturi constante de $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Lățimea fantelor atât pentru excitare, cât și pentru emisie a fost stabilită la 10,0 nm. Spectrul de emisie a fost înregistrat la lungimea de undă la excitație de 280 nm emisie între 310 la 420 nm, în timp ce lungimea de undă la care s-a înregistrat maximul de fluorescență (λ_{max}) a fost utilizată pentru a calcula constantele de legare (Zhou și colab., 2017).

Pentru a investiga efectul de quenching asupra structurii și conformației PFO, experimentele au constatat în adăugarea succesivă a extractului de hibiscus, prin introducerea a 0,2 ml de 10 mg/ml de PFO liofilizată în cuva de cuarț, care conține 2,5 ml de soluție tampon Tris (pH 6,5), urmată de titrare cu extract, în concentrații variind de la 0 la 58,55 mMol (în bază D3G). În toate experimentele, valorile intensității fluorescenței au fost corectate pentru efectele de diluare, înainte de a fi luate în considerare pentru analiza datelor. Datele au fost analizate folosind următoarea ecuație Stern-Volmer (Ecuația 3.4) (Dumitrașcu și colab., 2016):

$$\frac{F}{F_0} = 1 + K_{\text{SV}}[\text{CTA}] = 1 + k_q\sigma_0[\text{CTA}] \quad (3.4)$$

În care, F_0 sunt unități arbitrare de fluorescență în absența extractului și F reprezintă unități arbitrare de fluorescență în prezența concentrațiilor diferite de extract. $[\text{TCA}]$ este concentrația totală de antociani monomerici (mMol D3G/mL), K_{SV} este constanta de Stern-Volmer determinată ca panta a regresiei liniare a F_0/F versus $[\text{CTA}]$, k_q este constanta vitezei de stingere a biomoleculelor și τ_0 este durată medie de viață a fluoroforului în absența quencherului (Zhao și colab., 2015). Constanta de legare (K_b) și numărul de locuri de legare (n) au fost estimate cu ajutorul ecuației 3.5:

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

$$\log \frac{(F_0 - F)}{F} = \log(K_b) + n \log[CTA] \quad (3.5)$$

În care K_b și n au fost determinate ca panta și intercept a curbei de regresie a logaritmului dublu $\log[(F_0 - F)/F]$ versus $\log[CTA]$.

3.3.9. Tratamentul termic al soluțiilor enzimaticice

Înainte de studiile de fluorescență, 0.30 mL din soluția de PFO (10 mg/mL în soluție tampon McIlvaine la pH 6,5 au fost introduse în tuburi Eppendorf din plastic și supuse tratamentului termic în intervalul de temperatură 25°C-90°C cu timp de menținere 5 min, utilizând o baie de apă termostatăă (Digibath-2 BAD 4, Raypa Trade, Barcelona, Spania). Soluțiile enzimaticice au fost răcite în apă cu gheață pentru a evita degradarea termică ulterioară.

3.3.10. Parametrii termodinamici

Parametrii termodinamici au fost calculați și utilizați pentru a descrie principalele forțe implicate în mecanismul de legare dintre PFO și compușii bioactive din extract cu ecuației van 't Hoff (Ecuția 3.6).

$$\ln(k) = -\frac{\Delta H}{R \times T} + \frac{\Delta S}{R} \quad (3.6)$$

În care K este constanta de legare la temperatura corespunzătoare, T este temperatura experimentală (K), R este constanta universală a gazelor (8,314 J/mol·K). Modificările de entalpie (ΔH , J/mol) și entropie (ΔS , J/mol/K) au fost stabilite ca panta și intercept din linia de regresie a logaritmului natural din K versus $1/T$ (°K). Energia liberă Gibbs (ΔG , kJ/mol) s-a estimat cu ajutorul Ecuției 3.7:

$$\Delta G = \Delta H - T \times \Delta S \quad (3.7)$$

3.3.11. Cinetica de inactivare termică a PFO

Cinetica de inactivare termică a PFO s-a studiat în intervalul de temperatură 70-95°C, cu menținere în intervalul 0-20 min. Astfel, 0,1 mL soluție PFO în soluție tampon McIlvaine la pH 6,5 s-au introdus în tuburi capilare, urmate de introducerea în baie de apă termostatăă la parametrii descriși (Digibath-2 BAD 4, Raypa Trade, Barcelona, Spania). După tratamentul termic, tuburile au fost introduse în apă cu gheață pentru a stopa propagarea modificărilor conformaționale. Modelul cinetic de ordinal 1 descris de ecuația 3.8 a fost utilizat pentru calculul parametrilor cinetici.

$$\ln \left(\frac{A_0}{A_t} \right) = -k \times t \quad (3.8)$$

În care A_0 este activitatea enzimatică inițială, A_t este activitatea reziduală a PFO după aplicarea tratamentului termic la temperatură constantă pentru un timp t . Pentru estimarea constantelor vitezei de inactivare, s-a aplicat regresia liniară (Ecuția 3.8) la temperatură constantă în funcție de timpul de menținere.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Pentru estimarea energiei de inactivare (E_a , kJ/mol), s-a utilizat ecuația Arrhenius' pe baza liniarizării reprezentării grafice a $\ln(k)$ versus inversul temperaturii (T , 1/K) (Ecuația 3.9):

$$\ln(k) = \ln(k_0) - \frac{E_a}{R \cdot T} \quad (3.9)$$

În care k este valoarea constantelor vitezei de inactivare (1/min), E_a este energia de inactivare (kJ/mol), T este temperatura (K), iar R este constanta universală a gazelor (8,314 J/mol·K).

3.3.12. Modelarea moleculară și analiza de docking molecular

Secvența de aminoacizi pentru PFO din *Malus domestica* (EC:1.10.3.1, P43309) a fost preluată din baza de date UniProtKB (entry P43309; UniProt Consortium, 2015) și a fost utilizată pentru a previziona structura tridimensională a enzimei cu ajutorul algoritmului I-TASSER (Yang și colab., 2015; Zhang, 2008). Modelul 3D al PFO a inclus întregul spectru de aminoacizi aferenți P43309, fără cei doi ioni de cupru. Pentru simularea efectului tratamentului termic, modelul generat a fost optimizat și echilibrat la 25°C și 90°C cu ajutorul câmpului de forțe gromos43a1 și software-ului Gromacs 4.6.1 (Groningen University, Netherlands) (Hess și colab., 2008). Toate etapele de dinamică moleculară au fost efectuate în condiții de paralelizare (Stănciuc și colab., 2018). Modelul enzimatic echilibrat la 25°C a fost utilizat ca receptor pentru 3 liganzi, respective compușii biologic activi cu cea mai mare concentrație în extractul de *Hibiscus*, identificați prin analiza HPLC. Liganzii utilizați în procedura de docking au fost cafestol, acidul galic și catehina, preluate din baza de date ChemSpider chemical (<http://www.chemspider.com/>). Modele de calcul pentru dockingul molecular au fost preluate din serverul Blind Docking (Sánchez-Linares și colab., 2012), disponibil la <http://bio-hpc.eu/software/blind-docking-server/>. Metoda de screening a suprafeței proteice implementată în Graphics Processing Units a fost utilizată pentru identificarea complexelor cu afinitatea cea mai mare. Această metodă oferă avantajul examinării întregii suprafețe proteice care acționează ca receptor, oferind posibilitatea de a identifica toate situsurile de legare. Clasificarea modelelor de legare a fost realizată folosind o funcție de scoring care ține cont de interacțiunile electrostatice și Van der Waals dintre molecule, precum și legăturile de hidrogen (Sánchez-Linares și colab., 2012). Analiza modelelor a fost realizată cu ajutorul instrumentelor Gromacs, PDBePISA (Krissinel, 2010) și Visual Molecular Dynamics (Humphrey et al., 1996). Predicția interacțiunilor necovalente dintre proteină și liganzi s-a realizat cu ajutorul instrumentului PLIP v1.3.2 (Salentin și colab., 2015).

3.3.13. Analiza statistică

Experimentele de extracție au fost repetate de trei ori, fiecare analiză fiind executată în triplicat. Rezultatele au fost exprimate ca valori medii și deviație standard (SD). Analiza de regresie în etapa bazată pe analiza varianței (ANOVA) a fost efectuată utilizând software-ul Minitab 21. Pentru a evalua acuratețea și validitatea modelului, a fost analizat coeficientul

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

de determinare (R^2), în timp ce nepotrivirea modelului și testul F au fost evaluate pe baza valorii p .

3.4. REZULTATE ȘI DISCUȚII

3.4.1. Extracția și purificarea PFO

Etapă de purificare a fost efectuată în fiecare etapă, după precipitarea parțială cu sulfat de amoniu prin cromatografie de schimb de ioni. Pentru fiecare fracțiune separată, activitatea enzimatică a implicat utilizarea pirocatecolului ca substrat (0,03 Mol), în condiții optime de activitate (pH 6,5 și temperatura de 25°C). Profilul de eluție a extractului enzimatic parțial purificat aplicat pe coloana Mono Q 5/50 GL (**Figura 3.1.**) prezintă un singur peak, bine definit, în gradientul de eluție vertical (0–100%) cu soluție tampon fosfat de concentrație 20 mMol și 1,0 Mol NaCl (pH 7.5).

Conținutul de proteină a scăzut cu fiecare etapă de purificare, astfel încât extractul crud a prezentat un conținut de proteină de 1.90 mg/mL, în timp ce extractul enzimatic parțial purificat obținut la precipitarea cu sulfat de amoniu de 90% a prezentat un conținut proteic de 1.10 mg/mL. În timpul cromatografiei de schimb de ioni, în ultima etapă de purificare s-a obținut o fracțiune cu un conținut mai mic de proteină (0.12 mg/mL), care a prezentat o activitate enzimatică specifică de 235933,39 unități/mg. Această valoare corespunde unui grad de purificare de 6.98 ori, cu o rată de recuperare a enzimei de 16,71%.

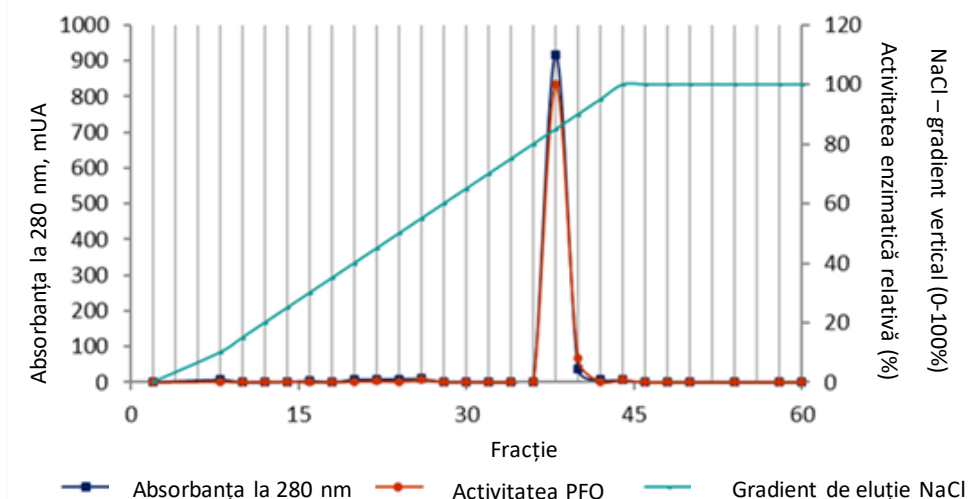


Figura 3.1. Profilul cromatografic de eluție al PFO din măr: Separare pe Mono Q 5/50 GL (cromatografie de schimb ionic). Frațiunile au fost analizate la 280 nm, în timp ce activitatea enzimatică a fost determinată în condiții optime, utilizând pirocatecol ca substrat la 420 nm. (Stan (Boldea) și colab., 2023a)

Rezultatele obținute sunt în acord cu cele raportate de Aydin și colab. (2015), care au caracterizat PFO din merele Hemșin (*Malus communis* L.) cu mai multe etape de purificare, cum ar fi precipitare cu 20–80% sulfat de amoniu, dializă și separare pe o coloană cromatografică de schimb ionic DE52-Celuloză și cromatografie prin gel filtrare folosind o

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

coloană Sephadex G-25. Acești autori au raportat un conținut de proteină de 0,104 mg/mL, cu un grad de recuperare a PFO de 30,13% și o purificare de 7,95 ori.

3.4.2. Parametrii optimi pentru activitatea enzimatică

Pentru a stabili valoare de pH optimă pentru activitatea PFO, au fost testate diferite valori de pH, între 5,0 și 8,0, la 25°C, utilizând pirocatehol de concentrație 0,03 M ca substrat. PFO a prezentat cea mai mare activitate enzimatică la pH 6,5 ($682,55 \pm 1,92$ DO/min). Profilul de pH al PFO a prezentat o creștere progresivă a activității enzimaticice în intervalul 5,0 to 6,5, urmată de o descreștere în intervalul 7,0 și 8,0. Prin urmare, cele mai mici valori ale activității enzimaticice relative, reprezentând $85,88 \pm 1,52\%$ și $25,82 \pm 1,24\%$ din activitatea de la pH 6,5 au fost determinate la pH 5,0 și respectiv 8,0.

Activitatea enzimatică a fost determinate la diferite valori de temperatură, între 4°C și 50°C, enzima prezentând activitate optima la 25°C. Rezultate similare au sugerat și [Hutabarat & Halbwirth \(2019\)](#) pentru activitatea PFO din diferite soiuri de mere. În contrast, enzima extrasă din merele din soiul Hemșin (*Malus communis* L.) a prezentat un optim de activitate la pH 5,5 și 30°C, utilizând cateholul ca substrat ([Aydin și colab., 2015](#)).

3.4.3. Efectul variabilelor independente asupra extracției antocianilor

În acest studiu, matricea BBD a fost utilizată pentru a evalua influența concentrației de etanol, a temperaturii și timpului de ultrasonare asupra gradului de recuperare a CTA din calixul de *Hibiscus*. Datele experimentale sunt prezentate în **Tabelul 3.2.**, iar parametrii ANOVA în **Tabelul 3.3.**

Tabel 3.2. Matricea de design Box–Behnken cu variabilele independente și datele experimentale^a pentru variabilele de răspuns (CTA) din calixul de *Hibiscus sabdariffa* L. ([Stan \(Boldea\) și colab., 2023a](#))

Număr ex- perimente	X ₁	X ₂	X ₃	CTA (mg D3G/g)
1	30	32.5	0	147.13
2	55	32.5	15	145.83
3	80	32.5	30	106.56
4	80	40.0	15	109.21
5	80	25.0	15	126.54
6	30	40.0	15	172.18
7	55	32.5	15	161.06
8	30	25.0	15	186.31
9	55	40.0	30	190.77
10	55	25.0	0	174.79
11	30	32.5	30	193.82
12	55	25.0	30	238.86
13	80	32.5	0	56.01
14	55	32.5	15	133.36
15	55	40.0	0	244.07

^a valorile sunt exprimate ca medie aritmetică a trei determinări

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 3.3. Analiza varianței și estimarea coeficienților aferenți modelului polinomial de ordinul doi pentru conținutul total de antociani (CTA) din hibiscus (Stan (Boldea) și colab., 2023a)

Sursa	DF	Adj SS	Adj MS	F-value	p-value
Model	7	1.797	0.256	11.12	0.003
Linear	3	1.328	0.442	19.18	0.001
X ₁	1	0.667	0.667	28.91	0.001
X ₂	1	0.370	0.370	16.03	0.005
X ₃	1	0.291	0.291	12.60	0.009
Square	3	0.360	0.120	5.20	0.033
X ₁ ²	1	0.079	0.079	3.43	0.106
X ₂ ²	1	0.182	0.182	7.89	0.026
X ₃ ²	1	0.083	0.083	3.63	0.098
2-Way Interac- tion	1	0.108	0.108	4.70	0.067
X ₁ X ₃	1	0.108	0.108	4.70	0.067
Error	7	0.161	0.023		
Lack-of-Fit	5	0.138	0.027	2.43	0.316
Pure Error	2	0.022	0.011		
Total	14	1.959			
R ²			0.92		
Adj R ²			0.84		

ANOVA a fost utilizată ca metodă de evaluare al efectul pătratic al variabilelor independente și interacțiunile acestora asupra extracției CTA. Valoarea *p* a regresiei de ordinul doi a fost semnificativă (*p* < 0,05), indicând faptul că modelul polinomial pătratic este precis pentru modelarea rezultatelor experimentale. Pe baza coeficientului R², modelul a fost capabil să explice 92% din variația CTA (Ecuația 3.9):

$$\text{CTA} = 6.1 + 0.02X_1 - 0.29X_2 + 0.01X_3 - 0.0002 X_1^2 + 0.004 X_2^2 + 0.0007 X_3^2 - 0.0004X_1X_3 \quad (3.9)$$

În care: X₁ este concentrația de etanol (%), X₂ este temperatura (°C), X₃ este timpul de ultrasonare (minute). În termeni liniari, concentrația de etanol și timpul de expunere la ultrasonare au avut un efect pozitiv asupra extracției antocianilor, în timp ce temperatura a avut un efect negativ semnificativ la *p* < 0.01. În termeni pătratici, numai temperatura a exercitat un efect pozitiv semnificativ, iar în termeni de interacțiune bidirecțională, concentrația de etanol și timpul au arătat un efect negativ la *p* < 0.01. Pe baza acestor coeficienți, modelul poate fi considerat un bun indicator pentru a prezice condițiile optime de extracție a antocianilor de hibiscus. Validarea ecuației modelului a fost efectuată utilizând optimizarea răspunsului care a permis identificarea combinației de variabile care să maximizeze extracția antocianilor din hibiscus. Modelul a permis estimarea parametrilor optimi de extracție cu etanol 30%, timp de menținere la ultrasonare 30 minute la 25°C, condiții în care valoarea maximă de recuperare a CTA din hibiscus a fost estimată la 256,11 mg D3G/g, cu intervale de încredere de 95% cuprinse între 221 – 290,1. Recuperarea

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

maximă a CTA rezultată în condițiile de extracție prezise a fost de $272,87 \pm 27,67$ mg D3G/g SU, confirmând validarea modelului de extracție.

Rezultatele obținute sunt în concordanță cu cele raportate recent de [Pinela și colab. \(2019\)](#), care au optimizat extracția antocianilor din calixul de *Hibiscus sabdariffa* folosind extracția asistată cu ultrasunete. Autorii au raportat că recuperarea maximă a antocianilor a fost obținută atunci când s-a utilizat o concentrație de etanol de 39,1% pentru 26,1 minute de expunere la ultrasunete. Pe de altă parte, autorii au raportat o concentrație mai mare de antociani, decât cea obținută în studiul nostru. Diferențele pot fi asociate cu tipul de sonicator și cu raportul mai scăzut dintre solid și lichid (30 g/L).

3.4.4. Analiza cromatografică a compușilor biologic activi din extractul de *Hibiscus*

HPLC și UHPLC sunt două tehnici utilizate în mod frecvent atunci când vine vorba de separarea componentelor dintr-un amestec complex. În plus, tehnicile HPLC și UHPLC pot fi utilizate în combinație pentru identificarea și cuantificarea diferiților compuși. Cu toate acestea, UHPLC cuplat cu spectrometria de masă are o sensibilitate mult mai mare, permițând separarea compușilor cu masa moleculară mai mică. Prin urmare, pentru a obține o analiză elementară de mare precizie a compușilor biologic activi din extractul de *Hibiscus*, ambele metode au fost utilizate ca metode complementare. Separarea cromatografică a compușilor bioactivi din extractul de *Hibiscus sabdariffa* L. a evidențiat că proba analizată este bogată în acid galic, miricetină, acid cafeic, acid siringic, acid sinapic, kaempferol, naringenină, acid 3,4-dihidroxibenzoic, acid clorogenic, acid ferulic, acid elagic, acid p-cumaric, în timp ce derivații de quercetină au variat între 46,06 – 68465,90 $\mu\text{g/g}$ extract SU, așa cum se poate observa din **Tabelul 3.4.a.**

Tabel 3.4.a. Analiza cantitativă a compușilor biologic active din extractul etanolic de *Hibiscus sabdariffa* L. ([Stan \(Boldea\) și colab., 2023a](#))

Compus	Concentrație, $\mu\text{g/mL}$ extract
Acizi fenolici	
Acid galic	1814.14 ± 2.07
Acid cafeic	499.67 ± 1.79
Acid siringic	9.86 ± 0.66
Acid sinapic	57.04 ± 9.42
Acid clorogenic	210.01 ± 6.22
Acid ferulic	0.8 ± 0.002
Acid elagic acid	4.02 ± 0.54
Acid p-coumaric	5.8 ± 0.01
Acid 3, 4 dihidroxibenzoic	380.96 ± 5.85
Flavonoide	
Quercetin 3-glucozid	11.35 ± 1.01
Miricetină	699.45 ± 1.81
Quercetină	775.01 ± 1.54
Rutină (quercetin 3-rutinozid)	168.7 ± 2.23
Kaempferol	10.53 ± 0.56
Naringenină	1.53 ± 0.12
Antociani	

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Delfinidin 3- <i>O</i> -β-D-glucozid	11155.37±0.37
Pelargonidină	13.92±0.42

Quercetin 3-glucozidul a fost cuantificată și din extractele de *Hibiscus sabdariffa* L. analizate de [Piovesana & Noreña \(2019\)](#), la concentrații de 1,49 mg/100 g greutate proaspătă, respectiv 13,06–17,83 μg/g greutate proaspătă. Studiile menționate mai sus au sugerat că rezultatele sunt afectate de compoziția solventului de extracție, cum ar fi metanol, apă, HCl (1% v/v) sau acid citric (2% v/v), viteza de agitare sau enzimele adăugate. Diferite metode de extracție, cum ar fi cu CO₂ supercritic sau cu microunde, ar putea fi optimizate pentru a îmbunătăți randamentul extracției compușilor bioactivi, analiza cromatografică calitativă demonstrând că miricetina și quercetin 3-glucozidul au fost identificați printre compușii bioactivi ([Pimentel-Moral și colab., 2020](#)). [Pimentel-Moral și colab. \(2020\)](#) au concluzionat că extractul de *Hibiscus sabdariffa* L. conține acid sinapic și miricetină ca și compuși majoritari, rezultate care confirmă datele experimentale obținute în acest studiu.

Dintre antocianii identificați, delfinidin-3-*O*-glucozidul a prezentat cea mai mare concentrație (**Tabelul 3.4.a.**). Antocianii din *Hibiscus sabdariffa* L. cuprind derivați de delfinidin-3-*O*-glucozid și delfinidin-3-*O*-glucozid. Având în vedere prevalența antocianilor, [Ifie și colab. \(2018\)](#) au sugerat că derivații de sambutiozid sunt cei mai abundenți compuși în hibiscus. Într-un alt studiu, [Zhang și colab. \(2022\)](#) au sugerat concentrații importante de pelargonidin-3-*O*-glucozid (2,13–35,77 μg/g) și concentrații de delfinidin-3-*O*-β-D-glucozid (17,30–168,30 μg/g) în diferite soiuri de flori de *Hibiscus syriacus* L.

În mod concludent, cuantificarea acizilor fenolici și antocianilor este strâns legată de protocoalele și parametrii de extracție, speciile și soiurile botanice, respectiv metodele de separare HPLC. Pentru a obține o compoziție elementară mai detaliată bazată pe o analiză de mare precizie a precursorilor deprotonați și a ionilor de fragmentare, a fost utilizată tehnica UHPLC. După cum se poate observa din **Tabelul 3.4.b.**, a fost identificat un spectru larg de polifenoli (47 de compuși), cum ar fi antocianine (delfinidin-3-*O*-sambubiozid/hibiscină, delfinidină, pelargonidină, delfinidin-3-*O*-β-D-glucozid), acizi fenolici (acid clorogenic, acid neoclorogenic, acid hibiscus, acid azelaic, acid sinapic), flavonoide (kaempferol, kaempferol-3-*O*-sambubiozid, kaempferol-3-*O*-rutinozid, galocatehină, kaempferol glucozid și spicozid A) .

Tabel 3.4.b. Compușii bioactivi detectați în extractul etanolic de *Hibiscus sabdariffa* L. prin spectrometrie de masă ([Stan \(Boldea\) și colab., 2023a](#))

Nr.	Timpul de retenție (min)	m/z Experimental	Formula moleculară	Compus propus
1.	0.61/6.08	191.05614	C ₇ H ₁₂ O ₆	Acid quinic acid/izomer
2.	0.69	207.01467	C ₆ H ₈ O ₈	Acid hibiscus
3.	1.31	169.01427	C ₇ H ₆ O ₅	Acid galic
4.	2.77	153.01933	C ₇ H ₆ O ₄	Acid 3, 4 Dihidroxibenzoic
5.	3.13	423.36326	C ₃₀ H ₄₈ O	Taraxasterol
6.	3.85	305.06668	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	Galocatehină/epigallocatecină

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

7.	3.87	353.08783	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Acid neoclorogenic
8.	4.98	339.072155	C ₁₅ H ₁₆ O ₉	Dafnin
9.	5.12	359.07727	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	Acid rosmarinic
10.	5.22/8.21	337.09292	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	Acid coumanoilquinic/izomer
11.	6.03	353.08783	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Acid clorogenic
12.	6.11	177.01936	C ₉ H ₆ O ₄	Aesculetină/izomer
13.	6.55	179.03501	C ₉ H ₈ O ₄	Acid cafeic
14.	6.71	353.08783	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Acid 1-Caffeoilquinic
15.	7.32	197.04555	C ₉ H ₁₀ O ₅	Acid siringic
16.	7.63	615.11222	C ₂₆ H ₂₉ ClO ₁₅	Cianidin 3-sambubiozid
17.	7.9	263.0772	C ₁₀ H ₁₆ O ₈	Acid 2- <i>O</i> -trans-cafeoil-hidroxicitric
18.	8.32	449.07255	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₂	Miricetin-arabinozid
19.	8.34	353.0878	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Acid 1- <i>O</i> -cafeoilquinic acid
20.	8.73	269.0501	C ₁₅ H ₁₁ O ₅ ⁺	Pelargonidină
21.	8.82	163.03954	C ₉ H ₈ O ₃	Acid p-coumaric
22.	9.8	193.05066	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	Acid ferulic
23.	10.09	319.0823	C ₁₆ H ₁₆ O ₇	Metil epigallocatehină
24.	10.33	223.06122	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	Acid sinapic
25.	10.89	335.0772	C ₁₆ H ₁₆ O ₈	Acid 5- <i>O</i> -Cafeoilsikimic
26.	11.26	596.13828	C ₂₆ H ₂₉ O ₁₆ ⁺	Delfinidin-3- <i>O</i> -sambubiozid
27.	11.74	607.16684	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	Hispidulin 7-rutinozid/izomer
28.	12.04	300.99899	C ₁₄ H ₆ O ₈	Acid elagic
29.	12.15	463.0882	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	Quercetin 3- <i>O</i> glucozid
30.	12.22	515.11950	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	Acid 1,5-Di- <i>O</i> -cafeoilquinic
31.	12.27	739.20913	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	Robinină
32.	12.45	609.14613	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Rutină (quercetin 3-rutinozid)
33.	13.01	577.15630	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	Apigenină - 7 rutinozid
34.	13.13	317.03032	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	Miricetină
35.	13.56	229.0506	C ₁₅ H ₁₁ O ₇ ⁺	Delfinidin 3- <i>O</i> -β-D-glucozid
36.	13.62	447.09331	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	Kaempferol (sau luteolin)- <i>O</i> -glucozid/ izomeri
37.	13.63	579.1355	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	Kaempferol-3- <i>O</i> -sambubiozid
38.	13.67	593.15122	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Kaempferol-3- <i>O</i> - rutinozid
39.	13.68	593.15122	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Apigenină 7- <i>O</i> -glucosilglucozid
40.	13.9	625.11992	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₅	Spicosidă A
41.	14	187.09761	C ₉ H ₁₆ O ₄	Acid azelaic
42.	15.07	301.03540	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	Quercetină
43.	15.17	337.01208	C ₁₅ H ₁₁ ClO ₇	Delfinidină
44.	15.55	271.06122	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	Naringenină
45.	16.55	285.04049	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	Kaempferol
46.	18.86	329.17586	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	Carnasol
47.	22.2	359.18640	C ₂₁ H ₂₈ O ₅	Rosmanol metil eter

O mare varietate de acizi fenolici și organici în extractul etanolic de *H. sabdariffa* a fost, de asemenea, sugerată de [Borrás-Linares și colab. \(2015\)](#), inclusiv acidul hibiscus, acidul hidroxicitric, acidul protocatecuic, acidul citric, în timp ce glicozidele de quercetină și gosipetina au fost identificate ca fiind principalele flavonoide. În ceea ce privește conținutul de antociani, [Jabeur și colab. \(2017\)](#) au evidențiat prezența delfinidin-3-*O*-sambubiozidei,

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

delfinidin-3-*O*-glucozidei și cianidin-3-*O*-sambubiozidei ca și compuși majori în calixul de *H. sabdariffa*. [Borrás-Linares și colab. \(2015\)](#) au studiat mai multe extracte din *Hibiscus sabdariffa* L. folosind tehnici cuplate de UHPLC-ESI-UHR-Qq-TOF-MS pentru detectarea și caracterizarea compușilor fenolici și a altor compuși polari prezenți în extract. Rezultatele au evidențiat prezența a 32 de compuși, dintr-un spectru larg de acizi organici și derivați ai acestora, inclusiv acizii hibiscus și dimetilesterul său, hidroxietilesterul și hidroxietildimetilesterul, hidroxicitric, acidul 2-*O*-trans-cafeoilhidroxicitric, acidul 5-*O*-cafeoilshikimic și acidul cumaroilchinic. În plus, au fost găsiți alți compuși, cum ar fi quercetina și conjugatii săi glucozid, rutinozid și sambubiozid; kaempferol și formele sale rutinozide și sambubiozide; miricetină, miricetin-3-arabinogalactozidă și metilepigallocatechină. Mai mult, printre antocianii responsabili pentru culoarea roșie aprinsă a extractului, au fost detectate în special delfinidin-3-*O*-sambubiozidul și cianidin-3-*O*-sambubiozid.

3.4.5. Efectul inhibitor

În continuare, au fost efectuate studii control pentru a estima gradul de inhibiție al standardelor individuale asupra activității PFO. Acidul cafeic a prezentat cel mai mare potențial inhibitor, conducând la un grad de inhibiție de 88%, în timp ce acidul galic, quercitina, acidul clorogenic și acidul 3,4 hidroxibenzoic au prezentat un grad de inhibiție de aproximativ 74%, 54%, 73% și respectiv 72%. La combinarea standardelor polifenolice, gradul de inhibiție a atins valoarea 72%. Valorile CI50 corespunzătoare au fost de $24,65 \pm 1,02$ mMol acid galic/ml, $24,40 \pm 1,33$ mMol quercetină/ml, $24,44 \pm 1,08$ mMol/mL pentru acid clorogenic, $26,94 \pm 0,98$ mMol acid cafeic/ml și $23,19 \pm 0,26$ mmol 3,4 hidroxybenzoic/mL.

Mai mult, pentru a testa efectul inhibitor al extractului de hibiscus asupra activității PFO, s-au adăugat diferite concentrații de extract fenolic și a fost măsurată activitatea enzimatică. Gradul de inhibiție a variat pe măsură ce crește concentrația extractului, până la 49,6%, cu o valoare CI50 de $37,10 \pm 1,23$ μMol D3G/mL. Valori similare pentru inhibarea PFO din mere au fost raportate de [Soysal \(2009\)](#), de 42% prin utilizarea unui extract de ceai verde (0,35 g acid galic/L), în timp ce un extract de yerba mate care conține 1,09 g echivalenți de acid galic/L a redus activitatea PFO din mere cu 50% ([Rodríguez-Arzuaga & Piagentini, 2018](#)). Rezultatele obținute sugerează un efect inhibitor mai mare al extractului de hibiscus în comparație cu antioxidantul de referință (acid ascorbic la o concentrație de 0,4 g/L), care are capacitatea de a inhiba PFO de mărar de aproximativ 45% ([Villamil-Galindo et al., 2020](#)).

[Villamil-Galindo et al. \(2020\)](#) au raportat un grad de inhibiție pentru PFO din mere de 30,26% indus de polifenoli extrași din subproduse rezultate de la procesarea căpșunilor (0,24 g echivalenți de acid galic/L) în comparație cu 44,61% pentru acidul ascorbic (0,40 g/L). [Bayrak și colab. \(2020\)](#) au studiat PFO din cartofi și au sugerat că acizii fenolici au proprietăți inhibitoare. De asemenea, s-a determinat că toți compușii studiați au prezentat un efect de inhibiție competitivă. Dintre acești compuși, acidul 3-hidroxibenzoic s-a dovedit a fi cel mai eficient inhibitor. Mai mult, [Jiang și colab. \(2022\)](#) au studiat inhibarea PFO de către acidul 4-hidroxicinamic și naringenină și au arătat că ambii compuși au prezentat un

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

efect inhibitor, acidul 4-hidroxicinamic fiind cel mai competitiv inhibitor. Mai mult, diferite studii au sugerat că epigallocatechin-3-galatul (Tian și colab. 2022), quercetina (Aksoy și colab., 2020), cianidin-3-soforozid (Hemachandran și colab. 2017) pot inhiba PFO. De exemplu, Tian et al. (2022) au explicat că epigallocatechin-3-galatul poate interacționa cu domeniul binuclear de cupru din PFO prin legături hidrofobe și de hidrogen, prin interacțiuni reversibile.

3.4.6. Cinetica inactivării termice

Efectul aplicării unor combinații diferite de timp-temperaturi asupra activității PFO a sugerat o termostabilitate ridicată, enzima prezentând mai mult de 93% din activitatea sa inițială după 5 minute la 70°C și, respectiv, aproximativ 82% la 95°C. Cea mai mare rată de inactivare a avut loc la un timp prelungit de menținere la temperatură constantă, când PFO a păstrat ~ 88% și ~ 49% din activitatea sa inițială, după 20 de minute de încălzire la 70°C și, respectiv, 95°C. Prin urmare, se poate aprecia că efectul inhibitor maxim al activității PFO prin adăugarea a 9,8 mmol quercetină/mL este echivalent cu un tratament termic la 95°C timp de 20 min. Buckow și colab. (2009) au raportat inactivarea PFO cu creșterea temperaturii, sugerând că tratamentele la 50°C, 55°C și 60°C au condus la reducerea activității enzimatică cu aproximativ 40%, 62% și 84% în decurs de 10 minute de tratament, în timp ce incubarea ulterioară la 65°C sau 70°C a cauzat o reducere de peste 95% a activității PFO după 10 min și, respectiv, 1 min.

Cinetica de inactivare a PFO la presiunea atmosferică a fost studiată la temperaturi cuprinse între 70 și 95°C (Figura 3.2.).

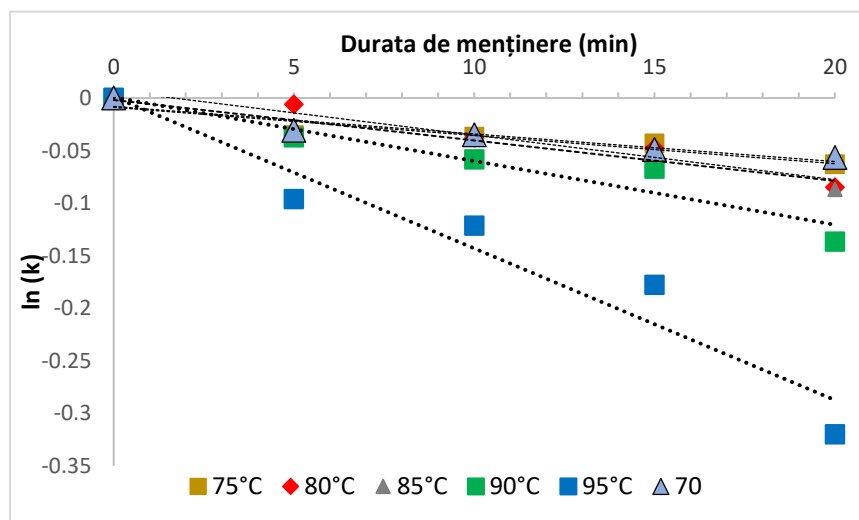


Figura 3.2. Inactivarea termică a PFO la diferite combinații de temperatură-timp (Stan (Boldea) și colab., 2023a)

Din Figura 3.2. se poate observa că cinetica de inactivare a PFO urmează un model cinetic de ordinal I (R^2 variind de la 0,87 la 0,94), fapt care a permis estimarea constantelor vitezei de inactivare (k) și a valorilor timpului de reducere decimală (D). Valorile k au variat de la $5,91 \pm 0,12 \times 10^{-3}$ (1/min) la 70°C la $33,90 \pm 0,82 \times 10^{-3}$ (1/min) la 95°C. Valorile D estimate pentru PFO au scăzut odată cu creșterea temperaturii, de la $387,13 \pm 2,22$ min la 70°C la

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

69,54±0,50 min la 95°C, sugerând o stabilitate ridicată a enzimei în intervalul de temperatură studiat (**Tabel 3.5.**).

