

**UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI**

Cu titlu de manuscris

CZU 664:663.058.9:536.757:664-4

**Alexei Baerle**

**PROLONGAREA FUNCȚIONALITĂȚII  
COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI  
ÎN COMPOZIȚIILE ALIMENTARE**

**253.06. TEHNOLOGII BIOLOGICE ȘI CHIMICE ÎN INDUSTRIA  
ALIMENTARĂ**

**Teză de doctor habilitat în științe ingineresti**

**Consultant științific:**   
\_\_\_\_\_

**STURZA Rodica,  
dr. hab., prof. univ.  
membră corespondentă AȘM**

**Autor:**   
\_\_\_\_\_

**BAERLE Alexei**

**Chișinău, 2026**

© Baerle Alexei, UTM, 2026

## **Declarația**

privind asumarea răspunderii

Subsemnatul, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

*Alexei BAERLE*



---

23 aprilie 2026

## CUPRINS

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Lista abrevierilor</b>   | <b>6</b>  |
| <b>Lista figurilor</b>  | <b>7</b>  |
| <b>Lista tabelelor</b>  | <b>10</b> |
| <b>Adnotare (în limba română)</b>   | <b>12</b> |
| <b>Adnotation (in English)</b>  | <b>13</b> |
| <b>INTRODUCERE</b>  | <b>14</b> |
| <b>1. PROBLEMELE PROLONGĂRII FUNCȚIONALITĂȚII COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI ÎN SISTEMELE BIOLOGICE ȘI ALIMENTARE</b> | <b>23</b> |
| 1.1. Caracteristica alimentelor funcționale și compușilor biologic activi   | 23        |
| 1.2. Prevenirea oxidării lipidelor în compozițiile de tip AGS / AGNS  | 27        |
| 1.3. Microîncapsularea compușilor biologic activi   | 29        |
| 1.4. Stabilitatea CBA hidrosolubili în faza unor polimeri și în soluții apoase                                    | 38        |
| <b>Concluzii la Capitolul 1</b>   | <b>42</b> |
| <b>2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE</b>  | <b>43</b> |
| 2.1. Caracteristica materiilor prime, biopolimerilor și compușilor biologic activi                                | 43        |
| 2.2. Caracteristica materialelor auxiliare  | 46        |
| 2.3. Metode instrumentale de analiză  | 47        |
| 2.4. Metode de optimizare a fluxului de date  | 49        |
| 2.4.1. Construirea diagramelor ternare $Y = f(X_1, X_2, X_3)$   | 49        |
| 2.4.2. Experimentul Factorial Liniar Binivelar. Analiza ecuațiilor de regresie                                    | 49        |
| 2.4.3. Determinarea polidispersității emulsiilor și suspensiilor  | 50        |
| 2.4.4. Determinarea cantitativă cromatografică a unor CBA   | 51        |
| 2.5. Sisteme de operare și de susținere   | 52        |
| 2.5.1. Sistem de operare a proceselor de filtrare–sorbție–eluare  | 52        |
| 2.5.2. Sistem de susținere a funcționalității cu control electrochimic  | 53        |
| 2.5.3. Sistem pentru studierea biopolimerilor, compozițiilor și microobiectelor                                   | 54        |
| 2.5.4. Sistem de analiză a culorii probelor în baza codificării red-green-blue (RGB)                              | 56        |
| 2.6. Interpretarea statistică a datelor experimentale   | 57        |
| 2.6.1. Estimarea erorilor măsurărilor directe și indirecte  | 57        |
| 2.6.2. Modelare statistică prin analogie. Modelul „bile colorate”   | 58        |
| <b>Concluzii la Capitolul 2</b>   | <b>60</b> |

|             |   |            |
|-------------|---|------------|
| <b>3.</b>   | <b>STABILIZAREA ȘI PROLONGAREA FUNCȚIONALITĂȚII<br/>COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI ÎN SISTEMELE ALIMENTARE</b>                  | <b>61</b>  |
| <b>3.1.</b> | <b>Aspecte ale analizei coloranților alimentari prin<br/>combinarea metodelor spectrale și cromatografice</b>               | <b>61</b>  |
| <b>3.2.</b> | <b>Influența factorilor fizico-chimici asupra stabilității calconilor<br/>în extracte și în sistemele-model</b>             | <b>65</b>  |
|             | 3.2.1. Caracteristicile spectrale ale calconilor galbeni și roșii din șofrănel  | 66         |
|             | 3.2.2. Stabilitatea chinocalconilor „in situ” și „in vitro” în funcție de pH  | 71         |
|             | 3.2.3. Modelarea și analiza cineticii de descompunere a cartaminei  | 75         |
|             | 3.2.4. Influența radiațiilor ultraviolete asupra stabilității calconilor  | 78         |
| <b>3.3.</b> | <b>Influența unor factori specifici asupra prolongării funcționalității lipidelor</b>                                       | <b>79</b>  |
|             | 3.3.1. Prevenirea oxidării lipidelor în sistemele cu antioxidanți   | 80         |
|             | 3.3.2. Prolongarea funcționalității acizilor grași polinesaturați<br>prin încorporarea lor în compozițiile lipidice         | 82         |
|             | 3.3.3. Modelul combinatoric al stabilității structurale a emulsiei A/U tartinabile  | 87         |
| <b>3.4.</b> | <b>Tehnologia de obținere a spread-ului cu acizii grași polinesaturați</b>  | <b>90</b>  |
|             | <b>Concluzii la Capitolul 3</b>   | <b>92</b>  |
| <b>4.</b>   | <b>PROLONGAREA FUNCȚIONALITĂȚII COMPUȘILOR BIOLOGIC<br/>ACTIVI ÎN SISTEMELE ȘI COMPOZIȚIILE CU POLIMERI<br/>FUNCȚIONALI</b> | <b>93</b>  |
| <b>4.1.</b> | <b>Caracteristica chimică și tehnologică a unor biopolimeri</b>   | <b>93</b>  |
|             | 4.1.1. Tehnologie de separare și stabilizare a alginatilor în starea nativă   | 94         |
|             | 4.1.2. Tehnologie de separare și stabilizare a arabinoxilanului<br>și AGPNS din semințe de in                               | 95         |
| <b>4.2.</b> | <b>Stabilizarea coloranților naturali roșii – antocienilor și betaninei:<br/>influența unor biopolimeri funcționali</b>     | <b>97</b>  |
|             | 4.2.1. Impactul biopolimerilor asupra prolongării activității antocienilor și betaninei                                     | 97         |
|             | 4.2.2. Influența biopolimerilor asupra extractului „in situ” de betanină  | 99         |
| <b>4.3.</b> | <b>Structura și proprietățile complexului cartamină-celuloză</b>  | <b>102</b> |
|             | 4.3.1. Studiul cromatografic și peculiaritățile structurale ale chinocalconilor roșii                                       | 102        |
|             | 4.3.2. Stabilitatea complexului cartamină-celuloză:<br>influența temperaturii, indicelui pH și a timpului                   | 105        |
| <b>4.4.</b> | <b>Tehnologia de obținere și prolongarea funcționalității<br/>coloranților chinocalconici</b>                               | <b>117</b> |

|   |            |
|---|------------|
| <b>Concluzii la Capitolul 4</b>   | <b>125</b> |
| <b>5. PROLONGAREA FUNCȚIONALITĂȚII COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI PRIN MICROÎNCAPSULARE</b>     | <b>126</b> |
| <b>5.1. Modelarea mecanismului adsorbției gelatinei pe interfața U/A</b>                    | <b>126</b> |
| <b>5.2. Elaborarea și interpretarea diagramei de stare a sistemului gelatină-poliuronat</b> | <b>131</b> |
| <b>5.3. Tehnologia microîncapsulării CBA și controlul stabilității microcapsulelor</b>      | <b>136</b> |
| 5.3.1. Formarea și consolidarea pereților microcapsulelor                                   | 138        |
| 5.3.2. Schema tehnologică a microîncapsulării lipidelor cu CBA în stare lichidă             | 142        |
| 5.3.3. Stabilitatea agregativă a microcapsulelor în câmpul electroforetic                   | 144        |
| 5.3.4. Comportamentul microcapsulelor în modelul sistemului digestiv uman                   | 147        |
| <b>5.4. Tehnologia unor produse lactate cu AGPNS și carotene microîncapsulate</b>           | <b>149</b> |
| <b>Concluzii la Capitolul 5</b>   | <b>154</b> |
| <b>6. ASPECTE ALE TERMODINAMICII COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI</b>                             | <b>155</b> |
| <b>6.1. Model matematic de stabilizare a compușilor nutritivi și biologic activi</b>        | <b>155</b> |
| <b>6.2. Organizarea structurală ca factor de stabilizare a compușilor biologic activi</b>   | <b>164</b> |
| <b>6.3. Organizarea structurală și costul entropic al sistemelor cu microcapsule</b>        | <b>171</b> |
| <b>Concluzii la Capitolul 6</b>   | <b>178</b> |
| <b>CONCLUZII GENERALE</b>   | <b>179</b> |
| <b>RECOMANDĂRI</b>  | <b>182</b> |
| <b>Bibliografie</b>   | <b>183</b> |

## LISTA ABREVIERILOR

|                        |  |
|------------------------|--|
| AAS                    | Agent activ de suprafață   |
| AGMNS                  | Acizi grași mononesaturați   |
| AGPNS                  | Acizi grași polinesaturați   |
| AGS, AGNS              | Acizi grași saturați; Acizi grași nesaturați                             |
| AHSYB                  | Galben deshidratat „A” de șofrănel („Anhydrosafflor Yellow A”)           |
| Alg, HAlg, NaAlg       | Alginat, acid alginic, alginat de sodiu                                  |
| APV                    | Alcool polivinilic   |
| A/U, U/A               | (emulsie) apă în ulei, ulei în apă                                       |
| BS                     | Biosinteză   |
| CBA                    | Compuși biologic activi  |
| CS, CC                 | Coacervare simplă, coacervare complexă                                   |
| CCC                    | Complex Cartamină-Celuloză   |
| CEP                    | Control electrochimic al proceselor                                      |
| Crt; iCrt; pCrt; hCrt  | Cartamină; izo-Cartamină; Precartamină; Hidrocartamină                   |
| DCPA                   | Doza colorant în produsul alimentar                                      |
| EE <sub>BS</sub>       | Eficacitatea acumulării energiei prin biosinteză                         |
| EFCVU                  | Extract de frunze de ceai verde în ulei                                  |
| EtOH; MeOH             | Alcool etilic, etanol; alcool metilic, metanol                           |
| FA                     | Fibre alimentare   |
| FB                     | Strat fluidizat („Fluid Bed”)  |
| FD                     | Liofilizare („Freeze-Drying”)  |
| FTIR                   | Infraroșu prin transformarea Fourier („Fourier Transformation IR”)       |
| Gel                    | Zwitter-ion de Gelatină (cu indicarea sarcinii)                          |
| GelAlg                 | Gelatină-Alginat (cu indicarea sarcinii)                                 |
| GelHur                 | Gelatină-Hialuronat (cu indicarea sarcinii)                              |
| HHur; Hur <sup>-</sup> | Acid hialuronic; anion de hialuronat                                     |
| HSYA                   | Galben hidroxilic „B” de șofrănel („Hydroxysafflor Yellow B”)            |
| HPLC                   | „High Performance Liquid Chromatography”                                 |
| IEP                    | Punctul izoelectric („Isoelectric Point”)                                |
| JRL                    | <i>Juglans regia L.</i>  |
| LE                     | Înglobare lipozomală („Liposomal Entrapment”)                            |
| LL                     | Strat după strat („Layer-by-Layer”)                                      |
| MC                     | Microcapsule   |
| PAI                    | Indice de para-anisidină („Para-Anisidine Index”)                        |
| Palm                   | Acid palmitic; anion de palmitat; palmitat (ester) – <i>după context</i> |
| PET                    | Polietilenglicoltereftalat   |
| PDA sau DAD            | Matricea de fotodiode („Photo Diode Array”, „Diode Array Detector”)      |
| Phen                   | Fenilalanină („Phenylalanine”)   |
| PN                     | Indice de peroxid („Peroxid number”)                                     |
| PTFE                   | Politetrafluoroetilenă   |
| PVA                    | Poliacetat de vinil  |
| SC                     | Pulverizare la rece („Spray Cooling”)                                    |
| SD                     | Uscare prin pulverizare („Spray Drying”)                                 |
| SDU                    | Sistem digestiv uman   |
| SSF                    | Sistem de susținere a funcționalității                                   |
| SU                     | Substanțe uscate   |
| TLC                    | Cromatografie în strat subțire („Thin Layer Chromatography”)             |
| t <sub>R</sub>         | Timp de retenție   |
| UMV                    | Ulei microîncapsulat vitaminizat   |