Tabel 3.5. Constantele vitezelor de inactivare (k), timpul de reducere decimală (D), și energia de inactivare (E_a) pentru PFO din măr ([Stan \(Boldea\) și colab., 2023a](#))

Temperatura, °C	k × 10 ⁻³ (1/min)	D (min)	E _a (kJ/Mol)	z (°C)
70	5,91±0,12 ^{E*}	387,13±2,22 ^A	67,88±10,36	35,33±1,09
75	6,69±0,41 ^E	370,17±1,03 ^B		
80	8,89±0,18 ^D	239,64±1,49 ^C		
85	12,52±0,47 ^C	188,14±0,51 ^D		
90	14,90±0,14 ^B	157,04±0,82 ^E		
95	33,90±0,82 ^A	69,54±0,50 ^F		

* Literele diferite din suprascript indică diferențe semnificative între rezultatele pe aceeași coloană (p < 0.05).

E_a de inactivare a PFO în intervalul de temperatură de la 75°C până la 95°C a fost de 67,88±10,36 kJ/mol (R² = 0,94), în timp ce valoarea z a fost 35,33±1,09° C.

3.4.7. Simularea modificărilor conformaționale induse de tratamentul termic prin dinamică moleculară

Rezultatele obținute de la studiul cineticii de inactivare au fost explicate prin simulări de dinamică moleculară. Abaterea medie pătratică între atomii modelelor optime suprapuse pentru enzima echilibrată la 25°C și 90°C a fost de 5,85 Å, sugerând rearanjamente importante ale moleculei la tratamentul termic. În **Tabelul 3.6.** sunt prezentate principalele structuri și descriptorii energetici pentru moleculele echilibrate la 25°C și 90°C. După cum era de așteptat, creșterea temperaturii a dus la creșterea semnificativă a energiei totale a enzimei solvate, ca o consecință a mișcării termice mai accelerate. Referitor la elementele care definesc structura secundară a enzimei, se poate observa din **Tabelul 3.6.** că tratamentul termic a condus la scăderea numărului de structuri filamentoase de la 17 la 14 și a structurilor helicoidale de la 21 la 19. Deși suprafața totală a proteinei a scăzut semnificativ de la 258,14 la 240,75 nm² odată cu creșterea temperaturii de la 25°C la 90°C, sugerând pliarea lanțurilor polipeptidice, aceste rearanjamente intramoleculare au condus la o expunere mai mare a aminoacizilor hidrofobi la solvent (**Tabelul 3.7.**).

Tabel 3.6. Detalii la nivel molecular referitoare la interacțiunea dintre PFO din măr și catehină, cafestol și acid galic ([Stan \(Boldea\) și colab., 2023a](#))

Ligand	Energia de legare, kcal/mol	Suprafața de interacțiune a PFO, Å ²	Aminoacizi blocați la formarea complexului	Aminoacizi implicați în interacțiunile hidrofobe	Nr. legăturilor de H/ Aminoacizi implicați	ΔG ^{int} , Kcal/mol	ΔG ^{diss} , Kcal/mol
Catehină	-7.40	69.7	Ala ¹⁰⁹ , Lys ¹⁵⁸ , Phe ¹⁶⁸ , Asp ²⁵³ , Arg ³⁵³	Phe ¹⁶⁸ , Lys ¹⁶⁹ , Leu ²⁰⁵ , Asp ³⁴⁴ , Arg ³⁵³	8 / Gly ¹⁰⁸ , Lys ¹⁵⁸ , Lys ¹⁶⁹ , Asp ²⁵³ ,	-0.3	2.5

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Cafestol1	-7.20	95.5	Arg ³⁶⁶ , Ser ³⁶⁹ , Ile ³⁷⁰ , Tyr ⁴¹⁸ , Gln ⁴¹⁹ , Val ⁴²¹ , Ile ⁴²³	Val ⁴¹⁷ , Tyr ⁴¹⁸	Glu ³⁴³ , Asp ³⁴⁴ , Arg ³⁵³ 3 / Arg ³⁶⁶ , Val ⁴²¹	1.3	0.1
Cafestol2	-7.20	90.8	Tyr ²⁷⁰ , Gly ²⁷² , Asn ³³⁷ , Phe ³⁴² , Val ⁵⁰⁸ , Ala ⁵⁰⁹ , Phe ⁵⁷⁹	Tyr ²⁷⁰ , Thr ³³⁸ , Ala ⁵⁰⁹ , Phe ⁵⁷⁹	2 / Ala ⁵⁰⁹ , Phe ⁵⁷⁹	-0.3	1.7
Acid ga- lic	-5.90	121.8	Pro ³⁰⁸ , Asp ³¹³ , Glu ³¹⁴ , Pro ³¹⁵ , Asp ³¹⁶ , Pro ³¹⁷ , Asn ⁵⁴⁹ , Ile ⁵⁵¹	Glu ³¹⁴ , Pro ³¹⁷	5 / Glu ³¹⁴ , Asp ³¹⁶ , Asn ⁵⁴⁹	0.0	1.0

ΔG^{int} – energia liberă de solvatare la formarea complexelor; ΔG^{diss} – energia liberă de disociere.

Tabel 3.7. Efectul tratamentului termic asupra structurii și energiei PFO din măr (Stan (Boldea) și colab., 2023a)

Descriptori	Temperatură	
	25°C	95°C
Structura secundară		
Nr. structurilor filamentoase	17	14
Nr. structurilor foaie pliata	6	5
Nr. de helixuri	21	19
Interacțiuni helix-helix	27	29
Nr. structurilor beta turn	71	73
Nr. structurilor gamma turn	24	25
Structură globală		
Volum, nm ³	97,98±2,02 ^a	95,71±2,42 ^a
HSAS, nm ²	101,83 ±1,06 ^b	144,94 ±1,80 ^a
Suprafață totală, nm ²	258,14±2,28 ^a	240,75±2,56 ^b
Legături de H intramoleculare	424±10 ^a	424 ±9 ^a
Legături de H între protein și apă	928±15 ^a	827±21 ^a
Energie		
Potențial energetic, kJ/mol	(-1939,34±1,42) x 10 ^{3 b}	(-1736,31±1,41) x 10 ^{3 a}
Energia cinetică, kJ/mol	(504,76±0,48) x 10 ^{3 b}	(621,09±0,56) x 10 ^{3 a}
Energia totală, kJ/mol	(-1434,59±1,30) x 10 ^{3 b}	(-1115,22±1,31) x 10 ^{3 a}

* Litere din suprascript diferite indică diferențe semnificative între rezultatele de pe aceeași linie (p < 0.05). HSAS - suprafață hidrofoabă disponibilă solventului.

Ca o consecință a creșterii cu 40% a suprafeței hidrofoabe disponibilă solventului, numărul total de legături de hidrogen stabilite între aminoacizii de suprafață și moleculele de apă a scăzut de la 928 la 25°C la 827 la 90°C.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

3.4.8. Modificări conformaționale monitorizate prin spectroscopie de fluorescență

În **Figura 3.3.** sunt prezentate spectrele de emisie ale PFO obținute prin titrarea succesivă cu extract de hibiscus. Din **Figura 3.3.** se poate observa că intensitatea relativă a fluorescenței PFO la 25°C a scăzut de la 100% până la 33,5%, când concentrația extractului a crescut de la 0 la 58,55 mMol D3G/mL. Tratamentul termic a determinat modificări conformaționale, cu o scădere corespunzătoare a valorilor fluorescenței, până la 32,5% la 50°C, 34,3% la 60°C, 63,8% la 70°C, 33,4% la 80°C și 32,1% la 80°C și respectiv 90°C.

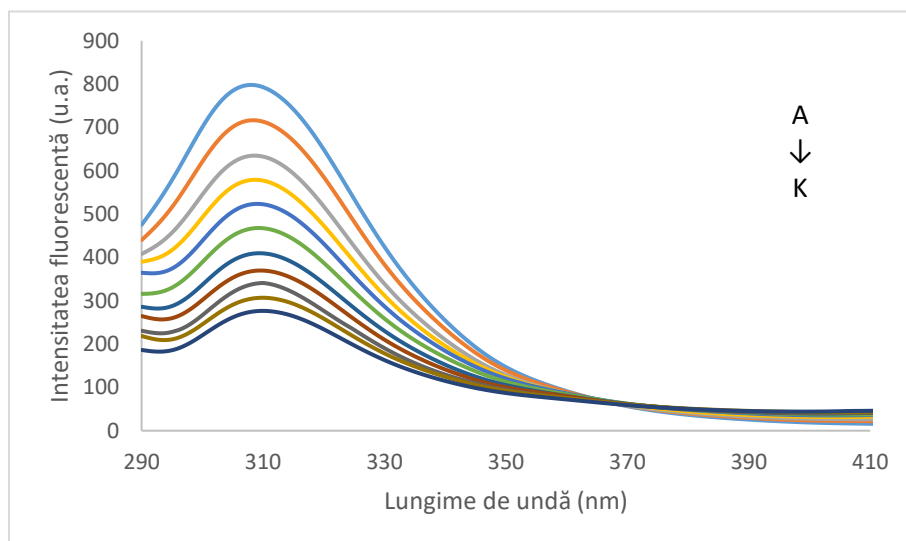


Figura 3.3. Spectrele de emisie care descriu interacțiunea dintre PFO și extractul *Hibiscus sabdariffa* L. la concentrații diferite de antociani (0 (A) la 2.06 mM (K)) (Stan (Boldea) și colab., 2023a)

Mai multe detalii despre legarea principalilor compuși bioactivi din extractul etanolic de *Hibiscus* la PFO au fost obținute după rularea simulărilor de andocare moleculară. Enzima a fost folosită ca receptor pentru cafestol, acid galic și catehină, iar cele mai bune rezultate de andocare au fost decise pe baza celei mai scăzute valori de energie de legare, ceea ce indică o bună afinitate între cele două molecule ale complexului. Cea mai mică energie de legare de $-7,40 \text{ kcal mol}^{-1}$ a fost obținută în cazul complexului cu catehina, în timp ce cea mai mare, de $-5,90 \text{ kcal mol}^{-1}$, în cazul complexului cu acid galic. Cafestol, pe de altă parte, se leagă cu aceeași afinitate (energie de legare de $7,20 \text{ kcal mol}^{-1}$) de două cavități diferite ale enzimei (**Figura 3.4.**). Analizând aminoacizii în contact direct cu fiecare ligand (**Tabelul 3.7.**), se poate observa că diferite situsuri de legare situate la suprafața enzimei sunt implicate în formarea complexului. Pentru toate complexe investigate, din **Tabelul 3.7** se remarcă faptul că interacțiunea dintre PFO și liganzi se datorează contactelor hidrofobe și legăturile de hidrogen.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

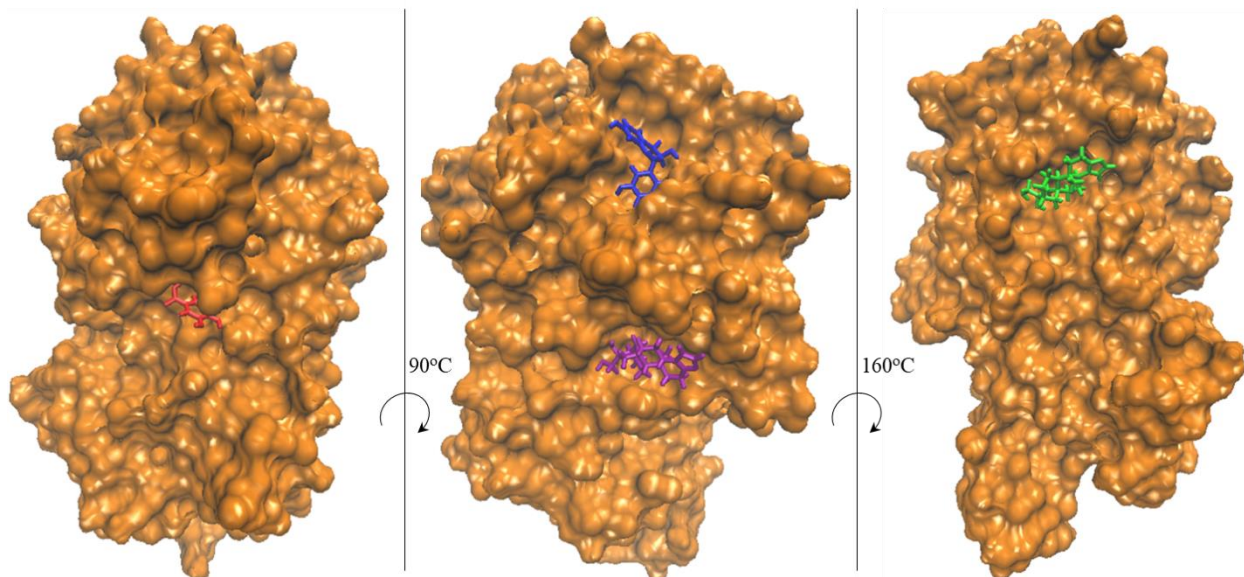


Figura 3.4. Modele 3D ale complexelor formate între PFO din măr (reprezentată în stil surf) cu principalii compuși bioactivi (reprezentati în stil licorice) din extractul etanolic de *Hibiscus sabdariffa* L.: catechina (albastru), cafestol (complex1 în verde), și complex2 în violet) și acid galic (roșu). Imaginile au fost generate cu software-ul VMD (Stan (Boldea) și colab., 2023a)

În întregul interval de temperatură studiat, $\lambda_{\max}$ a arătat o mică deplasare spre roșu de $2,5 \pm 0,5$ nm de la 308 nm la 310,5 nm (red-shift). Valorile constantelor Stern-Volmer (K_{SV}), constanta vitezei de quenching (k_q), constantele de legare (K_b) și numărul de situsurilor de legare (n) sunt prezentate în **Tabelul 3.8**.

Tabel 3.8. Valorile constantelor Stern-Volmer (K_{SV}), constanta de quenching a fluorescenței (k_q), constantele de legare (K_b) și numărul de situsurilor de legare (n) între PFO din măr și extractul de *Hibiscus sabdariffa* L. (Stan (Boldea) și colab., 2023a)

Tem- per-a- tura, °C	K_{SV} ($\times 10^6$, L/mol)	k_q ($\times 10^{13}$ mol/s)	K_b ($\times 10^6$, L/mol)	n	ΔH (J/mol)	ΔS (J/mol/K)	ΔG (kJ/mol)
25	$35,30 \pm 0,18^A$ *	$35,30 \pm 0,18^A$ *	$0,70 \pm 0,01^C$	$1,39 \pm 0,001$ C	$132,85 \pm 2,9$ 8	$0,29 \pm 0,00$ 1	$46,43 \pm 1,0$ 7
50	$35,50 \pm 0,07^A$	$35,50 \pm 0,07^B$	$0,75 \pm 0,01^B$	$1,48 \pm 0,01^B$			$39,18 \pm 2,1$ 0
60	$31,60 \pm 0,38^D$	$31,60 \pm 0,38^B$	$0,79 \pm 0,009^A$	$1,55 \pm 0,01^A$			$36,28 \pm 1,1$ 9
70	$32,70 \pm 0,04^C$	$32,70 \pm 0,04^B$	$0,79 \pm 0,007^A$	$1,55 \pm 0,04^A$			$32,93 \pm 1,2$ 9
80	$33,60 \pm 0,28^B$	$33,60 \pm 0,28^B$	$0,77 \pm 0,009^A$ B	$1,51 \pm 0,01^A$ B	$-87,18 \pm 2,57$	$-0,35 \pm 0,08$	$36,43 \pm 1,1$ 5
90	$35,40 \pm 0,01^A$	$35,40 \pm 0,01^B$	$0,75 \pm 0,005^B$	$1,47 \pm 0,005$ B			$39,93 \pm 1,5$ 6

* Literele diferite din aceeași coloană prezentate ca superscript denotă diferențe semnificative ($p < 0.05$).

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Se poate observa că valorile K_{SV} au scăzut de la $35,30 \pm 0,18 \times 10^6$ L/M la 25°C până la $31,60 \pm 0,38 \times 10^6$ L/M la 60°C și a crescut la $35,40 \pm 0,01 \times 10^6$ L/M la 90°C, sugerând modificări conformaționale importante. Având în vedere valoarea constantei ratei de quenching a fluorescenței (k_q) ($2,0 \times 10^{-10}$ M⁻¹ s⁻¹) (Lakowicz, 2006), valorile K_{SV} obținute sugerează că mecanismul de stingere a fluorescenței PFO este colizional până la 60°C și static la temperatură mai mare. Prin urmare, trendul de creștere-scădere ale valorilor K_{SV} pot sugera formarea unor complexe între PFO și antociani din extractul de hibiscus flexibile mediată de temperatură. Zhou și colab. (2017) au sugerat o valoare mai mică a K_{SV} pentru inhibarea PFO de către acidul gentizic de $3,52 \times 10^3$ L/M și 0,90 pentru numărul de locuri de legare la 25°C. Diferențele semnificative ale valorii K_{SV} pot fi explicate prin modificările conformaționale induse de un spectru larg de compuși fenolici prezenți în extractul de hibiscus în comparație cu modificările structurale limitate induse de un compus individual.

Valorile obținute pentru situsurile de legare sugerează prezența a două situsuri de legare pentru compușii din extractul de hibiscus, n atingând valoarea de 1,54. Pentru a identifica tipul și contribuția forțelor intermoleculare la formarea complexelor, s-au determinat valorile energiei libere Gibbs (ΔG), entalpiei (ΔH) și entropiei (ΔS). Modificările conformaționale ale PFO indusă de tratamentul termic sunt complexe, care implică forțe diferite în două intervale de temperatură. Prin urmare, pe baza valorilor pozitive ale ΔH și ΔS (Tabelul 3.8.), se poate sugera că, în intervalul de temperatură de la 25 la 60°C, interacțiunile dintre PFO și compușii biologic activi din extractul de hibiscus sunt determinate de interacțiuni hidrofobe, în timp ce la o temperatură mai mare, interacțiunile sunt spontane și implică legături van der Waals și de hidrogen. Prin urmare, mecanismul de quenching este dependent de temperatură, sugerând realocarea reziduurilor de aminoacizi aparținând situsurilor de legare într-un interval de temperatură mai scăzut și, respectiv, mascarea lor la o temperatură mai mare. Valorile obținute pentru parametrii termodinamici susțin ipoteza unei asocieri mediate de entalpie a moleculelor la temperaturi scăzute și de entropie la temperaturi ridicate, rezultată din diminuarea efectului hidrofob odată cu creșterea temperaturii.

3.5. CONCLUZII PARȚIALE

Obiectivul principal al studiului intitulat *Identificarea și evaluarea capacității de inhibare a unor extracte naturale asupra polifenoloxidazei din mere* a fost acela de a investiga potențialul unui extract optimizat și validat obținut prin extracția solid-lichid asistată de ultrasunete din *Hibiscus sabdariffa* L. de a inhiba activitatea polifenoloxidazei extrase din mere. Rezultatele obținute în cadrul acestui capitol au permis elaborarea următoarelor concluzii:

- A. Polifenoloxidaza a fost extrasă din mere autohtone prin metoda de precipitare succesivă cu sulfat de amoniu și purificată în coloane cromatografice cu ajutorul echipamentului ÄKTA pure 25 (GE Healthcare), pe o coloană de schimb ionic Mono Q 5/50 GL Fast Flow echilibrată anterior cu o soluție tampon fosfat de 20 mM (pH 7,52). Coloana cromatografică a fost eluată cu NaCl prin aplicarea unui

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

gradient liniar care a crescut de la 0 la 1,0 M în tampon fosfat 20 mM (pH 7,52), la un debit de 1 ml/min.

- B. În ultima etapă de purificare, s-a obținut o fracțiune cu un conținut mai mic de proteină (0.12 mg/mL), care a prezentat o activitate enzimatică specifică de 235933,39 unități/mg. Această valoare a corespuns unui grad de purificare de 6.98 ori, cu o rată de recuperare a enzimei de 16,71%.
- C. Polifenoloxidaza din mere a prezentat cea mai mare activitate enzimatică la pH 6,5 ($682,55 \pm 1,92$ DO/min) și la temperatura de 25°C, utilizând pirocatehol de concentrație 0,03 M ca substrat.
- D. Pentru experimentele de optimizare a extracției compușilor polifenolici din *Hibiscus sabdariffa*, s-a utilizat metodologia suprafeței de răspuns cu ajutorul unui design Box-Behnken cu variabilele independente temperatura, timpul de extracție și concentrația de etanol, fiind derulate 15 experimente, pentru care variabila de răspuns a fost conținutul total de antociani monomerici.
- E. Din datele obținute, valoarea p a regresiei de ordinul doi a fost semnificativă ($p < 0,05$), indicând faptul că modelul polinomial pătratic este precis pentru modelarea rezultatelor experimentale. Pe baza coeficientului R^2 , modelul derivat a fost capabil să explice 92% din variația conținutului total de antociani monomerici.
- F. Modelul utilizat a permis estimarea parametrilor optimi de extracție cu etanol 30%, timp de menținere la ultrasonare 30 minute la 25°C, condiții în care valoarea maximă de recuperare a antocianilor din *Hibiscus sabdariffa* L. a fost estimată la 256,11 mg D3G/g, cu intervale de încredere de 95% cuprinse între 221 – 290,1. Recuperarea maximă rezultată în condițiile de extracție prezise a fost de $272,87 \pm 27,67$ mg D3G/g SU, confirmând validarea modelului de extracție.
- G. Separarea cromatografică a compușilor bioactivi din extractul de *Hibiscus sabdariffa* L. a evidențiat că proba validată de extract este bogată în acid galic, miricetină, acid cafeic, acid siringic, acid sinapic, kaempferol, naringenină, acid 3,4-dihidroxibenzoic, acid clorogenic, acid feru-lic, acid elagic, acid p-cumaric, în timp ce derivații de quercetină au variat între 46,06 – 68465,90 $\mu\text{g/g}$ extract SU.
- H. Analiza UHPLC a permis identificarea unui spectru larg de polifenoli (47 de compuși), cum ar fi antocianine (delfinidin-3-*O*-sambubiozid/hibiscină, delfinidină, pelargonidină, delfinidin-3-*O*- β -D-glucozid), acizi fenolici (acid clorogenic, acid neoclorogenic, acid hibiscus, acid azelaic, acid sinapic), flavonoide (kaempferol, kaempferol-3-*O*-sambubiozid, kaempferol-3-*O*-rutinozid, galocatehină, kaempferol glucozid și spicozid A).
- I. Pentru studiul efectului inhibitor, într-o etapă preliminară au fost testate o serie de standarde de compuși fenolici, individui și în combinație, iar rezultatele au demonstrat că acidul cafeic a prezentat cel mai mare potențial inhibitor, conducând la un grad de inhibiție de 88%, în timp ce acidul galic, quercitina, acidul

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

clorogenic și acidul 3,4 hidroxibenzoic au prezentat un grad de inhibiție de aproximativ 74%, 54%, 73% și respectiv 72%.

- J. La combinarea standardelor polifenolice în raport de 1:1:1, gradul de inhibiție a atins valoarea 72%. Valorile CI50 corespunzătoare au fost de $24,65 \pm 1,02$ mMol acid galic/ml, $24,40 \pm 1,33$ mMol quercetină/ml, $24,44 \pm 1,08$ mMol/mL pentru acid clorogenic, $26,94 \pm 0,98$ mMol acid cafeic/ml și $23,19 \pm 0,26$ mmol 3,4 hidroxybenzoic/mL.
- K. Extractul optimizat și validat din *Hibiscus sabdariffa* a prezentat un grad de inhibiție variabil, atingând un maxim de 49,6%, cu o valoare CI50 de $37,10 \pm 1,23$ μMol D3G/mL.
- L. Studiile de inactivare termică a polifenoloxidazei extrasă din mere au demonstrat o stabilitate ridicată a enzimei, enzima prezentând mai mult de 93% din activitatea sa inițială după 5 minute la 70°C și aproximativ 82% la 95°C. Cea mai mare rată de inactivare a avut loc la un timp prelungit de menținere la temperatură constantă, când enzima a păstrat ~ 88% și ~ 49% din activitatea sa inițială, după 20 de minute de încălzire la 70°C și, respectiv, 95°C.
- M. Cinetica de inactivare a polifenoloxidazei a fost descrisă de un model cinetic de ordinal I, fapt care a permis estimarea constantelor vitezei de inactivare (k) și a valorilor timpului de reducere decimală (D).
- N. Valorile k au variat de la $5,91 \pm 0,12 \times 10^{-3}$ (1/min) la 70°C la $33,90 \pm 0,82 \times 10^{-3}$ (1/min) la 95°C. Valorile D estimate au scăzut odată cu creșterea temperaturii, de la $387,13 \pm 2,22$ min la 70°C la $69,54 \pm 0,50$ min la 95°C, sugerând o stabilitate ridicată a enzimei în intervalul de temperatură studiat.
- O. E_a de inactivare în intervalul de temperatură de la 75°C până la 95°C a fost de $67,88 \pm 10,36$ kJ/mol ($R^2 = 0,94$), în timp ce valoarea z a fost $35,33 \pm 1,09$ C.
- P. Studiile de dinamică moleculară au evidențiat că tratamentul termic a condus la scăderea numărului de structuri filamentoase de la 17 la 14 și a structurilor helicoidale de la 21 la 19. Deși suprafața totală a proteinei a scăzut semnificativ de la 258,14 la 240,75 nm² odată cu creșterea temperaturii de la 25°C la 90°C, sugerând pliarea lanțurilor polipeptidice, aceste rearanjamente intramoleculare au condus la o expunere mai mare a aminoacizilor hidrofobi la solvent.
- Q. Studiile de spectroscopie de fluorescență au evidențiat scăderea valorilor fluorescenței polifenoloxidazei odată cu creșterea temperaturii, ceea ce denotă modificări conformaționale, cu o scădere corespunzătoare a valorilor fluorescenței, până la 32,5% la 50°C, 34,3% la 60°C, 63,8% la 70°C, 33,4% la 80°C și 32,1% la 80°C și respectiv 90°C.
- R. În plus, titrarea succesivă cu extract de *Hibiscus sabdariffa* a condus la o scădere a fluorescenței cu până la 65% din valoarea inițială.
- S. Enzima a fost folosită ca receptor pentru cafestol, acid galic și catehină, iar cele mai bune rezultate de andocare au fost estimate pe baza energiilor de legare. Cea mai mică energie de legare de $-7,40$ kcal mol⁻¹ a fost obținută în cazul complexului

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

cu catehina, în timp ce cea mai mare, de $-5,90 \text{ kcal mol}^{-1}$, în cazul complexului cu acid galic. Cafestol, pe de altă parte, se leagă cu aceeași afinitate (energie de legare de $7,20 \text{ kcal mol}^{-1}$) de două cavități diferite ale enzimei, evidențiindu-se că principalele forte implicate în legarea liganzilor la proteină sunt legăturile hidrofobe și de hydrogen.

- T. Valorile constantelor de legare au evidențiat o scădere de la $35,30 \pm 0,18 \times 10^6 \text{ L/M}$ la 25°C până la $31,60 \pm 0,38 \times 10^6 \text{ L/M}$ la 60°C și a crescut la $35,40 \pm 0,01 \times 10^6 \text{ L/M}$ la 90°C , sugerând modificări conformaționale importante.
- U. S-a sugerat că mecanismul de stingere a fluorescenței polifenoloxidazei este colizional până la 60°C și static la temperatură mai mare. Prin urmare, trendul de creștere-scădere ale valorilor constantelor de legare pot sugera formarea unor complexe între enzimă și antociani din extractul de hibiscus flexibile mediată de temperatură.
- V. Valorile obținute pentru situsurile de legare sugerează prezența a două situsuri de legare pentru compușii din extractul de hibiscus, n atingând valoarea de 1,54, ceea ce confirm rezultatele obținute din andocarea moleculară.
- W. În intervalul de temperatură de la 25 la 60°C , interacțiunile dintre enzimă și compușii biologic activi din extractul de hibiscus sunt determinate de interacțiuni hidrofobe, în timp ce la o temperatură mai mare, interacțiunile sunt spontane și implică legături van der Waals și de hidrogen.
- X. Mecanismul de quenching a fost dependent de temperatură, sugerând realocarea reziduurilor de aminoacizi aparținând situsurilor de legare într-un interval de temperatură mai scăzut și, respectiv, mascarea lor la o temperatură mai mare.
- Y. Rezultatele obținute în acest studiu oferă informații utile pentru utilizarea inhibitorilor polifenolici pentru a preveni îmbrunarea enzimatică.

3.6. BIBLIOGRAFIE

1. Aksoy, M. (2020). A new insight into purification of polyphenol oxidase and inhibition effect of curcumin and quercetin on potato polyphenol oxidase. *Protein Expression and Purification*, 171, 105612.
2. Anghel, L., Milea, A. Ștefania, Constantin, O. E., Barbu, V., Chițescu, C., Enachi, E., Râpeanu, G., Mocanu, G. – D., & Stănciuc, N. (2023). Dried grape pomace with lactic acid bacteria as a potential source for probiotic and antidiabetic value-added powders. *Food Chemistry: X*, 19, 100777.
3. Aydin, B., Gulcin, I., & Alwasel, S. H. (2015). Purification and Characterization of Polyphenol Oxidase from Hemşin Apple (*Malus communis* L.). *International Journal of Food Properties*, 18(12), 2735–2745.
4. Bayrak, S., Öztürk, C., Demir, Y., Alım, Z., & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2020). Purification of Polyphenol Oxidase from Potato and Investigation of the Inhibitory Effects of Phenolic Acids on Enzyme Activity. *Protein & Peptide Letters*, 27(3), 187–192.
5. Borrás-Linares, I., Herranz-López, M., Barrajon-Catalán, E., Arráez-Román, D., Gonzálezlvarez, I., Bermejo, M., Gutiérrez, A., Micol, V., & Segura-Carretero, A. (2015). Permeability Study of

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

- Polyphenols Derived from a Phenolic-Enriched Hibiscus sabdariffa Extract by UHPLC-ESI-UHR-Qq-TOF-MS. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(8), 18396–18411.
6. Bortolini, D. G., Benvenuti, L., Demiate, I. M., Nogueira, A., Alberti, A., & Zielinski, A. A. F. (2020). A new approach to the use of apple pomace in cider making for the recovery of phenolic compounds. *LWT*, 126, 109316.
 7. Buckow, R., Weiss, U., & Knorr, D. (2009). Inactivation kinetics of apple polyphenol oxidase in different pressure–temperature domains. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(4), 441–448.
 8. Chaisakdanugull, C., Theerakulkait, C., & Wrolstad, R. E. (2007). Pineapple Juice and Its Fractions in Enzymatic Browning Inhibition of Banana [*Musa* (AAA Group) Gros Michel]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4252–4257.
 9. Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). Hibiscus sabdariffa L. – A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165, 424–443.
 10. Dumitrașcu, L., Enachi, E., Stănciuc, N., & Aprodu, I. (2019). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from cornelian cherry fruits using response surface methodology. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 814–823.
 11. Dumitrascu, L., Stănciuc, N., Bahrim, G. E., & Aprodu, I. (2016). Insights into the binding of ferulic acid to the thermally treated xanthine oxidase. *Luminescence*, 31(6), 1259–1266.
 12. Rodriguez-Arzuaga, M., Salsi, M., & Piagentini, A. M. (2016). Efecto del mínimo procesamiento y tratamiento con yerba mate sobre el potencial saludable y los atributos de calidad de manzanas Granny Smith. *INNOTECH*, 12.
 13. Es-Safi, N.-E., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2003). Implication of phenolic reactions in food organoleptic properties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(5), 535–553.
 14. Hemachandran, H., Anantharaman, A., Mohan, S., Mohan, G., Kumar, D. T., Dey, D., Kumar, D., Dey, P., Choudhury, A., George Priya Doss, C., & Ramamoorthy, S. (2017). Unraveling the inhibition mechanism of cyanidin-3-sophoroside on polyphenol oxidase and its effect on enzymatic browning of apples. *Food Chemistry*, 227, 102–110.
 15. Hess, B., Kutzner, C., van der Spoel, D., & Lindahl, E. (2008). GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 4(3), 435–447.
 16. Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996). VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, 14(1), 33–38.
 17. Hutabarat, O. S., & Halbwirth, H. (2019). Polyphenol oxidase and peroxidase activity in apple: dependency on cultivar and fruit processing. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 355(1), 012106.
 18. Ifie, I., Ifie, B. E., Ibitoye, D. O., Marshall, L. J., & Williamson, G. (2018). Seasonal variation in Hibiscus sabdariffa (Roselle) calyx phytochemical profile, soluble solids and α -glucosidase inhibition. *Food Chemistry*, 261, 164–168.
 19. Ioniță, E., Gurgu, L., Aprodu, I., Stănciuc, N., Dalmadi, I., Bahrim, G., & Râpeanu, G. (2017). Characterization, purification, and temperature/pressure stability of polyphenol oxidase extracted from plums (*Prunus domestica*). *Process Biochemistry*, 56, 177–185.
 20. Jabeur, I., Pereira, E., Barros, L., Calhella, R. C., Soković, M., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Hibiscus sabdariffa L. as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents. *Food Research International*, 100, 717–723.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

21. Jiang, H., Zhou, L., Sun, Y., Yu, K., Yu, W., Tian, Y., Liu, J., Zou, L., & Liu, W. (2022). Polyphenol oxidase inhibited by 4-hydroxycinnamic acid and naringenin: Multi-spectroscopic analyses and molecular docking simulation at different pH. *Food Chemistry*, 396, 133662.
22. Kanteev, M., Goldfeder, M., & Fishman, A. (2015). Structure–function correlations in tyrosinases. *Protein Science*, 24(9), 1360–1369.
23. Kim, M. J., Kim, C. Y., & Park, I. (2005). Prevention of enzymatic browning of pear by onion extract. *Food Chemistry*, 89(2), 181–184.
24. Klimczak, I., & Gliszczynska-Świgło, A. (2017). Green tea extract as an anti-browning agent for cloudy apple juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(5), 1420–1426.
25. Krissinel, E. (2010). Crystal contacts as nature's docking solutions. *Journal of Computational Chemistry*, 31(1), 133–143.
26. Lakowicz, J. R. (2006). *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (J. R. Lakowicz, Ed.). Springer US.
27. Lee, M.-K. (2007). Inhibitory effect of banana polyphenol oxidase during ripening of banana by onion extract and Maillard reaction products. *Food Chemistry*, 102(1), 146–149.
28. Lee, M.-K., Kim, Y.-M., Kim, N.-Y., Kim, G.-N., Kim, S.-H., Bang, K.-S., & Park, I. (2002). Prevention of Browning in Potato with a Heat-treated Onion Extract. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66(4), 856–858.
29. Liao, X., Greenspan, P., & Pegg, R. B. (2021). Examining the Performance of Two Extraction Solvent Systems on Phenolic Constituents from U.S. Southeastern Blackberries. *Molecules*, 26(13), 4001.
30. Marques Silva, F. V., & Sulaiman, A. (2019). Polyphenoloxidase in Fruit and Vegetables: Inactivation by Thermal and Non-thermal Processes. In *Encyclopedia of Food Chemistry* (pp. 287–301). Elsevier.
31. Martino, E., Vuoso, D. C., D'Angelo, S., Mele, L., D'Onofrio, N., Porcelli, M., & Cacciapuoti, G. (2019). Annurca apple polyphenol extract selectively kills MDA-MB-231 cells through ROS generation, sustained JNK activation and cell growth and survival inhibition. *Scientific Reports*, 9(1), 13045.
32. Monteiro, M. J. P., Costa, A. I. A., Flidel, G., Cissé, M., Bechoff, A., Pallet, D., Tomlins, K., & Pintado, M. M. E. (2017). Chemical-sensory properties and consumer preference of hibiscus beverages produced by improved industrial processes. *Food Chemistry*, 225, 202–212.
33. Muñoz-Pina, S., Duch-Calabuig, A., Ruiz De Assín David, E., Ros-Lis, J. V., Amorós, P., Argüelles, Á., & Andrés, A. (2022). Bioactive compounds and enzymatic browning inhibition in cloudy apple juice by a new magnetic UVM-7-SH mesoporous material. *Food Research International*, 162, 112073.
34. Pimentel-Moral, S., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J., Alañón, M. E., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2020). Pressurized GRAS solvents for the green extraction of phenolic compounds from hibiscus sabdariffa calyces. *Food Research International*, 137, 109466. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920304919>
35. Pinela, J., Prieto, M. A., Pereira, E., Jabeur, I., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa calyces for natural food colorants. *Food Chemistry*, 275, 309–321.
36. Piovesana, A., & Noreña, C. P. Z. (2019). Study of Acidified Aqueous Extraction of Phenolic Compounds from Hibiscus sabdariffa L. calyces. *The Open Food Science Journal*, 11(1), 25–34.
37. Preciado-Saldaña, A. M., Abraham Domínguez-Avila, J., Fernando Ayala-Zavala, J., Villegas-Ochoa, M. A., Sáyo-Ayerdi, S. G., Wall-Medrano, A., González-Córdova, A., & González-Aguilar, G. A.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

- (2019). Formulation and characterization of an optimized functional beverage from hibiscus (*Hibiscus sabdariffa* L.) and green tea (*Camellia sinensis* L.). *Food Science and Technology International*, 25(7), 547–561.
38. Queiroz, C., Mendes Lopes, M. L., Fialho, E., & Valente-Mesquita, V. L. (2008). Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. *Food Reviews International*, 24(4), 361–375.
39. Robin, T., Reuveni, S., & Urbakh, M. (2018). Single-molecule theory of enzymatic inhibition. *Nature Communications*, 9(1), 779.
40. Roldán, E., Sánchez-Moreno, C., de Ancos, B., & Cano, M. P. (2008). Characterisation of onion (*Allium cepa* L.) by-products as food ingredients with antioxidant and antibrowning properties. *Food Chemistry*, 108(3), 907–916. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607012174>
41. Salentin, S., Schreiber, S., Haupt, V. J., Adasme, M. F., & Schroeder, M. (2015). PLIP: fully automated protein–ligand interaction profiler. *Nucleic Acids Research*, 43(W1), W443–W447.
42. Soysal, Ç. (2009). Effects of green tea extract on “Golden Delicious” apple polyphenoloxidase and its browning. *Journal of Food Biochemistry*, 33(1), 134–148.
43. Stan (Boldea), L., Aprodu, I., Enachi, E., Dumitrașcu, L., Păcularu-Burada, B., Chițescu, C., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2023). Advanced interactional characterization of the inhibitory effect of anthocyanin extract from *Hibiscus sabdariffa* L. on apple polyphenol oxidase. *Journal of Food Science*, 88(12), 5026–5043. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16808>
44. Stănciuc, N., Banu, I., Bolea, C., Patrașcu, L., & Aprodu, I. (2018). Structural and antigenic properties of thermally treated gluten proteins. *Food Chemistry*, 267, 43–51. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617303825>
45. Tian, X., Rao, L., Zhao, L., Wang, Y., & Liao, X. (2022). Multispectroscopic and computational simulation insights into the inhibition mechanism of epigallocatechin-3-gallate on polyphenol oxidase. *Food Chemistry*, 393, 133415.
46. Tinello, F., & Lante, A. (2017). Evaluation of antibrowning and antioxidant activities in unripe grapes recovered during bunch thinning. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23(1), 33–41.
47. Tinello, F., & Lante, A. (2018). Recent advances in controlling polyphenol oxidase activity of fruit and vegetable products. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 50, 73–83. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856418305800>
48. UniProt Consortium. (2015). UniProt: a hub for protein information. *Nucleic Acids Research*, 43(D1), D204–D212.
49. Villamil-Galindo, E., Van de Velde, F., & Piagentini, A. M. (2020). Extracts from strawberry by-products rich in phenolic compounds reduce the activity of apple polyphenol oxidase. *LWT*, 133, 110097.
50. Vlad, C. C., Păcularu-Burada, B., Vasile, A. M., Milea, Ștefania A., Bahrim, G.-E., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2022). Upgrading the Functional Potential of Apple Pomace in Value-Added Ingredients with Probiotics. *Antioxidants*, 11(10), 2028.
51. Yang, J., Yan, R., Roy, A., Xu, D., Poisson, J., & Zhang, Y. (2015). The I-TASSER Suite: protein structure and function prediction. *Nature Methods*, 12(1), 7–8.
52. Zhang, Y. (2008). I-TASSER server for protein 3D structure prediction. *BMC Bioinformatics*, 9(1), 40.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

53. Zhou, L., Xiong, Z., Liu, W., & Zou, L. (2017). Different inhibition mechanisms of gentisic acid and cyaniding-3-O-glucoside on polyphenoloxidase. *Food Chemistry*, 234, 445–454.
54. Zocca, F., Lomolino, G., & Lante, A. (2010). Antibrowning potential of Brassicaceae processing water. *Bioresource Technology*, 101(10), 3791–3795.