## LISTA FIGURILOR

|                     |   |    |
|---------------------|---|----|
| <b>Figura 1.1.</b>  | Barierile privind implementarea nano- și microcapsulelor  | 30 |
| <b>Figura 1.2.</b>  | Structura dendrimerului 3D  | 33 |
| <b>Figura 1.3.</b>  | Mecanismul biosintezei chinocalconilor galbeni și roșii   | 38 |
| <b>Figura 1.4.</b>  | Echilibrul acido-bazic al formelor colorate de antocieni  | 39 |
| <b>Figura 1.5.</b>  | Mecanismul formării / hidrolizei antocienilor în faza sulfocationitului   | 39 |
| <b>Figura 1.6.</b>  | Stabilizarea prin blocarea echilibrului ceto-enolic   | 41 |
| <b>Figura 2.1.</b>  | Triunghi Roseboom cu 10 compoziții experimentale ternare  | 49 |
| <b>Figura 2.2.</b>  | Schema spațiului factorial „real” și imaginar   | 49 |
| <b>Figura 2.3.</b>  | Sistem de operare a proceselor de filtrare–sorbtie–eluare   | 52 |
| <b>Figura 2.4.</b>  | Schema sistemului de susținere a funcționalității SSF-MC-CEP  | 53 |
| <b>Figura 2.5.</b>  | Schema sistemului electroforetic p/u studierea particulelor coloidale și MC   | 55 |
| <b>Figura 2.6.</b>  | Corelarea dintre sistemele de coordonate cromatice CIELab și RGB  | 56 |
| <b>Figura 2.7.</b>  | Sistem de determinare a codului RGB pentru probele umede  | 56 |
| <b>Figura 2.8.</b>  | Legitățile repartizării probabilității termodinamice $P^{\%} = f(n)$ în sistemele-model                               | 59 |
| <b>Figura 3.1.</b>  | Spectrele UV-Vis ale sistemelor-model cu coloranți alimentari   | 61 |
| <b>Figura 3.2.</b>  | Modificarea spectrelor extractului de hidrocartamină<br>extrasă din faza celulozei microcristaline în funcție de timp | 62 |
| <b>Figura 3.3.</b>  | Schema analizei TLC => UV Vis   | 63 |
| <b>Figura 3.4.</b>  | Spectrele Cianidin-3-O-Glucozidei din extractul de mure   | 64 |
| <b>Figura 3.5.</b>  | Cromatograma 3D a amestecului de pigmenți galbeni din Șofrănel  | 66 |
| <b>Figura 3.6.</b>  | Grupele cromofore de reper din structura chinocalconilor  | 67 |
| <b>Figura 3.7.</b>  | Spectrele UV-Vis ale extractului apos ACCG la diferite valori ale pH  | 67 |
| <b>Figura 3.8.</b>  | Spectrele UV-Vis ale cartaminei în soluțiile apoase   | 68 |
| <b>Figura 3.9.</b>  | Spectrele PDA ale calconilor individuali din șofrănel   | 68 |
| <b>Figura 3.10.</b> | Extincțiile molare ale calconilor în soluțiile apoase în funcție de pH  | 69 |
| <b>Figura 3.11.</b> | Deplasările maximului de absorbție în amestecul de chinocalconi galbeni   | 72 |
| <b>Figura 3.12.</b> | Labilitatea structurală a cartaminei (cu structura plată la pH = 2,0...6,0)   | 73 |
| <b>Figura 3.13.</b> | Hidratarea cartaminei roșii cu formarea hidrocartaminei galbene   | 73 |
| <b>Figura 3.14.</b> | HPLC și spectrele UV-VIS/PDA a doi chinocalconi izomeri: iCrt și Crt  | 74 |
| <b>Figura 3.15.</b> | Descompunerea cartaminei în soluții-model   | 76 |
| <b>Figura 3.16.</b> | Descompunerea cartaminei în soluții apoase  | 77 |
| <b>Figura 3.17.</b> | Spectre UV ale uleiurilor vegetale. Raport ulei : hexan – 1 : 80  | 80 |

|                     |   |     |
|---------------------|---|-----|
| <b>Figura 3.18.</b> | Activitatea antioxidantilor în unitățile coeficienților regresionali                            | 82  |
| <b>Figura 3.19.</b> | Diagrama de topire a sistemului UN-Acid stearic-Acid oleic                                      | 83  |
| <b>Figura 3.20.</b> | Conformație dezordonată a lipidei complexe cu AGNS și AGPNS                                     | 84  |
| <b>Figura 3.21.</b> | Diagramele de stare a sistemului ternar EFCVU–UN–APĂ  | 85  |
| <b>Figura 3.22.</b> | Conformație ordonată a unui trans-AGPNS   | 86  |
| <b>Figura 3.23.</b> | Modelul combinatoric hexagonal al emulsiei trifazice U/W/G                                      | 88  |
| <b>Figura 3.24.</b> | Schema tehnologică de producere a spread-ului funcțional cu lipide $\omega_3$ și $\omega_6$     | 90  |
|                     |   |     |
| <b>Figura 4.1.</b>  | Structura unor biopolimeri-carbohidrați din diferite surse vegetale                             | 93  |
| <b>Figura 4.2.</b>  | Schema tehnologică de obținere a fibrelor de alginat de sodiu și acid alginic                   | 95  |
| <b>Figura 4.3.</b>  | Schema tehnologică de obținere simultană a uleiului de în și a polizaharidelor                  | 96  |
| <b>Figura 4.4.</b>  | Spectrele CyCl și compozițiilor CyCl / HHur-APV-In  | 98  |
| <b>Figura 4.5.</b>  | Influența acidului hialuronic asupra stabilității cianidinei                                    | 101 |
| <b>Figura 4.6.</b>  | Structura calconilor roșii din șofrănel   | 104 |
| <b>Figura 4.7.</b>  | Schema analizei complexe a procesului de degradare a cartaminei                                 | 105 |
| <b>Figura 4.8.</b>  | Analiza extractelor de cartamină din CCC  | 106 |
| <b>Figura 4.9.</b>  | Replica gradului de extracție, $E = f(\text{pH}, \tau)$   | 108 |
| <b>Figura 4.10.</b> | Constantele de viteză ale descompunerii cartaminei <i>in nascendi</i>                           | 109 |
| <b>Figura 4.11.</b> | Echilibrul acido-bazic și virajul culorii cartaminei în faza celulozei și în apă                | 113 |
| <b>Figura 4.12.</b> | Spectrele FTIR-ATR normalizate  | 114 |
| <b>Figura 4.13.</b> | Schema blocării rotirii hidrocartaminei la complexarea cu celuloză                              | 115 |
| <b>Figura 4.14.</b> | Modificările cartaminei în coordonatele spațiului cromatic RGB                                  | 116 |
| <b>Figura 4.15.</b> | Schema tehnologică de producere a coloranților chinocalconici                                   | 119 |
| <b>Figura 4.16.</b> | Coloranți din petale de șofrănel ( <i>Carthamus tinctorius L.</i> )                             | 119 |
| <b>Figura 4.17.</b> | Legătura causală structura => culoare => activitatea biologică a coloranților                   | 120 |
| <b>Figura 4.18.</b> | Scara-etalon pentru dozele coloranților galben și roșu din șofrănel                             | 121 |
| <b>Figura 4.19.</b> | Chinocalconi identificați în iaurt cu ACCG după 7 zile de depozitare                            | 123 |
| <b>Figura 4.20.</b> | Conformație „dezordonată” (lichidă la 20...25°C) a AGPNS  | 124 |
|                     |   |     |
| <b>Figura 5.1.</b>  | Solubilitatea în apă și hidrofilitatea prolinei și hidroxiderivaților ei                        | 127 |
| <b>Figura 5.2.</b>  | Schema de adsorbție a macromoleculei de gelatină pe suprafața picăturii de ulei                 | 130 |
| <b>Figura 5.3.</b>  | Funcții Mark-Hauwink-Sakurada, $\eta_{sp} = f(\omega_{polimer})$                                | 131 |
| <b>Figura 5.4.</b>  | Echilibrul de sedimentare a sistemelor GelAlg   | 132 |
| <b>Figura 5.5.</b>  | Diagrama de fază a sistemului „gelatină-alginat”  | 134 |
| <b>Figura 5.6.</b>  | Formarea structurilor supramoleculare 3D între acidul citric și biopolimeri                     | 137 |
| <b>Figura 5.7.</b>  | Profilul electrochimic al procesului de interacțiune Gelatin- $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Alginat | 138 |

|                     |  |     |
|---------------------|--|-----|
| <b>Figura 5.8.</b>  | Schema tehnologică de obținere a microcapsulelor tip rezervor  | 142 |
| <b>Figura 5.9.</b>  | Microcapsulele cu pereții GelHur după electroforeză  | 145 |
| <b>Figura 5.10.</b> | Distribuțiile statistice ale microcapsulelor în câmpul electroforetic  | 146 |
| <b>Figura 5.11.</b> | Microcapsule stabile cu pereții GelAlg, polidispersitatea lor  | 146 |
| <b>Figura 5.12.</b> | Modelarea părții digestive a sistemului digestiv uman (SDU)  | 147 |
| <b>Figura 5.13.</b> | Distribuția microcapsulelor cu ulei de nuci și stabilitatea la acțiunea mecanică                                       | 148 |
| <b>Figura 5.14.</b> | Microcapsule cu ulei de nucă după simulare în „duoden”   | 149 |
| <b>Figura 5.15.</b> | Schema administrării suspensiei microcapsulelor cu compuși biologic activi   | 150 |
| <b>Figura 5.16.</b> | Produsele acido-lactice cu microcapsule încorporate  | 151 |
|                     |  |     |
| <b>Figura 6.1.</b>  | Corelația dintre sistemul termochimic-biologic-ecosistem   | 155 |
| <b>Figura 6.2.</b>  | Schimbarea masei și compoziției fructului de nucă (cu pericarp)  | 156 |
| <b>Figura 6.3.</b>  | Diagrama entalpică a proceselor de formare, biosinteză și combustie a acidului linoleic (AGPNS)                        | 157 |
| <b>Figura 6.4.</b>  | Diagrama entalpică a proceselor de biosinteză și combustie a glucozei  | 158 |
| <b>Figura 6.5.</b>  | Lucrul specific de biosinteză a compușilor în funcție de $\omega(O)$   | 161 |
| <b>Figura 6.6.</b>  | Dinamica modificării lucrului specific de biosinteză a miezului fructului de nucă (A) și a entropiei de biosinteză (B) | 162 |
| <b>Figura 6.7.</b>  | Entropia eliminată în timpul coacerii fructului de nucă  | 163 |
| <b>Figura 6.8.</b>  | Parcursul compușilor biologic activi   | 164 |
| <b>Figura 6.9.</b>  | Cinetica extracției uleiului din semințe de in ( <i>Linum</i> ) întregi și măcinate                                    | 165 |
| <b>Figura 6.10.</b> | Spectrele FTIR ale peliculelor miezului de nucă și ale celulozei microcristaline                                       | 169 |
| <b>Figura 6.11.</b> | Nivelurile ierarhice de organizare a părților seminței de nucă   | 170 |
| <b>Figura 6.12.</b> | Schema de repartiție a moleculelor de oxigen în sistemul „aer / apă / ulei”  | 172 |
| <b>Figura 6.13.</b> | Influența polidispersității asupra stabilității emulsiilor și microcapsulelor  | 173 |
| <b>Figura 6.14.</b> | Corelația „compoziție => structură => funcție”   | 174 |

## LISTA TABELELOR

|                      |  |     |
|----------------------|--|-----|
| <b>Tabelul 1.1.</b>  | Clasificarea nano- și microcapsulelor  | 32  |
| <b>Tabelul 1.2.</b>  | Metode de asamblare a nano- și microcapsulelor                               | 34  |
| <b>Tabelul 1.3.</b>  | Biopolimeri comestibili pentru designul pereților microcapsulelor            | 36  |
| <b>Tabelul 1.4.</b>  | Domeniile de aplicare a ingredientelor alimentare și CBA microîncapsulați    | 37  |
| <b>Tabelul 2.1.</b>  | Caracteristicile materiilor prime vegetale utilizate pentru obținerea CBA    | 43  |
| <b>Tabelul 2.2.</b>  | Caracteristicile unor biopolimeri comestibili                                | 44  |
| <b>Tabelul 2.3.</b>  | Caracteristicile compușilor biologic activi – coloranților naturali          | 45  |
| <b>Tabelul 2.4.</b>  | Reactivi, substanțe auxiliare și consumabile                                 | 46  |
| <b>Tabelul 2.5.</b>  | Instrumente utilizate și caracteristica scurtă a metodei                     | 47  |
| <b>Tabelul 3.1.</b>  | TLC a coloranților fenolici în unele sisteme de eluare                       | 63  |
| <b>Tabelul 3.2.</b>  | Estimarea concentrațiilor molare ale calconilor în sistemele-model           | 71  |
| <b>Tabelul 3.3.</b>  | Influența radiațiilor ultraviolete asupra componentelor ACCG                 | 78  |
| <b>Tabelul 3.4.</b>  | Influența radiațiilor ultraviolete asupra componentelor CCC                  | 79  |
| <b>Tabelul 3.5.</b>  | Planificarea EFC 23 pentru compozițiile de antioxidanți în uleiul de nuci    | 81  |
| <b>Tabelul 3.6.</b>  | Valorile interfețelor în sistemele U/A/G în baza modelului combinatoric      | 89  |
| <b>Tabelul 3.7.</b>  | Compoziția și termostabilitatea spread-ului cu ulei de nucă                  | 91  |
| <b>Tabelul 4.1.</b>  | Experimentul EFC 2 <sup>3</sup> în sistemele-model „CyCl / HHur-APV-In”      | 97  |
| <b>Tabelul 4.2.</b>  | Experimentul EFC 2 <sup>3</sup> în sistemele-model „Bt / HHur-APV-In”        | 99  |
| <b>Tabelul 4.3.</b>  | Stabilitatea CCC exprimată în ponderea cartaminei intacte în faza celulozei  | 107 |
| <b>Tabelul 4.4.</b>  | Constantele de viteză de descompunere a cartaminei în momentul extracției    | 109 |
| <b>Tabelul 4.5.</b>  | Stabilitatea relativă a cartaminei în faza complexului / în soluție          | 110 |
| <b>Tabelul 4.6.</b>  | Valorile RGB ale soluțiilor de cartamină și ale CCC umed                     | 111 |
| <b>Tabelul 4.7.</b>  | Influența temperaturii și timpului asupra raportului Crt/iCrt în CCC uscat   | 117 |
| <b>Tabelul 4.8.</b>  | Parametrii programați ai sistemului de producere a coloranților calconici    | 118 |
| <b>Tabelul 4.9.</b>  | Parametrii CIELab și fizico-chimici ai mostrelor de iaurt cu ACCG            | 122 |
| <b>Tabelul 4.10.</b> | Valorile parametrilor cromatici CIELab ai iaurturilor cu coloranți           | 123 |
| <b>Tabelul 4.11.</b> | Chinocalconi galbeni detectați în iaurt cu adaos de 0,4% ACCG                | 124 |
| <b>Tabelul 5.1.</b>  | Compoziția gelatinei și conținutul recalculat de grupări laterale            | 128 |
| <b>Tabelul 5.2.</b>  | Tipuri de coloizi și ζ-potențiale ale solurilor în sistemul Gelatină-Alginat | 132 |
| <b>Tabelul 5.3.</b>  | Parametrii complexului neutru GelAlg <sup>0</sup> la diferite pH             | 133 |

|                     |  |     |
|---------------------|--|-----|
| <b>Tabelul 5.4.</b> | Interacțiunea factorilor de influență în procesul de formare a MC tip rezervor                 | 137 |
| <b>Tabelul 5.5.</b> | Influența concentrației $\text{Na}_2\text{SO}_4$ asupra ponderii peretelui în microcapsulă     | 140 |
| <b>Tabelul 5.6.</b> | Parametrii polidispersității microcapsulelor <i>in nascendi</i> cu pereții GelHur              | 144 |
| <b>Tabelul 5.7.</b> | Zonele sistemului digestiv uman  | 147 |
| <b>Tabelul 5.8.</b> | Caracteristicile microcapsulelor cu ulei microîncapsulat vitaminizat                           | 151 |
| <b>Tabelul 5.9.</b> | Caracteristicile produselor acido-lactice înainte și după introducerea microcapsulelor         | 152 |
| <b>Tabelul 6.1.</b> | Constantele termodinamice ale unor nutrienți și CBA  | 159 |
| <b>Tabelul 6.2.</b> | Parametrii termodinamici de bază pentru clasele compușilor nutritivi                           | 160 |
| <b>Tabelul 6.3.</b> | Calculul entropiei informaționale Shannon pentru un spread trifazic U/A/G                      | 168 |
| <b>Tabelul 6.4.</b> | Estimarea valorii $\Delta S_{\text{proces}}$ la obținerea microcapsulelor prin diferite metode | 176 |

## ADNOTARE

**BAERLE Alexei:** „Prolongarea funcționalității compușilor biologici activi în compozițiile alimentare”. Teză de doctor habilitat în științe ingineresti. Chișinău, 2026.