CAPITOLUL 4. ASPECTE TEXTURALE, FITOCHIMICE ȘI NUTRIȚIONALE ALE PRODUSELOR GELIFIATE DIN MERE INFUZATE CU EXTRACT DE HIBISCUS

4.1. INTRODUCERE

Datorită calității senzoriale ridicate precum și a valorii nutritive, mărul (*Malus domestica*) este unul dintre cele mai populare fructe din lume (Harker și colab., 2003). Cu o producție globală de peste 95 milioane de tone în 2022, mărul este consumat ca fruct proaspăt sau în diferite produse prelucrate, precum sucuri, băuturi uscate, alcoolice, dulceață, marmelade sau bomboane și deserturi (Shahbandeh, 2022). S-a sugerat faptul că în Europa mărul reprezintă unul dintre cele mai populare fructe, cu un consum anual de aproximativ 13 kg/persoană (AMI, 2021). Diferite clase de compuși sunt implicate în caracteristicile senzoriale specifice, cum ar fi zaharurile, acizii organici și compușii volatili care sunt responsabili de gustul dulce, aciditatea și respective aroma merelor (Espino-Díaz și colab., 2016).

Consumul de mere este asociat cu beneficii semnificative pentru sănătate, datorită conținutului ridicat de compuși fenolici, acizi organici, fibre alimentare și vitamina C (acid ascorbic). Mărul conține mai mult de 84% apă, având cantități semnificative de minerale, precum K, Mg, Ca și Na și oligoelemente precum Zn, Mn, Cu, Fe, B, F, Se și Mo (Feliciano și colab., 2010). Principala vitamina prezentă în măr aparține complexului B, în timp ce conținutul de fibre ca pectine, celuloze, hemiceluloze și lignine este mai mare în comparație cu alte fructe (Aprifel, 2009). Principalele substanțe fenolice regăsite în măr aparțin claselor de acid hidroxicinamic, flavan-3-oli/procyanidine, antocianine, flavonoli și dihidrochalcone (Feliciano și colab., 2010), în timp ce componentele individuale sunt reprezentate de acid clorogenic, glicozide de quercetină, procianidine și floridzină (Kahle și colab., 2005).

Datorită profilului nutrițional și fitochimic complex, consumul de măr este asociat cu funcții de promovare a sănătății precum antioxidative, anti-îmbătrânire, antidiabetice, antiinflamatorii etc. (Islam și colab., 2021), prevenirea bolilor cardiovasculare, a disfuncțiilor pulmonare și a diverselor tipuri de cancer, în special de prostată, ficat, colon și plămâni (Tsao și colab., 2003), boli diverticulare și coronariene (Gorinstein și colab., 2001), metabolismul lipidic și scăderea nivelului de colesterol, reglarea greutății etc.

Conservarea fructelor perisabile, de sezon prin prepararea produselor gelifiate este o tehnică utilizată încă din cele mai vechi timpuri. În general, produsele gelifiate se prezintă sub formă de gel solid de fructe, obținut din pulpa de fructe, într-o combinație unică sau mixtă, prin preparare cu zahăr, pectină, acid și alte ingrediente, precum conservanți, agenți de colorare, cantitate limitată de coji de fructe și substanțe aromatizante (Bekele și colab.,

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

2020). Ca atribute importante de calitate, produsele gelifiate se caracterizează printr-o consistență vâscoasă, cu un conținut minim de fructe de 40% și un conținut total de substanțe solide solubile nu mai mic de 68%, care trebuie respectat (Featherstone, 2016). În funcție de soiurile de fructe, gemurile sunt o sursă bogată de zahăr, energie, fibre, vitamine, minerale și aminoacizi, caracterizate prin lipsa grăsimilor și a colesterolului, scăzând astfel riscul bolilor cardiovasculare (Levaj și colab., 2010).

Cu toate acestea, atunci când se ia în considerare consumul de produse gelifiate, aportul ridicat de zahăr este de obicei asociat cu un risc mai mare de boli metabolice, cum ar fi obezitatea și diabetul (Belović și colab., 2017). Prin urmare, producția și consumul de produse gelifiate cu conținut scăzut de zahăr devin din ce în ce mai populare în dietele sănătoase. Această tendință presupune înlocuirea zahărului cu alte substanțe pentru a păstra gustul dulce și specific al produsului, minimizând astfel problemele de sănătate aferente. Sunt raportați diferiți înlocuitori pentru zahăr în gem și produse gelifiate, cum ar fi nuca de cocos și zahărul brun (Curi și colab., 2017), îndulcitori naturali necalorici, cum ar fi stevia (Gasmalla și colab., 2014) sau fructoză, datorită indicelui glicemic scăzut (Belović și colab., 2017). Acești înlocuitori sunt utilizați în special în produsele pentru diabetici. Cu toate acestea, utilizarea îndulcitorilor în Uniunea Europeană este reglementată de directivele-cadru 89/107/CEE și 94/35/CE și modificate prin Directivele 96/83/CE și 2003/115/CE.

În plus, atunci când se ia în considerare procesarea merelor, îmbrunarea enzimatică mediată de PFO reprezintă, în continuare o provocare considerabilă pentru industria alimentară. Îmbrunarea este inițiată de oxidarea enzimatică a compușilor fenolici, având ca rezultat formarea de substanțe de culoare brună (Jiang și colab., 2016). Îmbrunarea enzimatică are un impact negativ asupra calității produselor, din punct de vedere al proprietăților nutritive și biologice precum și al culorii, reducând semnificativ acceptabilitatea consumatorului, cu un impact economic important la nivel industrial.

1.2. OBIECTIVELE STUDIULUI

Având în vedere elementele-cheie menționate mai sus, obiectivul principal al acestui studiu a fost utilizarea substantelor naturale antiîmbrunare aparținând clasei polifenolilor pentru îmbunătățirea calității și a parametrilor nutriționali pentru produsele gelifiate din mere infuzate în extract apos de hibiscus. Prin urmare, extractul apos obținut din calicele de *Hibiscus sabdariffa* L. a fost utilizat pentru infuzia merelor înainte de procesarea și obținerea produselor. Formulele generate au utilizat zahăr pentru proba control și substituenți de zahăr pentru a obține produse cu conținut scăzut de zahăr. În formulele de produse gelifiate nu s-a adăugat pectină, având în vedere conținutul ridicat în pectină al merelor. Au fost obținute patru variante experimentale prin varierea concentrației și tipului de îndulcitor și 4 variante corespunzătoare considerate martor, excluzând etapa de infuzie în extract de hibiscus. Probele gelifiate au fost analizate pentru conținutul fitochimic, culoare, parametri texturali și valoarea energetică. S-a efectuat, de asemenea, analiza senzorială pentru a evalua acceptabilitatea produselor.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

4.3. MATERIALE ȘI METODE

4.3.1. Materii prime

Materiile prime utilizate au fost: merele (soiul Frumos de Voinești), extract apos din calice de *Hibiscus sabdariffa* și lămâi achiziționate de la piața specializată din Galați, România, în septembrie 2022. Zahărul rafinat din trestie de zahăr (Coronita, Agrana, Tandarei, România) și xilitolul (Top Ingredients, Ilfov, Romania) au fost utilizate ca îndulcitor. Merele au fost sortate și spălate, apoi tulpinile și miezurile (cotoarele) au fost îndepărtate.

4.3.2. Reactivi utilizați

Reactivii utilizați în evaluările fitochimice au fost: acid galic, catechina, Trolox (acid 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic), reactiv Folin-Ciocalteu, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), etanol achiziționate de la Sigma Aldrich Steinheim (Darmstadt, Germania). Toți reactivii utilizați în experimente au fost de calitate analitică.

4.3.3. Pregătirea produselor gelifiate

Infuzia de hibiscus a fost obținută prin folosirea a 10 g de caliciu în 1000 ml de apă distilată la temperatura de 100°C. Amestecul a fost lăsat apoi pentru extracție timp de 15 minute la temperatura camerei (21°C±2°C). Aproximativ 1 kg de fructe au fost tăiate în bucăți de dimensiune uniformă (aproximativ 5 mm) și imersate în extractul apos de *Hibiscus* la 70°C și menținut pentru infuzare timp de jumătate de oră, urmat de o omogenizare timp de 5 min, folosind un blender (Philips HR2100/40). Probele martor au fost obținute prin imersare în apă distilată la temperatura de 70°C. Amestecurile (probele experimentale și martor) au fost împărțite în părți egale, iar la preparare s-a adăugat zahăr și respectiv xilitolul. Modul de preparare al produselor gelifiate din mere infuzate în extract apos de *Hibiscus* este prezentat în **Tabelul 4.1**.

Tabel 4.1. Formule experimentale de preparare a produselor gelifiate din mere (bază: 250 g pulpă de mere) ([Stan \(Boldea\) și colab., 2023b](#))

Codul	Pre-tratament	Zahăr (g)	Xilitol (g)	Suc de lămâie (ml)
AH1	Infuzie în 1000 ml de extract apos la 70°C timp de 30 min	125	0	15
AH2		25	0	15
AH3		0	25	15
AH4		0	0	15
A1	Infuzie în 1000 mL apă distilată la 70°C timp de 30 min	125	0	15
A2		25	0	15
A3		0	25	15
A4		0	0	15

Produsele gelifiate au fost obținute cu ajutorul unui aparat multicooker, folosind un recipient electric antiaderent (Multicooker Philips HD3037/70, Hamburg, Germania) la 98-99°C timp de 15 minute. Cu 5 minute înainte de finalizarea procesului, s-au adăugat 15 ml de suc proaspăt de lămâie și amestecurile au fost pregătite în continuare până la obținerea consistenței corespunzătoare, utilizând testul de gelifiere la rece. Produsele gelifiate fierbinți au fost ambalate în borcane de sticlă și păstrate la temperatura camerei (21°C±1°C) până la analize ulterioare.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

4.3.4. Extracția fitochimică

Extracția compușilor biologic activi a fost efectuată utilizând 1 g de probă și 7 mL de etanol (70%) și HCl 1 N (raport 9:1, v/v) într-o baie de apă cu ultrasunete (MRC Scientific Instruments) la 30°C timp de 1 oră. Probele au fost centrifugate la 7000 x g timp de 10 minute la 4°C, iar supernatantul rezultat a fost utilizat pentru a determina conținutul total de compuși polifenolici (CTP), flavonoide totale (CFT), antociani monomerici totali (CTA) și activitatea antioxidantă.

4.3.5. Profil polifenolic general

Conținutul total de compuși polifenolici (CPT) a fost determinat prin metoda Folin-Ciocalteu. Pe scurt, 0,2 ml de extract etanolic au fost mixați cu 1 ml de reactiv Folin-Ciocalteu și 3 ml de carbonat de sodiu 10%. Probele au fost păstrate pentru a favoriza reacția la 25°C timp de 1 oră, în întuneric, pentru dezvoltarea unei culori albastre. Absorbantele amestecurilor au fost măsurate la 765 nm cu ajutorul unui spectrofotometru UV-VIS (Biochrom Libra S22 UV/Vis). Analiza CPT a fost efectuată în triplicat pentru fiecare probă și rezultatele au fost exprimate în mg echivalenți de acid galic (EAG) per g de produs în bază de greutate uscată (SU) (mg EAG/g SU), cu ajutorul curbei etalon în bază acid galic, prezentată în **Figura 4.1**.

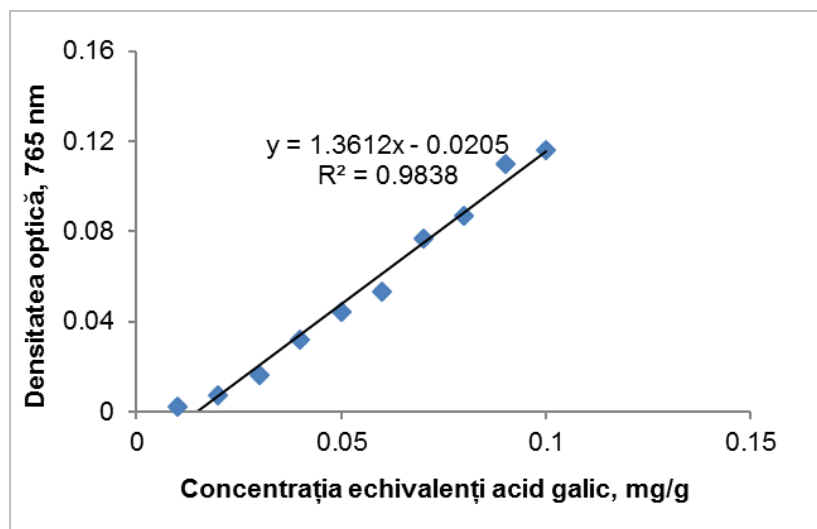


Figura 4.1. Curba etalon pentru determinarea conținutului de polifenoli totali

Conținutul de flavonoide totale (CFT) a fost determinat prin metoda clorurii de aluminiu. În acest sens, 0,250 mL de extract etanolic au fost amestecate cu 0,075 mL de soluție de azotat de sodiu (5% NaNO_2 în apă distilată). Amestecurile au fost păstrate timp de 5 minute la temperatura camerei, apoi s-au adăugat 150 μL de 10% AlCl_3 . Eprubetele au fost agitate și incubate timp de 6 minute la temperatura camerei. Apoi, s-au adăugat 0,5 mL de hidroxid de sodiu (1 N NaOH), iar volumul amestecului a fost diluat cu 0,775 mL de apă distilată. Tuburile au fost mixate și apoi incubate timp de 15 minute. După incubare, absorbanta culorii roz formată prin reacția flavonoidelor cu clorură de aluminiu a fost măsurată cu ajutorul unui spectrofotometru UV-VIS (Biochrom Libra S22 UV/Vis) la lungimea de undă 510 nm. Catehina a fost utilizată pentru pregătirea curbei standard. Conținutul de flavonoide a

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

fost exprimat ca echivalenți de catehine (mg EC/g SU), pe baza curbei etalon prezentată în **Figura 4.2.**

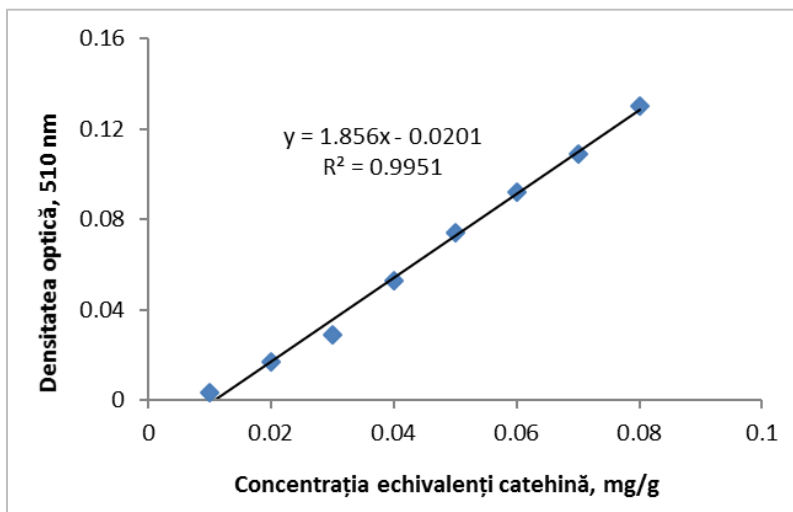


Figura 4.2. Curba etalon pentru determinarea conținutului total de flavonoide

Conținutul total de antociani monomerici (CTA) a fost măsurat prin metoda pH-diferențială, urmând protocolul descris de [Giusti & Wrolstad \(2001\)](#). Metoda are la bază proprietatea antocianilor de a-și schimba culoarea în funcție de pH-ul mediului. La pH 1,0, în funcție de antocianul predominant, acesta prezintă diverse culori, de la portocaliu până la violet deschis, în timp ce la pH 4,5 toți antocianii sunt incolori. Schimbarea pigmentației se datorează modificărilor ce apar în structura inelului C al antocianilor. Protocolul de lucru a presupus utilizarea a două soluții tampon, la valori diferite de pH, respectiv soluție tampon pH 1,0 (KCl, 0,025 g/L) și soluție tampon pH 4,5 (acetat de sodiu, 0,4 g/L). Pentru determinarea CTA, 200 μ L probă din supernatantul rezultat de la extracție s-au amestecat cu 800 μ L soluție tampon pH 1,0 (KCl, 0,025 g/L, iar 200 μ L probă din supernatantul rezultat de la extracție s-au amestecat cu 800 μ L soluție tampon pH 4,5. Absorbanțele probelor s-au determinat după 15 min de reacție, cu ajutorul unui spectrofotometru UV-VIS (Biochrom Libra S22 UV/Vis) la lungimile de undă 520 nm și respective, 700 nm. Drept probă martor s-a utilizat apa distilată. Concentrația pigmentilor antocianidici a fost exprimată ca echivalenți de delfinidin-3-glucozidici (mg D3G/g SU) cu ajutorul relației 4.1.:

$$\text{CTA (mg D3G/g)} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (4.1).$$

Unde,

$$A = (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4,5};$$

$$\text{MW (masa moleculară)} = 465,4 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ pentru D3G};$$

DF = factorul de diluție;

l = lățimea cuvetei, în cm;

ϵ = 26 900, coeficient molar de extincție pentru D3G, L/(mol·cm)

10^3 = factorul de conversie de la g la mg.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

4.3.6. Activitatea antioxidantă

Pentru determinarea activității antioxidante s-a utilizat protocolul de măsurare a activității antiradicalice asupra DPPH (2, 2-difenil-1-picrilhidrazil) descris de [Brand-Williams și colab. \(1995\)](#), cu câteva modificări. Un volum de 3,9 mL soluție de DPPH 0,06 mMol a reacționat cu 0,1 mL probă diluată timp de 60 de minute, la temperatura camerei, la întuneric. Absorbanța soluției a fost citită la lungimea de undă de 517 nm. Rezultatele au fost exprimate ca $\mu\text{Mol Trolox/g}$ probă SU, utilizând curba etalon prezentată în **Figura 4.3**.

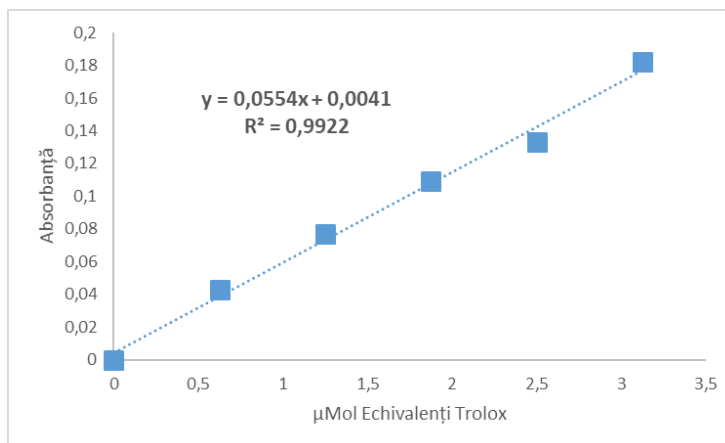


Figura 4.3. Curba standard pentru determinarea activității antioxidante

4.3.7. Analiza texturii

Analiza texturală s-a realizat cu ajutorul metodei Texture Profile Analysis, folosind un analizor de textură CT3 (Brookfield Ametek, SUA). Imediat după obținere, probele au fost ambalate în recipiente cilindrice din plastic (30 mm diametru, 43 mm înălțime), acoperite cu folie de aluminiu și păstrate timp de 24 de ore pentru ca procesul de gelifiere să fie finalizat. Au fost aplicate două cicluri de compresie, până când a fost atinsă distanța țintă de 10 mm. Sonda de testare a fost un cilindru acrilic (25,4 mm diametru, 35 mm înălțime) și viteza de testare a fost de 1 mm/s. Rezultatele au fost colectate și prelucrate folosind software-ul TexturePro CT V1.5, care a furnizat următorii parametri texturali: fermitate (N), adezivitate (mJ), coezivitate (adimensională), elasticitate (mm), mestecare (mJ). Au fost efectuate cinci determinări pentru fiecare probă și rezultatele sunt prezentate ca medie $\pm$ deviație standard.

4.3.8. Parametrii de culoare

Măsurătorile instrumentale ale culorii produselor gelifiate au fost efectuate cu un colorimetru NR110 3nh (Shenzhen 3nh Technology, China). Coordonatele cromatice, în principal, factorul de luminozitate L^* , axa roșu-verde a^* , axa galben-albastru b^* , distincția comună între culori, nuanța și intensitatea sau saturația culorii Chroma au fost măsurate pentru a evalua culoarea.

4.3.9. Caracterizarea proximală

Metode oficiale standard AOAC (1990) au fost utilizate pentru a evalua umiditatea (Metoda oficială AOAC 934.06), cenușa (Metoda oficială AOAC 942.05), sare (Metoda

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

oficială AOAC 990.23), proteine (Metoda oficială AOAC 984.13), carbohidrații, zaharurile totale și valoarea energetică a probelor gelifiate. Glucidele au fost calculate prin scăderea umidității, proteinelor, sării și cenușii. Rezultatele sunt exprimate la 100 g de probă.

4.3.10. Analiza senzorială

Evaluarea senzorială a produselor gelifiate a fost efectuată conform [Teodorescu et al. \(2023\)](#), prin utilizarea metodei de notare cu niveluri diferite de percepție pentru fiecare atribut, pe o scară care variază de la 1 (foarte scăzut) la 9 (foarte mare). Nouă paneliști cu vârste cuprinse între 24 și 55 de ani au fost instruiți cu privire la caracteristicile senzoriale relevante ale probelor. Înainte de analiză, produsele gelifiate au fost menținute la la $25 \pm 1^\circ\text{C}$ timp de patru ore. Probele au fost expuse în borcane de sticlă clare, codificate. Înainte de fiecare analiză și între analiza probelor, paneliștii au fost rugați să-și curețe palatul bucal cu apă. După obținerea consimțământului paneliștilor, aceștia au evaluat următoarele caracteristici senzoriale: aspectul general, omogenitatea pastei, gustul specific, intensitatea gustului dulce, culoarea specifică a soiului de măr utilizat, aroma specifică de mere, aroma specifică de hibiscus, consistența, aderența, tartinabilitate și impresie generală.

Indicele de acceptabilitate (IA) a fost calculat pe baza ecuației 4.2.:

$$\text{Indice de acceptabilitate (\%)} = \frac{A}{B} \times 100 \quad (4.2)$$

unde: A este media valorilor hedonice obținute pentru un atribut individual și B este valoarea hedonică maximă atribuită aceluiași atribut.

4.3.11. Analiza statistică

Analiza nutrițională a produselor a fost efectuată testând de două ori probele de gemuri în cadrul Laboratorului de analize fizico-chimice și microbiologice a alimentelor, Universitatea Dunărea de Jos din Galați, folosind metode acreditate. Analizele fitochimice, ale culorii și de textura au fos efectuate în triplicat, iar rezultatele au fost exprimate ca medie±deviație standard (SD). Datele experimentale pentru compoziția fitochimică au fost analizate statistic prin utilizarea analizei de varianță unidirecțională (ANOVA), cu ajutorul software-ului Minitab 19 (Minitab LLC, State College, PA, SUA). Analiza posthoc a fost utilizată cu ajutorul testului Tukey pentru a identifica diferențele semnificative între probe.

4.4. REZULTATE ȘI DISCUȚII

4.4.1. Dezvoltarea unei scheme tehnologice generale pentru procesare merelor cu infuzie în extract apos de hibiscus în produse gelifiate

Prin definiție, gelurile sunt sisteme coloidale care conțin o fază continuă (adică o matrice solidă) și o fază dispersată (adică solvent apos), conducând la formarea unei texturi semisolide. Biopolimerii care alcătuiesc aceste geluri reprezintă ingredientul principal care le oferă structura specifică. Cei mai utilizați polimeri pentru formarea structurii specifice de gel sunt polizaharidele și proteinele. Acești biopolimeri oferă o varietate de produse alimentare cu o consistență semisolidă, fiind formate din rețele de diferite forme, cum ar fi structuri bloc, particulele sau fibrilare, care prezintă comportamente diferite atunci când sunt supuse stresului mecanic.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Schema tehnologică generală pentru procesare merelor cu infuzie în extract apos de hibiscus în produse gelifiate este prezentată în **Figura 4.4**. Procesul tehnologic prezintă ca particularitate o etapă de infuzie în extract apos de calix de hibiscus, cu menținere la temperatura de 70°C timp de 30 de min, etapă care permite difuzia compușilor polifenolici, și în special al antocianilor în bucățile de mere. Merele au fost în prealabil tăiate în bucăți uniforme, de circa 5 mm, pentru a favoriza absorbția compușilor.

Procesul de gelifiere s-a realizat în intervalul de temperatură 98-99°C, timp de 15 minute, parametrii termici specifici, care să favorizeze formarea structurii gelurilor. La gelifiere s-a adăugat zahăr sau îndulcitor, iar cu 5 min înainte de proba de gelifiere la rece s-a adăugat suc de lămâie, care să permită scăderea valorii pH-ului și formarea structurii specifice.

În procesul tehnologic aplicat, nu s-a utilizat pectină, ca agent de gelifiere, fiind exploatat conținutul natural de pectină din mere. În principiu, pectina se adaugă în concentrație de 0,5–1%, m/m, care produce geluri cu un comportant newtonian din punct de vedere textural și reologic. Pectina formează structuri de tip bloc, prin esterificarea parțială în poziție α -(1–4)- a acizilor D-galactouronic și acid manuronic. În general, merele au un conținut de pectină de circa 15%, concentrată în partea solidă, cum ar fi coajă, tescovină etc. Una dintre cele mai importante caracteristici ale pectinei, din punctul de vedere al fabricării produselor gelifiate din fructe, este conținutul său de „metoxil”. Această caracteristică controlează unele dintre proprietățile importante ale pectinelor în raport cu formarea gelului. Pectinele obișnuite au un conținut de metoxil între 7% și 12% și sunt numite și pectine cu un conținut ridicat de metoxil.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

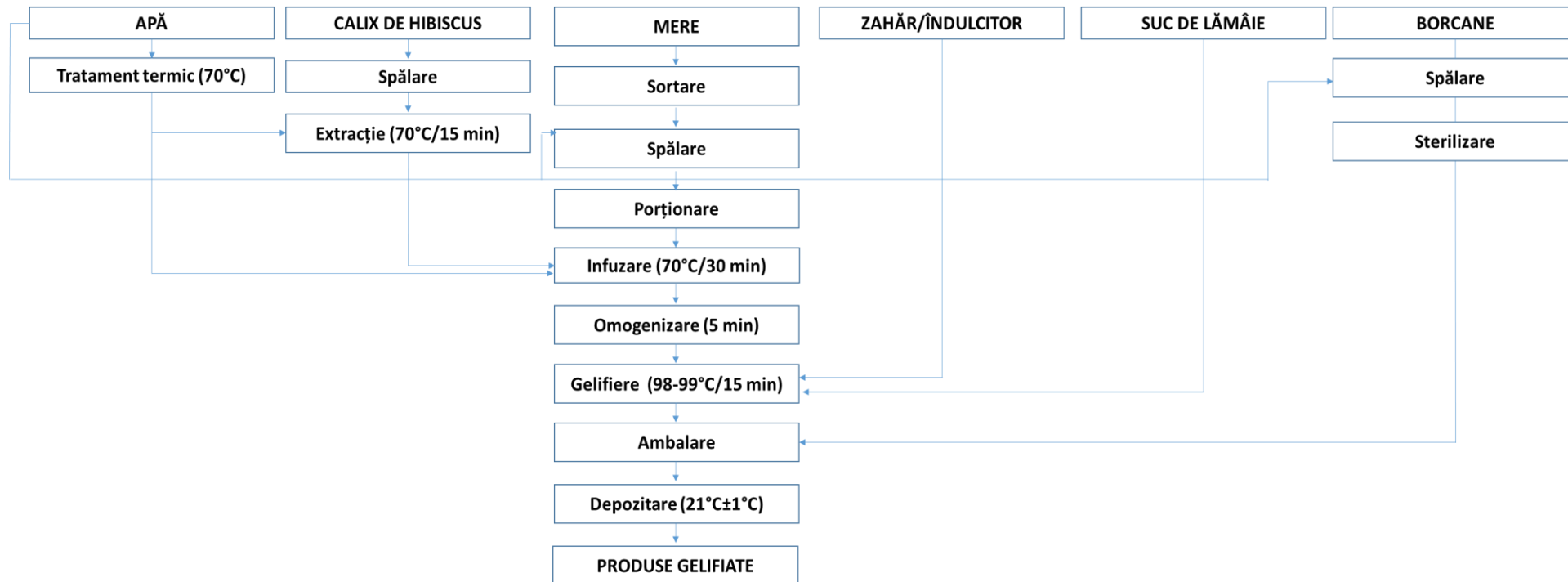


Figura 4.4. Schema tehnologică de obținere a produselor gelificate cu infuzie în extract apos de hibiscus

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Un alt factor critic în dezvoltarea structurilor de gel este pH-ul. Adăugarea de acizi, în cazul procesului aplicat, a sucului de lămâie, poate determina modificarea pH-ului, cu modificarea sarcinei nete a moleculelor care, la rândul lor, pot modifica forțele de atracție și respingere care există între molecule, precum și interacțiunile dintre molecule și solvent, cunoscute și sub numele de proprietăți de hidratare. În plus, solubilitatea sărurilor se modifică în funcție de pH, care este un alt factor care ar putea juca un rol în formarea gelului. Teoria agregării fractale poate oferi o explicație pentru tehnica care stă la baza formării gelului acid (Lucey și Singh, 1997). La producerea gelurilor cu pectină cu un grad înalt de metoxilare, intervalul de pH este de obicei stabilit la aproximativ 2,8–3,2 acid citric, deoarece acest interval de pH este foarte favorabil gelifierii, dezvoltării aromei și a termenului de valabilitate. Formarea structurii specifice de gel necesită prezența a patru ingrediente: pectină, zahăr, acid și apă, într-o intercorelație prestabilită. În acest sistem, pectina este agentul de gelifiere, zahărul și acidul sunt agenții care determină transformările fizice pe care le suferă pectina, în timp ce apa este solventul în care alte trei ingrediente sunt dizolvate.

4.4.2. Profilul fitochimic al produselor gelifiate

În acest studiu au fost utilizate diferite formule pentru obținerea produselor gelifiate din mere, prin utilizarea unei etape de infuzie în extract apos de caliciu de hibiscus și prin varierea tipului și a concentrației de zahăr (**Tabelul 4.1.**). Spectrul larg de proprietăți biologice benefice ale merelor este legat și de conținutul de compusi polifenolici, considerați indicatori importanți de calitate cu potențiale efecte antioxidante. Concentrația de compusi polifenolici în produsele gelifiate, cu și fără infuzie de extract apos de hibiscus este prezentată în **Tabelul 4.2.** Din **Tabelul 4.2** se poate observa că profilul polifenolic și activitatea antioxidantă variază semnificativ în funcție de compoziția produselor gelifiate, în special în funcție de concentrația și tipul de îndulcitor.