**Structura tezei:** adnotare (RO, EN), introducere, 6 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie din 424 titluri, 169 pagini text de bază, 88 figuri și 40 tabele. Rezultatele obținute au fost publicate în 48 de lucrări științifice dintre care: 1 monografie; 4 capitole în monografie colectivă; 5 articole clasate în baze Web of Science, PubMed, Scopus, 8 articole recunoscute de ANACEC în reviste de categoria B<sup>+</sup>, 9 brevete de invenție naționale.

**Domeniul de studii:** 253.06 – Tehnologii biologice și chimice în industria alimentară.

**Cuvinte-cheie:** antocieni, betanină, biopolimeri, chinocalconi, combinatorică, control entropic, diagrame de stare, funcții termodinamice, lipide polinesaturate, microîncapsulare, modelare matematică, produse acido-lactice, stabilitate sisteme biologice.

**Scopul lucrării:** elaborarea și validarea strategiilor inovatoare de prolongare a funcționalității CBA, integrarea metodelor instrumentale clasice și moderne de cercetare, dezvoltarea modelelor termodinamice, statistice și combinatorice, elaborarea procedeelelor brevetabile de extracție a biopolimerilor funcționali, de microîncapsulare a lipidelor și vitaminelor liposolubile, de complexare a coloranților cu biopolimeri, monitorizarea și controlul parametrilor fizico-chimici ai proceselor tehnologice relevante pentru industria alimentară.

**Obiectivele:** precizarea mecanismelor de stabilizare a CBA sub acțiunea factorilor fizico-chimici și mecanici; optimizarea procedeelelor de separare a CBA din surse vegetale; adaptarea metodelor instrumentale pentru monitorizarea funcționalității CBA în sistemele alimentare; modelarea combinatorică și statistică a sistemelor polifazice; identificarea interacțiunilor biopolimer-CBA; validarea aplicabilității CBA cu activitate prolongată; adaptarea tehnologică a coloranților naturali în produsele fermentate; analiza rolului fenomenelor fizico-chimice, elaborarea tehnologiei de microîncapsulare; demonstrarea aspectului termodinamic al biosintezei, stabilirea legăturii cauzale dintre termodinamica acumulării CBA și maximizarea valorii alimentelor; brevetarea procedeelelor și schemelor tehnologice de prolongare a activității funcționale a CBA în alimente.

**Noutatea și originalitatea:** în premieră, prolongarea funcționalității CBA în alimente este reprezentată ca replică a controlului entropic al proceselor: asamblarea ierarhiilor, îndepărtarea compușilor destabilizanți, sinergia antioxidanților, complexarea CBA cu biopolimeri, formarea microstructurilor. Noutatea se manifestă prin: 1) propunerea unor protocoale de cercetare noi: controlul electrochimic al microîncapsulării, analiza polidispersității, determinarea profilului RGB, utilizarea hibridă a tehnicilor instrumentale și a modelărilor statistico-matematice; 2) elaborarea modelelor integrate care combină analiza chimică cu simularea proceselor; 3) definirea unor parametri de evaluare a calității alimentelor raportați la funcționalitatea CBA.

**Rezultatele obținute:** ecuații de regresie, modele termodinamice, combinatorice, statistice; descifrările spectrelor (UV-Vis, FTIR-ATR) și cromatogramelor HPLC/PDA; profiluri cromatice CIELab și RGB; diagramele de stare ale compozițiilor proteină-poliuronat, emulsiilor U/A/U; mecanismele de stabilizare a compozițiilor biopolimer-colorant-apă.

**Semnificația teoretică:** clarificarea argumentată a unor aspecte controversate ale termodinamicii sistemelor biologice, elucidarea cauzelor eficacității scăzute și potențialului limitat al unor metode tradiționale de asigurare a activității funcționale a CBA, elaborarea noilor sisteme de operare și de asigurare a prolongării funcționalității CBA din compozițiile alimentare, elucidarea mecanismelor de stabilizare a CBA în diferite compoziții cu grad de structurizare ridicat.

**Valoarea aplicativă:** rezultatele sunt valoroase pentru crearea alimentelor funcționale, evaluarea stabilității CBA și monitorizarea calității alimentelor, contribuind la dezvoltarea tehnologiilor alimentare eficiente și produse de înaltă calitate, la consolidarea infrastructurii de cercetare și a parteneriatelor UTM-industrie, precum și la creșterea competitivității pe piața europeană.

**Implementarea rezultatelor științifice:** rezultatele au fost implementate în cursul Chimie fizică și Biochimia plantelor. La tema tezei au fost eliberate 9 brevete de invenție.

## ADNOTATION

**BAERLE Alexei: “Prolonging the Functionality of Biologically Active Compounds in Food Compositions”. Doctor Habilitatus Thesis in Engineering Sciences. Chişinău, 2026.**

**Thesis structure:** Abstract (RO, EN), Introduction, 6 Chapters, General Conclusions and Recommendations, Bibliography of 424 titles. The core text of the Thesis comprises 169 pages and includes 88 figures and 40 tables. The results have been published in 48 scientific papers, including: 1 monograph; 1 edited volume (4 chapters); 5 articles indexed in Web of Science, PubMed, Scopus; 8 articles recognized by NAQAER (ANACEC); 9 patents.

**Field of study:** 253.06 – Biological and chemical technologies in the food industry.

**Keywords:** anthocyanins, betanin, biopolymers, chalcones, combinatorics, fermented dairy products, entropy control, mathematical modeling, microencapsulation, phase diagrams, polyunsaturated lipids, stability of biological systems, thermodynamic functions.

**Research goal:** To elaborate and to validate innovative strategies for prolonging the functionality of biologically active compounds (BAC), through the integration of classical and modern instrumental methods by development of thermodynamic, statistical and combinatorial models, the design of patentable procedures for extracting of functional biopolymers, microencapsulation of lipids and fat-soluble vitamins, complexing pigments with biopolymers, as well as for monitoring of physico-chemical parameters relevant to food processing technologies.

**Objectives:** Clarify the mechanisms of BAC stabilization under physico-chemical and mechanical factors; to optimize extraction/separation procedures of BAC from vegetal sources; to adapt instrumental methods for monitoring BAC functionality in food systems; apply combinatorial and statistical modeling for multiphase systems; to identify biopolymer-BAC interactions; to validate the applicability of long-acting BAC; to develop technological solutions for the use of natural colorants in fermented foods; to analyze the role of physico-chemical phenomena in stabilization; to elaborate the microencapsulation technology; to demonstrate biosynthesis thermodynamic; to establish the causal link between thermodynamics of BAC accumulation and the maximization of food value; patent technological schemes for prolongation of foods functional activity.

**Scientific novelty and originality.** Here, the prolongation of BAC functionality in foods is represented as a counterpart of entropic control: hierarchization; removal of destabilizing compounds; antioxidant synergism; BAC-polymer complexation; microstructure formation. The points of novelty are: (1) new research protocols: electrochemical control of microencapsulation, polydispersity analysis, RGB profile determination, the hybrid use of instrumental techniques and mathematical modeling; (2) the development of models combining chemical analysis and process simulation; (3) the evaluation of food quality in relation to BAC functionality.

**Results obtained.** Regression equations, thermodynamic parameters, statistical and combinatorial models; interpretation of UV-Vis, FTIR-ATR spectra and HPLC/PDA chromatograms; CIELab and RGB chromatic profiles; phase diagrams of protein-polyuronate compositions and W/O/W emulsions; stabilization mechanisms of biopolymer-pigment-water systems.

**Theoretical significance:** Reasoned clarification of certain controversial aspects in the thermodynamics of biological systems; demonstration of the usefulness of thought experiments in the study of food compositions; analysis of the limited efficacy of traditional methods for maintaining BAC functionality; elaboration of new operational systems and technological approaches to ensure extended functionality of BAC in food compositions; elucidation of stabilization mechanisms in structured systems.

**Practical value:** The results support the development of functional foods, the evaluation of BAC stability, and food quality monitoring, contributing to more efficient food technologies and high-quality products, strengthening research infrastructure and TUM-industry partnerships, and increasing the competitiveness of the Republic of Moldova on the European market.

**Implementation of scientific results:** Some results were implemented in the course “Physical Chemistry”, “Biochemistry”. A 9 invention patents were granted based on the thesis topics.

## INTRODUCERE

**Actualitatea și importanța temei abordate.** La nivel global s-a schimbat profund profilul bolilor cronice, marcând o tranziție de la bolile infecțioase la cele cronice netransmisibile, precum obezitatea, diabetul zaharat, bolile cardiovasculare și unele forme de cancer (1). Aceste afecțiuni sunt în strânsă legătură cu alimentația dezechilibrată, săracă în compuși biologic activi benefici și bogată în aditivi artificiali, grăsimi oxidate, zaharuri și alte ingrediente cu valoare fiziologică redusă. Se consideră că un consum de alimente care conțin compuși biologic activi influențează pozitiv procesele biochimice, contribuind la menținerea sănătății consumatorului, prevenind apariția sau cel puțin ajutând a tolera unele probleme de sănătate (2). Devine tot mai clară necesitatea unei reconfigurări a paradigmei alimentare prin dezvoltarea și integrarea pe scară largă a alimentelor cu activitate biologică demonstrată, care să contribuie activ la prevenirea și ameliorarea riscurilor pentru sănătate (3). Compușii biologic activi (CBA) din care fac parte coloranții de origine vegetală (antocieni, betalaine, chinocalconi), acizii grași polinesaturați, fibrele solubile și insolubile, oligozaharidele funcționale exercită roluri esențiale în susținerea sănătății fiziologice și în reducerea stresului oxidativ, a inflamației cronice și a dezechilibrelor microbiotei intestinale. Însă provocarea majoră constă în instabilitatea acestor compuși în condițiile de procesare, depozitare și digestie, ceea ce reduce semnificativ eficiența lor în alimentele procesate (4). Astfel, tema cercetării devine de actualitate critică, întrucât propune soluții științifice și tehnologice inovatoare pentru prolongarea funcționalității compușilor biologic activi în diverse sisteme alimentare. Pe baza unor modele termodinamice și combinatorice s-au identificat limitele procedurilor clasice de stabilizare (inclusiv a utilizării antioxidanților sintetici), fiind propuse abordări alternative: microîncapsularea multifazică, **complexarea** cu biopolimeri, reorganizarea fazelor apoase și reducerea activității apei, toate având ca scop conservarea activității biochimice și protecția compușilor sensibili în matricea alimentară. În cercetare au fost utilizate metode experimentale performante printre care se numără spectroscopia UV-Vis și HPLC cu detecție PDA aplicate sinergic, analiza profilului cromatic „Red-Green-Blue”, elaborarea și analiza diagramelor de stare a sistemelor polifazice, tehnici electrochimice pentru controlul în timp real al proceselor de microîncapsulare, precum și estimarea efectelor economico-entropice și exergonice (5), (6). Aceste metode au fost selectate datorită caracterului lor inovator, cât și capacității de a răspunde cerințelor complexe legate de stabilitatea, compatibilitatea reciprocă și eficiența livrării compușilor bioactivi în matricea alimentară. Ele au permis monitorizarea precisă și reproductibilă a comportamentului CBA în condiții reale sau simulate, contribuind astfel la fundamentarea deciziilor tehnologice.

Elaborarea de tehnologii brevetabile cum ar fi microcapsulele de tip rezervor cu pereți bistratificați gelatină–poliuronat, a spread-ului vegetal cu structură Ulei / Apă / Aer și a iaurturilor îmbogățite cu coloranți naturali contribuie la extinderea portofoliului de produse funcționale viabile din punct de vedere industrial.

Cercetările efectuate oferă perspective concrete pentru valorificarea surselor vegetale locale, precum semințele de in, sfecla roșie și șofrănelul, susținând astfel diversificarea agriculturii autohtone și reducerea dependenței de materii prime și ingrediente importate în conformitate cu principiile bioeconomiei circulare și sustenabilității agroalimentare.

Actualitatea temei este consolidată și de alinierea Republicii Moldova la prioritățile Uniunii Europene în materie de sănătate publică, siguranță alimentară și sustenabilitate, în special prin încurajarea eliminării treptate a aditivilor sintetici și promovarea ingredientelor naturale cu valoare funcțională demonstrată (7), (8). Integrarea inovației științifice în industria alimentară, susținută de politici publice active, cercetare aplicativă și parteneriate intersectoriale, reprezintă una dintre direcțiile strategice pentru dezvoltarea economică a Republicii Moldova și încadrarea în spațiul comun european (9).

Tema cercetării se axează pe direcțiile de cercetare din aria științei și tehnologiei alimentare realizate la Universitatea Tehnică a Moldovei (10), (11). Conținutul tezei propune instrumente concrete, testate și transferabile pentru dezvoltarea unei noi generații de produse alimentare funcționale capabile să contribuie la diversificarea producției agroalimentare și ameliorarea sănătății populației.

**Scopul lucrării (obiectiv-cadru):** elaborarea și validarea unor strategii științifice și tehnologice inovatoare de prolongare a funcționalității compușilor biologic activi în sistemele-model și compozițiile alimentare prin integrarea metodelor instrumentale clasice și moderne de cercetare, dezvoltarea de modele matematice (termodinamice, statistice și combinatorice), elaborarea metodelor de extracție a biopolimerilor cu proprietăți funcționale, de microîncapsulare a lipidelor și vitaminelor liposolubile, de complexare a coloranților naturali cu biopolimeri, monitorizarea și controlul parametrilor fizico-chimici ai proceselor tehnologice relevante pentru industria alimentară.

**Obiective:** în vederea realizării obiectivului-cadru au fost formulate obiective operaționale, care au determinat metodologia de cercetare și structura prezentei lucrări:

1. Precizarea mecanismelor de destabilizare și de stabilizare a CBA sub acțiunea factorilor fizico-chimici (pH, temperatură, durată, razele UV) și mecanici.

2. Dezvoltarea și adaptarea metodelor analitice avansate (spectroscopiile UV-Vis și FTIR, HPLC-PDA, metode electrochimice, metode hibride) pentru monitorizarea în timp real a integrității și activității funcționale a CBA în sistemele alimentare-model și reale.
3. Optimizarea procedeeelor de extracție și purificare pentru obținerea CBA din surse vegetale, menținerea integrității lor structurale și valorii funcționale în produsele alimentare.
4. Elaborarea și modelarea termodinamică, combinatorică și statistică a sistemelor polifazice – sistemelor Apă/Ulei/Aer, microcapsulelor, obținerea produselor funcționale lipidice și acido-lactice cu un conținut optimizat de acizi grași polinesaturați și structură stabilă.
5. Studiarea și aplicarea biopolimerilor alimentari (alginat, arabinoxilan, acid hialuronic, celuloză microcristalină, inulină) ca agenți activi de stabilizare a coloranților naturali, inclusiv prin identificarea și explicarea interacțiunilor benefice sau destabilizante.
6. Obținerea și validarea aplicabilității unor suplimente alimentare noi cu stabilitate ridicată și activitate prolongată în mediile caracteristice produselor alimentare.
7. Adaptarea tehnologică a coloranților naturali în unele produse fermentate în scopul înlocuirii coloranților sintetici cu coloranți naturali compatibili senzorial.
8. Precizarea și analiza critică a rolului unor fenomene fizico-chimice, care fac parte din procesul de microîncapsulare în vederea eficientizării tehnologiei de microîncapsulare a CBA.
9. Demonstrarea aspectului termodinamic al biosintezei CBA în plante, stabilirea legăturii cauzale dintre termodinamica acumulării CBA și maximizarea valorii alimentelor funcționale.
10. Elaborarea și brevetarea procedeeelor și schemelor tehnologice care asigură prolongarea activității funcționale a compușilor biologic activi în alimente.

**Ipoteza de cercetare.** Se presupune că integrarea strategiilor clasice și moderne de stabilizare a compușilor biologic activi, inclusiv prin modelarea influenței factorilor fizico-chimici, reducerea entropiei sistemului și aplicarea procedurilor de microîncapsulare și complexare cu biopolimeri va conduce la prolongarea funcționalității acestor compuși în produsele alimentare. Totodată, monitorizarea și controlul proceselor prin metode analitice avansate, împreună cu stabilizarea matricei și efectul de livrare țintită vor contribui la conservarea valorii biologice a CBA în condiții reale de procesare și consum.

**Sinteza metodologiei de cercetare și justificare a metodelor alese.** Problema științifică constă în incapacitatea temporară de a explica unele fenomene exclusiv în baza cunoștințelor științifice deja existente (12), neînțelegerea cauzelor unui fenomen sau proces care poate fi înțeles prin elaborarea și realizarea experimentului activ (13). Metodologia aplicată se bazează pe integrarea tehnicilor experimentale, a modelelor matematice și a procedeeelor tehnologice menite să investigheze și să optimizeze stabilitatea compușilor biologic activi (CBA) în sistemele

alimentare complexe. Pentru analiza calitativă și cantitativă a compușilor biologic activi s-au utilizat metode spectroscopice UV-Vis și cromatografia lichidă de înaltă performanță cu detecție fotodiodică, folosind echipamente „Shimadzu LC-2030 3D-Plus” cu detector integrat tip PDA și instrumentul HPLC „Agilent 1260”, cuplat cu detectorul MS „Agilent 6110” (Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Cluj-Napoca, România). Aceste instrumente au fost alese datorită sensibilității ridicate a detectorului PDA la compușii colorați și capacității de a identifica cromoforii coloranților naturali (antocieni, betalaine, chinocalconi).

Controlul morfologiei și polidispersității microcapsulelor a fost realizat printr-o metodă originală bazată pe analiza imagistică, utilizând imagini mărite și tipărite ale suspensiilor de microcapsule în combinație cu calculele statistico-geometrice (volum, diametru mediu, fracție de volum). Această metodă a fost validată pentru emulsii de tip ulei/apă și suspensii cu microcapsule lipidice comestibile, reprezentând o alternativă față de metodele clasice, care implică utilizarea seturilor de site cu orificii de diferite dimensiuni, ceea ce este inaplicabil sistemelor lichide.

Pentru caracterizarea structurii și a interacțiunilor dintre biopolimeri și pigmenți s-au utilizat metode combinate de spectroscopie FTIR-ATR la spectrometrul „Simadzu IR Prestige 21” (Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Cluj-Napoca, România) cu accesoriu ATR din diamant, care permite analiza spectrelor IR a probelor în orice stare de agregare. Analiza cromatică CIELab a fost realizată cu ajutorul analizorului cromatic „Konica Minolta CR-400” (UTM). Aceste analize au permis interpretarea corelației dintre modificările structurale ale produsului și a stabilității coloranților în matricea alimentară polifazică. Totodată, a fost elaborată o metoda nouă de analiză a profilului cromatic în coordonatele RGB, care implică utilizarea aplicațiilor de tip „LuxLightMeter” (stabilirea intensității expoziției) și „ImageColorPicker” (determinarea parametrilor cromatici ai unui pixel din imagine).

În vederea controlului procesului de microîncapsulare a fost elaborat și aplicat un sistem electrochimic de monitorizare, care reprezintă un ansamblu alcătuit din multitester, pH-metru, termostat, dispozitiv de dozare și agitator. Acest sistem integrat permite supravegherea parametrilor-cheie ai procesului de microîncapsulare și excluderea unor etape intermediare (separare sau uscare). Această metodă originală și adaptată la specificul capsulelor de tip rezervor a contribuit la optimizarea consumului de resurse și la creșterea compatibilității microcapsulelor cu produsele lactate fermentate.

Modelarea proceselor de stabilizare și de formulare a sistemelor alimentare a fost realizată prin utilizarea unor modele matematice: termodinamic (au fost calculați parametrii termodinamici de biosinteză ai CBA din diferite clase), statistice (a fost demonstrat rolul și necesitatea păstrării

structurii ierarhice a alimentului pentru prolongarea activității CBA) și combinatorice (au fost analizate și interpretate limitele stabilității sistemelor Ulei / Apă / Aer).

Alegerea metodelor menționate este justificată prin necesitatea cercetărilor atât *in vitro*, cât și în sistemele reale (extracte vegetale, emulsii, produse lactate), precum și de dorința de a obține rezultate statistic justificate, reproductibile, transferabile și extensibile pe scară industrială. În ansamblu, metodologiile utilizate corespund celor mai actuale tendințe în cercetare și oferă un cadru coerent pentru dezvoltarea produselor funcționale inovatoare.

**Importanța teoretică și inovația științifică a lucrării.** Utilizarea complexă a metodelor instrumentale, a analizei sistemice și a modelării matematice a contribuit la evidențierea următoarelor aspecte de importanță teoretică și inovație științifică:

- prolongarea funcționalității CBA în alimente este corelată cu ciclul lor de viață și cu modificările funcțiilor lor termodinamice, în special ale entropiei;
- micșorarea producerii entropiei este unul dintre factorii principali care contribuie la prolongarea funcționalității sistemelor biologice și alimentare;
- controlul producerii entropiei și menținerea sau asamblarea structurilor ierarhice ale sistemelor alimentare constituie pilonii prolongării funcționalității CBA;
- reducerea entropiei sistemelor alimentare poate fi realizată astfel:
  - ✓ îndepărtarea selectivă și amplă a compușilor destabilizanți;
  - ✓ interacțiunea sinergică (complementară) a antioxidanților sintetici și naturali;
  - ✓ complexarea CBA (coloranților) cu biopolimeri comestibili;
  - ✓ formarea de microstructuri ordonate care limitează dezorganizarea sistemică.

În plan metodologic și aplicativ, cercetarea aduce elemente de noutate prin elaborarea și aplicarea unor metode originale, contribuind la definirea unor parametri de evaluare a calității produselor alimentare și la dezvoltarea unui model tehnologic integrat, care combină analiza chimică cu simularea proceselor, orientat spre dezvoltarea alimentelor funcționale cu valoare adăugată pentru sănătatea consumatorului:

- sistem de control electrochimic al microîncapsulării;
- metodă de analiză a polidispersității emulsiilor și suspensiilor de microcapsule;
- diversificarea metodelor de evaluare și creșterea accesibilității determinării profilului cromatic al probelor în diferite stări de agregare;
- utilizarea tehnicilor spectroscopice, HPLC și a modelării statistico-matematice pentru caracterizarea directă și indirectă a stabilității sistemelor alimentare funcționale.

Această abordare conceptuală a permis nu doar interpretarea proceselor de stabilizare a CBA, dar și formularea unor parametri de evaluare a calității produselor alimentare și dezvoltarea unor modele tehnologice integrate orientate spre crearea alimentelor funcționale.

**Valoarea aplicativă a lucrării.** Brevetabilitatea înaltă a rezultatelor obținute sugerează că acestea au valoare aplicativă semnificativă și pot fi utilizate în următoarele direcții:

- dezvoltarea alimentelor funcționale cu CBA stabili (în special lactate fermentate), contribuind la dezvoltarea tehnologiilor alimentare mai eficiente și produse de calitate superioară;
- evaluarea stabilității pigmentilor și antioxidanților în produsele alimentare și utilizarea rezultatelor în platforme digitale și IA de monitorizare a calității alimentelor;
- diversificarea surselor vegetale autohtone prin culturi valoroase (*Carthamus tinctorius*) și elaborarea de politici pentru înlocuirea aditivilor sintetici cu ingrediente naturale;
- consolidarea infrastructurii de cercetare și a parteneriatelor universitate–industrie, contribuind la dezvoltarea colaborării dintre UTM și sectorul agroalimentar;
- creșterea competitivității Republicii Moldova pe piața europeană și consolidarea imaginii ca centru emergent în cercetarea alimentară, precum și promovarea educației alimentare și a alegerii conștiente de către consumatori.

**Aprobarea lucrării la foruri științifice naționale și internaționale.** Rezultatele principale ale tezei au fost comunicate și discutate în cadrul conferințelor naționale și internaționale.

**Conferințe internaționale de peste hotare:** 11<sup>th</sup> International Symposium Euro-Aliment, 2023, Galați, România; Conference Euro-Aliment, the 10th International Symposium, 2021, Galați, România; 16<sup>th</sup> International Conference of Constructive Design and Technological Optimization in Machine Building Field, 2021, Bacău, România; 4th International Scientific Conference Agrobiodiversity Nutrition, Health and Quality of Human and Bees Life, 2019, Nitra, Slovacia.

**Conferințe internaționale desfășurate în Republica Moldova:** International Conference Modern Technologies in The Food Industry, 2022, Chișinău, Republica Moldova; Conferința Intelligent Valorisation of Agro-Food Industrial Wastes, 2021, Chișinău, Republica Moldova; International Conference Modern Technologies in the Food Industry, 2018, Chișinău, Republica Moldova. La fel, rezultatele respectivei teze au fost prezentate și în cadrul conferințelor naționale: Conferința tehnico-științifică a studenților, masteranzilor și doctoranzilor, 2021, Chișinău, Republica Moldova (Diploma de gradul III); Conferința tehnico-

științifică a studenților, masteranzilor și doctoranzilor, 2019, Chișinău, Republica Moldova (Diploma de gradul II); Conferința tehnico-științifică a studenților, masteranzilor și doctoranzilor, 2017, Chișinău, Republica Moldova.

**Rezultatele au fost prezentate și la un șir de saloane de inventică internaționale:** The 7<sup>th</sup> Innovation and Creative Education Fair for Youth ICE-USV (Medalia de bronz); Salonul Internațional al Cercetării Științifice, Inovării și Inventicii PRO INVENT, ediția a XX-a, 26-28 octombrie 2022, Cluj-Napoca, România (Medalia de aur și Diploma de apreciere a Ministerului Sănătății al Republicii Moldova, Agenția Națională pentru Sănătate Publică); International Fair of Innovation and creative Education for Youth, ICE – USV, 5<sup>th</sup> Edition, 28-29 mai 2021, Suceava, România (Medalia de bronz); Expoziția Internațională Specializată INFOINVENT, ediția a XVII-a, 17-20 noiembrie, 2021, Chișinău, Republica Moldova (Medalia de bronz); European Exhibition of Creativity and Innovation, 13th edition - EUROINVENT, 22 mai, 2021, Iași, România (Medalia de aur); The 25<sup>th</sup> International Exhibition of Inventions, INVENTICA, ediția a XXV-a, 23-25 iunie, 2021, Iași, România (Medalia de argint); Salonul Internațional al Cercetării Științifice, Inovării și Inventicii PRO INVENT, ediția a XVIII-a, 18-20 noiembrie, 2020, Cluj-Napoca, România (Diploma de excelență, Medalia de aur și Premiul „Augustin Maior”).

**Publicații la tema tezei:** rezultatele obținute au fost publicate în 48 de lucrări științifice dintre care: 1 monografie; 4 capitole în monografia colectivă elaborată în cadrul Proiectului de Stat 20.80009.5107.09; 5 articole în baze științificometrice Web of Science, PubMed și Scopus; 8 articole în reviste din bazele de date acceptate de către ANACEC. La tema tezei au fost înregistrate 9 brevete de invenție.

**Sumarul capitolelor tezei.** Lucrarea este expusă pe 169 pagini text de bază și include compartimentele: adnotări în limbile română și engleză, introducere, 6 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografia cu 424 referințe. Teza conține 88 figuri și 40 tabele.

**Introducerea** prezintă actualitatea științifică a temei tezei; obiectivul-cadru (scopul) tezei; obiectivele operaționale; ipoteza științifică generală; sinteza și argumentarea metodologiei cercetării; importanța teoretică și noutatea științifică; valoarea aplicativă a lucrării; lista forurilor internaționale și naționale, saloanelor de inventică unde au fost prezentate materialele tezei; caracteristica publicațiilor; sumarul capitolelor; cuvinte-cheie.

În **Capitolul 1, *Problemele prolongării funcționalității compușilor biologic activi în sistemele biologice și alimentare***, sunt expuse caracteristicile și provocările utilizării compușilor biologic activi (CBA) în alimentele funcționale. Se discută originea, diversitatea structurală și clasificarea acestora în funcție de efectele asupra sănătății. Se subliniază lipsa unei terminologii

uniforme și dificultățile legislative privind utilizarea CBA. Este analizată oxidarea lipidelor nesaturate și posibilele metode de prevenire, inclusiv utilizarea antioxidanților și formularea compozițiilor echilibrate AGS/AGPNS. Se atrage atenția asupra riscurilor asociate hidrogenării și se menționează utilizarea pectinei drept component cu efect stabilizator. Se descrie microîncapsularea ca metodă de protecție a CBA, incluzând tipurile de capsule, materialele de perete, tehnicile aplicabile („Spray Drying”, „Layer-by-Layer”, coacervarea etc.) și limitările legate de cost, acceptabilitate și proprietățile senzoriale. Se efectuează clasificarea generală a ingredientelor încapsulate. Se abordează problemele de stabilitate a compușilor hidrosolubili, în special polifenoli și coloranți naturali sub influența pH, a apei, solvenților și biopolimerilor.