În general infuzia în extract de *Hibiscus* a condus la o creștere a CTP în toate probele analizate comparativ cu martorul corespunzător. De exemplu, în probele cu adaos de zahăr (125 g în bază de 250 g), infuzia aduce o contribuție la conținutul de CTP, cu o creștere de la 48.16 ± 1.46 mg EAG/100 g SU la 50.56 ± 3.62 mg EAG/100 g SU, sugerând o creștere de circa 5%, în timp ce în probele cu un conținut de trei ori mai mic de zahăr, CTP a înregistrat o creștere nesemnificativă. În probele cu xylitol s-a înregistrat o creștere de circa 9%, de la 50.38 ± 1.5 mg EAG/100 g la 54.85 ± 1.6 mg EAG/100 g. În probele fără adaos de zahăr sau îndulcitor, CTP a înregistrat o creștere de circa 7%. Se poate aprecia că în probele infuzate, creșterea relativă a CTP se datorează conținutului de polifenoli din extractul de hibiscus.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 4.2. Concentrația compusilor polifenolici și activitatea antioxidantă a produselor gelifiate (Stan (Boldea) și colab., 2023b)

Codul	A ₁	AH ₁	A ₂	AH ₂	A ₃	AH ₃	A ₄	AH ₄
CTP, mg EAG/100 g SU	48.16±1.46 ^A	50.56±3.62 ^A	57.53±1.04 ^A	58.18±4.02 ^A	50.38±1.5 ^A	54.85±1.6 ^A	68.54±3.4 ^A	73.11±1.64 ^A
CFT, mg EC/100 g SU	17.49±0.11 ^A	27.48±1.67 ^B	9.30±0.83 ^A	18.23±1.50 ^B	9.49±0.56 ^A	19.55±1.6 ^B	10.07±1.3 ^A	18.61±3.10 ^B
CTA, mg D3G/100 SU	0 ^A	58.44±7.30 ^B	0 ^A	138.09±9.6 ^B	0 ^A	98.40±3.8 ^B	0 ^A	158.40±5.73 ^B
Activitatea antioxi- dantă (mMol/g SU)	9.39±0.14 ^A	9.70±0.31 ^A	9.43±0.08 ^A	8.57±0.02 ^A	8.49±0.28 ^A	9.07±0.19 ^A	10.55±0.0 ^A	9.55±0.12 ^A

Prezența superscriptului A și B indică diferențe semnificative între probe la $p < 0,05$, pe baza testului Tukey.

O creștere semnificativă a valorilor CFT s-a înregistrat în toate probele gelifiate cu adaos de extract. În probele cu adaos de zahăr, CFT crește de la 17.49±0.11 mg EC/100 g în proba control la 27.48±1.67 mg EC/100 g în proba infuzată, ceea ce corespunde la o creștere de circa 57%. În probele cu un conținut mai redus de zahăr sau îndulcitor, creșterea CFT a fost de circa 96% în probele cu adaos de 25 g zahăr, s-a dublat în probele cu xylitol și a crescut cu circa 84% în probele fără adaos de îndulcitor. Creșterea semnificativă a conținutului de flavonoide se explică prin contribuția în flavonoide a extractului, dar și efectului combinat al tipul și concentrației de zahăr adăugate.

În ceea ce privește conținutul de antociani, se observă efectul tratamentului termic și al tipului și concentrației de îndulcitor adăugate. De exemplu, în probele cu 125 g de zahăr adăugat, conținutul de CTA a fost de 58.44±7.30 mg D3G/100 g SU, în timp ce la o concentrație de trei ori mai mică de zahăr, concentrația de antociani a fost mai mare (138.09±9.60 mg D3G/100 g), iar în probele cu xylitol de 98.40±3.80 mg D3G/100 g. Cea mai mare concentrație de antociani a fost determinate în proba fără adaos de zahăr, de 158.40±5.73 mg D3G/100 g. Se poate aprecia că CTA variază semnificativ cu tipul și concentrația de zahăr, la o concentrație ridicată, antocianii sunt degradați sau legați în procesul de gelifiere mediat de zahăr și pectina endogenă.

În ceea ce privește activitatea antioxidantă, nu s-au înregistrat diferențe semnificative în probele gelifiate. Aceste diferențe între variația conținutului de polifenoli și activitatea antioxidantă pot fi explicate prin perturbarea structurii celulare și, astfel, polifenolii devin predispuși la oxidare non-enzimatică (Patras și colab., 2011).

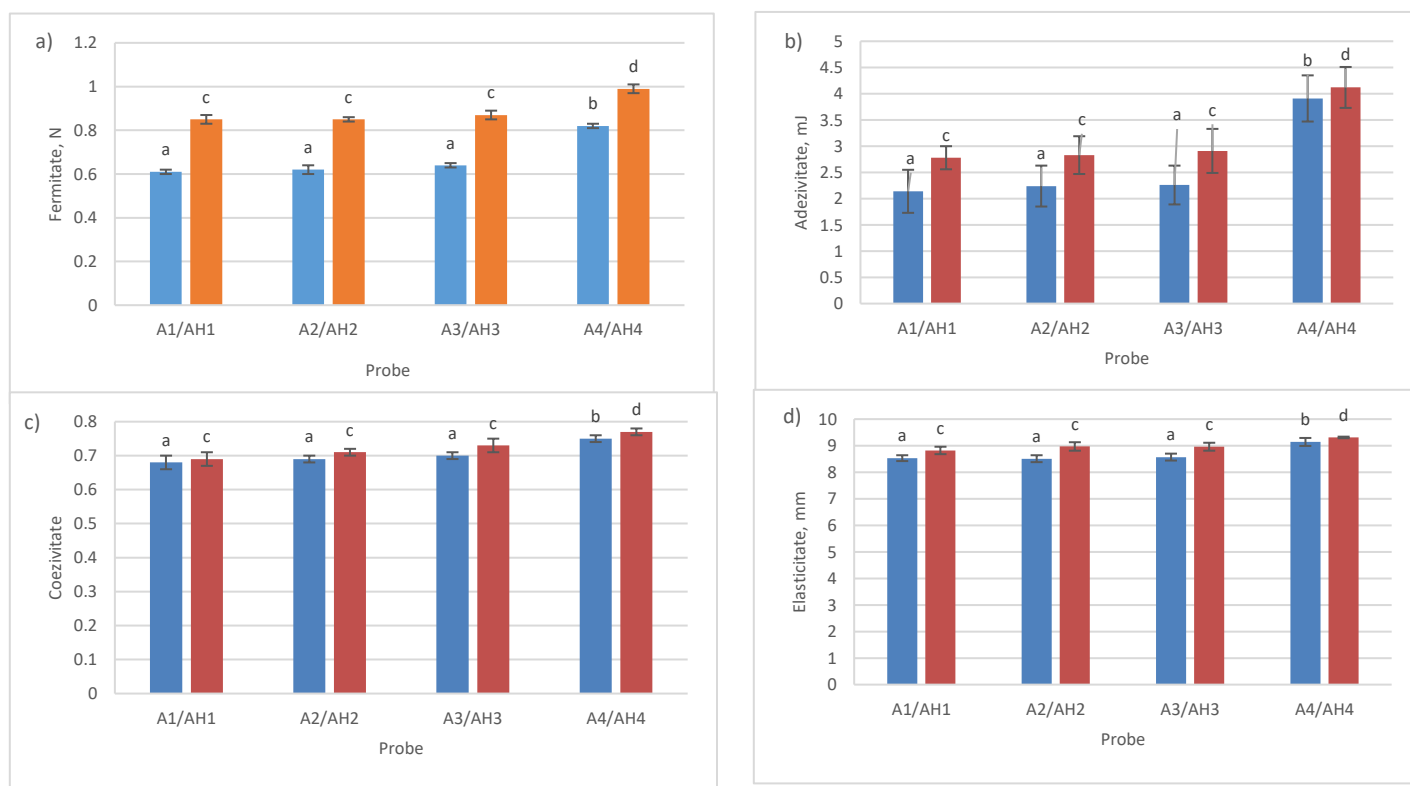
Rezultatele obținute sunt în contrast cu cele raportate de Scibisz & Mitek (2009), care au sugerat că, în general, utilizarea îndulcitorului în locul zahărului în gemuri și marmelade nu a condus la o diferență semnificativă în conținutul total de compusi fenolici. În studiul nostru, produsele gelifiate cu conținut ridicat de zahăr au un conținut total de compusi fenolici similar cu produsele cu conținut scăzut de zahăr și fără zahăr. Acest lucru poate fi explicat prin rețeaua complexă de gel formată în timpul încălzirii, obținută la echilibrul dintre pectină, zahăr și acid citric. De menționat că în probele gelifiate obținute, pectina nu a fost adăugată la pregătire probelor, având în vedere conținutul de pectină al merelor proaspete. Cu toate acestea, fermitatea s-a obținut prin formarea gelului de către un conținut

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

ridicat de metoxipectină, în condiții acide, datorită contribuției complexe atât a legăturilor de hidrogen, cât și a forțelor hidrofobe (Rababah și colab., 2015). Din rezultatele prezentate în **Tabelul 4.2**, se poate concluziona că scăderea/înlocuirea zahărului a avut un efect protector asupra polifenolilor în timpul procesării gemului. Conținutul bioactiv mai mare în produsele gelifiate fără adaos de zahăr poate fi explicat și prin conținutul în substanțe solide solubile. Scăderea sau înlocuirea zahărului a dus la o scădere a conținutului de substanțe solide solubile, protejând astfel antocianii de degradarea termică.

4.4.3. Analiza texturii

Pentru produsele gelifiate, textura este un parametru important pentru a evalua capacitatea componentelor (pectină, zahăr și acizi organici) de a crea o structură de gel stabilă și specifică. Pentru mostrele de produse gelifiate obținute au fost analizați parametrii de textură precum fermitatea, adezivitatea, coezivitatea și masticabilitatea, iar rezultatele sunt prezentate în **Figura 4.5**.



Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

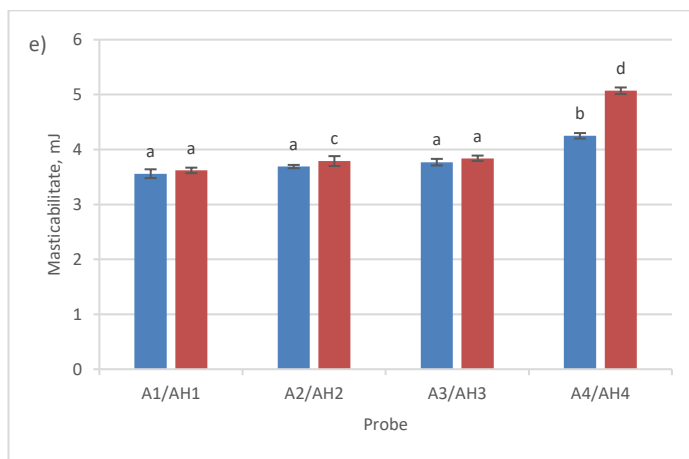


Figura 4.5. Rezultatele analizei instrumentale pentru textura

Valorile fermității (a), adezivității (b), coezivitativității (c), elasticității (d) și masticabilității (e) pentru probele martor (albastru) și probele cu hibiscus (roșu). Aceleași litere mici nu prezintă diferențe semnificative ($p > 0,05$). În reprezentarea grafică, culoarea albastru a fost utilizată pentru probele martor, iar roșu pentru probele infuzate în extract de hibiscus. (Stan (Boldea) și colab., 2023b)

Fermitatea, exprimată ca forță maximă înregistrată în primul ciclu de compresie, a variat între $0,61 \pm 0,01$ N și $0,82 \pm 0,01$ N, pentru probele martor și între $0,85 \pm 0,02$ N și $0,99 \pm 0,02$ N pentru probele gelifiate tratate cu infuzie de hibiscus. Probele martor au prezentat valori mai mici de fermitate pentru toate variantele, tipul și concentrația de zahăr nu au influențat semnificativ fermitatea. Acest lucru ar putea fi explicat prin afinitatea apei cu xilitolul, care duce la o creștere a substanțelor solide (Zaharis, 2012) și structură similară de gel pentru toate variantele. În mod neașteptat, probele fără zahăr adăugat sau xitol au înregistrat cea mai mare fermitate, atât pentru probele martor, cât și pentru cele tratate cu hibiscus. Acest lucru ar putea fi datorat metodei de prelucrare, care presupune aprecierea consistenței prin testul la rece. Neavând zahăr adăugat, aceste probe au suferit o evaporare mai intensă a apei care a indus o creștere a conținutului de substanțe solide totale.

Un comportament similar a fost observat și pentru restul parametrilor de textură. Adezivitatea a prezentat valori cuprinse între $2,14 \pm 0,41$ și $3,91 \pm 0,44$ mJ pentru probele martor și $2,78 \pm 0,22$ și $4,12 \pm 0,39$ mJ pentru probele infuzate în hibiscus. Nu au fost observate diferențe semnificative ($p < 0,05$) pentru probele cu adaos de zahăr sau xitol din punct de vedere al adezivității, coezivitativității, elasticității și masticabilității. Mai mult, infuzia de hibiscus a prezentat efecte benefice asupra parametrilor texturali.

1.4.4. Parametrii de culoare

Rezultatele parametrilor de culoare ale gemurilor de mere sunt prezentate în **Figura 4.6.**

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

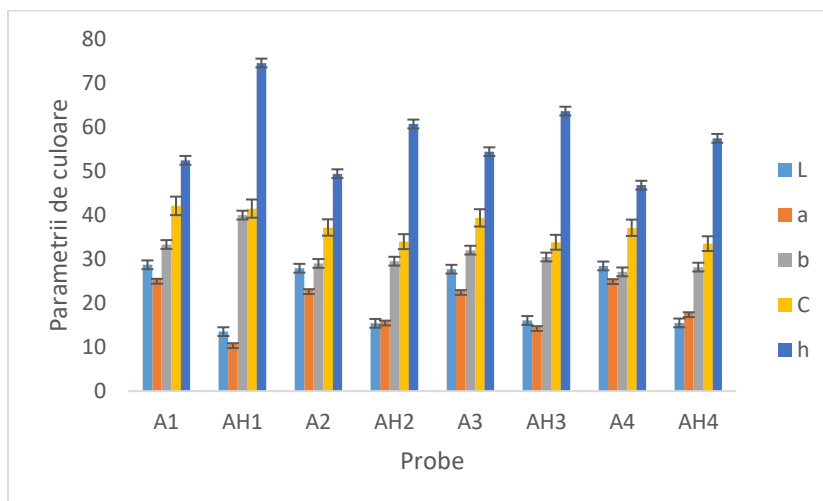


Figura 4.6. Parametrii de culoare ale produselor gelifiate din mere

Prezența superscriptului A și B a fiecărui parametru de culoare indică diferențe semnificative între probele cu $p < 0,05$, pe baza testului Tukey. (Stan (Boldea) și colab., 2023b)

Culoarea rămâne unul dintre parametrii importanți care influențează acceptarea produselor de către consumatori. În **Figura 4.6**, probele gelifiate fără imersare în extract de hibiscus sunt mai luminoase, cu valori între $27,75 \pm 0,1$ și $28,76 \pm 0,2$ pentru parametrul L^* . Rezultatele sunt similare cu Șirin (2019), care a evaluat influența adaosului de tipuri de zahăr în marmelada de mere. Se pare că tipul și cantitatea de adaos de zahăr nu influențează luminozitatea probelor. Acest fenomen ar putea fi legat de culoarea extractului de hibiscus, care a imprimat modificări specifice datorită compușilor de culoare transferați la mere. În mod neașteptat, datorită influenței culorii extractului de hibiscus, probele care au fost infuzate au măsurat valori mai mici pentru parametrul a^* , dar acest fapt ar putea fi atribuit altor interacțiuni dintre zaharuri și compusii fitochimici prezenti în extractul de hibiscus. Cu toate acestea, valorile pozitive ale parametrilor a^* și b^* au evidențiat prezența unei combinații de culori roșu și galben. Similar cu Geicu și colab. (2009) pentru piureul de mere tratat prin câmp electric pulsatoriu, componenta galbenă predomină în toate probele. Probele cu cea mai mare intensitate a culorii sunt A1 și AH1 cu o valoare Chroma de $42,17 \pm 0,1$, respectiv $41,55 \pm 0,3$, în timp ce cea mai mică valoare a fost atribuită lui AH4 cu $33,58 \pm 0,4$. Conform paletii de culoare, care stă la baza calculului parametrilor de culoare, valorile Hue plasează mostrele de produse gelifiate cu sau fără infuzie în partea gălbuie-maronie deschisă, care este specifică gemurilor de mere.

1.4.5. Caracterizarea nutrițională

În **Tabelul 4.3**, sunt prezentate caracteristicile nutriționale ale produselor gelifiate. Conținutul de umiditate a variat de la 30,6% în A4 la 42,6% în AH3. Produsele gelifiate fără adaos de zahăr (A4 și AH4) au prezentat cele mai scăzute valori ale conținutului de umiditate, datorită lipsei de adaos de zahăr care contribuie la formarea structurii gelului și la reducerea efectului procesului de evaporare. Conținutul de umiditate influențează semnificativ capacitatea de gelificare a produselor, astfel o dată cu scăderea conținutului de umiditate,

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

fermitatea gelului crește. Rezistența gelului are un impact semnificativ asupra capacității de întindere a gemului, influențând astfel proprietatea senzorială a produsului.

Conținutul de cenușă a fost mai mare pentru probele fără zahăr și mai mic decât cele raportate de [Awolu și colab. \(2018\)](#) pentru dulceața produsă din banane, pepene verde și ananas, care au raportat valori cuprinse între 0,27% și 0,32%, datorită diferențelor în conținutul mineral al materiilor prime. Conținutul de carbohidrați a variat în funcție de cantitatea și tipul de zahăr adăugat sau ca urmare a fenomenului de concentrare care apare în urma tratamentului termic.

Tabel 4.3. Proprietăți fizico-chimice ale produselor gelifiate pe bază din mere cu și fără infuzie în extract de hibiscus ([Stan \(Boldea\) și colab., 2023b](#))

Caracteristici / probe	Cenușă (%)	Umiditate (%)	Carbohidrați, din care zaharuri (%)	Valoare energetică (%) kcal kJ
A1	0,11±0,01*	34,5±1,23	61,90±1,24 39,30±1,09	249,2±5,67 1042,65±9,11
AH1	0,10±0,01	37,5±1,02	61,80±2,07 38,80±1,99	249,28±6,78 1042,98±8,11
A2	0,13±0,09	37,3±2,34	32,15±1,02 14,87±1,01	130,20±2,33 544,75±8,90
AH2	0,17±0,01	41,9±2,03	32,89±1,09 14,7±0,99	133,84±4,56 559,98±7,89
A3	0,16±0,01	36,7±2,11	23,60±0,89 43,06±1,15	96,00±2,36 401,66±7,68
AH3	0,13±0,09	42,6±1,22	23,60±1,01 16,20±1,09	96,68±3,45 404,50±9,07
A4	0,16±0,01	30,6±1,11	15,60±1,01 15,89±0,98	64,00±1,22 267,77±3,48
AH4	0,20±0,01	35,9±1,34	15,21±1,99 14,73±1,11	63,12±2,39 264,09±3,11

* Experimentele au fost efectuate în duplicat, iar rezultatele sunt exprimate ca medie ± SD. Proteina și grăsimea nu au fost detectabile. Conținutul de carbohidrați a fost determinat scăzând compoziția procentuală însumată a conținutului de umiditate, proteine, lipide și cenușă din 100%.

4.4.6. Analiza senzorială

Probele au fost supuse analizei senzoriale, pentru a evalua gradul de acceptabilitate al produselor gelifiate. A fost utilizată o scară hedonică de nouă puncte. După cum se arată în graficul radar (**Figura 4.7.**), toate produsele gelifiate au prezentat punctaje diferite pentru gust, cu cel mai mare punctaj (8,22) fiind obținut pentru proba cu concentrație mai mică de zahăr (A2), urmată de probele A1, A3 și A4, cu același punctaj. Cea mai mică valoare pentru caracteristica gust a fost determinată pentru proba cu infuzie de hibiscus și fără zahăr adăugat (AH4) (6,66). Din **Figura 4.7.**, se poate observa că pentru impresia generală, probele fără infuzie de hibiscus au obținut punctaje mai mari. Prin urmare, A3 a obținut cea mai mare valoare a scorului, de 8,00 în ceea ce privește impresia generală, în timp ce cea mai mică a fost atribuită lui AH4. Pentru impresia de ansamblu, punctele acordate clasifică produsele, după preferințele paneliștilor astfel: A3>A2>AH2>A4>AH1>A1>AH3>AH4. Prin urmare, se

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

poate aprecia că produsele gelifiate cu infuzie de extract de hibsicus au fost situate în zona "moderat" a scării hedoniste.

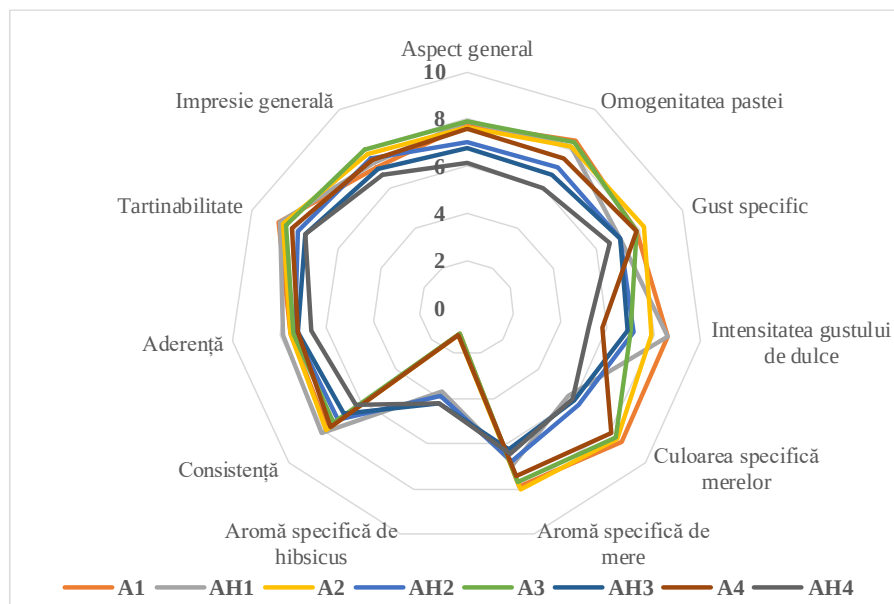


Figura 4.7. Atributele senzoriale ale produselor gelifiate (Stan (Boldea) și colab., 2023b)

Valorile indicelui de acceptabilitate (IA, %) sunt prezentate în **Tabelul 4.4**. În termeni de caracteristici senzoriale individuale, s-a sugerat că un IA mai mare de 70% este considerat satisfăcător (Dutcosky, 2007). Astfel, din datele prezentate în **Tabelul 4.4**, se poate observa că s-au obținut valori mai mari de acceptabilitate pentru probele fără infuzie de hibiscus, în timp ce diferite caracteristici senzoriale ar trebui îmbunătățite pentru probele infuzate, cum ar fi componenta pentru intensitatea gustului dulce.

Tabel 4.4. Indicele de acceptabilitate (IA, %) pentru produsele gelifiate (Stan (Boldea) și colab., 2023b)

Atribute senzoriale	A1	AH1	A2	AH2	A3	AH3	A4	AH4
Aspectul general	86,42	87,65	85,19	87,50	87,65	75,31	83,95	76,39
Omogenitatea pastei	93,83	90,12	90,12	79,01	92,59	83,33	83,95	75,00
Gust specific	87,65	88,89	91,36	79,01	87,65	88,89	87,65	74,07
Intensitatea gustului dulce	95,06	95,06	98,61	88,89	87,50	76,54	72,22	65,28
Culoarea specifică a mărului	96,30	70,83	93,83	77,78	92,59	75,00	90,12	84,13
Aroma specifică de mere	87,65	86,11	88,89	75,31	85,19	77,78	82,72	71,60
Consecvență	86,42	90,12	87,65	90,28	93,06	98,41	85,19	88,89
Aderenta	94,44	87,65	94,44	91,67	93,06	90,28	80,25	83,33
Tartinabilitate	97,53	96,30	95,06	87,65	93,83	83,95	90,12	83,95
Impresie generală	79,01	81,48	86,42	83,95	88,89	75,31	82,72	74,07

Calculul IA pentru caracteristica generală de impresie a permis clasificarea produselor astfel: A3>A2>AH2>A4>AH1>A1>AH3>AH4.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

1.5. CONCLUZII PARȚIALE

Obiectivele studiului au constat în obținerea unei categorii de produse procesate din mere cu un grad redus de îmbrunare enzimatică, prin exploatarea potențialului unor compuși polifenolici de a inhiba activitatea enzimatică a polifenoloxidazei din mere. Astfel, a fost adaptată o tehnologie de obținere a produselor gelificate infuzate în extract apos de calix de *Hibiscus sabdariffa* L.

Rezultatele obținute au permis elaborarea următoarelor concluzii parțiale:

A. A fost adaptată o schemă tehnologică de procesare a merelor infuzate cu obținere de produse gelificate, variind conținutul de îndulcitor adăugat. Astfel, au fost obținute 4 variante tehnologice de produse gelificate cu adaos de zahăr, cu un conținut redus de zahăr, cu înlocuitor de zahăr (xylitol) și fără adaos de zahăr. Această abordare a fost aplicată din perspectiva obținerii unor produse care să corespundă unei game variate de cerințe ale consumatorilor.

B. Schema tehnologică generală pentru procesare merelor cu infuzie în extract apos de hibiscus în produse gelificate a prezentat ca particularitate o etapă de infuzie în extract apos de calix de hibiscus, cu menținere la temperatura de 70°C timp de 30 de min, etapă care permite difuzia compușilor polifenolici, și în special al antocianilor în bucățile de mere. În procesul tehnologic aplicat, nu s-a utilizat pectină, ca agent de gelifiere, fiind exploatat conținutul natural de pectină din mere.

C. În general, indiferent de tipul și cantitatea de zahăr sau îndulcitor adăugate, infuzia aduce o contribuție la conținutul de polifenoli, cu o creștere de la 48.16±1.46 mg EAG/100 g SU la 50.56±3.62 mg EAG/100 g SU, conținutul de flavonoide a crescut de la 17.49±0.11 mg EC/100 g în proba control la 27.48±1.67 mg EC/100 g în proba infuzată, în timp ce în probele cu un conținut mai redus de zahăr sau îndulcitor, creșterea CTF a fost de circa 96% în probele cu adaos de 25 g zahăr, s-a dublat în probele cu xylitol și a crescut cu circa 84% în probele fără adaos de îndulcitor. Creșterea semnificativă a conținutului de flavonoide se poate explica prin contribuția în flavonoide a extractului, dar și efectului combinat al tipul și concentrației de zahăr adăugate.

D. În ceea ce privește conținutul de antociani, în probele cu 125 g de zahăr adăugat, conținutul de antociani a fost de 58.44±7.30 mg D3G/100 g SU, 138.09±9.60 mg D3G/100 g în probele cu un conținut redus de zahăr, 98.40±3.80 mg D3G/100 g în probele cu xylitol. Cea mai mare concentrație de antociani a fost determinată în proba fără adaos de zahăr, de 158.40±5.73 mg D3G/100 g. Conținutul de antociani a variat semnificativ cu tipul și concentrația de zahăr, la o concentrație ridicată, antocianii sunt degradați sau legați în procesul de gelificare mediat de zahăr și pectina endogenă, fapt care influențează culoarea probelor, datorită îmbrunării neenzimatice în probele gelificate. În ceea ce privește activitatea antioxidantă, nu s-au înregistrat diferențe semnificative în probele gelificate.

E. Probele martor au prezentat valori mai mici de fermitate pentru toate variantele,

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

tipul și concentrația de zahăr nu au influențat semnificativ fermitatea. În mod neașteptat, probele fără zahăr adăugat sau xilitol au înregistrat cea mai mare fermitate, atât pentru probele martor, cât și pentru cele tratate cu hibiscus. Nu au fost observate diferențe semnificative ($p < 0,05$) pentru probele cu adaos de zahăr sau xilitol din punct de vedere al adezivității, coezivității, elasticității și masticabilității. Mai mult, infuzia de hibiscus a prezentat efecte benefice asupra parametrilor texturali.

F. Datorită influenței culorii extractului de hibiscus, probele infuzate au prezentat valori mai mici pentru parametrul a^* , dar acest fapt ar putea fi atribuit altor interacțiuni dintre zaharuri și compusii fitochimici prezenți în extractul de hibiscus.

G. Valorile Hue a plasat mostrele de produse gelifiate cu sau fără infuzie în partea gălbuie-maronie deschisă, care este specifică gemurilor de mere.

H. Valoarea energetică a probelor a depins de conținutul de zahăr adăugat, cu o valoare mai mare pentru probele care au utilizat 125 g zahăr ($249,28 \pm 6,78$ kcal/100 g) și mai mică pentru probele fără zahăr adăugat ($63,12 \pm 2,39$ kcal/100 g).

I. Analiza senzorială a plasat produsele gelifiate cu infuzie de extract de hibiscus în zona moderat a scării hedoniste. Analiza senzorială a evidențiat preferința paneliștilor pentru produsele gelifiate cu conținut scăzut de zahăr.

4.6. BIBLIOGRAFIE

1. Akın, M. B., Akın, M. S., & Kirmacı, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. *Food Chemistry*, 104(1), 93–99.
2. AMI. (2021). *European Statistics Handbook. Agrar Markt Informations GmbH, Germany, AMI, Messe Berlin GmbH, Berlin.*
3. AOAC. (1990). *Official methods of analysis 15th edition of the Association of Official Analytical Chemists.*
4. APRIFEL. (2009). *Agence fruits et legumes frais.* <http://www.aprifel.com/fiches,produits.php?p=45&c=3>
5. Bekele, M., Satheesh, N., & J.A, S. (2020). Screening of Ethiopian mango cultivars for suitability for preparing jam and determination of pectin, sugar, and acid effects on physico-chemical and sensory properties of mango jam. *Scientific African*, 7, e00277.
6. Belović, M., Torbica, A., Pajić-Lijaković, I., & Mastilović, J. (2017). Development of low calorie jams with increased content of natural dietary fibre made from tomato pomace. *Food Chemistry*, 237, 1226–1233.
7. Curi, P. N., Carvalho, C. dos S., Salgado, D. L., Pio, R., Pasqual, M., Souza, F. B. M. de, & Souza, V. R. de. (2017). Influence of different types of sugars in physalis jellies. *Food Science and Technology*, 37(3), 349–355.
8. Feliciano, R. P., Antunes, C., Ramos, A., Serra, A. T., Figueira, M. E., Duarte, C. M. M., Carvalho, A. de, & Bronze, M. R. (2010). Characterization of traditional and exotic apple varieties from

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

- Portugal. Part 1 – Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 35–45.
9. Francini, A., & Sebastiani, L. (2013). Phenolic Compounds in Apple (*Malus x domestica* Borkh.): Compounds Characterization and Stability during Postharvest and after Processing. *Antioxidants*, 2(3), 181–193.
 10. Gasmalla, M. A. A., Yang, R., & Hua, X. (2014). Stevia rebaudiana Bertoni: An alternative Sugar Replacer and Its Application in Food Industry. *Food Engineering Reviews*, 6(4), 150–162.
 11. Geicu, M., Popa, M., Miteluț, A., Niculiță, P., & Cramariuc, R. (2009). Study of color evolution during shelf life of apple puree treated with pulsed electric field. . *Proceeding of the 2nd International Symposium-New Research in Biotechnology*.
 12. Levaj, B., Verica, D. U., Karmela, D., Karin, K. G., Mara, B., & Danijela, B. K. (2010). Polyphenols and volatiles in fruits of two sour cherry cultivars, some berry fruits and their jams. . *Food Technology and Biotechnology*, 48(4), 538–547.
 13. Lucey, J. A., & Singh, H. (1997). Formation and physical properties of acid milk gels: a review. *Food Research International*, 30(7), 529–542.
 14. Olufemi Awolu, O. (2018). Functional Jam Production from Blends of Banana, Pineapple and Watermelon Pulp. *International Journal of Food Science and Biotechnology*, 3(1), 7.
 15. Rababah, T. M., Al-u'datt, M. H., & Brewer, S. (2015). Jam Processing and Impact on Composition of Active Compounds. In *Processing and Impact on Active Components in Food* (pp. 681–687). Elsevier.
 16. Ran, J., Su, Y., Wang, P., Yang, W., Li, R., Jiao, L., & Zhao, R. (2023). Effect of *Lactobacillus acidophilus* fermentation on bioaccessibility: The relationship between biotransformation and antioxidant activity of apple polyphenols based on metabolomics. *LWT*, 190, 115360.
 17. Scibisz, I., & Mitek, M. (2009). Effect of processing and storage conditions on phenolic compounds and antioxidant capacity of highbush blueberry jams. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 59, 45–52.
 18. Shahbandeh, M. (2022). *Global production of fruit by variety selected 2020*. . <https://www.statista.com/statistics/264001/worldwide-production-of-fruit-by-variety/>.
 19. Şirin, P. (2019). *Rheological, textural, physico-chemical and sensory properties of low sugar apple marmalade*. Master thesis, School of Engineering and Sciences of İzmir Institute of Technology, Turkey. . <https://openaccess.iyte.edu.tr/bitstream/11147/7352/1/T002026.pdf>.
 20. Stan (Boldea), L., Nistor, O. V., Milea, Ștefania A., Andronoiu, D. G., Vasile, A. M., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2023). Low-sugar apples jam with hibiscus extract: textural, phytochemical and nutritional aspects. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI - Food Technology*, 47(1), 110–124.
 21. Tsao, R., Yang, R., Young, J. C., & Zhu, H. (2003). Polyphenolic Profiles in Eight Apple Cultivars Using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(21), 6347–6353.
 22. Zacharis, C., O'Donnell, K., & Kearsley, M. (2012). *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology* (K. O'Donnell & M. W. Kearsley, Eds.). Wiley.

CAPITOLUL 5. PROCESAREA MERELOR INFUZATE ÎN EXTRACT APOS DE HIBISCUS ÎN BĂUTURI RĂCORITOARE CU GRAD REDUS DE ÎMBRUNARE ENZIMATICĂ

5.1. INTRODUCERE

Preferințele consumatorilor pentru produsele alimentare au evoluat recent spre opțiuni mai sănătoase. Băuturile pe bază de fructe au câștigat atractivitate într-o societate care conștientizează și se orientează către efectele pentru sănătate ale acestora, datorită gustului lor răcoritor, aromelor inedite și conținutului bogat de micronutrienți și metaboliți secundari. Mai mult decât atât, băuturile pe bază de fructe îndeplinesc și tendința actuală manifestată de consumatori referitoare la nevoia de alimente mai convenabile. Sucurile de fructe sunt o sursă instantanee de energie, rehidratând rapid lichidele corporale. Acestea oferă un amestec bine echilibrat de micronutrienți și compuși bioactivi cu proprietăți de promovare a sănătății ([Slavin și Lloyd, 2012](#)).

Sucul de mere este o sursă bună de monozaharide, minerale (potasiu, fosfor și calciu), fibre alimentare și constituenți bioactivi precum acidul ascorbic, fenolici totali, flavonoide și antioxidanți ([Vallée Marcotte și colab., 2022](#); [Massini și colab. 2018](#)). Flavonoidele și acizii hidroxycinamici sunt grupele fenolice majore din grupele fenolice (flavonoli, antociani, acizi hidroxycinamici și dihidrochalcone) prezente în sucul de mere ([Francini și Sebastiani, 2013](#)). Consumul regulat de suc de mere reduce riscul de cancer, boli cardiovasculare, astm și diabet zaharat ([Francini și Sebastiani, 2013](#)).

Una dintre provocările majore la procesarea sucurilor este data de modificările fizice și nutriționale înregistrate la câteva minute de la extracție, datorită modificărilor date de îmbrunarea enzimatică, mediate de PFO, procese în urma cărora culoarea și profilul de aromă al sucului de mere se modifică ([De Paepe și colab., 2014](#)). În timpul procesului de extracție, PFO endogenă este eliberată prin ruperea țesutului peretelui celular, iar sucul se oxidează, devine maroniu, cu un miros specific. În plus, microbiota merelor deteriorează sucul prin dezvoltarea unui gust acru și aromă neplăcută.

5.2. OBIECTIVELE STUDIULUI

Obiectivul principal al acestui studiu a fost utilizarea substantelor naturale antiîmbrunare aparținând clasei polifenolilor pentru îmbunătățirea calității și a parametrilor nutriționali pentru un suc de mere infuzate în extract apos de hibiscus. Prin urmare, extractul apos obținut din calicele de *Hibiscus sabdariffa* L. a fost utilizat pentru infuzia merelor înainte de procesarea și obținerea produselor. În procesele de extracție a sucurilor s-a utilizat Pectinex® Ultra SP-L, un amestec de pectinaze, hemicelulaze și β -glucanaze, care să conducă la creșterea randamentului de extracție a sucului. Pentru evidențierea influenței adaosului de enzime extractive, s-a realizat un experiment similar, fără adaos de enzime, considerat ca proba martor. Sucurile s-au obținut la o concentrație a calixului de hibiscus adăugat pentru extracție de 2%. Probele rezultate au fost analizate înainte și după pasteurizare pentru conținutul de antociani. Probe de stabilitate a concentrației de antociani au fost efectuate după 60 de zile de păstrarea la temperatura de

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

4°C. În plus, tescovina rezultată de la presarea merelor și extracția sucului a fost inoculată cu *Lactobacillus casei*, cu denumirea comercială *L. casei* 431® provenită de la Chr Hansen, Danemarca, pentru a evalua capacitatea polifenolilor de a stimula activitatea metabolică a probioticelor, din perspectiva utilizării integrate în procesare a merelor. După inoculare, probele au fost liofilizate, urmărindu-se viabilitatea celulelor după liofilizare și la 30 de zile de depozitare.