**În Capitolul 2, *Materiale și metode de cercetare***, sunt analizate sursele vegetale utilizate pentru obținerea compușilor biologic activi și a biopolimerilor, este dată caracteristica CBA studiată în cadrul tezei. Se prezintă concis metode, procedee și sisteme atât cunoscute, cât și originale de analiză a alimentelor: sistemul de adsorbție/eluție la viteză constantă, instalația pentru analiza sistemelor proteină/polizaharidă prin electroforeză, instalația pentru controlul electrochimic al microîncapsulării, metodă originală de evaluare a polidispersității sistemelor U/A și suspensiilor încapsulate, precum și o metodă accesibilă de determinare cantitativă a profilului cromatic prin analiza RGB. Este argumentată necesitatea utilizării combinate a metodelor instrumentale, matematice, statistice și logice. Dintre metodele instrumentale sunt evidențiate metodele spectroscopice UV-Vis și FTIR, cromatografia HPLC cu detecție PDA considerate adecvate pentru analiza CBA anume datorită structurii specifice a acestora.

**Capitolul 3, *Stabilizarea și prolongarea funcționalității compușilor biologic activi în sistemele alimentare***, abordează strategiile de stabilizare și prolongare a activității compușilor biologic activi – polifenolilor, coloranților naturali, acizilor grași polinesaturați în diverse sisteme model și alimentare. S-a evidențiat rolul esențial al reducerii activității apei în menținerea stabilității acestor compuși atât în sistemele apoase, cât și în cele lipidice. Se aduce în prim-plan vulnerabilitatea coloranților roșii din diferite clase în mediile umede și se argumentează utilizarea calconilor ca alternativă viabilă la antocieni. Deși cartamina este un calcon roșu cu stabilitate cinetică scăzută, capacitatea de a-și menține culoarea roșie într-un interval de pH mai larg decât antocienii constituie un avantaj funcțional important, ce necesită soluții pentru creșterea durabilității în timp. S-a demonstrat că apa favorizează oxidarea acizilor grași polinesaturați, fiind necesară co-structurarea acestora cu alte componente lipidice pentru asigurarea stabilității lor. A fost propusă o schemă tehnologică inovatoare pentru producerea spread-ului vegetal cu structură asemănătoare untului și compoziție echilibrată de acizi grași, în special  $\omega_3$  și  $\omega_6$ .

**Capitolul 4, *Prolongarea funcționalității compușilor biologic activi în sistemele și compozițiile cu polimeri funcționali***, abordează obținerea, caracterizarea și aplicabilitatea biopolimerilor naturali și sintetici în stabilizarea compușilor biologic activi, în special a coloranților naturali roșii în sistemele alimentare. Au fost elaborate tehnologii de extracție și purificare a algiților și arabinoxilanului, demonstrând că structura macromoleculară și grupele funcționale ale biopolimerilor influențează semnificativ stabilitatea pigmentilor din clasele antocienilor, betalainelor și chinocalconilor. Studiile experimentale au evidențiat interacțiuni specifice între biopolimeri și pigmenți cu efecte sinergice sau destabilizatoare, în funcție de natura chimică a partenerilor. S-au remarcat complexe stabile de betanină-acid hialuronic și cartamină–celuloză relevante pentru produsele alimentare. Metodele spectroscopice și analitice (UV-Vis, FTIR, analiza RGB) au fost utilizate pentru evaluarea stabilității cromatice, conducând la dezvoltarea unor compoziții colorante optimizate pentru produsele alimentare acide.

**Capitolul 5, *Prolongarea funcționalității CBA prin microîncapsulare***, descrie mecanismele fizico-chimice de formare a microcapsulelor lipidice cu accent pe revizuirea critică a modelului clasic de coacervare și propunerea unui nou mecanism bazat pe adsorbție și interacțiuni electrostatice moderate. A fost demonstrată importanța sarcinii electrice și a structurii stratului dublu în stabilitatea agregativă a pereților biopolimerici, precum și rolul punctului izoelectric în comportamentul complexelor gelatină-acid poliuronic. S-a elaborat o tehnologie optimizată de microîncapsulare a AGPNS în stare lichidă, care include controlul electrochimic integrat, reduce consumul de resurse și asigură formarea microcapsulelor de tip rezervor. Sunt prezentate rezultatele încorporării microcapsulelor în produse alimentare acido-lactice (chefir, smântână). Se discută rezultatele testării microcapsulelor în condiții simulate ale tractului gastrointestinal, eficiența microcapsulelor pentru eliberarea controlată a CBA.

În **Capitolul 6, *Aspecte ale termodinamicii compușilor biologic activi***, se discută fundamentele termodinamice ale biosintezei, stabilității și valorificării compușilor biologic activi din materii prime vegetale în scopul optimizării conținutului funcțional al produselor alimentare. A fost argumentată termodinamic importanța sincronizării momentului recoltării și condițiile favorabile din punct de vedere energetic și exergonic, precum și necesitatea păstrării organizării structurale a materiei prime vegetale pentru prevenirea proceselor de degradare a CBA. Se discută aspectele compatibilității chimice și structurale între componentele alimentare. S-a evidențiat rolul controlului entropiei în operațiile de procesare, ce asigură prolongarea funcționalității CBA.

**Cuvinte-cheie:** *antocieni, betanină, biopolimeri, chinocalconi, combinatorică, diagrame de stare, funcții termodinamice, entropie, lipide polinesaturate, microîncapsulare, modelare matematică, produse acido-lactice, stabilitate sisteme biologice.*

## **Capitolul 1. PROBLEMELE PROLONGĂRII FUNCȚIONALITĂȚII COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI ÎN SISTEMELE BIOLOGICE ȘI ALIMENTARE**

CBA reprezintă un grup de compuși din diferite clase de interes științific multidisciplinar, fiind investigați din perspectivele biologiei, chimiei, farmacologiei, veterinariiei, alimentației și nutriției (14). În industria alimentară, compuși biologic activi sunt în general utilizați fie ca suplimente alimentare, fie ca ingrediente în compoziții alimentare funcționale, care combină proprietățile nutritive cu cele fiziologice (15). Activitatea biologică a acestor compuși nu se limitează la un efect nutritiv convențional, ci implică influența asupra unor procese fiziologice esențiale din organismul uman la concentrații foarte mici (16). Activitatea intensă la doze mici diferențiază compuși biologic activi de nutrienți de bază cu funcții energetice și de construcție.

CBA sunt predominant compuși de origine biogenă, mai rar artificială sau sintetică, care au capacitatea de a modula funcții fiziologice, fără ca efectul lor să fie neapărat benefic. Nu toate substanțele cu activitate biologică pot fi considerate favorabile sănătății. În această privință, includerea în unele surse a pesticidelor, erbicidelor sau chiar a agenților chimici de război în categoria compușilor biologic activi apare ca fiind științific discutabilă (17), (18).

Un alt aspect relevant este sursa de proveniență a CBA. În timp ce unele specii precum *Camellia sinensis* (ceaiul verde) au devenit în unele culturi alimentare parte integrantă a alimentației zilnice, majoritatea plantelor medicinale bogate în CBA nu sunt utilizate tradițional ca alimente, ci la necesitate, în calitate de remedii (19). Diversitatea botanică implică existența multitudini de CBA naturali, care rămân neinvestigați din perspectiva valorificării lor în alimente funcționale. Lipsa unei definiții clare a compușilor biologic activi, împreună cu neînțelegerile legate de statutul bioactiv sau nutritiv al proteinelor, fibrelor alimentare și polizaharidelor, subliniază necesitatea unei armonizări conceptuale. Neuniformitate terminologică existentă afectează nu doar cercetarea științifică de bază, ci și elaborarea reglementărilor pentru utilizarea CBA în alimentele funcționale moderne (20).

### **1.1. Caracteristica alimentelor funcționale și compușilor biologic activi**

Alimentele funcționale sunt concepute pentru a furniza beneficii suplimentare pentru sănătate, cum ar fi prevenirea bolilor cronice sau îmbunătățirea funcțiilor fiziologice (20). Pe lângă valoarea nutrițională și energetică, alimentele funcționale conțin CBA în cantități suficiente, care sunt capabile să asigure efecte pozitive asupra organismului și să contribuie la păstrarea sănătății

și creșterea calității vieții (21), (22). Totodată, la alimentele funcționale se atribuie alimentele cu un conținut de organisme probiotice, având acțiune benefică (11).

Elaborarea și comercializarea alimentelor funcționale implică un set de aspecte legislative, economice, senzoriale și educaționale. Validarea funcționalității alimentelor presupune desfășurarea studiilor clinice costisitoare și consumatoare de timp, ceea ce limitează implementarea produselor funcționale pe scară largă (23). Compușii biologic activi necaracteristici produsului funcțional modifică textura sau gustul produselor (24). Percepția și inteligența consumatorilor are un rol esențial în succesul comercial al produselor funcționale. Consumatorii deseori percep mențiunile de sănătate ca pe un artificiu de marketing, iar nivelul redus de educație și lipsa cunoștințelor științifice influențează negativ gradul de acceptare (25).

Alimentele funcționale trebuie să respecte reglementări de siguranță, etichetare și validarea afirmațiilor de sănătate. Birocrația și lipsa armonizării legislative pot întârzia lansarea produselor pe piață (26). Costurile de producție ale alimentelor funcționale includ cheltuieli pentru ingrediente, cercetare, certificare și marketing, ceea ce duce la un preț final majorat și la o concurență defavorabilă față de produsele tradiționale (27).

Compușii biologic activi cu efecte benefice asupra organismului uman cuprind diferite clase de compuși naturali de origine horticolă și animalieră din ce în ce mai non-convenționali (28) (29), precum și analogii lor structurali obținuți pe cale de sinteză chimică (30):

- ✓ proteinele biogene și aminoacizii esențiali (L-valină, L-leucină, L-fenilalanină etc.);
- ✓ acizii grași polinesaturați esențiali (linoleic  $C_{18:2, \omega_6}$ ; linolenic  $C_{18:3, \omega_3}$ ; arahidonic  $C_{20:4, \omega_6}$ ; eicosapentaenoic  $C_{20:5, \omega_3}$ ; docosahexaenoic  $C_{22:6, \omega_3}$  etc.);
- ✓ enzimele și coenzimele antioxidante (superoxiddismutază, coenzima  $Q_{10}$  etc.);
- ✓ vitaminele hidrosolubile (C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub>, P), liposolubile (A, E, D, F, K);
- ✓ polifenoli din diferite clase: derivații acidului galic „C<sub>6</sub>” și elagic „C<sub>6</sub>-C<sub>6</sub>”, tanine, calconi „C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>”, derivații fenilbenzopiranului (flavanului) – flavanoide „C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>” (31);
- ✓ diferite forme ale bioelementelor (Mg, K, Ca, Cu, Zn, I, P, Fe(II), Fe(III) etc.);
- ✓ fibrele alimentare (polizaharide, collagen, acizii poliuronici și sărurile lor).

La grupul compușilor biologic activi, care manifestă efecte negative asupra organismului uman, se referă preponderent compușii de origine antropogenă. În literatură acești compuși mai des se identifică ca fiind contaminanți (32), (33):

- ✓ pesticidele, erbicidele, insecticidele organice care manifestă activitate letală universală cu acțiune de lungă durată și sunt capabile să se acumuleze în țesuturile mamiferelor;
- ✓ nitrații și nitriții (Na / K)NO<sub>3</sub>, (Na / K)NO<sub>2</sub>, (Ca / Mg)(NO<sub>3</sub> / NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, care sunt precursorii formării nitrozaminelor cancerigene;

- ✓ hidrocarburile policiclice aromatice, inclusiv cele care se acumulează în sol și în apele de irigare datorită scurgerilor combustibilului și lubrifiantilor;
- ✓ izotopii radioactivi naturali și antropogeni ( $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{64}\text{Co}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{32}\text{P}$  etc.) (34);
- ✓ antibioticele: polipeptide, tetracicline, aminoglicozide etc.;
- ✓ toxinele de origine microbiologică care provin din microorganisme: bacterii *Clostridium Botulinum* (micotoxine), *Bacillus Cereus* (aflatoxinele); fungi *Aspergillus clavatus* (tryptoquivalone), *Penicillium Expansum* (patulina); viruși.

Polipeptidele generate de viruși în urma ciclului propriu de dezvoltare sunt străine organismului uman, manifestând toxicitate tisulară înaltă (21).

Totodată, celulele sistemului imunitar al organismului – fagocitele, specializate în nimicirea bacteriilor și virușilor, produc metaboliți toxici în procesul activității lor care, de asemenea, pot fi considerați compuși biologic activi cu acrivitate nedorită. În condițiile agriculturii intensive există riscuri ca compușii biologic activi cu activitate nefastă să facă parte din compoziția alimentelor (35).

În afară de compușii chimici de origine naturală și antropogenă (atât benefici, cât și nu), un rol tot mai mare îl au sursele microbiologice de compuși biologic activi, dintre care fac parte compozițiile probiotice și prebiotice (36). Probioticele sunt suplimente alimentare ce conțin microorganisme viabile benefice pentru organism, care pot genera efecte de îmbunătățire a proceselor digestive, de reînnoire și de corecție a microflorei intestinale: *Bifidobacterium* (*B. Breve*, *B. Infantis*, *B. Lactis*, *B. Bifidum*) și *Lactobacillus* (*L. Acidophilus*, *L. Amylovorous*, *L. Casei*, *L. Plantorum*, *L. Fermentum*). Prin administrarea acestor microorganisme în cantități suficiente din punct de vedere fiziologic ( $10^7$ - $10^9$  celule) are loc dezvoltarea microflorei favorabile cu beneficii asupra procesului de digestie și stării de confort fizic.

Prebioticele reprezintă ingrediente alimentare funcționale bogate în glucide, care își exercită funcția la nivel simbiotic, servind drept hrană pentru microorganismele intestinale. Stimularea creșterii speciei de bacterii utile în cadrul sistemului digestiv reglează ciclul vital al microflorei intestinale benefice, restabilind echilibrul chimic și asigurând homeostaza (37).

Din clasa prebioticelelor fac parte hidrații de carbon digerabili și indigerabili și derivații acestora: inulina, algiinații, fucoidanii, oligozaharidele, galactoza, lactuloza, rafinoza. Prebioticele pot fi găsite în mai multe alimente de origine vegetală: alge, cereale integrale, legume, prune, fasole, mazăre, ceapă, gutui, sfeclă roșie, majoritatea fructelor de pădure etc. (21). Efectele prebioticelelor includ inhibarea reproducerii microorganismelor patogene, ameliorarea procesului de asimilare a compușilor nutritivi, stimularea secreției compușilor antibacterieni, metabolizarea toxinelor, normalizarea pH intestinal, scăderea permeabilității intestinului (37).

Cercetările recente efectuate la Universitatea Tehnică a Moldovei (10) demonstrează că rolul prebioticelelor nu se reduce doar la funcția de hrană sau substrat pentru bacteriile benefice. Prebioticele pot să amelioreze parametrii tehnologici de fabricare a unor produse din carne (38), să prolongheze activitatea compușilor biologic activi prin formarea compozițiilor stabile cu compușii biologic activi. În linii generale, aceste efecte de prolongare ale activității funcționale a CBA se manifestă prin diferite mecanisme:

- ✓ modificarea considerabilă a stării fizice (evident și fizice) a apei în jurul macromoleculor unor polizaharide, îndeosebi a biopolimerilor grefați (39);
- ✓ adsorbția și **complexarea** compușilor biologic activi polifenolici cu macromoleculor biopolimerilor, care la rândul lor au funcții prebiotice (40);
- ✓ protecția moleculelor compușilor biologic activi de degradările oxidative sau conformaționale (41).

Alimentele funcționale se clasifică în funcție de mai mulți parametri relevanți, printre care modul de preparare, funcționalitatea specifică și categoria de consumatori-țintă (42). În funcție de modul în care sunt preparate, alimentele funcționale se împart în următoarele grupe:

- ✓ produse alimentare naturale care conțin compuși biologic activi în stare activă în cantități semnificative, terapeutice;
- ✓ produse alimentare obținute prin fortificarea alimentelor tradiționale cu compuși biologic activi cu ajutorul diferitelor procedee tehnologice;
- ✓ produse alimentare obținute prin eliminarea compușilor bioactivi nocivi sau prin eliminarea compușilor, care reprezintă risc pentru unele categorii de consumatori (43).

Clasificarea după funcționalitatea specifică asupra organismului uman, precum și după categoria de consumatori-țintă permite o diferențiere a produselor în funcție de beneficiile fiziologice urmărite și de necesitățile particulare ale diverselor grupuri de populație:

- ✓ alimente funcționale pentru persoanele care suferă de diabet zaharat (43);
- ✓ alimente funcționale pentru prevenirea bolilor cardiovasculare (44);
- ✓ alimente funcționale pentru prevenirea cariilor dentare;
- ✓ pentru evitarea alergiilor și intoleranței alimentare;
- ✓ pentru prevenirea sau combaterea patologiilor organelor interne (45), (46).

Domeniul alimentelor funcționale se dezvoltă activ, dar are încă o serie de probleme nerezolvate de ordin științific, tehnologic și legislativ. Problemele menționate des în literatură sunt: biodisponibilitatea insuficientă a componentelor active; bază științifică limitată (47); incertitudine de reglementare (48), provocări etice și de marketing (49), lipsa soluțiilor personalizate pentru consumatorii cu necesități individuale (50).

## 1.2. Prevenirea oxidării lipidelor în compozițiile de tip AGS / AGNS

Prevenirea oxidării lipidelor rămâne actuală pentru conservarea alimentelor, în special pentru produsele bogate în acizi grași nesaturați. Oxidarea duce la modificări senzoriale nedorite (râncezire, apariția aromelor nedorite, decolorare), reduce calitatea nutrițională și generează compuși dăunători printre care sunt peroxizii și radicalii liberi (51).

Prevenirea oxidării lipidelor presupune utilizarea ambalajelor anti-UV, blocarea enzimelor, tratarea cu oxid de sulf(IV), ambalarea în gaz inert sau în vid (52). Utilizarea antioxidanților constituie o direcție importantă pentru inhibarea proceselor de oxidare și de autooxidare a lipidelor. Metodologia utilizării antioxidanților se bazează pe datele cercetărilor privind toxicitatea potențială și reală a acestora și asigurarea controlului privind respectarea normelor de utilizare, specificate în actele normative în vigoare (53), (8). Modificarea proprietăților uleiurilor vegetale poate avea loc prin formarea compozițiilor cu un conținut înalt de compuși biologic activi de origine vegetală, având proprietăți de antioxidanți naturali (54).

Studiile lipidelor chimic modificate au reușit să influențeze politicile guvernamentale la nivelul Uniunii Europene (55). În ciuda acestui fapt se mai brevetează unele procedee, care sunt discutabile în contextul cunoștințelor actuale despre activitatea biologică a lipidelor. Astfel, ca metodă de mărire a **stabilității** compozițiilor lipidice se consideră **hidrogenarea** catalitică (56). Din punct de vedere strict chimic, stabilizarea sistemelor chimice cu legături duble multiple prin hidrogenare reprezintă lichidarea funcționalității acestor sisteme, deoarece anume legături duble asigură esența funcționalității acizilor grași polinesaturați. Saturarea legăturilor duble însoțită de trans-izomerizare, adică, „stabilizările” prin hidrogenare, contribuie la agravarea problemelor cauzate de lipide în alimentație (57).

Pe fundalul deficitului tot mai mare de grăsimi de origine animalieră se efectuează cercetări în scopul stabilizării compozițiilor alimentare formate din lipide vegetale și animale combinate. Un interes deosebit reprezintă sistemele în care funcția de agenți de stabilizare revine biopolimerilor, de exemplu, pectinelor cu grad scăzut de metoxilare (58), (59).

S-a constatat că în prezența pectinei se stabilizează compozițiile, care în afară de grăsime de lapte conțin componente foarte activi, i.e. uleiuri din sâmburi de bostan și de struguri (60). Se consideră că în aceste sisteme complexe pectina are proprietăți antioxidante. Rolul de antioxidant, atribuit pectinei, care nu are grupe funcționale caracteristice antioxidanților, probabil, se datorează mării viscozității fazei apoase, dar și a tensioactivității pectinei, care împiedică difuzia oxigenului din faza apoasă în faza lipidică (61).

Compozițiile lipidice de calitate corespund unui raport echilibrat format din reprezentanții diferitelor clase ale acizilor grași: 50...60% acizi grași mononesaturați, 30...40% acizi grași saturați, 10...20% acizi grași polinesaturați. Se demonstrează că raportul optim asigură stabilitatea înaltă a sistemului lipidic față de degradările oxidative (62). Determinarea activității antiradicalice și modelarea matematică (63), (64), (65) au demonstrat că în compozițiile alimentare lipidice stabilizarea acizilor grași polinesaturați (AGPNS) se datorează efectului protector, pe care îl manifestă acizii grași saturați (AGS). Efectul de stabilizare este mai pronunțat la creșterea lungimii lanțului alifatic al AGS (66). S-a concluzionat că metodele efective de stabilizare a lipidelor se bazează pe formarea compozițiilor alimentare în care se respectă raportul optim AGS: AGPNS, care conțin cantități palpabile de CBA din alte clase (clorofilă, carotene, polifenoli liposolubili sau tensioactivi). Încorporarea AGPNS esențiali  $\omega_3$  și  $\omega_6$  (linolic, linolenic, eicosapentaenoic, docosahexaenoic etc.) poate îmbunătăți considerabil valoarea funcțională a alimentelor (66).

Combinarea uleiurilor vegetale bogate în AGPNS cu lipide parțial hidrogenate, interesterificarea ușoară, fracționarea și înlăturarea trans-izomerilor reprezintă o cale posibilă de fabricare a produselor cu un conținut redus de acizi grași saturați și ridicat al AGNS și AGPNS în formă izometrică inofensivă cis- (67). Prezența lanțurilor alifatică cu flexibilitate înaltă presupune diferite variante conformaționale, cauzând polimorfismul grăsimilor, capacitatea lor de a se cristaliza în mod diferit (68). Intervalul temperaturilor de topire a unor lipide atinge 5...7°C, fiind mai mare decât intervalul de topire 1...2°C caracteristic moleculelor cu un număr de conformații redus. Împachetarea compactă a moleculelor în structurile cristaline cauzează stabilitatea chimică mai mare a grăsimilor solide decât a celor lichide chiar la aceleași temperaturi (52).

Problema-cheie pentru prolongarea funcționalității lipidelor constă în **complexitatea** mecanismelor de oxidare influențată de prezența oxigenului, temperaturii, luminii, ionilor metalici, activității apei (69). Controlul simultan al tuturor acestor factori este dificil, în special în sistemele emulsionate, unde oxidarea se inițiază la interfața ulei-apă (70). O altă problemă este selectarea corectă a antioxidanților. Antioxidanții sintetici – butilhidroxianisol (BHA) și butilhidroxitoluen – (BHT) sunt eficienți, dar utilizarea lor se confruntă cu probleme de reglementare legislativă și de acceptare din partea consumatorilor. Antioxidanții naturali – tocoferolii, polifenolii – sunt mai puțin eficienți, mai sensibili la pH și căldură, instabili în timpul procesării. Interacțiunile lor cu alți nutrienți conduc la efecte de anihilare a capacității antioxidante (71). Compușii lipofili nu se dispersează uniform în faze apoase, iar metodele de încapsulare, cum ar fi captarea lipozomală sau formarea nanoemulsiilor adaugă complexitate și cost (72). De aceea, rămâne actuală necesitatea cercetării interdisciplinare a mecanismelor și procedeele de prevenire a oxidării, capabile să asigure prolongarea funcționalității compușilor biologic activi în alimentele funcționale.

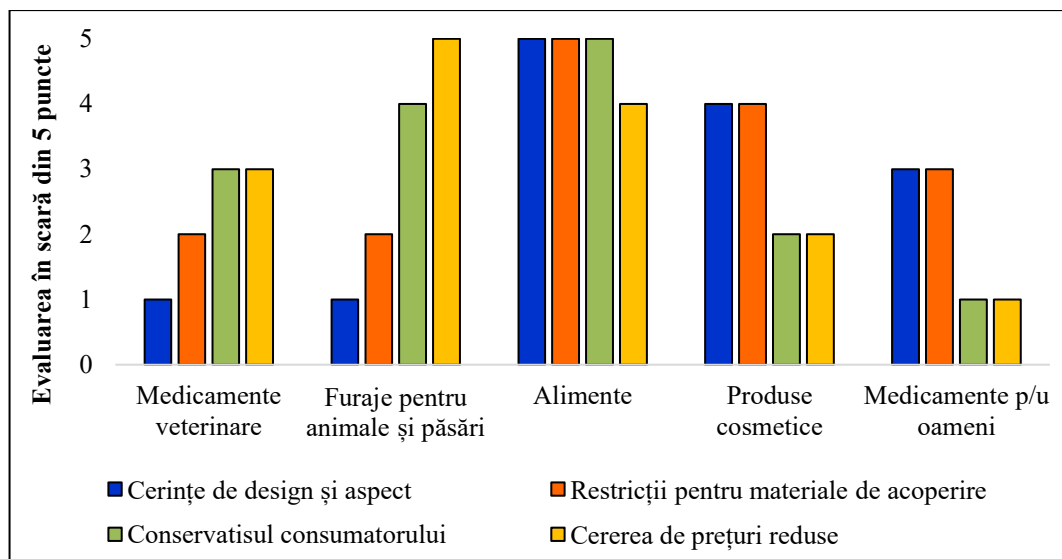
### 1.3. Microîncapsularea compușilor biologic activi – metodă de protecție în mediul produselor alimentare

Termenul „microîncapsulare” a apărut în circulația științifică la mijlocul anilor 50 (73). Micro- și nanoîncapsulările sunt metode relativ noi de protecție a compușilor biologic activi de factorii agresivi ai mediului, realizate prin crearea sistemelor cu dimensiuni nano- și micro-, formate din compuși biologic activi în stare concentrată și peretele protector din biopolimeri comestibili (74). Deoarece acțiunea benefică a medicamentului trebuie să depășească riscurile utilizării lui (75), în procesele tehnologice de fabricare a formelor medicamentoase microîncapsulate se utilizează pe larg componente sintetice non-comestibile, ce se reflectă în mod indirect în multe studii experimentale și review-uri analitice (76), (77), (78). Principiul nominalizat nu poate fi aplicat în produsele alimentare, care trebuie să fie sigure în mod necondiționat, din care cauză pentru produsele alimentare „riscurile acceptabile” sunt mult mai reduse decât pentru formele medicamentoase (79), (80).

Aceeași tendință se observă la utilizarea microcapsulelor în produsele cosmetice, în care agenții chimici, fiind de tip *externum*, se consideră inofensivi la contactul temporar cu pielea (81), dar totodată nu pot fi utilizați la fabricarea alimentelor. În unele surse se remarcă cu prudență tendința spre utilizarea sistemelor de livrare (adică, a microcapsulelor) cu pereți asamblați din compoziții polimerice naturale (82).

Printre restricțiile care împiedică utilizarea microcapsulelor în produsele alimentare se remarcă creșterea semnificativă a prețului produsului finit, care poate fi acceptată cu greu de industria alimentară ce are un venit relativ mic raportat la un kilogram de produs (83).

Industria alimentară se caracterizează prin inerție, afinitate la tradițiile naționale și de epocă, care generează neîncrederea consumatorilor față de noile produse alimentare. Recent au luat amploare cercetările sociostatistice, care se referă la stabilirea legăturii cauzale dintre atitudinea societății și succesul unui produs alimentar. Astfel, cuvintele „microcapsule” și „microîncapsulare” se asociază cu detergenții și produsele cosmetice, iar descoperirea lor pe eticheta produsului alimentar poate să producă o reacție de șoc la unii consumatori (84). În general, terminologia științifică nu se asociază bine cu produsele alimentare, creând la consumatorul neinformați respingerea produsului (85). Problemele menționate cauzează stagnarea proceselor de cercetare și minimizează fluxul de transfer tehnologic (figura 1.1).



**Figura 1.1. Barierele privind implementarea nano- și microcapsulelor în diferite tehnologii (74)**

Microîncapsularea ca sistem tehnologic reprezintă un ansamblu complex de soluții ingineresti, care asigură realizarea proceselor fizico-mecanice și chimice de formare a obiectelor cu dimensiuni nano- și micro-, având parametri programați de dimensiune, rezistență la rupere, impermeabilitate sau permeabilitate redusă a pereților micro- sau nanocapsulelor cu CBA. În multe lucrări de sinteză (83), (86), (87) dedicate problematicii microîncapsulării se formulează următoarele obiective principale ale microîncapsulării și a utilizării microcapsulelor (MC) în industria alimentară:

- ✓ izolarea reversibilă a conținutului biologic activ de restul compoziției alimentului. În particular, oxigenul dizolvat în alimente este distrugător pentru compușii biologic activi și contribuie la pierderea proprietăților lor antioxidante (88);
- ✓ livrarea țintită („targeted delivery”) a microcapsulei cu CBA în organul-țintă;
- ✓ eliberarea controlată („controlled release”) a conținutului MC în organul-țintă.

Pentru obținerea microcapsulelor se utilizează diferiți compuși macromoleculari. Fiind parte integrală a unei nano- sau microcapsule, aceste structuri polimerice mono- sau policomponente sunt numite în sursele bibliografice ca „membrană”, „înveliș” (89), „material protector”, „material de perete” (90), „fază externă” sau „matrice”. Pentru unificarea terminologiei, partea biopolimerică a microcapsulei va fi numită „perete”. Materialul peretelui microcapsulei care separă compușii biologic activi de mediul produsului alimentar trebuie să fie stabil în compoziția produsului alimentar și concomitent să elibereze ușor și pe deplin conținutul său activ în tractul gastrointestinal (91).