5.3. MATERIALE ȘI METODE

5.3.1. Materii prime

Materiile prime utilizate au fost: merele (soiul Frumos de Voinești), extract apos din calice de *Hibiscus sabdariffa* achiziționate de la piața specializată din Galați, România, în septembrie 2022. Merele au fost sortate și spălate, apoi tulpinile și miezurile (cotoarele) au fost îndepărtate.

5.3.2. Reactivi utilizați

Cultură comercială de probiotic *Lactobacillus casei* cu denumirea comercială *L. casei* 431® a fost achiziționată de la Chr Hansen, Danemarca. Mediile de cultură – mediul MRS lichid cu pH final 6,2 și mediul MRS agar cu pH final 6,5 (de Man Rogosa, and Sharpe) au fost achiziționate de la Sigma-Aldrich (Suedia). Toți reactivii utilizați în experimente au fost de calitate analitică.

5.3.3. Pregătirea sucurilor

În prima etapă, s-a obținut o infuzie din calix de hibiscus la o concentrație de 2%, prin utilizarea apei distilată la temperatura de 100°C. Amestecul a fost lăsat apoi pentru extracție timp de 15 minute la temperatura camerei (21°C±2°C). Aproximativ 500 g de fructe au fost tăiate în bucăți de dimensiune uniformă (aproximativ 5 mm) și imersate în extractul apos de *Hibiscus* la 70°C și menținut pentru infuzare timp de 15 min, urmat de o omogenizare timp de 5 min, folosind un blender (Philips HR2100/40). Proba martor a fost obținută prin imersare în apă distilată la temperatura de 70°C. După blenduire, s-a adăugat 1% Pectinex® Ultra SP-L și probele au fost păstrate pentru extracție timp de 3 ore la temperatura de 50°C. Probele au fost centrifugate, cele două fracțiuni fiind separate. Sucul a fost colectat și ambalat în recipiente din sticlă, închise ermetic și pasteurizate imediat la 95°C timp de 15 min, iar tescovina a fost colectată și utilizat pentru inoculare. Probele de suc au fost răcite prin imersare în apă cu gheață și păstrate la temperatura de 4°C.

5.3.4. Determinarea viabilității celulelor prin metoda de numărare indirectă (metoda culturală Koch)

Tescovina rezultată de la procesarea merelor, cu și fără infuzie de extract apos de hibiscus a fost inoculată cu 1% cultură comercială de *L. casei* 431® și supusă liofilizării. Din probele liofilizate, precum și pentru probele inițiale s-a recoltat câte 1 gram de probă și s-au omogenizat cu 9 mL ser fiziologic steril (0,9% NaCl, g/v), realizându-se diluții decimale. Din ultimele două diluții succesive, câte 1 mL suspensie s-au repartizat aseptice în câte două plăci Petri sterile în paralel, urmate de omogenizarea cu 20 mL MRS cu agar, suplimentat cu 30 g/L carbonat de calciu ([Kang și colab., 2020](#)), fluidificat și temperat. Plăcile s-au termostatat

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

apoi la temperatura de 37°C, timp de 72 h ([Alamanda și colab., 2021](#)) în condiții de aerobioză. După termostatare, coloniile formate s-au numărat prin metoda de numărare indirectă. Rezultatele s-au exprimat în logaritmi din unități formatoare de colonii per gram substanță uscată probă analizată (log ufc/g s.u.). Probele au fost codificate astfel: M – probă pe bază de tescovină de mere cu probiotic și P – probă pe bază de tescovină de mere cu extract de hibiscus și probiotic.

5.3.5. Determinarea conținutului de compuși bioactivi și activitatea antioxidantă

Conținutul total de antociani monomerici (CTA), polifenoli (CTP) și activitate antioxidantă s-a determinat cu ajutorul protocoalelor descrise la **subcapitolele 4.3.5 și 4.3.6**. Probele au fost analizate pentru CTA înainte și după pasteurizare, pentru a evalua pierderile de compuși bioactivi. CTA a fost exprimat ca D3G/100 mL, CTP ca mg EAG/100 mL iar activitatea antioxidantă ca mg echivalenți Trolox/100 mL.

5.3.6. Analiza senzorială

Evaluarea senzorială a produselor a fost efectuată conform [Teodorescu et al. \(2023\)](#), prin utilizarea metodei de notare cu niveluri diferite de percepție pentru fiecare atribut, pe o scară care variază de la 1 (foarte scăzut) la 7 (foarte mare). Opt paneliști cu vârste cuprinse între 24 și 55 de ani au fost inițial instruiți cu privire la caracteristicile senzoriale relevante ale probelor. Înainte de analiză, sucurile au fost menținute la $18 \pm 1^\circ\text{C}$ timp de patru ore. Probele au fost expuse în recipiente de sticlă clare, codificate. Înainte de fiecare analiză și între analiza probelor, paneliștii au fost rugați să-și curețe palatul bucal cu apă. După obținerea consimțământului paneliștilor, aceștia au evaluat următoarele caracteristici senzoriale: aspect, culoare, miros, gust și impresie generală.

5.4. REZULTATE ȘI DISCUȚII

5.4.1 Dezvoltarea unei scheme tehnologice generale pentru procesare merelor cu infuzie în extract apos de hibiscus în sucuri

Schema tehnologică generală de procesare a merelor infuzate în extract de hibiscus în băuturi este prezentată în **Figura 5.1**. Schema tehnologică generală de procesare a merelor infuzate în extract de hibiscus prezintă ca particularități o etapă de extracție a compușilor biologic activi din calixul de hibiscus, o etapă de infuzare a merelor tăiate în extract și o etapă de extracție a sucului cu ajutorul unui mix de enzime, formate din pectinaze, hemicelulaze și β -glucanaze. Etapa de limpezire a fost înlocuită cu centrifugarea (9000x g pentru 15 min), cu obiectivul de limpezire a sucurilor și obținerea borhotului de mere.

5.4.2. Randamentul de extracție al sucurilor

Pentru evaluarea randamentului de extracție a sucului de mere, inițial s-au efectuat două experimente, în aceleași condiții, cu și fără adăugarea de Pectinex® Ultra SP-L. Pentru extracție au fost respectați parametrii de procesare prezentați la subcapitolul 5.3.3. Pregătirea sucurilor. În cazul probelor în care nu s-a adăugat enzime, randamentul de extracție a fost de aproximativ 74%, în timp ce o creștere importantă a fost obținută prin utilizarea enzimelor de extracție, când randamentul a fost de 86%. Ținând cont de aceste

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

rezultatele, toate probele obținute, martor și experimentale, au utilizat 1% Pectinex® Ultra SP-L pentru îmbunătățirea randamentului de extracție.

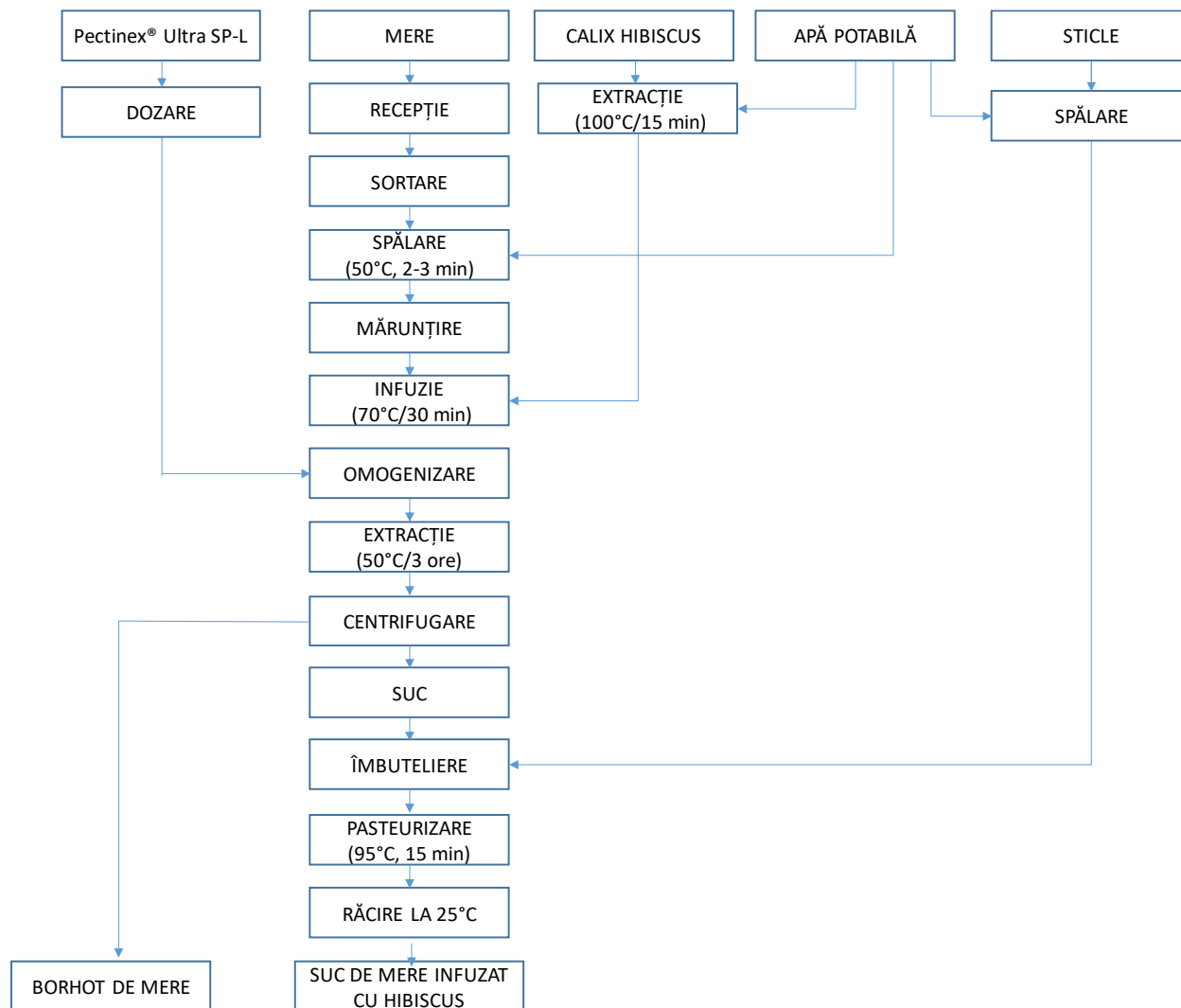


Figura 5.1. Schema generală de procesare a merelor infuzate în extract de hibiscus în sucuri

5.4.3. Efectul pasteurizării asupra conținutului de compuși bioactivi și activitate antioxidantă din sucurile cu și fără infuzie de extract de hibiscus

Probele experimentale au fost pasteurizate în ambalajele din sticlă, închise ermetic la temperatura de 95°C cu menținere 15 min. Rezultatele experimentale sunt prezentate în **Tabelul 5.1.**

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 5.1. Conținutul de compuși bioactivi și activitate antioxidantă din sucurile cu și fără infuzie de extract de hibiscus

Parametru analizat	Martor		Probe experimentale	
	Înainte de pasteurizare	După de pasteurizare	Înainte de pasteurizare	După de pasteurizare
CTA (mg D3G/100 mL)	Nd	nd	545,49±16,53 ^a	309,76±15,35 ^b
CTP (mg EAG/100 mL)	25,68±2,94 ^a	24,82±0,40 ^b	38,10±1,03 ^a	37,45±0,42 ^a
Activitate antioxidantă (mg Trolox/100 mL)	129,22±6,78 ^a	144,11±8,89 ^a	180,48±4,94 ^a	180,03±4,88 ^a

Prezența superscriptului a și b pe același rând indică diferențe semnificative între probe la $p < 0,05$, pe baza testului Tukey.

Conținutul de antociani în probele experimentale înainte de pasteurizare a fost de 545,49±16,53 mg D3G/100 mL, în timp ce tratamentul termic a determinat o scădere semnificativă a CTA la 309,76±15,35 mg D3G/100 mL. După cum se poate observa din **Tabelul 5.1.**, probele de suc cu infuzie de extract de hibiscus au prezentat un conținut mai mare de CTP, cu circa 48% (25,68±2,94 mg EAG/100 mL comparativ cu 38,10±1,03 mg EAG/100 mL), fără modificări semnificative induse de tratamentul termic. Același trend se observă și pentru activitatea antioxidantă în probele infuzate, în timp ce în martor, activitatea antioxidantă crește după pasteurizare, de la 129,22±6,78 mg EAG/100 mL la 144,11±8,89 mg EAG/100 mL, sugerând că în probele martor activitatea antioxidantă este dată de un cumul de compuși bioactivi. În probele infuzate, deși conținutul de antociani scade semnificativ, CTP nu variază, putându-se afirma că polifenolii totali sunt responsabili de activitatea antioxidantă.

Pentru a evalua stabilitatea compușilor bioactivi la depozitare, probele au fost depozitate la temperatura de 4°C pentru 60 de zile. Conținutul de antociani a scăzut semnificativ, de la 309,76±15,35 mg D3G/100 mL la 226,26±3,54 mg D3G/100 mL, ceea ce reprezintă o scădere cu circa 27%. CTP în probele infuzate a înregistrat o ușoară scădere, de la 37,45±0,42 mg EAG/100 mL la 33,27±0,26 mg EAG/100 mL. Scăderea conținutului de compuși bioactivi a determinat o ușoară scădere a activității antioxidante cu circa 5%, de la 180,03±4,88 mg Trolox/100 mL la 171,77±6,46 mg Trolox/100 mL.

5.4.4. Analiza senzorială a sucurilor

Probele au fost supuse analizei senzoriale, pentru a evalua gradul de acceptabilitate al sucurilor fără și cu infuzie în extract apos de hibiscus. A fost utilizată o scară hedonică de șapte puncte. După cum se arată în graficul radar (**Figura 5.2.**), cele două probe experimentale au prezentat punctaje diferite pentru aspect, cu cel mai mare punctaj (6,37) fiind obținut pentru proba infuzată, în timp ce proba martor a primit un punctaj de 5,5. Parametrul culoare a primit punctaj maxim (7) pentru probele cu infuzie, în timp ce proba martor a primit un punctaj de 4,25. Probele au fost diferențiate la caracteristica miros, probele martor fiind mai bine apreciate (punctaj 6,5) comparativ cu proba infuzată, care a

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

primit un punctaj de 5,62, probabil datorită mirosului specific imprimat de hibiscus. La impresie generală, probele au fost evaluate cu punctaje similare, proba infuzată primind punctaj maxim (7), în timp ce proba martor a fost ușor depunctată în analiza comparativă (6,5).

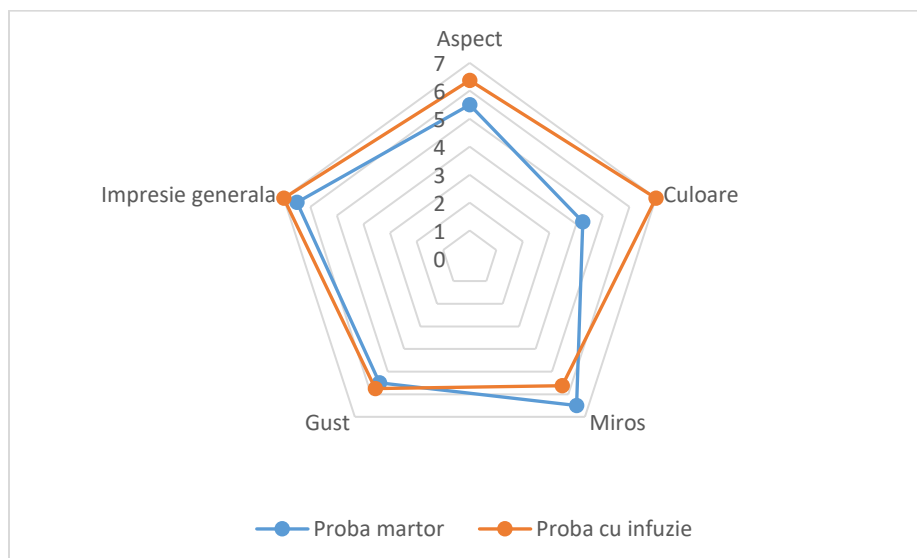


Figura 5.2. Distribuția atributelor senzoriale ale sucurilor de mere cu și fără infuzie în extract de hibiscus

Indicele de acceptabilitate a probelor a fost calculat cu ajutorul relației 4.2, rezultatele obținute fiind prezentate în **Tabelul 5.2**.

Tabelul 5.2. Indicele de acceptabilitate (IA, %) pentru sucurile de mere

Atribut senzoriale	Proba martor	Proba cu infuzie
Aspectul general	78.57	91.07
Culoare	70.83	100.00
Aromă specifică de măr	92.86	80.36
Gust specific de măr	78.57	82.14
Impresie generală	92.86	100.00

Din datele prezentate, se poate observa că probele infuzate au obținut punctaj maxim la caracteristica impresie generală. Nici una din caracteristicile analizate nu au obținut un punctaj mai mic de 70%, ceea ce clasifică ambele variante experimentale în categoria grad înalt de acceptabilitate.

5.4.5. Viabilitatea bacteriilor probiotice inoculate în tescovina rezultată de la procesarea merelor în sucuri

Viabilitatea bacteriilor probiotice *L. casei* 431® din cele 2 probe a fost determinată înainte și după liofilizare și respectiv după o 30 de zile de păstrare la 4°C (**Tabel 5.3**).

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 5.3. Viabilitatea celulelor de *L. casei* 431® în tescovina de mere înainte și după liofilizare și după 30 de zile de păstrarea la 4°C

Probe	Viabilitate, log ufc/g s.u.		
	Înainte de liofilizare	După liofilizare	După 30 de zile de depozitare la 4°C
M	11,03±0,01	9,90 ±0,09	5,09± 0,26
P	11,13±0,03	9,93±0,13	8,71±0,11

Din **tabelul 5.3.** se poate observa că liofilizarea a determinat o scădere a numărului de celule viabile cu 2 log, în ambele probe. Rata de supraviețuire a celulelor probiotice a fost de aproximativ 90%. Microorganismele probiotice pot supraviețui o perioadă mai lungă în condiții de congelare, specifice liofilizării. Cu toate acestea, membranele celulare devin deteriorate în timpul procesului de congelare datorită solicitărilor mecanice induse de cristalele de gheață formate în mediul extern sau în interiorul celulelor, provocând liza celulelor. Substanțele dizolvate se condensează în mediile extracelulare/intracelulare și în consecință celule se deshidratează. Ca urmare, activitățile metabolice vitale ale celulelor sunt reduse sau întrerupte (Akin, Akin, & Kirmaci, 2007).

Efectul de stimulare a activității metabolice se observă la depozitare, când s-a înregistrat o scădere de 4,81 log ufc/g s.u. în proba martor, proba fără imersarea merelor în extract de hibiscus, ceea ce corespunde la o rata de supraviețuire de 52%. Comparativ, după 30 de zile de depozitare, proba de tescovină cu imersarea merelor în hibiscus a permis o menținere a viabilității celulelor la 8,71 log ufc/g s.u., cu o pierdere minimă de 1,22 log ufc/g s.u. În acest caz, rata de supraviețuire a fost de 88%.

Rezultatele obținute pot fi explicate prin efectul prebiotic cumulat al pectinei din mere și al polifenolilor. De exemplu, [Ran și colab. \(2023\)](#) au fermentat pulpa de mere cu *Lactobacillus acidophilus* și au identificat șase metaboliți diferiți și 10 căi metabolice diferite. Bacteriile probiotice au potențial de a transforma compușii polifenolici în molecule cu masă moleculară mai mică, fapt care favorizează absorbția lor. Efectul de păstrarea a numărului de bacterii probiotice viabile în probele imersate pot fi explicate prin scăderea pH-ului indus de adaosul de antociani din hibiscus.

5.5. CONCLUZII PARȚIALE

Obiectivele studiului au constat în obținerea unei categorii de produse procesate din mere cu un grad redus de îmbrunare enzimatică, prin exploatarea potențialului unor compuși polifenolici de a inhiba activitatea enzimatică a polifenoloxidazei din mere. Astfel, a fost adaptată o tehnologie de obținere a băuturilor răcoritoare din mere infuzate în extract apos de calix de *Hibiscus sabdariffa* L. Rezultatele obținute au permis elaborarea următoarelor concluzii parțiale:

- A. Sucurile au fost obținute prin infuzie în extract apos de calix de hibiscus, cu adaos de enzime, respective Pectinex® Ultra SP-L, un amestec de pectinaze, hemicelulaze și β-glucanaze, care să conducă la creșterea randamentului de extracție a sucului.
- B. Utilizarea enzimelor în procesul de extracție a condus la o creștere a randamentului de extracție de la 74% la 86%.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

C. În general, tratamentul de pasteurizare a determinat o scădere a conținutului de antociani în sucurile cu infuzie de extract de hibiscus, cu o scădere semnificativă de la $545,49 \pm 16,53$ mg D3G/100 mL la $309,76 \pm 15,35$ mg D3G/100 mL. Conținutul de polifenoli și activitatea antixodantă au avut valori mai mari în sucurile infuzate, în timp ce tratamentul termic nu a influențat semnificativ conținutul în compuși polifenolici, și în consecință a activității antioxidante.

D. La evaluarea stabilității la depozitarea în condiții de refrigerare pentru 60 de zile, conținutul de antociani a scăzut semnificativ, de la $309,76 \pm 15,35$ mg D3G/100 mL la $226,26 \pm 3,54$ mg D3G/100 mL, ceea ce reprezintă o scădere cu circa 27%.

E. Conținutul de polifenoli în probele infuzate a înregistrat o ușoară scădere, de la $37,45 \pm 0,42$ mg EAG/100 mL la $33,27 \pm 0,26$ mg EAG/100 mL. Scăderea conținutului de compuși bioactivi a determinat o ușoară scădere a activității antioxidante cu circa 5%, de la $180,03 \pm 4,88$ mg Trolox/100 mL la $171,77 \pm 6,46$ mg Trolox/100 mL.

F. Analiza senzorială a sucurilor de mere infuzate a indicat că probele infuzate au obținut punctaj maxim la caracteristica impresie generală. Nici una din caracteristicile analizate nu au obținut un punctaj mai mic de 70%, ceea ce clasifică ambele variante experimentale în categoria grad înalt de acceptabilitate.

G. Efectul de stimulare a activității metabolice, similar proprietăților prebiotice au fost observate în cazul tescovinei rezultate de la procesarea merelor, cu imersare în extract de hibiscus. Astfel, s-au obținut probe liofilizate de borhot de mere cu 9 log ufc/g s.u. în timp ce la depozitare timp de 30 de zile la 4°C, bacteriile și-au menținut viabilitatea în procent de 88%.

5.6. BIBLIOGRAFIE

1. De Paepe, D., Valkenborg, D., Coudijzer, K., Noten, B., Servaes, K., De Loose, M., Voorspoels, S., Diels, L., & Van Droogenbroeck, B. (2014). Thermal degradation of cloudy apple juice phenolic constituents. *Food Chemistry*, 162, 176–185.
2. Dutcosky, S. D. (2007). *Analise sensorial de alimentos. (2th ed.). Curitiba: Champagnat.*
3. Espino-Díaz, M., Sepúlveda, D. R., González-Aguilar, G., & Olivas, G. I. (2016). Biochemistry of apple aroma: A review. *Food Technology and Biotechnology*, 54(4).
4. Featherstone, S. (2015). *A Complete Course in Canning and Related Processes.* Elsevier.
5. Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1).
6. Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Foltá, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M., Weisz, M., Trakhtenberg, S., & Martín-Belloso, O. (2001). Comparative Contents of Dietary Fiber, Total Phenolics, and Minerals in Persimmons and Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 952–957.
7. Harker, F. R., Gunson, F. A., & Jaeger, S. R. (2003). The case for fruit quality: an interpretive review of consumer attitudes, and preferences for apples. *Postharvest Biology and Technology*, 28(3), 333–347.
8. Islam, Md. R., Haque, A. R., Kabir, Md. R., Hasan, Md. M., Khushe, K. J., & Hasan, S. M. K. (2021). Fruit by-products: the potential natural sources of antioxidants and α -glucosidase inhibitors. *Journal of Food Science and Technology*, 58(5), 1715–1726.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

9. Kahle, K., Kraus, M., & Richling, E. (2005). Polyphenol profiles of apple juices. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(8), 797–806.
10. Massini, L., Rico, D., & Martin-Diana, A. B. (2018). Quality Attributes of Apple Juice. In *Fruit Juices* (pp. 45–57). Elsevier.
11. Vallée Marcotte, B., Verheyde, M., Pomerleau, S., Doyen, A., & Couillard, C. (2022). Health Benefits of Apple Juice Consumption: A Review of Interventional Trials on Humans. *Nutrients*, 14(4), 821.

CAPITOLUL 6. CERCETARE APLICATIVĂ PRIN UTILIZAREA EXTRACTELOR DE HIBISCUS LA OBȚINEREA SNACKS-URILOR DIN MERE PRIN DIFERITE METODE DE USCARE

6.1. INTRODUCERE

O dietă sănătoasă și sustenabilă aduce o contribuție importantă asupra sănătății umane, în special datorită conștientizării efectelor asociate acesteia, fapt ce duce la o creștere a cererilor consumatorilor pentru produse sănătoase (Zhu et al., 2022). Prin urmare, gustările din fructe pot deveni o parte esențială a alimentației zilnice a omului, având în consecință un impact semnificativ asupra pieței alimentare. Este bine cunoscut faptul că aportul zilnic recomandat de fructe și legume este de 200 g (FAO, 2021), acest raport putând fi considerat un vector important pentru o serie de nutrienți importanți, la care se adaugă și potențialul de furnizare a unor compuși biologic activi, a căror efect este intens studiat în literatura de specialitate ca având multiple funcții benefice pentru organismul uman.

Fructele reprezintă o sursă de glucide simple, carbohidrați, fibre alimentare, proteine, precum și vitamine, minerale și acizi organici, constituind împreună cu legumele, baza piramidei alimentare (Karwacka et al., 2022). Prin urmare, alimentele naturale reprezintă cea mai simplă formă de alimente funcționale și pot fi o sursă bună de compuși funcționali (Day et al., 2009).

Mai mult, cererea de alimente funcționale cu efecte benefice asupra sănătății este în continuă creștere. Deși consumul de fructe proaspete rămâne o condiție esențială pentru o alimentație sănătoasă, în zilele noastre, gustările consumate între mesele principale joacă un rol semnificativ în dieta modernă (de Gooijer et al., 2023). Din păcate, în ultimele decenii, gustările contribuie semnificativ la aportul total de energie datorită, în special, conținutului ridicat de grăsimi și zahăr (Murakami & Livingstone, 2015).

Mărul (*Malus domestica*) este un fruct popular din familia Myrtaceae. Din punct de vedere compozițional, mărul a fost studiat pe larg, datorită conținutului mare în nutrienți și compuși biologic activi, cum ar fi compuși polifenolici (taninuri), carotenoide, fibre alimentare, vitamine, zaharuri, polizaharide, steroli, acizi organici și elemente minerale esențiale pentru alimentația umană (Zhu și colab., 2022). S-a raportat că mărul este unul dintre fructele ideale pentru dezvoltarea gustărilor dintre mese, cunoscute în general sub

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

denumirea de snacks-uri, datorită valorilor sale nutritive și biologice active ridicate, cu impact benefic asupra funcției vasculare, tensiunii arteriale, lipidelor, inflamației și hiperglicemiei (Arora et al. 2018; Bondonno et al, 2017).

Cu toate acestea, în timpul procesării, îmbrunarea este un factor determinant care afectează calitatea produselor procesate din mere, datorită distrugerii structurii celulare regionale spațiale a fenolilor și acțiunii enzimelor oxidative, fapt care conduce la apariția compușilor de îmbrunare enzimatică, de culoare maro închis (Xu et al., 2022), concomitent cu degradarea calității și reducerea termenului de valabilitate. Polifenoloxidaza (PFO) și peroxidaza (PRO) sunt enzimele cheie implicate în degradarea polifenolilor și apariția îmbrunării (Jang & Moon, 2011).

Wang și colab. (2023) au explicat că în prezent, pentru a inhiba activitatea PFO și PRO, tehnicile sunt axate pe tratamentul post-recoltare, în principal tratamente fizice și chimice, cum ar fi utilizarea unor tehnici de ambalare speciale, aplicarea tratamentelor termice, refrigerarea, utilizarea tratamentelor la presiune înaltă, iradiere ultravioletă sau utilizarea de substanțe chimice cu potențial de inhibare a enzimelor. În prezent, grupul nostru de cercetare a demonstrat că polifenolii naturali ar putea inhiba aproximativ 50% din activitatea PFO (Stan (Boldea) și colab. 2023a) prin utilizarea unei etape de infuzie a merelor proaspăt tăiate în extract apos de *Hibiscus sabdariffa* L. Din rezultatele obținute, extractul de *Hibiscus sabdariffa* L. conține o gamă largă de polifenoli, cum ar fi acid galic, acid cafeic, acid siringic, acid sinapic, acid hibiscus, acid azelaic, acid 3,4-dihidroxibenzoic, acid clorogenic, acid ferulic, acid elagic, acid p-cumaric, acid neoclorogenic, delfinidin-3-O-sambubiozidă/hibiscină, delfinidină, pelargonidină, delfinidin-3-O-β-D-glucozidă, kaempferol, kaempferol-3-O-sambubiozidă, kaempferol-3-O-rutinozidă, naringenină, miricetină, galocatechină, kaempferol glucozidă și spicozidă A (Stan (Boldea) și colab. 2023a).

6.2. OBIECTIVUL STUDIULUI

Prin urmare, obiectivul principal al studiului a fost obținerea de snacks-uri din mere cu indice de îmbrunare enzimatică redus, prin infuzarea feliiilor de mere proaspăt tăiate în extract apos de *Hibiscus sabdariffa* L., urmată de uscare, folosind două metode: uscare convectivă în aer cald (CD) și, respectiv uscare în infraroșu. (IR). Omolola, Jideani și Kapila (2017) au explicat că uscarea contribuie în mod semnificativ la prelungirea termenului de valabilitate prin reducerea conținutului de apă a produselor, ceea ce, la rândul său, duce la o reducere a costurilor logistice. A fost studiat efectul celor două metode de uscare la diferite temperaturi asupra parametrilor cinetici de uscare, asupra conținutului de polifenoli și activității antioxidante. În plus, au fost analizate caracteristicile fizice, respectiv parametrii de culoare, caracteristicile senzoriale, capacitatea de rehidratare, raportul de contracție, suprafața și proprietățile texturale. Profilul polifenolic avansat în acizi fenolici, flavonoide și antociani a fost analizat prin metode cromatografice. Rezultatele obținute sunt valoroase în ceea ce privește dezvoltarea unor strategii și tehnologii de obținere a unor snacks-uri inovatoare din mere, cu proprietăți bioactive superioare, cu o culoare atractivă și activitate antioxidantă crescută.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

6.3. MATERIALE ȘI METODE

6.3.1. Materii prime

Merele (*Malus pumila*, cv. Granny Smith) au fost achiziționate de pe o piață locală din Galați, România și depozitate la 4 ± 1 °C înainte de procesare. Conținutul inițial de umiditate a merelor a fost de $81,16 \pm 0,11\%$. Caliciul uscat de *Hibiscus sabdariffa* L. a fost obținut de la un magazin local de plante medicinale (Galați, România) în octombrie 2023.

6.3.2. Reactivi

Reactivii utilizați în acest studiu au fost acidul galic, catechina, Trolox (acid 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic), reactivul Folin-Ciocalteu, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), etanol, achiziționate de la Sigma Aldrich Steinheim (Darmstadt, Germania). Reactivii utilizați în analiza cromatografică, respectiv acid acetic, acetonă, acetonitril, acid formic, metanol, etanol, cafestol, procianidină A1, procianidină B1, cafeină, acid galic, acid cafeic, acid siringic, acid 3, 4-dihidroxibenzoic, acid clorogenic, acid ferulic, acid elagic, acid p-cumaric, acid sinapic, quercetină 3-glucozidă, quercetină 3-D-galactozidă, luteolină, delphinidin-3-O- β -D-glucozidă, pelargonidin-3-O-glucozidă, clorură de pelargonidina, clorură de malvidină, quercetină, rutina trihidrat, rutina (quercetin 3-rutinozid), kaempferol, naringenin, crisin și miricetin au fost de calitate HPLC și achiziționate de la Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germania). Toate celelalte substanțe chimice și reactivi utilizați în experimente au fost de puritate analitică.

6.3.3. Obținerea extractului apos de *Hibiscus* și infuzia feliilor de mere proaspăt tăiate

Această etapă a fost realizată utilizând metodele descrise de [Stan \(Boldea\) și colab. \(2023 a și b\)](#). Pe scurt, extractul a fost obținut prin adăugarea a 10 g de caliciu de hibiscus în 1000 ml de apă fierbinte (100°C timp de 15 min). Merele (aproximativ 1 kg) s-au spălat cu apă de la robinet, s-au șters ușor cu hârtie absorbantă pentru a îndepărta excesul de apă și s-au tăiat la o grosime de 3 mm folosind o mașină de feliere (Gorenje R707A, Velenje, Slovenia). Feliile au fost împărțite în două grupe experimentale: martor și probele infuzate. Feliile de mere au fost imersate în extractul apos de *Hibiscus* și menținute la 70°C timp de jumătate de oră, în timp ce probele control au fost tratate în aceleași condiții, dar înlocuind extractul cu apă distilată la temperatura de 70°C. După jumătate de oră, bucățile au fost îndepărtate din soluții, menținute la 22°C timp de 5 minute pentru a favoriza eliminarea apei în exces și supuse ulterior uscării.

6.3.4. Procedura experimentală de uscare

În experimente au fost utilizate două metode de uscare: uscare prin convecție în aer cald (CD) și uscare cu infraroșu (IR). Aproximativ 250 ± 5 g de mere feliolate au fost uscate în fiecare experiment. Uscarea CD și IR a feliilor de mere au fost efectuate într-un uscător infraroșu-convectiv echipat cu 5 tăvi perforate (Concept SO4000 Infra 500 W, Chocen, Republica Cehă). Feliile de mere au fost uscate la temperaturi constante de 50°C, 60°C și 70°C, o viteză a aerului de $1,2 \pm 0,1$ m/s măsurată cu un termoanemometru cu fir fierbinte VT 115 (Kimo Instruments, Millgrove, Ontario, Canada) și umiditate relativă de $12,2 \pm 1,5\%$. Umiditatea relativă a fost măsurată cu ajutorul unui termohigrometru seria EE33, echipat cu

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

o sondă de detectare (E + E Elektronik Ges.m.b.H. Engerwitzdorf, Austria). La fiecare 30 de minute, probele (felii de măr) au fost cântărite, folosind o balanță digitală Precisa EP-125SM (Precisa, Iași, România) cu o precizie de 0,01 g. Procesul de uscare a fost considerat finalizat atunci când probele de felii de mere au atins greutate constantă (condiție de echilibru). După uscare, probele au fost introduse în exsicator timp de aproximativ 30 de minute pentru a se răci la temperatura camerei ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) și apoi s-au ambalat în pungi de hârtie și s-au păstrat la întuneric până la efectuarea de analize.

6.3.5. Modelarea matematică a curbelor de uscare

Raportul de umiditate (MR) și viteza de uscare (DR) pentru feliile de mere au fost calculate folosind următoarele ecuații (Veleşcu și colab., 2023):

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_0 - M_e} \quad (6.1)$$

unde MR este raportul de umiditate (adimensional); M_t , M_0 și M_e reprezintă conținutul de umiditate la momentul t (kg/kg), inițial și de echilibru (kg/kg).

Ecuația (6.2) a fost utilizată pentru a calcula viteza de uscare (DR) (Veleşcu et al., 2023):

$$DR = \frac{M_{t+dt} - M_t}{d_t} \quad (6.2)$$

unde M_{t+dt} este conținutul de umiditate la momentul $t+dt$ (kg/kg) și d_t este intervalul de timp dintre două determinări consecutive (min). În **Tabelul 6.1** sunt rezumate modelele matematice aplicate curbelor de uscare ale feliilor de mere uscate la temperaturi diferite pentru metodele de uscare CD și IR. Datele experimentale au fost analizate prin regresie neliniară (software CurveExpert Professional versiunea 2.7.3) pentru a estima parametrii cinetici pentru modelele matematice aplicate. Cel mai adecvat model matematic folosit pentru a descrie caracteristicile de uscare ale feliilor de măr a fost considerat modelul cu cea mai mare valoare a coeficientului de corelație (R^2) și cea mai mică valoare a sumei pătratelor reziduale (SSR).

Tabel 6.1. Modelele matematice selectate din literatura de specialitate pentru descrierea curbelor de uscare a produselor agricole

Nr.	Denumirea modelului	Relația matematică	Referință bibliografică
1.	Newton/Lewis	$MR = \exp(-kt)$	Lewis (1921)
2.	Page	$MR = \exp(-kt^n)$	Page (1949)
4.	Henderson and Pabis	$MR = a \exp(-kt)$	Henderson and Pabis (1962)
5.	Logarithmic	$MR = a \exp(-kt) + c$	Meisami-asl et al., (2009)

MR – raportul de umiditate, n – numărul de constante ale modelului; k – constanta de uscare ($1/s$); a și c – coeficienți ai modelului și t – timpul de uscare (s).

6.3.6. Coeficientul de difuzie efectivă a umidității (D_{eff}) și energia de activare (E_a)

Coeficientul de difuzie efectivă a umidității probelor analizate (D_{eff}) a fost estimat cu ajutorul celei de a doua legi Fick a difuziei (Ecuația 6.3), utilizată pentru a descrie procesul

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

de uscare și transportul umidității în interiorul materialelor biologice (Demiray și colab., 2023).

$$MR = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[-(2n+1)^2 \cdot \frac{\pi^2}{4} \cdot \frac{D_{eff} \cdot t}{L^2} \right] \quad (6.3)$$

unde MR este raportul de umiditate, t este timpul (s), L este grosimea probelor (m), difuzivitatea efectivă D_{eff} (m^2/s).

În cazul timpilor de uscare lungi, ecuația (6.3) se exprimă într-o formă logaritmică conform ecuației (6.4):

$$\ln MR = \ln \left(\frac{8}{\pi^2} \right) - \left(\pi^2 \cdot \frac{D_{eff}}{4 \cdot L^2} \cdot t \right) \quad (6.4)$$

Valorile D_{eff} au fost calculate prin reprezentarea grafică a $\ln(MR)$ în funcție de timpul de uscare conform ecuației (6.5):

$$Slope = \frac{\pi^2 \cdot D_{eff}}{4 \cdot L^2} \quad (6.5)$$

Dependența D_{eff} față de temperatură a fost evaluată cu ajutorul ecuației lui Arrhenius și valorile energiilor de activare (E_a) au fost calculate cu ajutorul ecuației (6.6):

$$D_{eff} = D_0 \exp \left(-\frac{E_a}{R \cdot T} \right) \quad (6.6)$$

În care: D_0 este factorul pre-exponențial al ecuației Arrhenius (m^2/s), E_a este energia de activare (KJ/mol), T este temperatura absolută (K) și R este constanta universală a gazelor ($R = 8,31451 \text{ J/mol/K}$). Valorile energiilor de activare au fost considerate pantele reprezentărilor grafice liniare a corelațiilor $\ln(D_{eff})$ față de $1/T$, exprimate ca E_a/R .

6.3.7. Extracția compușilor polifenolici din snacks-urile din mere

Pentru extracția polifenolilor, 1 g de probă a fost amestecat cu 9 ml de soluție de etanol (70%) și supuse extracției solid-lichid asistate de ultrasunete, la 30°C timp de 30 de minute. Probele au fost centrifugate la 7000 x g timp de 10 minute la 4°C și supernatanții au fost utilizați pentru analiza compușilor polifenolici prin metoda cromatografică și pentru determinarea activității antioxidante.

6.3.8. Analiza cromatografică a polifenolilor

Analiza cromatografică pentru caracterizarea profilului polifenolic a fost efectuată cu ajutorul unui sistem HPLC Agilent 1200 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SUA) și s-a bazat pe o eluție cu acid formic 10% (v/v, solvent A) și 100% metanol (v/v, solvent B), utilizând o coloană C18 Synergi 4u Fusion-RP 80A, 150 mm x 4,6 mm, cu dimensiuni de 4 μm (Phenomenex, California, SUA). Debitul a fost de 1 mL/min, la 30°C, cu un volum de injectare de 10 μL de probă, detecția având loc la lungimea de undă de 280 nm și 320 nm. Compușii au fost identificați și cuantificați pe baza curbelor etalon elaborate pentru standardele disponibile și prin raportare la datele din literatura științifică.

6.3.9. Activitate antioxidantă

Capacitatea extractelor obținute din snacks-urile din mere de a capta radicalul DPPH a fost folosită în acest studiu pentru a evalua potențialul antioxidant. Probele de extract (100

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

μL) au fost amestecate cu 3900 μL de soluție metanolică DPPH (0,1 Mol) și incubate timp de 30 min la temperatura camerei și la întuneric. Absorbanța probelor a fost măsurată la 515 nm față de martor (spectrofotometru UV-vizibil (Biochrom Libra S22 UV/Vis, Cambridge, UK). Toate experimentele au fost efectuate în triplicat. Activitatea antioxidantă a fost exprimată ca μMol Trolox/g substanță uscată (SU) utilizând o curbă etalon utilizând Trolox ($y = 0,45x - 0,0075$, $R^2 = 0,993$).

6.3.10. Analiza texturii

Pentru analiza texturală a fost utilizat un analizor CT3 Texture (Brookfield Ametek, SUA) echipat cu o celulă de sarcină de 1000 g. Snacks-urile au fost așezate pe o platformă perforată și s-a utilizat un cilindru metalic cu diametrul de 4 mm pentru a determina fermitatea și crocanța. Viteza de pretest și posttest a fost setată la 2 mm/s, viteza de testare a fost de 0,5 mm/s și sarcina de declanșare a fost de 0,067 N. Fermitatea a fost exprimată ca forță maximă necesară pentru spargerea snacks-urilor, iar crocanța a fost determinată ca număr de vârfuri în diagrama deformare-forță (Xiao et al., 2018). Au fost efectuate cinci măsurători pentru fiecare probă.

6.3.11. Parametri colorimetrici

Parametrii de culoare (L^* , a^* , b^* , C^* , h^*) ai snacks-urilor din mere proaspete și uscate au fost mășurați cu un colorimetru de precizie NR110 (Shenzhen 3nh Technology Co., Guangdong, China). Modificarea totală a culorii (ΔE), indicele de îmbrunare (BI), indicele de alb (WI) și indicele de galben (YI) ale merelor feliate proaspete și uscate au fost calculate folosind ecuațiile (6.7)-(6.11) (Duan și colab., 2017, Dajbich și colab., 2023).

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad (6.7)$$

$$BI = \frac{[100 \cdot (x - 0.31)]}{0.17} \quad (6.8)$$

$$x = \frac{(a^* + 1.75 \cdot L^*)}{(5.645 \cdot L^* + a^* - 3.012 \cdot b^*)} \quad (6.9)$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (6.10)$$

$$YI = \frac{142.86 \cdot b^*}{L^*} \quad (6.11)$$

unde L_0^* , a_0^* și b_0^* reprezintă parametrii de culoare ai probelor proaspete, L^* , a^* și b^* reprezintă parametrii de culoare ai probele uscate, L^* (luminozitate), a^* (tentă de la verde la roșu) și b^* (tentă de la albastru spre galben). Toate experimentele au fost efectuate în triplicat.

6.3.12. Raportul de rehidratare (RR)

Feliile de mere uscate ($7.0 \pm 0,5$ g) au fost scufundate în 200 mL apă distilată într-un pahar de 250 mL și rehidratate la 40°C. Probele au fost cântărite la intervale de 5 minute. Apoi, probele au fost scoase și apa de suprafață a fost absorbită cu grijă cu prosoape de hârtie timp de 60 de secunde, apoi cântărită. După cântărire, probele au fost reintroduse imediat în același pahar cu apă distilată. Această procedură s-a repetat până la obținerea unei greutate

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

constante (cel puțin două cântăriri consecutive). Ecuația (6.12) a fost utilizată pentru a calcula raportul de rehidratare a probelor (Zhu și colab., 2022).

$$RR = \frac{m_2}{m_1} \quad (6.12)$$

unde m_1 a fost masa snacks-urilor din mere uscate înainte de rehidratare (g) și m_2 a fost masa snacks-urilor din mere uscate după rehidratare (g). Toate experimentele au fost efectuate în triplicat.

6.3.13. Raport de contracție (SR)

Raportul de contracție a probelor uscate a fost calculat folosind ecuațiile (6.13)-(6.15) (Dajbych și colab., 2023).

$$SR = \frac{(V_i - V_f)}{V_i} \cdot 100 \quad (6.13)$$

unde V_i este volumul inițial al probei de mere proaspete (m^3) și V_f este volumul final al probei de mere uscate (m^3).

$$V_i = \pi \cdot \left(\frac{D_i}{2}\right)^2 \cdot \delta_i \quad (6.14)$$

$$V_f = \pi \cdot \left(\frac{D_f}{2}\right)^2 \cdot \delta_f \quad (6.15)$$

unde D_i , D_f , δ_i și δ_f sunt diametrele inițiale și finale (mm) și grosimile (mm) ale probelor. Diametrele și grosimile probelor au fost măsurate folosind un șubler digital (Burg Wachter Digital Caliper Precise PS 7215, $150 \times 0,01$ mm) cu o precizie de 0,01 mm. Toate experimentele au fost efectuate în triplicat.

6.3.14. Aria feliilor de snacks-uri (A)

Aria (mm^2) a feliilor de mere (proaspete și uscate) a fost calculată folosind ecuația (6.16) (Dajbych și colab., 2023).

$$A = 2 \cdot \pi \cdot r \cdot (r + h) \quad (6.16)$$

unde r este raza (mm) și h este grosimea (mm) a probelor de felii de mere proaspete și uscate. Toate experimentele au fost efectuate în triplicat.

6.3.15. Analiza senzorială

Evaluarea senzorială a snacks-urilor din mere a fost efectuată după metoda descrisă într-un studiu anterior (Stan (Boldea) și colab. (2023 b) prin utilizarea metodei de notare cu niveluri diferite de percepție pentru fiecare atribut, pe o scală care variază de la 1 (foarte scăzut) la 7 (foarte mare). Pe scurt, zece paneliști cu vârste cuprinse între 23 și 35 de ani au fost instruiți cu privire la caracteristicile senzoriale relevante ale snacks-urilor, cum ar fi aspectul, culoarea, gustul, aroma, duritatea, crocanța și acceptabilitatea generală. Înainte de analiză, probele au fost ținute la $22 \pm 1^\circ C$ timp de o oră. Probele au fost prezentate în farfurii din sticlă clare, codificate. Înainte de fiecare analiză și între analiza probelor, paneliștii au fost rugați să-și curețe cavitatea bucală cu apă. Indicele de acceptabilitate (IA) a fost calculat pe baza ecuației 6.17:

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

$$\text{Indicele de acceptabilitate (\%)} = \frac{A}{B} \quad (6.17)$$

Unde, A este media valorilor hedonice obținute pentru un atribut individual și B este valoarea hedonică maximă atribuită aceluiași atribut.

6.3.16. Analiza statistică

Toate experimentele au fost efectuate în triplicat. Valorile sunt raportate la substanță uscată și prezentate ca medie $\pm$ abatere standard. Diferențele semnificativ statistic între rezultate au fost analizate prin analiza unidirecțională a varianței (ANOVA), urmată de testul Tukey la un nivel de semnificație de 5% ($p < 0,05$). Pentru analiză a fost utilizat pachetul software statistic Minitab versiunea 19 (Romsym Data, București, România).

6.4. REZULTATE ȘI DISCUȚII

6.4.1. Cinetica uscării feliilor de mere imersate în extract de *Hibiscus sabdariffa*

Efectul temperaturii și al celor două metode de uscare asupra modificării raportului de umiditate a probelor de mere proaspete și infuzate în extract de *Hibiscus sabdariffa* este prezentat în **Figura 6.1**.

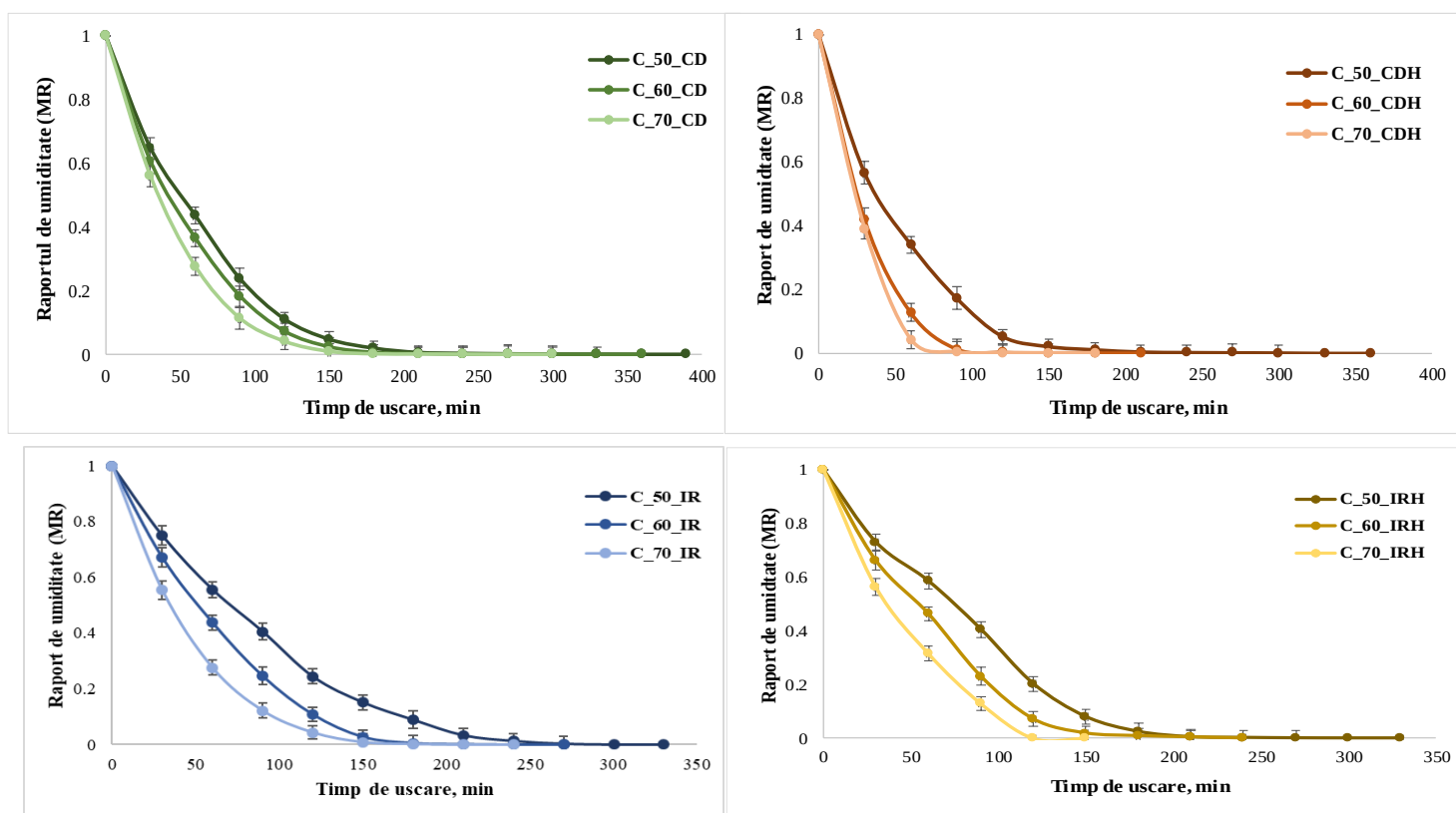


Figura 6.1. Cinetica de uscare a feliilor de mere prin convecție în aer cald CD și infraroșu IR la diferite temperaturi de uscare (a – felii de mere uscate prin CD; b – felii de mere uscate prin IR; c – felii de mere infuzate cu extract de Hibiscus sabdariffa uscate prin CD; d – felii de mere infuzate cu extract de Hibiscus sabdariffa, uscate prin IR) Stan (Boldea) și colab. (2025)

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

În timpul procesului de uscare, evaluarea conținutului de umiditate a probelor a fost efectuată la interval de 30 de minute, până când s-a obținut umiditate constantă. Pentru ambele metode de uscare, creșterea temperaturii aerului de uscare a dus la reducerea timpilor de uscare, ducând la o scădere continuă a valorilor raportului de umiditate odată cu creșterea timpului de uscare. O posibilă explicație pentru corelațiile observate este legată de viteza de transfer de căldură între feliile de măr și agentul de uscare din interiorul echipamentului de uscare, care a crescut odată cu creșterea temperaturii, accelerând difuzia umidității în interiorul feliilor la suprafață. Rezultatele noastre sunt de acord cu [Demiray et al., \(2023\)](#) și [Huang și colab., \(2022\)](#), care au studiat efectul temperaturilor de uscare asupra feliilor de măr și respectiv efectele temperaturilor de uscare, vitezei aerului și radiației infraroșii asupra aceluiași produse. Pe măsură ce temperaturile de uscare au crescut, presiunea de vapori a apei feliilor de mere a crescut, ceea ce a dus la o eliminare mai rapidă a apei din celule. După cum se poate observa din **Figura 6.2.**, perioada de uscare a variat între 180 și 390 min pentru CD și între 150 și 330 min pentru IR.

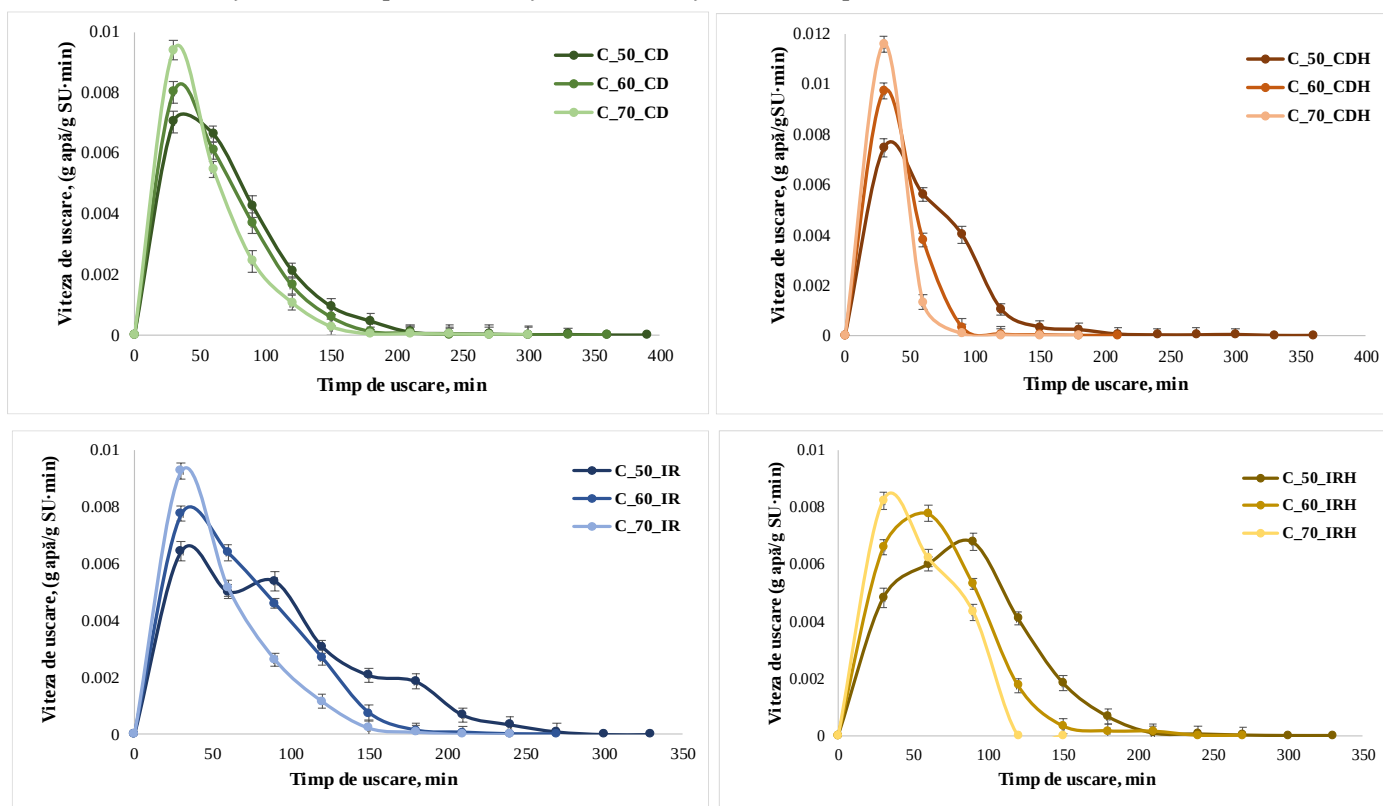


Figura 6.2. Modificări ale vitezei de uscare a feliilor de mere față de timpul de uscare (a – felii de mere uscate prin CD; b – felii de mere uscate în IR; c – felii de mere infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa* uscate prin CD; d – felii de mere infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa* uscate prin IR ([Stan \(Boldea\) și colab. 2025](#)))

Comparativ cu CD, timpul de deshidratare la uscarea IR a fost cu aproximativ 25% mai mic în comparație cu martorul și cu aproximativ 17% pentru probele infuzate cu extract de hibiscus. Variația vitezei de uscare în funcție de timpul de uscare la diferite temperaturi

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

de uscare și diferite metode de uscare este prezentate în **Figura 6.2**. Viteza de uscare scade odată cu creșterea timpului de uscare, așa cum se arată în **Figura 6.2**. Pentru ambele metode de uscare și pentru toate probele nu a fost observată o rată constantă a perioadei de uscare. **Figura 6.2.** arată că procesul de uscare are loc în două perioade distincte. În prima perioadă (și anume etapa de încălzire), rapoartele de uscare au atins valorile maxime pentru ambele metode de uscare după 30 min (0,007 – 0,0115 g apă/g SU pentru CD și 0,0048 – 0,0092 g apă/g SU pentru uscare IR) probabil datorită conținutului ridicat de umiditate al probelor de felii de mere.

A doua perioadă de uscare apare o dată cu reducerea conținutului de umiditate din probele de mere. Pentru această etapă, valorile vitezei de uscare variază între 0,0000075 – 0,000038 g apă/g SU pentru CD și 0,000016 – 0,0043 g apă/g SU pentru uscare IR. Acest aspect poate fi explicat printr-o scădere a porozității probelor de măr datorită contracției mari, ceea ce duce la scăderea în continuare a ratelor (rapoartelor) de uscare.

Rezultatele noastre sunt în acord cu cele raportate de [Onwude et al., \(2018\)](#) pentru uscarea în infraroșu a cartofilor dulci și [Abdelbasset et al., \(2022\)](#) care au studiat efectul radiației infraroșii la diferite temperaturi asupra uscării dovleacului. Rezultatele obținute din modelarea matematică la diferite metode de uscare și diferite temperaturi, precum și parametrii statistici (R^2 și SSR), sunt prezentate în **Tabelul 6.2**. Modelul matematic cu cea mai mare valoare R^2 și cele mai mici valori SSR a fost selectat ca model adecvat pentru descrierea cinetică a proceselor de uscare CD și IR a probelor de mere.

Tabel 6.2. Rezultatele modelării matematice utilizând diferite modele cinetice la uscarea feliilor de mere ([Stan \(Boldea\) și colab. 2025](#))

Model	Temperatura de uscare (°C)	Parametrii modelului				R ²	SSR
		k	n	a	c		
Uscare convectivă							
Probe control							
Newton/ Lewis	50	0,478				0,973	0,0131
	60	0,704				0,962	0,0280
	70	0,748				0,965	0,0592
Page	50	0,448	1,191			0,996	0,0039
	60	0,641	1,279			0,995	0,0037
	70	0,626	1,522			0,991	0,0051
Henderson și Pabis	50	0,488		1,129		0,988	0,0112
	60	0,724		1,133		0,986	0,0247
	70	0,788		1,145		0,981	0,0538
Logaritmic	50	0,444		1,163	- 0,044	0,991	0,0069
	60	0,587		1,219	- 0,113	0,987	0,0134
	70	0,596		1,478	- 0,377	0,985	0,0246
Probe infuzate							
Newton/ Lewis	50	0,642				0,968	0,0515
	60	0,770				0,965	0,0536
	70	0,899				0,963	0,0644
Page	50	0,618	1,252			0,994	0,0213

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Henderson și Pabis	60	0,742	1,264		0,996	0,0164	
	70	0,865	1,341		0,995	0,0199	
	50	0,564		1,074	0,986	0,0327	
	60	0,677		1,083	0,986	0,0340	
	70	0,789		1,105	0,979	0,0411	
Logaritmic	50	0,546		1,084	- 0,075	0,987	0,0327
	60	0,655		1,095	- 0,144	0,987	0,0351
	70	0,764		1,126	- 0,408	0,981	0,0513
Uscare în infraroșu							
Probe control							
Newton/ Lewis	50	0,0127			0,972	0,174	
	60	0,0131			0,974	0,189	
	70	0,0194			0,985	0,136	
Page	50	0,0351	0,672		0,994	0,112	
	60	0,0357	0,701		0,993	0,113	
	70	0,0459	0,719		0,996	0,149	
Henderson și Pabis	50	0,0125		0,907	0,975	0,242	
	60	0,0197		0,929	0,961	0,215	
	70	0,0135		0,921	0,956	0,286	
Logaritmic	50	1,056		1,724	- 0,323	0,957	0,119
	60	1,042		2,176	- 0,444	0,973	0,113
	70	1,049		1,803	- 0,343	0,954	0,136
Probe infuzate							
Newton/ Lewis	50	0,02			0,964	0,119	
	60	0,0286			0,973	0,104	
	70	0,0289			0,973	0,104	
Page	50	0,0466	0,713		0,990	0,114	
	60	0,0546	0,782		0,992	0,134	
	70	0,0552	0,760		0,992	0,135	
Henderson și Pabis	50	0,0196		0,872	0,964	0,233	
	60	0,0289		0,942	0,972	0,187	
	70	0,0292		0,953	0,973	0,189	
Logaritmic	50	0,875		1,600	- 0,331	0,963	0,116
	60	0,877		1,618	- 0,361	0,975	0,104
	70	0,887		1,636	- 0,365	0,976	0,107

R^2 = Coeficient de corelație; SSR = suma pătratelor reziduale; k, n, a și c = parametrii modelului.

Modelul Page a prezentat cea mai bună potrivire pentru toate temperaturile de uscare și pentru ambele metode de uscare, cu cele mai mari valori ale R^2 la 0,990 la 0,996 și cele mai mici valori SSR de la 0,0037 la 0,149, în comparație cu alte modele. Rezultate similare au fost obținute de [Dajbych și colab., \(2023\)](#) pentru uscarea în infraroșu și cu aer cald a feliilor de mere Red Delicious, [Salehi și Satorabi \(2021\)](#) pentru uscarea în infraroșu a feliilor de mere acoperite cu semințe de busuioc și gume de xantan și [Demiray și colab. \(2023\)](#) pentru uscarea convectivă a feliilor de măr Granny Smith.

6.4.2. D_{eff} și E_a

Valorile coeficientului de difuzie efectivă a umidității (D_{eff}) și valorile energiei de activare (E_a) în diferite condiții de uscare sunt prezentate în **Tabelul 6.3**.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 6.3. Valorile coeficientului de difuzie efectivă a umidității (D_{eff}) și a energiei de activare (E_a) a probelor de felii de mere (Stan (Boldea) și colab. 2025)

Codificare probe	Metoda de uscare	$t, ^\circ\text{C}$	$D_{\text{eff}} \cdot 10^{-8}, \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	R^2	$E_a, \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	R^2
C_50_CD	Uscare convectivă	50	2.31	0,9896	14,31	0,9943
C_60_CD		60	2.78	0,9860		
C_70_CD		70	3.16	0,9808		
C_50_CDH		50	2.22	0,9856	47,23	0,9398
C_60_CDH		60	4.73	0,9828		
C_70_CDH		70	6.18	0,9799		
C_50_IR	Uscare în infraroșu	50	1.85	0,9236	23,02	0,9925
C_60_IR		60	2.81	0,9408		
C_70_IR		70	3.05	0,9695		
C_50_IRH		50	2.64	0,9362	9,95	0,9980
C_60_IRH		60	2.90	0,9707		
C_70_IRH		70	3.25	0,9715		

C_temperatura_CD – felii de mere uscate prin uscare convectivă în aer la 50°, 60° și 70°; C_temperatura_CDH – felii de mere infuzate în extract de *Hibiscus sabdariffa* prin uscare convectivă în aer la 50°, 60° și 70°; C_temperatura_IR – felii de mere uscate prin uscare în infraroșu la 50°, 60° și 70°; C_temperatura_IRH – felii de măr infuzate în extract de *Hibiscus sabdariffa* prin uscare în infraroșu la 50°, 60° și 70°.

S-a constatat că valorile D_{eff} ale probelor de mere uscate prin metoda convectivă au variat între $2.31 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ și $3.16 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ pentru probele martor și între $2.22 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ și $6.18 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ pentru probele infuzate în extract de hibiscus. Pentru probele uscate prin metoda IR, valorile D_{eff} au variat între $1.85 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ și $3.05 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ pentru probele martor și $2.64 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ și $3.25 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ pentru probele infuzate. Aceste valori arată că D_{eff} a crescut odată cu creșterea temperaturilor de uscare, în acord cu Maleki și colab., (2020). Rezultatele obținute au arătat că creșterea temperaturii de uscare ar putea accelera difuzia umidității atunci când feliile de mere au fost uscate la temperatură mai mare. Valorile D_{eff} obținute au fost în intervalul de la 10^{-12} la 10^{-8} , valori caracteristice pentru materialele biologice (Jha & Sit, 2020). Variații similare au fost observate în timpul uscării și de către Rayaguru & Routray (2012) pentru feliile de măr uscate în aer cald și de Uğurlu și colab., (2023) pentru feliile de mere uscate cu un uscător cu infraroșu - vid. Valorile energiei de activare (E_a) ale feliilor de mere uscate cu CD au fost între 14,31 și 47,23 KJ/mol, în timp ce pentru probele uscate IR au fost între 9,95 și 23,02 KJ/mol. Valori similare au fost raportate pentru diferite fructe și legume: 17,77-25,41 KJ/mol pentru felii de mere (Beigi, 2016), 10,59-54,93 KJ/mol pentru felii de igname (Ojediran et al., 2020). Potrivit Srikanth et al., (2019) diferențele dintre valorile E_a se pot datora unor factori precum: gradul de maturare, structura și componentele țesuturilor, varietatea, textura, dimensiunea și suprafața.

Valorile energiei de activare diferite atât pentru probele control cât și între metodele de uscare demonstrează o mai mare dependență de temperatură a probelor uscate prin CD, comparativ cu IR. De asemenea, probele infuzate necesită un aport mai mic de energie pentru uscare prin CD și mai mare prin IR.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

6.4.3. Parametrii de culoare a snacks-urilor din mere

Tabelul 6.4. prezintă rezultatele măsurărilor de culoare ale probelor de mere pentru diferite metode de uscare. Parametrii de culoare s-au schimbat în timpul procesului de uscare. Valorile parametrului L^* în cazul probelor uscate sunt mai mari în comparație cu valorile L^*_0 ale probelor proaspete, ceea ce înseamnă că feliile de mere uscate sunt mai deschise la culoare decât cele proaspete. Luminozitatea (L^*) a crescut pentru toate probele în ambele metode de uscare, cu valori maxime înregistrate de 59,2% pentru CD, în timp ce pentru uscare IR creșterea a fost de 68,4% față de probele control. Procesul de uscare a dus și la o scădere a raportului roșu/verde (a^*). Valorile acestui parametru de culoare au scăzut o dată cu creșterea temperaturii de uscare. Scăderea valorii a^* a probelor uscate se poate datora pierderii substraturilor din reacției Maillard (zahăr și unii pigmenți solubili) (İzli et al., 2014). Pe de altă parte, probele de felii de mere infuzate cu extract de hibiscus au prezentat o culoare roșie plăcută oferită de antociani prezentați în extractul de *Hibiscus sabdariffa* (Hernández-Carranza et al., 2022). Temperatura agentului de uscare are influență asupra parametrului galben/albastru (b^*). O creștere a parametrului b^* a fost observată numai pentru probele martor (pentru ambele metode de uscare) comparativ cu proba proaspătă. În cazul probelor infuzate cu extract de hibiscus valorile acestui parametru de culoare au înregistrat o ușoară scădere. Acest lucru poate apărea din cauza modificărilor proprietăților structurale ale țesutului feliilor de măr. Valorile modificărilor totale ale culorii (ΔE), parametru cheie utilizat pentru studiul calității produsului în timpul procesului de uscare, arată cât de mult s-a schimbat culoarea produsului uscat față de cel proaspăt. Aceste modificări sunt determinate de transferul simultan de căldură și masă care au loc la suprafața și în interiorul produsului și depind de temperatura agentului de uscare și viteza acestuia. Valorile ΔE au fost similare și au variat de la $13,71 \pm 1,28$ la $25,79 \pm 1,24$ pentru probele CD și de la $16,97 \pm 2,02$ la $29,16 \pm 0,97$ pentru feliile de mere uscate IR.