Majoritatea metodelor cunoscute de microîncapsulare pot fi realizate relativ ușor în condiții de laborator. Totodată, implementarea soluțiilor tehnice similare reprezintă o problemă dificilă pentru industria alimentară. Este exclusă utilizarea în calitate de agenți de reticulare a agenților inacceptabili pentru sistemele alimentare: polimerilor sintetici, feromagneticii (92), solvenților organici toxici. Se constată că microcapsulele, pereții cărora sunt formați doar din gelatină, nu sunt suficient de rezistenți mecanic pentru a fi încorporați în produsele alimentare (93).

Cantitatea optimă de material biopolimeric necesar pentru construirea pereților microcapsulelor este una dintre cele mai dificile probleme tehnice, care apare în procesul obținerii microcapsulelor. Această informație este dezvoltată rezervat în sursele analizate (94), (95), (96), îndeosebi în brevete (97) (92). A fost demonstrat că depășirea raportului optim biopolimer / nucleu conduce la creșterea viscozității și chiar la gelificarea sistemului, adică la eșecul procesului de microîncapsulare ca atare (98), (99).

Tehnica „Layer-by-Layer” (strat după strat) presupune aplicarea consecutivă a mai multor straturi (nanopelicle) monomoleculare de biopolimeri, care au sarcină opusă și care au practic aceeași grosime, indiferent de natura lor chimică (100). În schimb, „cross-linking” (tehnica de reticulare în cruce) implică crearea într-un ciclu a unui strat consistent și relativ gros de biopolimer, care apoi este expus acțiunii agentului de reticulare și se transformă în perete consolidat al microcapsulei. Cross-linking se efectuează prin adăugarea poliiionilor și agenților de reglare pH, care asigură formarea legăturilor de hidrogen intermoleculare (101). Pentru întărirea pereților din gelatină se aplică „coaserea” resturilor de glutamină și lizină pe contul punților amidice la acțiunea trans-glutaminazei (102). Totodată, recent au fost prezentate date privind toxicitatea unor forme de trans-glutaminază și produșilor, obținuți în rezultatul acțiunii ei neurotoxice (103).









Conform cerințelor și caracteristicilor menționate, obiectivul forte al microîncapsulării ingredientelor funcționale alimentare capătă forma lui generalizată: microîncapsularea compușilor biologic activi și încorporarea microcapsulelor în alimente nu trebuie să adauge valori semnificative la prețul de cost al alimentelor, iar tehnologiile utilizate trebuie să asigure respectarea cerințelor privind păstrarea proprietăților funcționale ale CBA și siguranței alimentelor și nu trebuie să afecteze proprietățile senzoriale ale alimentelor.

Pentru microcapsulele cu diametrul  $d < 1000 \text{ nm}$  ( $< 1 \mu\text{m}$ ) se mai utilizează termenul „nanocapsule”. În majoritatea referințelor bibliografice analizate se menționează că dimensiunile microcapsulelor se încadrează în limitele de la 1 până la 1000 de microni (104), (86), (94).

Într-un număr limitat de referințe, totuși, se afirmă că dimensiunea microcapsulelor poate să ajungă și la 3...8 mm (105), (106), (107). Această părere poate fi acceptată cu greu, deoarece obiectele, dimensiunile liniare ale cărora sunt mai mari de 1000  $\mu\text{m}$  (1 mm), nu mai pot fi

considerate „microcapsule”, chiar dacă sunt relativ mici și create prin utilizarea tehnicilor de microîncapsulare. În mai multe studii se demonstrează că astfel de obiecte afectează textura și percepția senzorială tradițional acceptată a alimentelor (108), (109), ceea ce contrazice scopul direct al microîncapsulării. Indiferent de dimensiuni, nano- și microcapsulele se împart în două grupe mari: microcapsule de tip rezervor (MCR) și microcapsule de tip matrice (MCM). Dezvoltarea metodelor de microîncapsulare a permis lărgirea considerabilă a sortimentului de obiecte, care, prin funcționalitatea lor, seamănă cu microcapsulele clasice de aceste două tipuri, dar diferă de ele substanțial după structura fină și modul de obținere (tabelul 1.1).

**Tabelul 1.1. Clasificarea nano- și microcapsulelor**

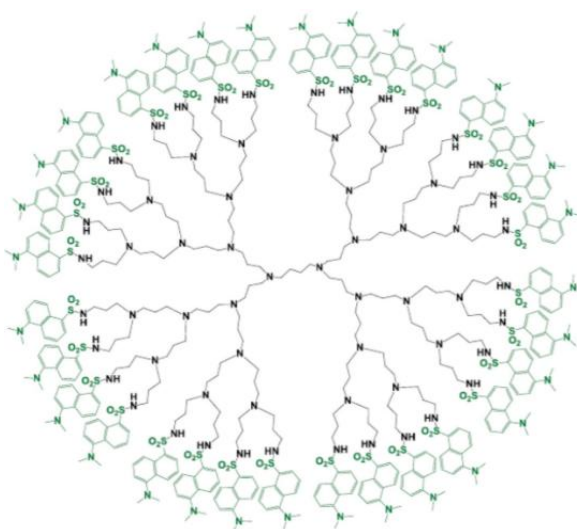
| Tip sistem   |          | Descrierea sistemului   | Aspect  | Ref.                        |
|--|----------|---|---|-----------------------------|
| <b><i>Cu pereții în bază de biopolimeri</i></b>  |          |   |   |                             |
| Nano- și microparticule  | <b>R</b> | Particule solide acoperite cu alte materiale solide cu proprietăți exprimate de protecție și de izolare   |    | (76) (77)<br>(100)<br>(110) |
| Nano- și microcapsule  | <b>R</b> | Particule sferice cu un conținut lichid și cu înveliș solid, elastic sau aflat în stare gelificată        |    | (111)<br>(99)               |
| Microcapsule multinucleare   | <b>M</b> | Picături de lichid distribuite într-o matrice din materiale polimerice care formează rețeaua 3D           |  | (112)<br>(86)               |
| Matrice poroase sau gelatinoase  | <b>M</b> | Particule solide sau geluri, porii cărora sunt umpluți cu componente active în stare lichidă sau gazoasă  |  | (113)                       |
| <b><i>Cu pereții în baza lipidelor și substanțelor tensioactive (surfactanților)</i></b> |          |   |   |                             |
| Lipozome   | <b>M</b> | Particule sferice cu pereți din monostrat sau din multistrat bilipidic și cu un conținut hidrofil (polar) |  | (77)<br>(114)               |
| Phytosome  | <b>R</b> | Compuși încapsulați legați chimic cu părțile polare ale fosfolipidelor și acoperiți cu părțile apolare    |  | (115)<br>(116)              |
| Niosome  | <b>R</b> | Particule cu nucleu hidrofil acoperite cu strat de lipide și stabilizate cu surfactanți                   |  | (117)                       |
| Coloidosome  | <b>R</b> | Particule cu un conținut hidrofil acoperit cu un strat de nanoparticule solide (învelișul coloidal)       |  | (118)<br>(119)              |

Analiza detaliată și reprezentarea grafică a diferitelor tipuri de particule, stratul exterior al cărora este format din mono- și polistraturi lipidice, poate fi găsită în diferite articole și review-uri recente (76), (120), fapt ce denotă interesul ridicat pentru elaborarea metodelor de microîncapsulare. În ultimul deceniu, accentul se deplasează spre crearea sistemelor caracteristicile cărora modelează proprietățile membranelor celulare.

MCR conțin un perete extern continuu, care cuprinde (încapsulează) conținutul solid sau lichid. Microcapsulele de acest tip sunt numite „single-core”, “mono-core” (mononucleare) sau “core-wall” (nucleu-perete). Peretele extern trebuie să fie suficient de stabil, asigurând integritatea mecanică a microcapsulei în condiții de păstrare a produsului, dar la un moment potrivit (de exemplu, în actul de alimentație) trebuie să cedeze acțiunii fizice, mecanice sau chimice exterioare, conducând la eliberarea conținutului microîncapsulat. Fiind obținute prin așa-zisa **coacervare**, microcapsulele de acest tip sunt foarte sensibile la pH și forța ionică a mediului (121). Unii autori menționează că anume această sensibilitate le face utile pentru microîncapsularea ingredientelor alimentare cu stabilitate scăzută (104).

Conținutul activ al MCM este distribuit în materialul purtător sub formă de particule solide sau picături lichide mici și reprezintă faza discontinuă – o suspensie sau o emulsie a conținutului biologic activ în materialul purtător, care reprezintă faza continuă, formată dintr-un biopolimer sau un sistem de biopolimeri. Spre deosebire de MCR, în MCM conținutul biologic activ poate fi observat și pe suprafața microcapsulelor, respectiv, rămânând parțial fără protecție față de agenții chimici și fizici ai mediului (122).

Pentru înlăturarea acestui neajuns au fost încercate microîncapsulări mixte, matrice-rezervor (MCMR) (112). Sunt menționate de asemenea nano- și microcapsulele cu mai mulți pereți, „multiwall” (86). La structurile „multiwall” pot fi atribuiți și lizosomii (**tabelul 1.1**). Printre dezavantajele sistemelor mixte de microîncapsulare se numără costul lor exagerat (122).



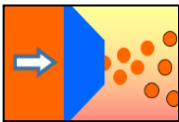
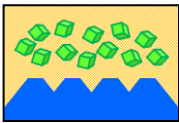
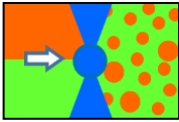
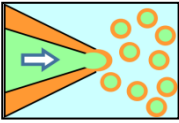
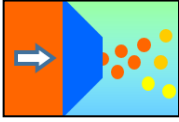
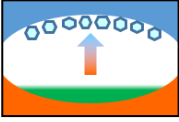
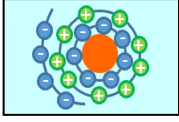
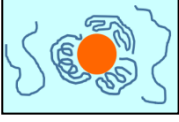

**Figura 1.2. Structura dendrimerului 3D (123)**

Structurile de tipul micelilor și dendrimerilor (figura 1.2), de asemenea, sunt atribuite la nano- și microparticule (77). De fapt, acestea reprezintă structuri supramoleculare care datorită ramificațiilor formează cavități mari. Astfel de structuri devin capabile să includă alte molecule cu

dimensiuni mici în cavitățile sale, fiind *de facto*, sisteme micelare care îmbină structurile polimerilor bi- și tridimensionali, respectiv, 2D și 3D.

La grupul de microparticule similare după structură și organizare cu celulele organismelor vii pot fi atribuite lipozomii, fitozomii și microcapsulele tip rezervor clasice cu înveliș din biopolimeri, formarea cărora are loc prin utilizarea fenomenelor de condensare lichid-solid a polimerilor sau a tehnicilor de depunere consecutivă a biopolimerilor cu sarcini electrice contrare, numite „Strat-după-Strat” („Layer-by-Layer”, LL). O bună parte a metodelor actuale de microîncapsulare este schițată în tabelul 1.2.

**Tabelul 1.2. Metode de asamblare a nano- și microcapsulelor**

| Metoda de nano- sau microîncapsulare  | Schema  | Ref.                               |
|---|---|------------------------------------|
| <b>Uscarea prin pulverizare (Spray Drying, SD).</b> Amestecul de biopolimeri, CBA, surfactanții se pulverizează într-o cameră fierbinte. Pe suprafața picăturilor se formează o peliculă din biopolimeri. |    | (105) (124)<br>(90) (125)          |
| <b>Prăjirea în strat fluidizat (Fluidized Bed, FB).</b> Solidul dispersat se acoperă cu pelicule prin pulverizare și suspendare în aer fierbinte. Pe suprafață are loc formarea peliculei rezistente.     |   | (89)<br>(125)<br>(126)             |
| <b>Emulsionarea (EM).</b> Emulsii relativ stabile se obțin folosind omogenizatori de mare viteză și agenți tensioactivi ionici sau neutri. Emulsiile monodisperse se obțin prin fracționare.              |  | (127) (102)<br>(128) (45)<br>(129) |
| <b>Extrudarea (EX).</b> Componentele topite sunt presate printr-o matrice de extrudare, picăturile rezultate se solidifică sau produsul în formă de cilindru se porționează după solidificare.            |  | (130)<br>(131)                     |
| <b>Pulverizarea la rece (Spray Cooling, SC).</b> Sistemele lichide cu CBA termic instabili se pulverizează într-o cameră rece în care are loc solidificarea lor sub formă de particule mici.              |  | (112) (125)<br>(132) (133)         |
| <b>Liofilizarea = Sublimarea (Freeze Drying, FD).</b> Apa îndepărtează sublimarea gheții pentru a obține o structură dispersată foarte poroasă. Pot fi necesare cantități mari de crio-protectori.        |  | (106)<br>(134)                     |
| <b>Strat-după-Strat (Layer-by-Layer, LL).</b> Acoperirea picăturilor sau particulelor solide cu straturi de polielectroliți cu sarcini opuse: pectine și poliuronati (-), proteine (+/-), chitosan (+).   |  | (100)<br>(135)                     |
| <b>Coacervarea (simplă) (CS).</b> Condensarea spontană sau forțată a biopolimerului/lor pe suprafața picăturilor sau particulelor solide echivalentă cu formarea fazei solide.                            |  | (136)                              |
| <b>Coacervarea complexă (CC).</b> Formarea peretelui bifazic prin legături de hidrogen sau prin reticularea a doi polimeri diferiți. CC este indusă în condiții stricte.                                  |  | (128)<br>(94)<br>(137)             |

Pentru microîncapsularea CBA cu stabilitate redusă în scopul prolongării activității lor funcționale se utilizează diferite soluții tehnologice. Unele dintre aceste soluții tehnice includ etapa de emulsionare. Obținerea unei emulsii stabile este o etapă importantă preliminară, necesară pentru realizarea metodelor LL, CS și CC. Tehnicile nominalizate pot include și etapa suplimentară de reticulare a materialului peretelui („cross-linking”).

„Coacervarea complexă”, CC, poate fi confundată ușor cu metoda „Strat-după-Strat” (LL). În metoda CC se formează două straturi „groase” (de ordinul  $10^{-6}$ ... $10^{-5}$  m), care reprezintă faze diferite, dar în LL invers, se formează mai multe perechi de straturi subțiri (de obicei 3-9 perechi). Grosimea fiecărui strat obținut prin LL este foarte mică, de ordinul  $10^{-8}$ ... $10^{-7}$  m, iar ansamblul din mai multe straturi formează o singură fază solidă. Dacă una sau ambele faze utilizate în coacervarea complexă sunt formate din polielectroliți cu sarcină opusă, nu este LL (136), (138). În cele din urmă, dacă pereții MC se formează prin acoperirea nucleului cu materiale inițial solide, acesta nu este un proces de coacervare simplă sau complexă (95). Unele metode cum ar fi extrudarea asistată prin electro-spray (139), (140) reprezintă o modalitate de a controla dimensiunea microcapsulelor și de a obține probe monodisperse. Cu toate avantajele, aplicarea unei astfel de metode la producerea alimentelor la scară industrială va fi foarte costisitoare (122).