Potrivit Kidoń și Grabowska (2021), valorile ΔE mai mari decât 1 confirmă că există diferențe vizibile pentru ochiul uman. Metoda de uscare și temperatura de uscare au avut un efect important asupra intensității culorii (C^*), nuanței de culoare (h^*), indicelui de alb (WI) și indicelui de galben (YI) pentru snack-urile din mere (**Tabelul 6.4.**). Un alt indicator important pentru reacția de îmbrunare este indicele de îmbrunare (BI), care este un factor semnificativ în procesele de îmbrunare enzimatică și neenzimatică. Valoarea BI pentru feliile de mere proaspete a fost de $109,54 \pm 2,19$. Pe baza datelor obținute, este evident că temperatura aerului, viteza și timpul de uscare au o influență asupra parametrilor de culoare a feliilor de mere uscate. În general, efectul inhibitor al extractului de *Hibiscus* este vizibil pentru proba proaspătă, cu o scădere a BI de la $109,54 \pm 2,19$ la merele proaspete tăiate la $89,58 \pm 1,39$ pentru probele infuzate.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 6.4. Parametrii de culoare ai probelor de felii de mere proaspete și uscate (Stan (Boldea) și colab. 2025)

Parametrii de culoare/ Codificare*	L*	a*	b*	ΔE	C*	h*	BI	WI	YI
Felii de mere proaspete									
C ₀	37,21 ± 0,82 ^B	19,19 ± 0,36 ^B	19,69 ± 0,37 ^A	-	27,67 ± 0,29 ^A	46,08 ± 0,47 ^B	109,54 ± 2,19 ^A	31,45 ± 0,76 ^A	75,63 ± 0,83 ^A
CH ₀	52,37 ± 1,62 ^A	35,52 ± 0,86 ^A	18,61 ± 0,35 ^A	-	18,92 ± 0,39 ^B	79,61 ± 0,76 ^A	89,58 ± 1,39 ^B	-	-
Uscare prin convecție în aer cald									
C_50_CD	43,55 ± 1,15 ^{Cb}	12,18 ± 0,91 ^{Ca}	29,58 ± 0,51 ^{Aa}	13,71 ± 1,28 ^{Cb}	32,01 ± 0,20 ^{Aa}	68,28 ± 1,20 ^{Bb}	125,53 ± 3,35 ^{Aa}	35,11 ± 0,92 ^{Cb}	97,06 ± 0,96 ^{Aa}
C_60_CD	59,25 ± 1,15 ^{Ab}	9,08 ± 0,56 ^{Db}	28,44 ± 1,05 ^{Ab}	25,79 ± 1,24 ^{Ab}	29,41 ± 1,29 ^{Bb}	72,34 ± 1,19 ^{Aa}	75,00 ± 5,23 ^{Cb}	49,48 ± 1,51 ^{Ab}	68,62 ± 3,72 ^{Bb}
C_70_CD	53,50 ± 0,69 ^{Bb}	6,90 ± 0,59 ^{Db}	22,93 ± 0,86 ^{Bb}	20,67 ± 1,54 ^{Bb}	23,95 ± 0,98 ^{Cb}	73,26 ± 0,86 ^{Aa}	64,28 ± 4,43 ^{Da}	47,69 ± 1,04 ^{Bb}	61,26 ± 3,01 ^{Ca}
C_50_CDH	38,05 ± 0,89 ^{Da}	26,18 ± 0,72 ^{Aa}	17,24 ± 1,14 ^{Ca}	17,18 ± 0,64 ^{BCb}	31,35 ± 1,18 ^{Aa}	33,33 ± 1,17 ^{Ca}	106,27 ± 3,83 ^{Bb}	-	-
C_60_CDH	42,73 ± 1,17 ^{Cb}	21,12 ± 1,14 ^{Ba}	15,55 ± 0,69 ^{Ca}	17,60 ± 1,23 ^{BCa}	26,23 ± 1,32 ^{BCa}	36,37 ± 0,26 ^{Ca}	79,45 ± 4,23 ^{Ca}	-	-
C_70_CDH	37,09 ± 0,86 ^{Db}	23,16 ± 1,10 ^{Ba}	16,36 ± 0,62 ^{Ca}	19,80 ± 0,71 ^{Ba}	28,37 ± 0,55 ^{Ba}	37,59 ± 0,43 ^{Ca}	100,42 ± 3,80 ^{Ba}	-	-
Uscare prin infraroșu									
C_50_IR	53,82 ± 0,93 ^{Ba}	8,26 ± 0,53 ^{Db}	28,08 ± 0,42 ^{Bb}	21,59 ± 0,90 ^{Ba}	29,27 ± 0,53 ^{BCb}	73,95 ± 0,31 ^{Aa}	82,53 ± 0,80 ^{Cb}	45,32 ± 0,54 ^{Ca}	74,54 ± 0,75 ^{Ab}
C_60_IR	62,66 ± 1,24 ^{Aa}	10,28 ± 0,76 ^{Ca}	30,75 ± 1,07 ^{Aa}	29,16 ± 0,97 ^{Aa}	32,37 ± 1,32 ^{Aa}	71,82 ± 1,09 ^{Bb}	77,63 ± 3,34 ^{Ca}	50,53 ± 0,84 ^{Ba}	70,10 ± 1,91 ^{Ba}
C_70_IR	62,07 ± 1,47 ^{Aa}	7,60 ± 0,67 ^{Da}	26,62 ± 0,59 ^{Ba}	28,29 ± 1,47 ^{Aa}	27,67 ± 0,54 ^{CDa}	73,61 ± 0,68 ^{Aa}	63,76 ± 1,82 ^{Db}	53,03 ± 1,02 ^{Aa}	61,27 ± 0,80 ^{Ca}
C_50_IRH	35,69 ± 0,76 ^{Db}	26,00 ± 1,13 ^{Aa}	16,54 ± 1,06 ^{Cb}	19,36 ± 1,58 ^{Ca}	30,82 ± 1,24 ^{ABb}	32,48 ± 1,72 ^{Cb}	110,68 ± 6,77 ^{Aa}	-	-
C_60_IRH	44,13 ± 1,26 ^{Ca}	21,27 ± 0,90 ^{Ba}	14,60 ± 0,96 ^{Db}	16,97 ± 2,02 ^{Db}	25,80 ± 1,20 ^{Db}	34,46 ± 1,15 ^{Cb}	73,59 ± 4,01 ^{CDb}	-	-
C_70_IRH	38,03 ± 1,79 ^{Da}	22,20 ± 1,01 ^{Bb}	16,37 ± 0,33 ^{Ca}	19,72 ± 1,41 ^{Ca}	27,59 ± 1,01 ^{CDb}	36,42 ± 0,70 ^{Cb}	96,18 ± 6,19 ^{Bb}	-	-

* C₀. Proba de felii de mere proaspete, CH₀ probă de felii de mere proaspete infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa*, C_CD felii de măr uscate prin metoda convecției în aer cald, C_CDH felii de măr infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa* uscate prin metoda de convecție, C_IR felii de măr uscate prin metoda infraroșu, C_IRH-felii de măr infuzate în extract de *Hibiscus sabdariffa* uscate prin metoda infraroșu. În cadrul unui set de experimente la diferite metode de uscare, valorile de pe aceeași coloană care nu prezintă aceeași literă superscript sunt semnificativ diferite la p < 0,05; În cadrul unui set de experimente la aceeași temperatură de uscare, pentru probele cu și fără infuzare, valorile de pe aceeași coloană care nu prezintă aceeași literă mică sunt semnificativ diferite la p < 0,05 pe baza testului Tukey

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

La uscare se poate observa din **Tabelul 6.4.** că, indiferent de metoda, la uscare la 50°C BI crește, datorită îmbrunării enzimatică care are loc în timpul tăierii și pregătirii probelor. În probele martor, BI scade semnificativ, datorită inactivării parțiale a PFO și PRO. În cazul probelor infuzate, BI-ul scade la uscare între 50°C și 60°C și crește la 70°C, probabil datorită efectului temperaturii asupra antocianilor, inducând polimerizarea și/sau copolimerizarea, favorizând astfel îmbrunarea neenzimatică.

6.4.4. Analiza texturală

Textura este una dintre cele mai importante caracteristici pentru snacks-uri datorită senzației deosebite produse de sfărâmarea lor în timpul masticăției. Acest lucru este asociat cu fermitatea și crocanța. Valorile parametrilor texturali sunt prezentate în **Tabelul 6.5.** Ambii parametri sunt influențați de tratamentul de uscare și de procesul de infuzare. Prin urmare, pentru CD s-a constatat o scădere semnificativă ($p < 0,05$) odată cu creșterea temperaturii, de la $6,21 \pm 0,44$ N, la uscare la 50°C la $4,74 \pm 0,57$ N la 70°C. Probele infuzate au prezentat o fermitate semnificativ mai scăzută ($p < 0,05$), care a scăzut până la $2,70 \pm 0,40$ N la uscare la 70°C (**Tabelul 6.5**). Pentru uscare IR, valorile corespunzătoare la toate temperaturile au fost mai mici în comparație cu uscarea CD. Mai mult, valorile pentru crocanță au crescut o dată cu creșterea temperaturii pentru toate probele uscate. Probele tratate prin CD au prezentat valori semnificativ mai mari ($p < 0,05$) pentru feliile infuzate în extract de hibiscus, de la $9,40 \pm 0,55$ la $17,60 \pm 0,55$ la uscare la 70°C, în timp ce probele control IR și probele infuzate uscate prin IR au prezentat valori semnificativ mai mari în comparație cu CD. Cea mai mare valoare pentru crocanță a atins valoarea de $34,60 \pm 1,14$ (**Tabelul 6.5**). [Xiao și colab. \(2018\)](#) au explicat acest comportament ca urmare a unei rate limitate de migrare a apei la suprafața țesutului, ceea ce duce la o crustă tare și uscată la suprafață. Prin urmare, infuzia feliilor de mere în extract de *Hibiscus sabdariffa* a determinat o scădere a fermității cu 10-30% și o creștere a crocanței cu 50-70%.

Tabel 6.5. Proprietățile texturale ale snacks-urilor din mere ([Stan \(Boldea\) și colab. 2025](#))

Metoda de uscare	Temperatura, °C	Fermitate, N		Crocanță	
		Snacks din mere	Snacks din mere infuzate în extract de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	Snacks din mere	Snacks din mere infuzate în extract de <i>Hibiscus sabdariffa</i>
CD	50	$6,21 \pm 0,44^{Aa}$	$5,05 \pm 0,87^{Aa}$	$4,60 \pm 0,55^{Cb}$	$15,00 \pm 1,41^{Bb}$
	60	$5,57 \pm 0,20^{ABa}$	$3,94 \pm 0,55^{ABa}$	$6,00 \pm 0,71^{Bb}$	$16,20 \pm 0,84^{ABb}$
	70	$4,74 \pm 0,57^B$	$2,70 \pm 0,40^{Ba}$	$9,40 \pm 0,55^{Ab}$	$17,60 \pm 0,55^{Ab}$
IR	50	$5,35 \pm 0,48^{Aa}$	$4,86 \pm 0,39^{Aa}$	$14,00 \pm 1,00^{Ba}$	$19,40 \pm 0,54^{Ca}$
	60	$4,90 \pm 0,62^{ABa}$	$3,06 \pm 0,72^{ABa}$	$15,80 \pm 0,84^{ABa}$	$29,20 \pm 1,30^{Ba}$
	70	$3,99 \pm 0,25^{Ba}$	$2,13 \pm 0,51^{Ba}$	$17,80 \pm 0,84^{Aa}$	$34,60 \pm 1,14^{Aa}$

În cadrul unui set de experimente, mediile pe aceeași coloană care nu au o literă superscriptă sunt semnificativ diferite la $p < 0,05$ pe baza testului Tukey.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

6.4.5. Raportul de rehidratare, raportul de contracție și aria snacks-urilor

Pentru produsele uscate, un parametru de calitate cuprinzător este reprezentat de raportul de rehidratare (RR). Acest parametru este influențat de condițiile de uscare și de compoziția produsului (Shewale și Hebbar, 2017). În cazul produselor uscate, o valoare ridicată a capacității de rehidratare are o puternică asociere cu o reabsorbție mai mare a apei și acest aspect arată o deteriorare minoră a structurii produsului (Yi et al., 2016). Rezultatele experimentale pentru RR ale probelor de felii de mere uscate la diferite temperaturi și metode de uscare sunt prezentate în **Figura 6.3**. RR a probelor de felii de mere a crescut o dată cu creșterea temperaturilor de uscare. În primele 5 minute, valorile RR ale tuturor probelor de felii de mere (probele martor și probe infuzate) au fost mai mari pentru ambele metode de uscare. RR al probelor uscate în IR atinge valoarea maximă ($3,75 \pm 0,16$ pentru probele martor și $4,88 \pm 0,14$ pentru probele infuzate) după 40 de minute comparativ cu probele CD, unde RR a atins valoarea maximă după 50 de minute ($3,71 \pm 0,13$ pentru probele martor și $5,01 \pm 0,14$ pentru probele infuzate în extract de hibiscus). Rezultate similare au fost obținute de Zhu și colab., (2022) pe chips-uri de mere uscate prin diferite metode de uscare. Din rezultatele obținute se poate observa că raportul de rehidratare al feliilor de măr infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa* a prezentat valori mai mari, comparativ cu probele martor.

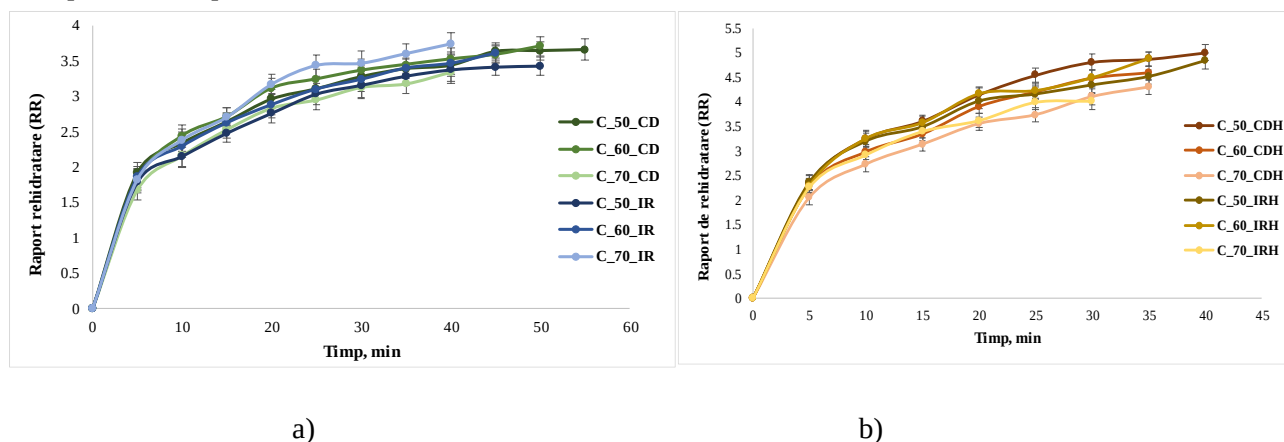


Figura 6.3. Raportul de rehidratare al feliilor de mere uscate (a – felii de mere uscate prin convecție și infraroșu, b – felii de mere infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa* uscate convecțiv și în infraroșu (Stan (Boldea) și colab. 2025)

Raportul de contracție (SR) al probelor de felii de mere uscate în diferite condiții de uscare este prezentat în **Figura 6.4**. Raportul de contracție al probelor de felii de mere a variat o dată cu creșterea temperaturii și a timpului de uscare. Valoarea maximă a SR pentru ambele metode de uscare a fost stabilită la o temperatură de 70 °C ($84,11 \pm 1,41$ % pentru CD și $86,13 \pm 1,61$ % pentru uscare IR) pentru probele martor, în timp ce pentru feliile infuzate în extract de *Hibiscus sabdariffa* valoarea maximă de SR a fost stabilită la 50°C ($85,68 \pm 1,68$ % pentru CD și $81,13 \pm 1,81$ % pentru uscare IR).

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

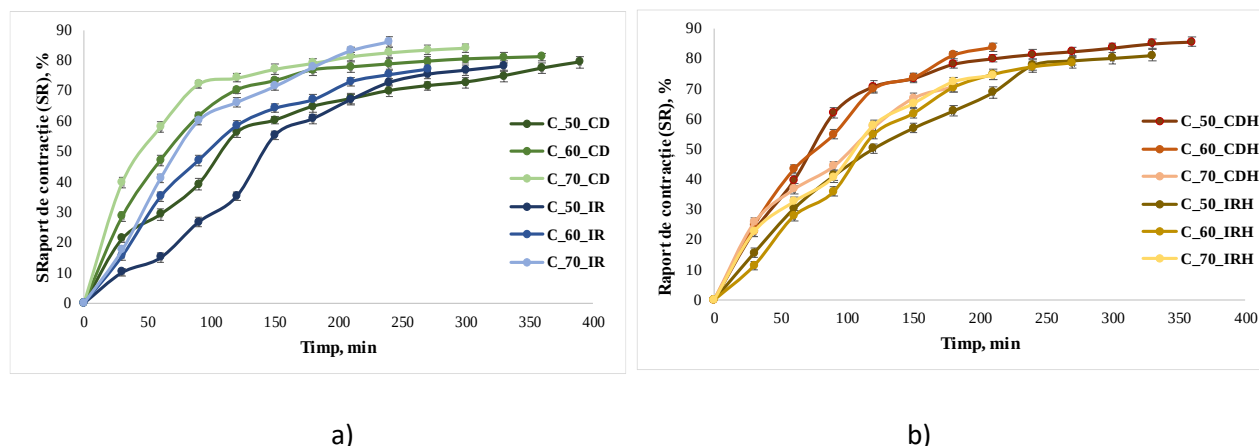


Figura 6.4. Raportul de contracție al feliilor de mere uscate (a – felii de măr uscate prin convecție și infraroșu, b – felii de mere infuzate cu extract de Hibiscus sabdariffa uscate convectiv și în infraroșu) (Stan (Boldea) și colab. 2025)

Temperatura ridicată de uscare crește viteza de difuzie a umidității, îmbunătățind textura și microstructura probelor de felii de mere. Valorile raportului de contracție obținute au fost în intervalul de 70 până la 90%, valori caracteristice de obicei pentru fructe și legume (Alaei și Chayjan, 2014). Rezultate similare au fost raportate de Alaei și colab., (2018) pentru felii de gutui folosind uscare sub vid în infraroșu și Wang și colab. (2018) pentru felii de lămâie folosind uscare în vid cu impulsuri.

Aria a fost măsurată pentru a identifica modificările de dimensiune în funcție de diferitele temperaturi și metode de uscare. Suprafața feliilor de mere uscate, pentru ambele metode de uscare, a înregistrat o ușoară scădere. Valorile suprafeței finale a probelor pentru CD au variat între $3.40 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$ și $6.01 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$, în timp ce pentru uscare IR valorile ariei au variat între $3.91 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$ și $6.12 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$. Çetin și colab., (2019) au indicat rezultate similare pentru feliile de mere din soiul Red Chief folosind diferite condiții de uscare (temperatura și timpul de uscare, grosimea feliei).

6.4.6. Analiza senzorială

Analiza senzorială a permis evaluarea următorilor parametri senzoriali: aspect, culoare, gust, aromă, duritate, crocanța și acceptabilitate generală. Din **Tabelul 6.6.** se poate observa că pentru aspect nu s-au observat diferențe statistice ($p < 0,05$), cu excepția probei martor IR și a probelor infuzate uscate la 50°C . Culoarea a primit cele mai mari punctaje pentru probele infuzate cu extract de hibiscus, datorită efectului de colorare al antocianilor. Gustul a fost apreciat cu punctaj în jur de 6, în timp ce probele uscate IR și infuzate cu hibiscus au primit punctaje mai mari. Conform analizei texturale, paneliștii au evaluat cu valori mai mici duritatea probelor infuzate, în comparație cu martorul, în timp ce crocanța a primit punctaje mai mari pentru probele infuzate, uscate prin ambele metode la 70°C . Cele mai mari punctaje pentru acceptabilitatea generală au fost obținute pentru probele uscate la 70°C . Având în vedere rezultatele menționate mai sus, probele martor și infuzate uscate la 70°C cu ambele metode au fost alese pentru profilarea cromatografică. Indicele de acceptabilitate (**Tabel 6.7**) a prezentat valori mai mari de 70%, considerat ca un prag minim pentru o

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

caracteristică de calitate, cele mai scăzute valori fiind înregistrate pentru crocanță. Au fost obținute valori mai mari pentru probele uscate la 70°C, indiferent de metodă. Cu toate acestea, atunci când uscarea în infraroșu a fost aplicată la 70°C, indicele de acceptabilitate a variat de la 87% pentru culoare la 96% pentru acceptabilitatea generală. Având în vedere acceptabilitatea generală, feliile infuzate obținute prin CD au prezentat o valoare mai mică (87%) în comparație cu feliile IR corespunzătoare (96%). Snacks-urile obținute prin uscare la temperatura de 70°C sunt prezentate în **Figura 6.5**.

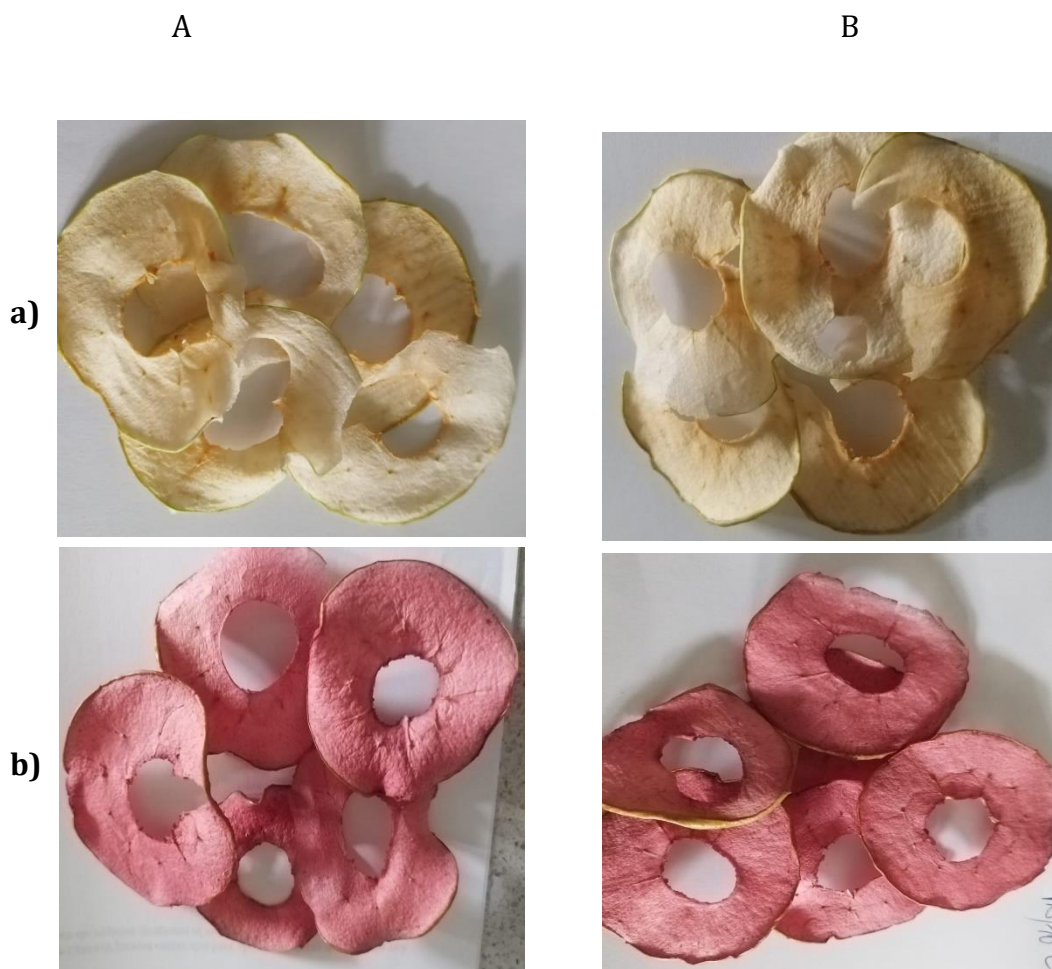


Figura 6.5. Snacks-uri din mere martor (a) și infuzate în extract de hibiscus (b) obținute prin convecție în aer cald (A) și infraroșu (B) la temperatura de 70°C

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 6.6. Analiza senzorială a probelor de felii de mere proaspete și uscate (Stan (Boldea) și colab. 2025)

Caracteristică/ Codificare*	Aspect exte- rior	Culoare	Gust	Aroma	Duritate	Crocanță	Acceptabilitate generală
Snack-suri obținute prin uscare prin convecție în aer cald							
C_50_CD	6,40±0,52 ^{Aa}	5,70±0,67 ^{ABa}	6,40±0,52 ^{Aa}	6,20±0,63 ^{Aa}	4,80±0,42 ^{Aa}	3,40±0,52 ^{Ba}	5,60±0,52 ^{Ba}
C_60_CD	6,40±0,52 ^{Aa}	5,10±0,32 ^{Ba}	6,40±0,52 ^{Aa}	6,10±0,88 ^{ABa}	5,20±0,42 ^{Aa}	3,60±0,70 ^{Ba}	6,40±0,52 ^{Aa}
C_70_CD	6,40±0,52 ^{Aa}	5,70±0,82 ^{ABa}	6,40±0,52 ^{Aa}	6,20±0,79 ^{Aa}	5,00±0,67 ^{Aa}	3,70±0,82 ^{Ba}	6,40±0,52 ^{Aa}
C_50_CDH	6,40±0,52 ^{Aa}	4,90±0,88 ^{Ba}	5,70±0,48 ^{Ba}	5,20±0,79 ^{Ba}	3,40±0,52 ^{Ba}	3,40±0,52 ^{Ba}	4,10±0,74 ^{Ca}
C_60_CDH	6,60±0,52 ^{Aa}	6,40±0,52 ^{Aa}	6,40±0,52 ^{Aa}	6,10±0,74 ^{ABa}	3,90±0,74 ^{Ba}	3,50±0,71 ^{Ba}	5,10±0,57 ^{Ba}
C_70_CDH	6,40±0,52 ^{Aa}	6,10±0,57 ^{Aa}	6,20±0,42 ^{ABa}	5,70±0,67 ^{ABa}	5,50±0,71 ^{Aa}	5,20±0,63 ^{Aa}	5,20±0,63 ^{Ba}
Snack-suri obținute prin uscare prin infraroșu							
C_50_IR	5,90±0,88 ^{ABa}	5,30±0,48 ^{Aa}	6,50±0,53 ^{Aa}	6,40±0,70 ^{Aa}	4,30±0,67 ^{Ba}	3,70±0,48 ^{DEa}	5,90±0,74 ^{BCa}
C_60_IR	6,40±0,52 ^{Aa}	5,40±0,52 ^{Aa}	6,40±0,52 ^{Aa}	6,10±0,88 ^{Aa}	5,20±0,42 ^{Aa}	4,10±0,74 ^{CDa}	6,00±0,47 ^{ABCa}
C_70_IR	6,50±0,53 ^{Aa}	6,10±0,88 ^{Aa}	6,40±0,52 ^{Aa}	6,40±0,52 ^{Aa}	5,50±0,53 ^{Aa}	5,10±0,74 ^{ABa}	6,60±0,52 ^{ABa}
C_50_IRH	5,40±0,52 ^{Ba}	5,60±0,52 ^{Aa}	6,50±0,53 ^{Aa}	6,60±0,52 ^{Aa}	3,70±0,67 ^{Ba}	3,30±0,48 ^{Ea}	5,70±0,82 ^{Ca}
C_60_IRH	6,40±0,52 ^{Aa}	5,60±0,70 ^{Aa}	6,40±0,52 ^{Aa}	6,10±0,88 ^{Aa}	5,20±0,42 ^{Aa}	4,50±0,53 ^{BCa}	6,20±0,42 ^{ABCa}
C_70_IRH	6,50±0,53 ^{Aa}	6,10±0,88 ^{Aa}	6,40±0,52 ^{Aa}	6,40±0,52 ^{Aa}	5,50±0,53 ^{Aa}	5,60±0,52 ^{Aa}	6,70±0,48 ^{Aa}

* C₀. Proba de felii de mere proaspete, CH₀ probă de felii de mere proaspete infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa*, C_CD felii de măr uscate prin metoda convecției în aer cald, C_CDH felii de măr infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa* uscate prin metoda de convecție, C_IR felii de măr uscate prin metoda infraroșu, C_IRH-felii de măr infuzate în extract de *Hibiscus sabdariffa* uscate prin metoda infraroșu.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 6.7. Indicele de acceptabilitate a caracteristicilor senzoriale ale snacks-urilor din mere

Caracteristică/ Codificare*	Aspect exte- rior	Culoare	Gust	Aroma	Duritate	Crocanță	Acceptabilitate generală
Snacks-uri obținute prin uscare prin convecție în aer cald							
C_50_CD	91,43	81,43	91,43	88,57	96,00	85,00	93,33
C_60_CD	91,43	85,00	91,43	87,14	86,67	72,00	91,43
C_70_CD	91,43	81,43	91,43	88,57	83,33	74,00	91,43
C_50_CDH	91,43	81,67	95,00	74,29	85,00	85,00	82,00
C_60_CDH	94,29	91,43	91,43	87,14	78,00	70,00	85,00
C_70_CDH	91,43	87,14	88,57	81,43	91,67	86,67	86,67
Snacks-uri obținute prin uscare prin infraroșu							
C_50_IR	84,29	88,33	92,86	91,43	86,00	92,50	84,29
C_60_IR	91,43	90,00	91,43	87,14	86,67	82,00	85,71
C_70_IR	92,86	87,14	91,43	91,43	91,67	85,00	94,29
C_50_IRH	90,00	93,33	92,86	94,29	74,00	82,50	81,43
C_60_IRH	91,43	80,00	91,43	87,14	86,67	90,00	88,57
C_70_IRH	92,86	87,14	91,43	91,43	91,67	93,33	95,71

* C₀ - Proba de felii de mere proaspete, CH₀ probă de felii de mere proaspete infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa*, C_CD felii de măr uscate prin metoda convecției în aer cald, C_CDH felii de măr infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa* uscate prin metoda de convecție, C_IR felii de măr uscate prin metoda infraroșu, C_IRH-felii de măr infuzate în extract de *Hibiscus sabdariffa* uscate prin metoda infraroșu.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

6.4.7. Activitatea antioxidantă a snacks-urilor din mere

Activitatea antioxidantă a snacks-urilor din mere este redată în **Tabelul 6.8**. Contribuția infuziei cu polifenoli din extractul de hibiscus poate fi observată atunci când se compară activitatea antioxidantă a matorului ($78,46 \pm 1,49 \mu\text{Mol/g DW}$) cu a probelor infuzate cu hibiscus ($93,13 \pm 0,96 \mu\text{Mol/g DW}$). La uscare, datorită eliminării și concentrării apei, activitatea antioxidantă a tuturor probelor crește semnificativ ($p < 0,05$) până la $2626,10 \pm 28,17 \mu\text{Mol/g DW}$ pentru probele uscate prin CD la 70°C . În general, se observă o tendință de creștere în proba mator, în timp ce la proba infuzată s-a constatat o tendință sinusoidală. Aceste tendințe pot fi explicate prin profilul de degradare mai rapid al antocianilor de pe suprafețele feliilor de mere odată cu creșterea temperaturii.

Tabel 6.8. Activitatea antioxidantă a snacks-urilor din mere ([Stan \(Boldea\) și colab. 2025](#))

Codificare probe*	Activitate antioxidantă, $\mu\text{Mol/g DW}$
Snacks-uri din mere obținute prin uscare convectivă	
C_50_CD	$2531,81 \pm 13,91^{\text{Bb}}$
C_60_CD	$2622,58 \pm 12,24^{\text{Aa}}$
C_70_CD	$2631,59 \pm 6,23^{\text{Aa}}$
C_50_CDH	$2628,19 \pm 23,59^{\text{Aa}}$
C_60_CDH	$2372,86 \pm 15,07^{\text{Cb}}$
C_70_CDH	$2503,05 \pm 22,10^{\text{Ba}}$
Snacks-uri din mere obținute prin uscare prin infraroșu	
C_50_IR	$2564,02 \pm 7,95^{\text{ABa}}$
C_60_IR	$2554,39 \pm 22,64^{\text{BCb}}$
C_70_IR	$2626,10 \pm 28,17^{\text{Aa}}$
C_50_IRH	$2498,19 \pm 6,18^{\text{Cb}}$
C_60_IRH	$2430,66 \pm 41,06^{\text{Da}}$
C_70_IRH	$2527,82 \pm 4,50^{\text{BCa}}$

* C_CD felii de măr uscate prin metoda convecției în aer cald, C_CDH felii de măr infuzate cu extract de Hibiscus sabdariffa uscate prin metoda de convecție, C_IR felii de măr uscate prin metoda infraroșu, C_IRH-felii de măr infuzate în extract de Hibiscus sabdariffa uscate prin metoda infraroșu.

6.4.8. Profilul cromatografic al gustărilor din mere uscate la 70°C

Profilul polifenolilor probelor este prezentat în **Tabelul 6.9**. După cum se poate observa, snacks-urile obținute prin cele două metode au prezentat o serie de compuși comuni, la concentrații diferite. Acești compuși sunt cafestol, acid galic, catechină, acid protocatecuic, acid clorogenic, epicatehina, acid ferulic, rutina, quercetin 3-diglucozidă, naringin, quercetin 3-glucozid, hesperidin, quercetin și quercetin dihidrat și luteolina. Probele infuzate se diferențiază prin prezența unor compuși specifici din extractul de *Hibiscus*, cum ar fi acid siringic, galat de epicatechină, kuromanin, acid sinapic, peonidin 3-O-glucozid și peonidin 3-O-rutinozid și acid elagic. Indiferent de metodă și probe, cafestolul a fost compusul principal, cu cea mai mică concentrație în probele mator uscate cu CD ($104297,62 \pm 125,03 \mu\text{g/g DW}$) și cea mai mare în probele infuzate uscate prin IR la 70°C ($127814,24 \pm 111,56 \mu\text{g/g DW}$). Catechina, epicatehina și acidul protocatecuic au urmat din punct de vedere al concentrației.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 6.9. Profilul polifenolic al snacks-urilor din mere (Stan (Boldea) și colab. 2025)

Compus (μg/g DW)	C_70_CD	C_70_CDH	C_70_IR	C_70_IRH
Cafestol	104297,62±125,03 ^D	109029,33±101,11 ^B	107155,88±99,23 ^C	127814,24±111,56 ^A
Acid galic	98,54±2,98 ^D	205,46±7,62 ^B	108,77±3,04 ^C	291,94±11,12 ^A
Catehina	1315,74±11,24 ^D	5838,95±10,01 ^B	2125,93±18,72 ^C	8629,44±102,23 ^A
Acid protocatehuic	323,02±8,07 ^B	348,59±6,05 ^A	324,35±4,35 ^B	350,69±7,06 ^A
Acid clorogenic	64,59±1,11 ^B	67,22±1,22 ^{AB}	65,32±3,08 ^B	70,04±1,04 ^A
Epicatehina	645,63±7,64 ^B	729,31±9,07 ^A	685,94±11,98 ^B	758,67±11,75 ^A
Acid siringic	Nd	7,77±1,07 ^A	Nd	8,45±0,95 ^A
Epicatehin galat	Nd	26,04±0,99 ^A	Nd	20,81±1,06 ^B
Acid ferulic	4,70±0,99 ^A	5,06±0,89 ^A	5,03±0,58 ^A	4,93±0,94 ^A
Rutina	5,71±1,01 ^C	6,88±1,03 ^B	6,08±0,76 ^C	7,21±0,99 ^A
Kuromanin	Nd	11,87±1,12 ^B	Nd	13,88±1,11 ^A
Acid sinapic	Nd	1,44±0,45 ^B	Nd	2,97±0,34 ^A
Quercetin 3-diglucozid	20,92±2,03 ^D	29,96±2,54 ^B	25,31±6,77 ^C	32,90±1,06 ^A
Naringina	21,36±2,01 ^C	43,19±3,21 ^B	23,70±3,12 ^C	63,39±2,38 ^A
Quercetin 3-glucozid	18,50±2,05 ^C	29,95±1,87 ^B	19,27±1,39 ^C	31,92±1,38 ^A
Peonidin 3-O-glucozid	Nd	47,35±3,87 ^B	Nd	49,44±1,07 ^A
Acid elagic	Nd	39,86±1,03 ^A	Nd	40,68±2,03 ^A
Hesperidină	178,92±7,65 ^C	236,76±5,05 ^B	175,11±3,78 ^C	262,23±6,71 ^A
Peonidin 3-O-rutinozid	Nd	227,25±9,78 ^B	Nd	236,26±7,56 ^A
Quercitină	36,77±2,07 ^C	37,95±1,11 ^B	36,99±3,33 ^C	38,04±1,08 ^A
Quercetin dihidrat	19,26±1,22 ^C	20,85±1,12 ^B	20,29±1,11 ^B	22,38±0,76 ^A
Luteolină	10,19±0,54 ^C	10,41±0,56 ^C	11,67±0,97 ^B	13,26±0,78 ^A

C_70_CD – snacks-uri obținute prin uscare convectivă în aer cald la 70°; C_70_CDH – snacks-uri infuzate în extract de *Hibiscus sabdariffa* obținute prin uscare convectivă în aer cald la 70°;

C_70_IR– snacks-uri obținute prin uscare în infraroșu în aer cald la 70°; C_70_CDH – snacks-uri infuzate în extract de *Hibiscus sabdariffa* obținute prin uscare în infraroșu la 70°; Literalele superscripte (A-D) indică diferențe semnificative statistic între eșantioane cu $p < 0,05$ pe baza testului Tukey.

Pentru toate probele s-au găsit diferențe semnificative ($p < 0,05$) între CD și IR. Din datele prezentate rezultă clar că infuzia în extract de hibiscus a determinat o creștere a concentrațiilor de compuși biologic activi. Diferențele dintre cele două metode, cu identificarea unei concentrații mai mari de compuși în probele IR, se datorează probabil reducerii timpului de uscare concomitent cu o cantitate mai mare de apă evaporată.

6.5. CONCLUZII PARTIALE

Rezultatele obținute în cadrul acestui capitol au permis elaborarea următoarelor concluzii parțiale:

- A. Ținând cont de tendința de creștere a consumului de snacks-uri, ca opțiuni viabile între mese, studiul actual s-a concentrat pe testarea a două metode alternative de uscare a merelor cu și fără infuzie în extract de *Hibiscus*, care este bogat în polifenoli și în special antociani. Scopul infuziei în extracte polifenolice a fost reducerea gradului de oxidare enzimatică a polifenolilor, îmbunătățind culoarea și valoarea antioxidantă a produselor rezultate. Aerul convectiv și uscarea în infraroșu au fost utilizate pentru obținerea gustărilor din mere, permițând estimarea modelului cinetic și a parametrilor cinetici pentru uscare.
- B. Modelul Page a arătat cea mai bună potrivire pentru descrierea pe baze cinetice a parametrilor de uscare, în timp ce parametrii cinetici au arătat o creștere a difuzivității efective a umidității pentru probele infuzate, în timp ce uscarea în infraroșu a permis estimarea unor valori mai mici atât pentru probele martor cât și pentru probele infuzate. Valorile energiilor de activare au arătat o dependență mai mare de temperatură pentru probele uscate în infraroșu.
- C. Snacks-urile din mere infuzate au prezentat o valoare mai mare a parametrului a^* , coroborată cu o bună apreciere senzorială a culorii, în timp ce ceilalți indicatori colorimetrici au evidențiat prezența reacțiilor de îmbrunare enzimatică și neenzimatică cu un nivel mai scăzut în probele infuzate. Indicele de îmbrunare depinde în mare măsură de prezența extractului de *Hibiscus* ca potențial inhibitor precum și de temperatură, ca indicator al reacțiilor Maillard.
- D. Probele infuzate au arătat o fermitate mai mică, dar o crocanță crescută. Raportul de rehidratare a atins o valoare mai mică pentru probele uscate în infraroșu după 40 de minute.
- E. Raportul de contracție a crescut o dată cu temperatura pentru ambele metode de uscare și a fost mai mare pentru probele infuzate obținute prin uscare convectivă cu aer și mai mic pentru uscare în infraroșu.
- F. Snacks-urile din mere au prezentat o activitate antioxidantă semnificativ mai mare, cu o tendință crescută pentru proba de control și o tendință sinusoidală pentru proba infuzată cu creșterea temperaturii. Probele uscate la 70°C au prezentat un profil polifenolic comun, în timp ce noi compuși au fost identificați în probele infuzate. Principalul compus a fost cafestolul, cu cea mai mare concentrație în probele uscate în infraroșu.
- G. Rezultatele noastre sugerează că atât probele martor cât și cele infuzate pot fi utilizate ca vectori pentru compuși cu rol funcțional.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

6.6. BIBLIOGRAFIE

1. Abdelbasset, W. K., Alrawaili, S. M., Elkholi, S. M., Eid, M. M., Abd-Elghany, A. A., & Mahmoud, M. Z. (2022). The role of infrared waves in increasing the quality of food products. *Food Science and Technology*, 42.
2. Alaei, B., & Amiri Chayjan, R. (2015). Drying Characteristics of Pomegranate Arils Under Near Infrared-Vacuum Conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(5), 469–479.
3. Alaei, B., Dibagar, N., Chayjan, R. A., Kaveh, M., & Taghinezhad, E. (2018). The effect of short and medium infrared radiation on some drying and quality characteristics of quince slices under vacuum condition. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 10(4), 371–381.
4. Anghel, L., Milea, A., Ștefania, Constantin, O. E., Barbu, V., Chițescu, C., Enachi, E., Râpeanu, G., Mocanu, G. – D., & Stănciuc, N. (2023). Dried grape pomace with lactic acid bacteria as a potential source for probiotic and antidiabetic value-added powders. *Food Chemistry: X*, 19, 100777. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100777>
5. Arora, B., Sethi, S., Joshi, A., Sagar, V. R., & Sharma, R. R. (2018). Antioxidant degradation kinetics in apples. *Journal of Food Science and Technology*, 55(4), 1306–1313.
6. BEIGI, M. (2016). Energy efficiency and moisture diffusivity of apple slices during convective drying. *Food Science and Technology*, 36(1), 145–150.
7. Bondonno, N. P., Bondonno, C. P., Ward, N. C., Hodgson, J. M., & Croft, K. D. (2017). The cardiovascular health benefits of apples: Whole fruit vs. isolated compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 69, 243–256.
8. Çetin, N., Sağlam, C., & Demir, B. (2019). Effect of different drying conditions on some physical changes of apples (*Malus communis* L.). *Araştırma Makalesi*, 24(Special Issue: 1st Int. Congress on Biosystems Engineering 2019), 71–77.
9. Dajbych, O., Kabutey, A., Mizera, Č., & Herák, D. (2023). Investigation of the Effects of Infrared and Hot Air Oven Drying Methods on Drying Behaviour and Colour Parameters of Red Delicious Apple Slices. *Processes*, 11(10), 3027.
10. Day, L., Seymour, R. B., Pitts, K. F., Konczak, I., & Lundin, L. (2009). Incorporation of functional ingredients into foods. *Trends in Food Science & Technology*, 20(9), 388–395.
11. de Gooijer, F. J., van Kraaij, A., Fabius, J., Hermesen, S., Feskens, E. J. M., & Camps, G. (2023). Assessing snacking and drinking behavior in Real-Life Settings: Validation of the SnackBox technology. *Food Quality and Preference*, 112, 105002.
12. Defraeye, T., & Radu, A. (2018). Insights in convective drying of fruit by coupled modeling of fruit drying, deformation, quality evolution and convective exchange with the airflow. *Applied Thermal Engineering*, 129, 1026–1038.
13. Demiray, E., Yazar, J. G., Aktok, Ö., Çulluk, B., Çalışkan Koç, G., & Pandiselvam, R. (2023). The Effect of Drying Temperature and Thickness on the Drying Kinetic, Antioxidant Activity, Phenolic Compounds, and Color Values of Apple Slices. *Journal of Food Quality*, 2023, 1–12.
14. Duan, X., Liu, W. C., Ren, G. Y., & Yang, X. (2017). Effects of different drying methods on the physical characteristics and flavor of dried hawthorns (*Crataegus* spp.). *Drying Technology*, 35(11), 1412–1421.
15. Dumitru Veleşcu, I., Nicoleta Rațu, R., Arsenoia, V.-N., Roșca, R., Marian Cârlescu, P., & Țenu, I. (2023). Research on the Process of Convective Drying of Apples and Apricots Using an Original Drying Installation. *Agriculture*, 13(4), 820.
16. FAO. (2021). *Fruit consumption per capita*. <https://ourworldindata.org/grapher/fruit-consumption-per-capita>

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

17. Ghinea, C., Prisacaru, A. E., & Leahu, A. (2022). Physico-Chemical and Sensory Quality of Oven-Dried and Dehydrator-Dried Apples of the Starkrimson, Golden Delicious and Florina Cultivars. *Applied Sciences*, 12(5), 2350.
18. Henderson, S. M., & Pabis, S. (1962). Grain drying theory: IV. The effect of air flow rate on the drying index. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 7(2), 85–89.
19. Hernández-Carranza, P., Heredia-Soberanes, K., Ruiz-López, I. I., & Ochoa-Velasco, C. E. (2022). Effect of impregnation-osmodehydration with *Hibiscus sabdariffa* extracts on the bioactive compounds and sensory acceptance of apple wedges: Fresh, convective dried, and stored. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(11).
20. Huang, X., Li, Y., Zhou, X., Wang, J., Zhang, Q., Yang, X., Zhu, L., & Geng, Z. (2022). Prediction of Apple Slices Drying Kinetic during Infrared-Assisted-Hot Air Drying by Deep Neural Networks. *Foods*, 11(21), 3486.
21. İzli, N., Yıldız, G., Ünal, H., Işık, E., & Uylaşer, V. (2014). Effect of different drying methods on drying characteristics, colour, total phenolic content and antioxidant capacity of *oldenberry* (*hysalis peruviana*). *International Journal of Food Science & Technology*, 49(1), 9–17.
22. Jha, A. K., & Sit, N. (2020). Drying characteristics and kinetics of colour change and degradation of phytochemicals and antioxidant activity during convective drying of deseeded *Terminalia chebula* fruit. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(4), 2067–2077.
23. Karwacka, M., Ciurzyńska, A., Galus, S., & Janowicz, M. (2022). Freeze-dried snacks obtained from frozen vegetable by-products and apple pomace – Selected properties, energy consumption and carbon footprint. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 77, 102949.
24. Kidoń, M., & Grabowska, J. (2021). Bioactive compounds, antioxidant activity, and sensory qualities of red-fleshed apples dried by different methods. *LWT*, 136, 110302.
25. Kumari, N., Kumar, M., Radha, Rais, N., Puri, S., Sharma, K., Natta, S., Dhumal, S., Damale, R. D., Kumar, S., Senapathy, M., Deshmukh, S. V., Anitha, T., Prabhu, T., Shenbagavalli, S., Balamurugan, V., Lorenzo, J. M., & Kennedy, J. F. (2024). Exploring apple pectic polysaccharides: Extraction, characterization, and biological activities - A comprehensive review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 255, 128011.
26. Lewis, W. K. (1921). The Rate of Drying of Solid Materials. *Journal of Industrial & Engineering Chemistry*, 13(5), 427–432.
27. Maleki, M., Shahidi, F., Varidi, M. J., & Azarpazhooh, E. (2020). Hot air drying kinetics of novel functional carrot snack: Impregnated using polyphenolic rich osmotic solution with ultrasound pretreatment. *Journal of Food Process Engineering*, 43(2).
28. Meisami-as, E., Rafiee, S., Keyhani, A., & Tabatabaee, A. (2009). Mathematical Modeling of Moisture Content of Apple Slices (Var. Golab) During Drying. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(6), 804–809.
29. Murakami, K., & Livingstone, M. B. E. (2015). Eating Frequency Is Positively Associated with Overweight and Central Obesity in US Adults. *The Journal of Nutrition*, 145(12), 2715–2724.
30. Ojediran, J. O., Okonkwo, C. E., Adeyi, A. J., Adeyi, O., Olaniran, A. F., George, N. E., & Olayanju, A. T. (2020). Drying characteristics of yam slices (*Dioscorea rotundata*) in a convective hot air dryer: application of ANFIS in the prediction of drying kinetics. *Heliyon*, 6(3), e03555.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

31. Onwude, D. I., Hashim, N., Abdan, K., Janius, R., & Chen, G. (2018). Modelling the mid-infrared drying of sweet potato: kinetics, mass and heat transfer parameters, and energy consumption. *Heat and Mass Transfer*, 54(10), 2917–2933.
32. Page, G. (1949). *Factors influencing the maximum rates of air-drying shelled corn in thin layer*. .
33. Rayaguru, K., & Routray, W. (2012). Mathematical modeling of thin layer drying kinetics of stone apple slices. *International Food Research Journal*, 19(4), 1503–1510.
34. Salehi, F., & Satorabi, M. (2021). Influence of Infrared Drying on Drying Kinetics of Apple Slices Coated with Basil Seed and Xanthan Gums. *International Journal of Fruit Science*, 21(1), 519–527.
35. Shewale, S. R., & Hebbar, H. U. (2017). Effect of infrared pretreatment on low-humidity air drying of apple slices. *Drying Technology*, 35(4), 490–499.
36. Srikanth, K. S., Sharanagat, V. S., Kumar, Y., Bhadra, R., Singh, L., Nema, P. K., & Kumar, V. (2019). Convective drying and quality attributes of elephant foot yam (*Amorphophallus paeoniifolius*). *LWT*, 99, 8–16.
37. Stan (Boldea), L., Aprodu, I., Enachi, E., Dumitrașcu, L., Păcularu-Burada, B., Chițescu, C., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2023). Advanced interactional characterization of the inhibitory effect of anthocyanin extract from *Hibiscus sabdariffa* L. on apple polyphenol oxidase. *Journal of Food Science*, 88(12), 5026–5043.
38. Stan (Boldea), L., Mocanu, G. – D., Turturică, M., Andronoiu, D. G., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2025). Potentially Functional Apple Snacks Infused in the *Hibiscus sabdariffa* Extract Obtained by Convective and Infrared Drying: Kinetics of Drying and Phytochemical Analysis. *Food Science & Nutrition*, 13(3).
39. Stan (Boldea), L., Nistor, O. V., Milea, Ștefania A., Andronoiu, D. G., Vasile, A. M., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2023). Low-sugar apples jam with hibiscus extract: textural, phytochemical and nutritional aspects. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI - Food Technology*, 47(1), 110–124.
40. Uğurlu, S., Aldemir, A., & Bakkalbaşı, E. (2023). Investigating the Effects of a Novel Combined Infrared-Vacuum Dryer on the Drying Kinetics and Quality Parameters of Apple Chips. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 42(12), 4225–4237.
41. Wang, J., Law, C.-L., Nema, P. K., Zhao, J.-H., Liu, Z.-L., Deng, L.-Z., Gao, Z.-J., & Xiao, H.-W. (2018). Pulsed vacuum drying enhances drying kinetics and quality of lemon slices. *Journal of Food Engineering*, 224, 129–138.
42. Wang, X., Chang, F., Dong, Q., Jia, P., Luan, H., Wang, X., Zhang, J., Yuan, X., Zhang, X., Yang, S., Qi, G., & Guo, S. (2023). Selenium application during fruit development can effectively inhibit browning of fresh-cut apples by enhancing antioxidant capacity and suppressing polyphenol oxidase activity. *Journal of Plant Physiology*, 287, 154050.
43. Xiao, M., Yi, J., Bi, J., Zhao, Y., Peng, J., Hou, C., Lyu, J., & Zhou, M. (2018). Modification of Cell Wall Polysaccharides during Drying Process Affects Texture Properties of Apple Chips. *Journal of Food Quality*, 2018, 1–11.
44. Yi, J.-Y., Zhou, L.-Y., Bi, J.-F., Wang, P., Liu, X., & Wu, X.-Y. (2016). Influence of number of puffing times on physicochemical, color, texture, and microstructure of explosion puffing dried apple chips. *Drying Technology*, 34(7), 773–782.
45. Zhu, J., Liu, Y., Zhu, C., & Wei, M. (2022). Effects of different drying methods on the physical properties and sensory characteristics of apple chip snacks. *LWT*, 154, 112829.

Capitolul 7. CONCLUZII FINALE

Datorită conținutului ridicat de compuși fenolici, mărul este înalt susceptibil la îmbrunarea enzimatică, ceea ce reduce din acceptabilitatea consumatorilor. Datorită impactului său economic enorm asupra industriei alimentare, inhibarea îmbrunării enzimatică cauzată de polifenoloxidază în produsele alimentare a fost investigată pe scară largă, iar înțelegerea procesului de îmbrunarea enzimatică este necesară pentru a stabili strategii inovative de control eficient și pentru a obține produse de înaltă calitate, acceptate pentru consumatori.

Studiile efectuate în teza de doctorat intitulată *Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată* au permis obținerea unor rezultate care susțin rolul inhibitor al compușilor polifenolici asupra polifenoloxidazei din măr și constituie instrumente valoroase și complementare la înțelegerea procesului de îmbrunarea enzimatică din perspectiva dezvoltării de produse cu funcționalitate ridicată, ușor acceptabile de către consumatori.

Astfel:

- A. Utilizând tehnici complementare, a fost elaborat un amplu studiu de elucidare a mecanismelor de inhibare a polifenolilor din extractele optimizate și validate din *Hibiscus*, evidențiindu-se mecanismele de legare și principalele forte implicate în procesele de legare. Polifenoloxidaza a fost separată și purificată din mere, pentru care s-a stabilit parametrii optimi de activitate (pH 6,5 și 25°C pentru o concentrație a pirocatecolului de 0.3 Mol). S-au utilizat metode de optimizare a condițiilor de extracție a polifenolilor din *Hibiscus*, parametrii de extracție fiind validați la 30% etanol, 25°C pentru o durată de extracție de 30 de min. Extractul validat a prezentat un amplu profil bioactiv, fiind identificați 47 de compuși polifenolici. Parametrii de inhibare au arătat potențialul compușilor fenolici din extractul de hibiscus de a minimiza activitatea polifenoloxidazei, cu maxim 50% din activitatea enzimatică inițială. Parametrii de inactivare termică au evidențiat stabilitatea ridicată la procesarea termică, inhibarea polifenoloxidazei cu extract de hibiscus echivalând cu un tratament termic la 95°C cu o menținere de 20 min. Tehnicile complementare de andocare și spectroscopie de fluorescență au demonstrat că enzima prezintă două situsuri de legare pentru polifenoli, fiind evidențiată capacitatea catehinei, cafestolului și a acidului galic de legare la situsurile enzimei. S-a sugerat că, în intervalul de temperatură de la 25 la 60°C, interacțiunile dintre enzimă și compușii biologic activi din extractul de hibiscus sunt determinate de interacțiuni hidrofobe, în timp ce la o temperatură mai mare, interacțiunile sunt spontane și implică legături van der Waals și de hidrogen.
- B. Metoda de infuzie a bucăților de mere în extractul apos de *Hibiscus* a fost utilizată ca strategie de inhibare a polifenoloxidazei, cu posibilitatea de dezvoltare a mai multe tehnologii de obținere a unor produse funcționale.
- C. Într-o primă etapă au fost dezvoltate tehnologii de obținere a produselor gelificate din mere infuzate în extract de hibiscus, în care s-a variat conținutul de zahăr adăugat, pentru a răspunde unei game cât mai largi de cerințe ale consumatorilor, în special în ceea ce privește consumul de zahăr. Au fost produse 4 variante de produse gelificate din mere, care au prezentat variații semnificative ale

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

conținutului de polifenoli, și în special antociani, datorită fenomenelor complexe de gelifiere care implică factori ca prezența zahărului, pectinei și a pH-ului. Probele au prezentat o culoare brună, specific produselor gelifiate, ceea ce presupune că antocianii din extractul de hibiscus au participat la reacții de polimerizare și copolimerizare sau, în produse, prelavența reacțiilor Maillard a fost mai mare. De menționat este faptul că, în ansamblu, caracteristicile de calitate măsurate ale produselor gelifiate au permis evidențierea preferințelor paneliștilor pentru produse cu un adaos său fără adaos de zahăr.

- D. Băuturile răcoritoare au fost obținute prin infuzie în extract apos de calix de hibiscus, cu adaos de enzime, un amestec de pectinaze, hemicelulaze și β -glucanaze, care să conducă la creșterea randamentului de extracție a sucului. Au fost raportate randamente superioare de extracție a sucului de mere la utilizarea preparatelor enzimaticice. Tratamentul de pasteurizare a determinat o scădere a conținutului de antociani în sucurile cu infuzie de extract de hibiscus. Conținutul de polifenoli și activitatea antixodantă au avut valori mai mari în sucurile infuzate, în timp ce tratamentul termic nu a influențat semnificativ conținutul în compuși polifenolici și în consecință a activității antioxidante. La depozitare, s-a înregistrat o scădere a conținutului de compuși biologic active, cu impact asupra activității antioxidante, dar cu valori mai mari pentru băuturile obținute prin infuzie. Tescovina rezultată de la presarea/centrifugarea sucurilor a fost valorificată prin inoculare cu *Lactobacillus casei*, evidențiindu-se capacitatea polifenolilor din merele infuzate de a stimula activitatea metabolică a bacteriilor pentru o perioadă de 30 de zile de depozitare la temperatura de 4°C.
- E. Au fost utilizate două procedee de uscare (uscare convective în aer cald și uscarea în infraroșu) pentru obținerea de snacks-uri din mere infuzate în extract de hibiscus. Au fost testate mai multe modele pentru descrierea cineticii de uscare, modelul cel mai adecvat fiind modelul Page. Au fost înregistrate diferențe semnificative între parametrii de uscare atât pentru metodele de uscare, cât și între probele martor și cele infuzate, în general, uscarea în infraroșu a condus la timpi mai scurți de uscare.
- F. Rezultatele obținute au arătat că creșterea temperaturii de uscare ar putea accelera difuzia umidității atunci când feliile de mere au fost uscate la temperatură mai mare. În general, snacks-urile infuzate au prezentat o culoare roșie, plăcută, nuanță care a fost apreciată și de către paneliști. Probele uscate prin convecție au prezentat o crocanță mai scăzută comparativ cu probele uscate prin infraroșu. Raportul de hidratare al probelor uscate în infraroșu a atins valoarea maximă după 40 de minute comparativ cu probele uscate prin convecție, unde raportul de hidratare a atins valoarea maximă după 50 de minute. În general, raportul de rehidratare al feliilor de măr infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa* a prezentat valori mai mari, comparativ cu probele martor. Raportul de contracție al probelor de felii de mere a variat o dată cu creșterea temperaturii și a timpului de uscare. Valoarea maximă pentru ambele metode de uscare a fost stabilită la o temperatură de 70 °C pentru probele martor, în timp ce pentru feliile infuzate în extract de *Hibiscus sabdariffa* valoarea maximă a fost stabilită la 50°C.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

- G. Cele mai mari punctaje pentru acceptabilitatea generală au fost obținute pentru probele uscate la 70°C, în special pentru probele uscate prin infraroșu. Snacks-urile au prezentat valori apreciable ale activității antioxidante, în timp ce profilul cromatografic a evidențiat prezența cafestolului, acidului galic, catechină, acid protocatecuic, acid clorogenic, epicatehina, acid ferulic, rutina, quercetin 3-diglucozidă, naringina, quercetin 3-glucozidul, hesperidina, quercitina și quercetina dihidrat și luteolina în probele martor. Adițional, probele infuzate au mai conținut și acid siringic, galat de epicatechină, kuromanin, acid sinapic, peonidin 3-*O*-glucozid și peonidin 3-*O*-rutinozid și acid elagic. Cafestolul a fost identificat în concentrații ridicate.

Capitolul 8. CONTRIBUȚII ORIGINALE ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A CERCETĂRILOR

Teza de doctorat intitulată *Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată* constituie o cercetare originală, care permite parcurgerea unor stadii de cercetare și aplicative, vizând stabilirea unor strategii de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor și obținerea de produse (produse gelificate, suc, pudre, snacks-uri) cu funcționalitate ridicată, prin imersare în extract apos de hibiscus, oferind multiple beneficii pentru sănătate, dar și avantaje comerciale prin potențiale reduceri ale pierderilor în lanțul alimentar.

Contribuțiile originale ale tezei de doctorat derivă din următoarele aspecte:

- ✓ Elucidarea mecanismelor de inhibare manifestate de compuși biologic activi din clasa polifenolilor asupra polifenoloxidazei extrase din mere, prin tehnici complementare. Testarea și compararea rezultatelor pentru identificarea efectului inhibitor al compușilor biologic activi din extractul de caliciu de *Hibiscus* asupra polifenoloxidazei din măr concomitent cu studiul cineticii de inactivare termică.
- ✓ S-a sugerat că extractul de *Hibiscus* are capacitatea de a inhiba aproximativ 50% din activitatea polifenoloxidazei, ceea ce permite elaborarea unor recomandări referitoare la combinarea efectului chimic cu cel fizic, prin tratament termic la temperatură moderată, pentru inhibarea totală a enzimei.
- ✓ Obținerea de informații utile pentru utilizarea inhibitorilor polifenolici în prevenirea îmbrunării enzimatice prin coroborarea tuturor datelor obținute la extracție, optimizare, validare, caracterizare interacțională;
- ✓ Stimularea activității metabolice în cazul tescovinei obținute la procesarea merelor este similară proprietăților prebiotice;
- ✓ Caracterizarea avansată a probelor obținute infuzate în extract apos de caliciu de *Hibiscus* prin diferite tehnici spectrofotometrice și cromatografice pentru profilarea fitochimică detaliată;
- ✓ Studiul parametrilor cinetici de uscare la uscarea convectivă în aer cald și în infraroșu permițând optimizarea modelului cinetic de uscare pentru obținerea snacks-urilor din mere;

În ceea ce privește perspectivele de continuare a studiilor de cercetare se prevăd următoarele:

- ✓ Testarea și altor extracte provenite din diferite matrici bogate în compuși biologic activi, cum ar fi de exemplu tescovinelor rezultate din industria de vinificație pentru capacitatea de inhibare a polifenoloxidazei din mere și alte fructe și legume;
- ✓ Extinderea studiului, la nivel individual sau interactional, asupra peroxidazei din mere și alte fructe pentru reducerea fenomenului de îmbrunare enzimatică în lanțul fructelor și legumelor.
- ✓ Dezvoltarea și a altor produse alimentare cu grad redus de îmbrunare enzimatică și cu funcționalitate extinsă, prin utilizarea de extracte valoroase obținute din

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

produse fără valoare economică și reintegrarea acestora în produse cu valoare adăugată;

- ✓ Testarea potențialului prebiotic al tescovinei obținute la presarea merelor și utilizarea acestuia la dezvoltarea de produse noi cu funcționalitate ridicată (cum ar fi, de exemplu, băuturile fermentate);
- ✓ Stabilirea condiții optime de păstrare a produselor rezultate din teza de doctorat pentru stabilirea optimă a durabilității minime.

Capitolul 9. DISEMINAREA REZULTATELOR. LISTA PUBLICAȚIILOR

Diseminarea rezultatelor cercetărilor efectuate pe parcursul studiilor doctorale s-a concretizat prin publicarea sau comunicarea unor lucrări științifice, astfel:

A. Articole publicate în reviste cotate ISI

1. Lavinia Stan (Boldea), Iuliana Aprodu, Elena Enachi, Loredana Dumitrașcu, Bogdan Păcularu-Burada, Carmen Chițescu, Gabriela Râpeanu, Nicoleta Stănciuc. (2023). Advanced interactional characterization of the inhibitory effect of anthocyanin extract from *Hibiscus sabdariffa* L. on apple polyphenol oxidase. *Journal of Food Science*, 88(12), 5026-5043, DOI:10.1111/1750-3841.16808.
2. Lavinia Stan (Boldea), Oana Viorela Nistor, Ștefania Adelina Milea, Doina Georgeta Andronoiu, Aida Mihaela Vasile, Gabriela Râpeanu, Nicoleta Stănciuc. (2023). Low-sugar apples jam with hibiscus extract: textural, phytochemical and nutritional aspects. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI – Food Technology*, 47(1), 110-124. <https://doi.org/10.35219/foodtechnology.2023.1.07>
3. Lavinia Stan (Boldea), Gabriel Dănuț Mocanu, Mihaela Turturică, Doina Georgeta Andronoiu, Gabriela Râpeanu, Nicoleta Stănciuc (2025). Potentially functional apple snacks infused in *Hibiscus sabdariffa* extract obtained by convective and infra-red drying: Kinetics of drying and phytochemical analysis. *Food Science and Nutrition*, 13(3), e70060. <https://doi.org/10.1002/fsn3.70060>

B. Participări la conferințe

1. Lavinia Stan (Boldea), Gabriela Râpeanu, Nicoleta Stănciuc (2022). A systematic review on the recent advances of fruits and vegetables drying technologies. Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG - Perspectives and challenges in doctoral research. "Dunărea de Jos" University of Galati, Faculty of Food Science and Engineering, Galati, 9-10th of June 2022;
2. Lavinia Stan (Boldea), Gabriela Râpeanu, Nicoleta Stănciuc (2022). Scientific approach for driving the snacks industry towards healthier options: nutritional comparison between vegetables and cereals. Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG - Perspectives and challenges in doctoral research. "Dunărea de Jos" University of Galati, Faculty of Food Science and Engineering, Galati, 9-10th of June 2022;
3. Lavinia Stan (Boldea), Oana Viorela Nistor, Doina Georgeta Andronoiu, Iuliana Aprodu, Gabriela Râpeanu, Nicoleta Stănciuc (2023). Attempts to use natural

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

inhibitors for apples polyphenol oxidase to obtain jellified products. Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG - Perspectives and challenges in doctoral research. "Dunărea de Jos" University of Galati, Faculty of Food Science and Engineering, , Galati, 8-9th of June 2023 - oral presentation

4. Lavinia Stan (Boldea), Gabriel-Dănuț Mocanu, Gabriela Râpeanu, Nicoleta Stănciuc (2023). Convective and infrared drying of apple chips infused in hibiscus extract to increase the phytochemical content of apple chips snack. EuroAliment Symposium, 2023, "Dunărea de Jos" University of Galati, Faculty of Food Science and Engineering, Galati, 19-20th of October 2023 - poster presentation
5. Lavinia Stan (Boldea), Iuliana Aprodu, Gabriela Rapeanu, Nicoleta Stănciuc, 2023, Extract from Hibiscus sabdariffa calyx inhibits the enzymatic activity of apple polyphenoloxidase .37th EFFoST International Conference 2023: Sustainable Food and Industry (Valencia, Spain, 6-8 November 2023 (<https://www.effost.org/effost+international+conference/past+effost+conferences/effost+conference+2023/default.aspx>)).
6. Lavinia Stan (Boldea), Gabriel – Dănuț Mocanu, Mihaela Turturică, Doina Georgeta Andronoiu, Gabriela Râpeanu and Nicoleta Stănciuc (2024) Functionalized apple snacks infused in *Hibiscus sabdariffa* extract obtained by convective and infrared drying. Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG - Perspectives and challenges in doctoral research. Dunarea de Jos University, Galați.
7. Lavinia Stan (Boldea), Iuliana Aprodu, Gabriela Râpeanu and Nicoleta Stănciuc (2024) Innovative strategies for obtaining apple juice with a reduced degree of enzymatic browning, Conferința Școlii Doctorale a Universității „Dunărea de Jos” din Galați, Ediția 12-a (Galati , Romania, 6 – 7 iunie 2024). https://cssd-udjg.ugal.ro/media/attachments/2024/06/04/program_sdsfi_s3_s7-de-listat-110-buc.pdf.
8. Lavinia Stan (Boldea), Gabriel-Dănuț Mocanu, Gabriela Râpeanu and Nicoleta Stănciuc (2025). Kinetics of convective air and infrared drying of apple snacks infused in *Hibiscus sabdariffa* extract. The 13th Scientific Conference of Doctoral Schools SCDS-UDJG - Perspectives and challenges in doctoral research. Dunarea de Jos University, Galati, June 12-13.

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

LISTĂ FIGURI

Figura 1.1. Producția mondială de mere din 2010 până în 2021 (<https://www.statista.com/statistics/report-content/statistic/961248>)

Figura 1.2. Principalele soiuri de mere cultivate în Uniunea Europeană

Figura 1.3. Soiul Frumos de Voinești

Figura 1.4. Structura polizaharidelor din mere

Figura 1.5. Structura principalelor clase de compuși polifenolici din mere

Figura 2.1. Reacții de hidroxilare și oxidare catalizate de polifenol oxidaza

Figura 3.1. Mecanismul de acțiune al PFO

Figura 3.2. Profilul cromatografic de eluție al PFO din măr: Separare pe Mono Q 5/50 GL (cromatografie de schimb ionic). Frațiunile au fost analizate la 280 nm, în timp ce activitatea enzimatică a fost determinată în condiții optime, utilizând pirocatecol ca substrat la 420 nm.

Figura 3.3. Inactivarea termică a PFO la diferite combinații de temperatură-timp

Figure 3.4. Spectrele de emisie care descriu interacțiunea dintre PFO și extractul *Hibiscus sabdariffa* L. la concentrații diferite de antociani (0 (A) la 2.06 mM (K))

Figura 3.5. Modele 3D ale complexelor formate între PFO din măr (reprezentată în stil surf) cu principalii compuși bioactivi (reprezentati în stil licorice) din extractul etanolic de *Hibiscus sabdariffa* L.: catechina (albastru), cafestol (complex1 în verde). și complex2 în violet) și acid galic (roșu). Imaginile au fost generate cu software-ul VMD

Figura 4.1. Curba etalon pentru determinarea conținutului de polifenoli totali

Figura 4.2. Curba etalon pentru determinarea conținutului total de flavonoide

Figura 4.3. Curba standard pentru determinarea activității antioxidante

Figura 4.4. Schema de obținere a produselor gelificate cu infuzie în extract apos de hibiscus

Figura 4.5. Rezultatele analizei instrumentale pentru textura -Valorile fermității (a), adezivității (b), coezivitativității (c), elasticității (d) și masticabilității (e) pentru probele martor (albastru) și probele cu hibiscus (roșu). Aceleași litere mici nu prezintă diferențe semnificative ($p > 0,05$). În reprezentarea grafică, culoarea albastru a fost utilizată pentru probele martor, iar roșu pentru probele infuzate în extract de hibiscus.

Figura 4.6. Parametrii de culoare ale produselor gelificate din mere

Figura 4.7. Atributele senzoriale ale produselor gelificate

Figura 5.1. Schema generală de procesare a merelor infuzate în extract de hibiscus în sucuri

Figura 5.2. Distribuția atributelor senzoriale ale sucurilor de mere cu și fără infuzie în extract de hibiscus

Figura 6.1. Cinetica de uscare a feliilor de mere prin convecție în aer cald CD și infraroșu IR la diferite temperaturi de uscare (a – felii de mere uscate prin CD; b – felii de mere uscate prin IR; c – felii de mere infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa* uscate prin CD; d – felii de mere infuzate cu extract de *Hibiscus sabdariffa*, uscate prin IR)

Figura 6.2. Modificări ale vitezei de uscare a feliilor de mere față de timpul de uscare (a – felii de mere uscate prin CD; b – felii de mere uscate în IR; c – felii de mere infuzate cu

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

extract de Hibiscus sabdariffa uscate prin CD; d – felii de mere infuzate cu extract de Hibiscus sabdariffa uscate prin IR

Figura 6.3. Raportul de rehidratare al feliilor de mere uscate (a – felii de mere uscate prin convecție și infraroșu, b – felii de mere infuzate cu extract de Hibiscus sabdariffa uscate convectiv și în infraroșu)

Figura 6.4. Raportul de contracție al feliilor de mere uscate (a – felii de măr uscate prin convecție și infraroșu, b – felii de mere infuzate cu extract de Hibiscus sabdariffa uscate convectiv și în infraroșu)

Figura 6.5. Snacks-uri din mere martor (a) și infuzate în extract de hibiscus (b) obținute prin convecție în aer cald (A) și infraroșu (B) la temperatura de 70°C

LISTĂ TABELE

Tabel 1.1. Distribuția compușilor nutritivi și bioactivi în măr ([Patocka și colab., 2020](#))

Tabel 1.2. Lista compușilor fenolici din mere

Tabel 1.3. Concentrațiile (μ /gram greutate proaspătă) de compuși fenolici prezenți în coaja și pulpa de măr

Tabel 3.1. Nivelul de codificare a variabilelor independente luate în considerare în design-ul Box-Behnken

Tabel 3.2. Matricea de design Box-Behnken cu variabilele independente și datele experimentale pentru variabilele de răspuns (CTA) din calixul de Hibiscus sabdariffa L.

Tabel 3.3. Analiza varianței și estimarea coeficienților aferenți modelului polinomial de ordinul doi pentru conținutul total de antociani (CTA) din hibiscus

Tabel 3.4.a. Analiza cantitativă a compușilor biologic active din extractul etanolic de Hibiscus sabdariffa L

Tabel 3.4.b. Lista compușilor bioactivi detectați în extractul etanolic de Hibiscus sabdariffa L. prin spectrometrie de masă.

Tabel 3.5. Constantele vitezelor de inactivare (k), timpul de reducere decimală (D), și energia de inactivare (Ea) pentru PFO din măr

Tabel 3.6. Detalii la nivel molecular referitoare la interacțiunea dintre PFO din măr și catehină, cafestol și acid galic

Tabel 3.7. Efectul tratamentului termic asupra structurii și energiei PFO din măr

Tabel 3.8. Valorile constantelor Stern-Volmer (K_{SV}), constanta de quenching a fluorescenței (k_q), constantele de legare (K_b) și numărul de situsurilor de legare (n) între PFO din măr și extractul de *Hibiscus sabdariffa* L.

Tabel 4.1. Formule experimentale de preparare a produselor gelifiate din mere (bază: 250 g pulpă de mere)

Tabel 4.2. Concentrația compușilor polifenolici și activitatea antioxidantă a produselor gelifiate

Tabel 4.3. Proprietăți fizico-chimice ale produselor gelifiate pe bază din mere cu și fără infuzie în extract de hibiscus

Tabel 4.4. Indicele de acceptabilitate (IA, %) pentru produsele gelifiate

Strategii inovative de reducere a gradului de îmbrunare enzimatică la prelucrarea merelor în produse cu funcționalitate ridicată

Tabel 5.1. Conținutul de compuși bioactivi și activitate antioxidantă din sucurile cu și fără infuzie de extract de hibiscus

Tabelul 5.2. Indicele de acceptabilitate (IA, %) pentru sucurile de mere

Tabel 5.3. Viabilitatea celulelor de *L. casei* 431® în borhoturile de mere înainte și după liofilizare și după 30 de zile de păstrarea la 4°C

Tabel 6.1. Modelele matematice selectate din literatura de specialitate pentru descrierea curbelor de uscare a produselor agricole

Table 6.2. Rezultatele modelării matematice utilizând diferite modele cinetice la uscarea feliiilor de mere

Tabel 6.3. Valorile coeficientului de difuzie efectivă a umidității (D_{eff}) și a energiei de activare (E_a) a probelor de felii de mere

Tabel 6.4. Parametrii de culoare ai probelor de felii de mere proaspete și uscate

Tabel 6.5. Proprietățile texturale ale snacks-urilor din mere

Tabel 6.6. Analiza senzorială a probelor de felii de mere proaspete și uscate

Tabel 6.7. Indicele de acceptabilitate a caracteristicilor senzoriale ale snacks-urilor din mere

Tabel 6.8. Activitatea antioxidantă a snacks-urilor din mere

Tabelul 6.9. Profilul polifenolic al snacks-urilor din mere