Alegerea materialelor polimerice adecvate pentru designul microcapsulelor (MC) joacă un rol esențial în asigurarea eficienței acestor sisteme. Materialele de acoperire trebuie să fie sigure pentru consum uman, în conformitate cu principiul *quantum satis*, adică utilizate în cantități suficiente pentru a atinge efectul dorit, fără a prezenta riscuri pentru sănătate (141). Printre criteriile fundamentale se menționează că aceste materiale trebuie să fie inerte chimic și termic, astfel încât să nu reacționeze cu alte componente ale alimentului în timpul procesării și depozitării. Pereții trebuie să formeze o barieră eficientă și impenetrabilă între mediul exterior și substanța încapsulată, prevenind astfel difuzia oxigenului, a apei sau a altor factori care pot cataliza degradarea compușilor bioactivi (142). Acest lucru este cu atât mai important în cazul compușilor sensibili precum polifenolii, acizii grași nesaturați sau vitaminele, care pot fi rapid inactivate în medii oxidative sau la temperaturi ridicate (143). Totodată, selecția materialelor trebuie să ia în considerare și compatibilitatea lor cu metodele de procesare, precum și aspectele legate de costuri, biodisponibilitate și acceptabilitate senzorială. Pentru polimerii naturali, printre altele avantajele se menționează activitatea biologică proprie (144), (101).

Cerințele contradictorii reduc în mod semnificativ varietatea materialelor potrivite pentru obținerea pereților microcapsulelor comestibile. În tabelul 1.3 sunt generalizate datele din mai multe surse privind utilizarea biopolimerilor comestibili în calitate de materiale de acoperire.

Deși dextrina (E 1400) și ciclodextrina (E 459) sunt derivați modificați (artificiali) ai amidonului, ele pot fi privite ca materiale naturale, deoarece se obțin din amidon prin hidroliza acidă sau enzimatică sau prin utilizarea metodelor microbiologice (145), (146).

Atât biopolimerii exotici, cât și proteinele și unii reprezentanți ai carbohidraților interacționează cu compușii biologic activi prin formarea legăturilor de hidrogen, prin schimbul de ioni sau chiar formând legături chimice covalente (147).

**Tabelul 1.3. Biopolimeri comestibili pentru designul pereților microcapsulelor**

| <b>Biopolimeri</b>            | <b>Sursa naturală</b>                         | <b>Particularitățile BP</b> | <b>Ref.</b>              |
|-------------------------------|---|-----------------------------|--------------------------|
| Dextran                       | <i>Lactobacillus</i>                          | Biopolimer ramificat        | (148) (149)              |
| Dextrină <sup>1</sup>         | Amidon  | Lanțuri scurte              | (150)                    |
| Ciclodextrină <sup>2, 3</sup> | Amidon  | Ciclul din 4...10 glucide   | (151)                    |
| Gumă Arabică                  | <i>Acacia</i>                                 | Glucoproteine               | (152) (153)              |
| Gumă Xanthan                  | <i>Xanthomonas</i> <sup>2</sup>               | Poliglucani ramificați      | (154) (155) <sup>4</sup> |
| Chitosan                      | <i>Crustacea, Fungi</i> <sup>5</sup>          | Policationi la pH < 7       | (94) (156)               |
| Mucilage                      | <i>Salvia Hisp. Linum</i> <sup>6</sup>        | 2D, foarte hidrofil         | (154) (157)              |
| Alginați                      | <i>Saccharina Japonica</i>                    | Polianioni la pH > 5        | (95) (158)               |
| Caragenani                    | <i>Rhodophyta</i>                             | Polianioni la pH > 3        | (148) (159)              |
| Gelatină                      | Mamifere, păsări, pești                       | Amfion spirală triplă       | (128) (94)               |
| Lactoproteine                 | Lapte; pulbere de zer                         | Caseinați, globuline        | (125) (160)              |
| Proteine vegetale             | <i>Glycine Max</i>                            | Globulină                   | (147)                    |
| Hypromelloză                  | Liniar, esterificat cu 1-metilpropan-1,2-diol |                             | (126) (150)              |
| Amidon OSA                    | 3D-esterificat cu anhidrida octenilsuccinică  |                             | (161) (162)              |

**Notă:**

<sup>1</sup> Hidroliza termică sau enzimatică

<sup>4</sup> Diacilat

<sup>2</sup> Conversia enzimatică a glucozei

<sup>5</sup> După tratarea chimică

<sup>3</sup> Nu derivă din amidon

<sup>6</sup> Datele preliminare ale autorului

Nu este exclusă incompatibilitatea ingredientului microîncapsulat cu peretele microcapsulei (83). O astfel de incompatibilitate trebuie evitată în etapa obținerii microcapsulelor și exclusă complet în timpul aflării microcapsulelor în compoziția alimentelor funcționale. Incompatibilitatea poate fi exprimată fie prin interacțiunea conținutului cu peretele microcapsulei, fie prin difuzia continuă a conținutului încapsulat prin peretele microcapsulei.

Sunt raportate elaborările „smart” în domeniul utilizării microcapsulelor în tehnologiile alimentare. Astfel, la producerea brânzei cu cheag tare, eliberarea controlată a bixinei microîncapsulate are loc datorită acțiunii secvențiale a proteazelor și lipazelor (163). Obiectivele de livrare țintită, dar mai ales de activare programată, pot fi atinse utilizând procedee mai simple, dacă compusul activ se eliberează sub acțiunea combinată a factorilor (pH, temperatură, enzime) în anumite zone ale sistemului gastrointestinal uman și reprezintă cel mai mare interes practic pentru microîncapsularea compușilor biologic activi (140), (164), (165).

**Tabelul 1.4. Domeniile de aplicare a ingredientelor alimentare și compușilor biologic activi microîncapsulați**

| <b>Clasa: Exemple</b>  | <b>Metodele utilizate</b> | <b>Rezultatele așteptate ale microîncapsulării</b>                                 | <b>Referințe</b> |
|--|---------------------------|--|------------------|
| <b>Minerale:</b> sărurile metalelor bi- și trivalente          | SD, FB                    | Izolarea bio-metalelor, mineralelor, reducerea degradării vitaminelor              | (166)<br>(167)   |
| <b>Regulatori și agenți de aciditate:</b> acizi și baze        | SD, FB                    | Livrare în intestin ocolind receptorii gustativi (mascarea gustului)               | (168)            |
| <b>Arome:</b> uleiuri, extracte uleioase, rășini aromatice     | EX, SD                    | Pulberi solide activate în timpul gătitului sau în cavitatea bucală                | (169)<br>(151)   |
| <b>Îndulcitori:</b> zaharuri, îndulcitori artificiali          | FB, SD                    | Reducerea higroscopicității, distribuția mai bună în aliment, prolongarea gustului | (170)<br>(171)   |
| <b>Biocoloranți:</b> chalcone, carotene, antociani             | CC, EX                    | Dozare, distribuție uniformă, protecția împotriva oxidării                         | (163)<br>(156)   |
| <b>Lipide:</b> Acizi grași polinesaturați (AGPNS), fosfolipide | SD, EM<br>LE <sup>1</sup> | Prevenirea distrugerii redox în timpul depozitării, mascarea gustului              | (102)<br>(172)   |
| <b>Vitamine:</b> lipo- (A,D,E) și hidrosolubile (B,C, PP)      | LE,                       | Controlul timpului de eliberare, excluderea contactului cu matricea                | (160)<br>(147)   |
| <b>Polifenoli:</b> curcuminoidi, oleuropin                     | SD, LL                    | Prevenirea distrugerii redox în timpul depozitării, mascarea gustului              | (148)<br>(96)    |
| <b>Anticorpi, enzime:</b> imunoglobuline, amilase              | CC, LL                    | Stabilizarea matricei alimentare, livrare țintită, eliberare controlată            | (145)<br>(173)   |
| <b>Microorganisme, celule:</b> Bacteria, Fungi, Alge           | C, SA <sup>2</sup>        | Izolare de mediul alimentar, livrare țintită, eliberare controlată                 | (120)<br>(132)   |

Metodele de înglobare lipozomală („Liposome Entrapment”, LE) și autoasamblare („Self-Assembly”, SA) indicate în tabelul 1.4 se referă mai degrabă la designul nanocapsulelor. Înglobarea lipozomală este o metodă de nanoîncapsulare bazată pe formarea de sfere fosfolipidice însoțită de captarea compușilor cu polaritate diferită în nucleul lipozomilor.

Autoasamblarea reprezintă un grup de metode caracterizate prin variația mică a entalpiei sistemului și creșterea entropiei mediului. Fiind procedee termodinamic analogice proceselor de biosinteză, acapararea lizosomală și autoasamblarea sunt însoțite de expulzarea entropiei din reactor în mediul ambiant (174). Această asemănare face metoda de perspectivă pentru sistemele alimentare, în scopul reducerii entropiei înalte caracteristice acestora (175).

Procesele electrochimice și electrofizice, inclusiv electroforeza și acțiunea plasmă reci, suscită un interes tot mai mare în dezvoltarea sistemelor moderne din domeniul cosmetic și alimentar, având un potențial mare pentru microîncapsulare (176), (177).

#### 1.4. Stabilitatea CBA hidrosolubili în faza unor polimeri și în soluții apoase

Spre deosebire de compușii lipofili și uleiuri, coloranții alimentari sunt rareori supuși microîncapsulării, întrucât acest proces ar compromite funcția lor principală - colorarea produselor alimentare. Stabilitatea redusă a coloranților naturali, determinată de reactivitatea lor chimică ridicată, impune aplicarea unor strategii specifice pentru prolongarea funcționalității acestora.

Inflorescențele de șofrănel (*Carthamus tinctorius L., Compositae*) conțin peste 200 compuși identificați cu activitate funcțională, dintre care se remarcă pigmenții rari chinocalconici (178), (179). Extractele apoase ale chinocalconilor au activitate fiziologică benefică asupra omului (180), (181). Chinocalconii sunt apreciați pentru acțiunea lor benefică asupra sănătății umane, exprimată prin efecte antiinflamatorii și cardioprotectoare (182).

Biosinteza chinocalconilor se desfășoară prin mecanisme insuficient elucidate, cunoașterea cărora ar favoriza obținerea pigmenților cu randamentele înalte (183), (184). Mecanismul presupus de biosinteză a chinocalconilor roșii include cel puțin patru intermediari de culoare galbenă, care se transformă în chinocalcon dimeric roșu, cartamină (figura 1.3).

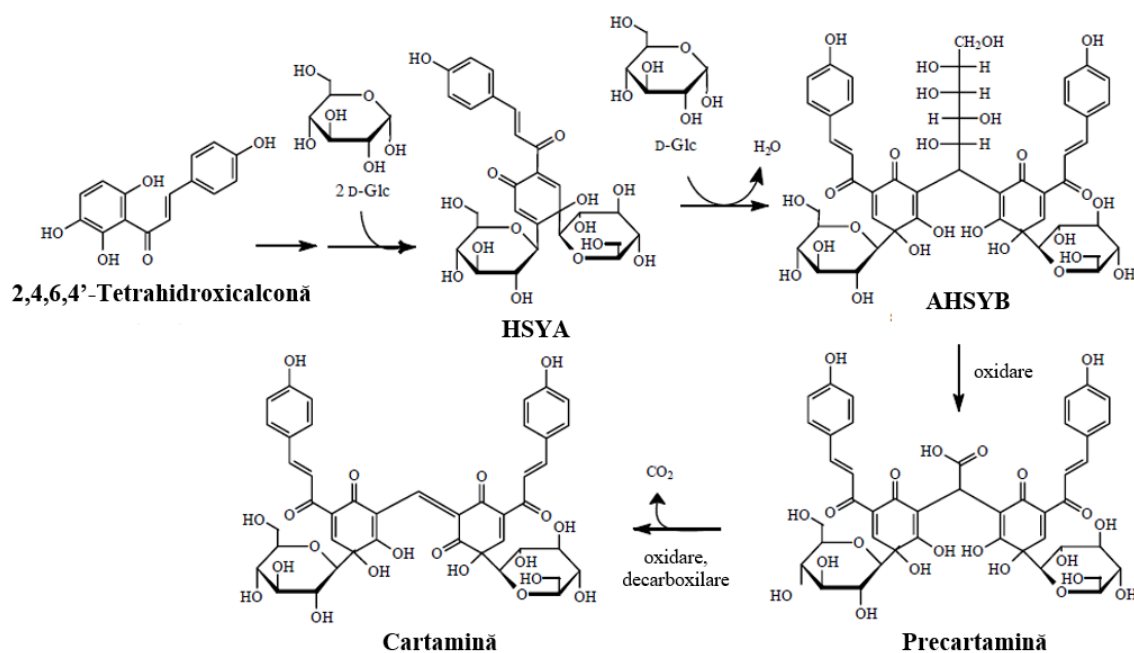
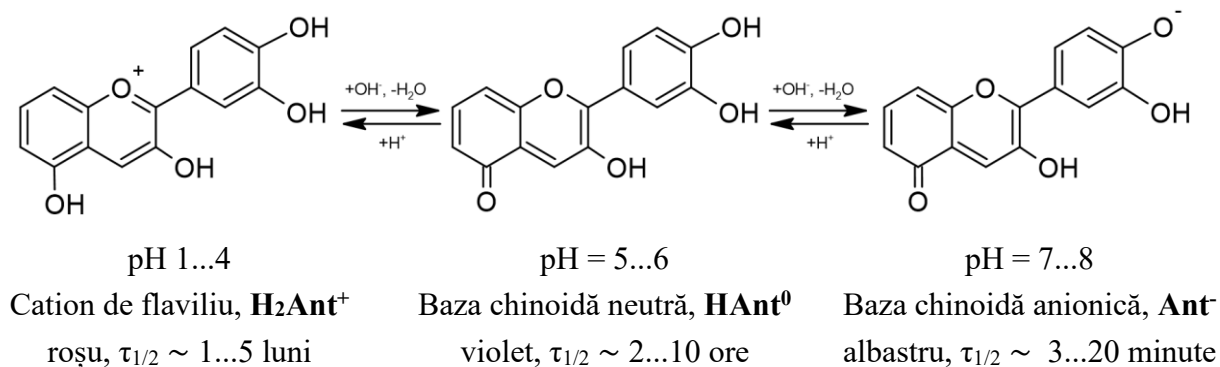


Figura 1.3. Mecanismul biosintezei chinocalconilor galbeni și roșii (183):

*HSYA – Hydroxi Safflor Yellow A; Anhydro Safflor Yellow B.*

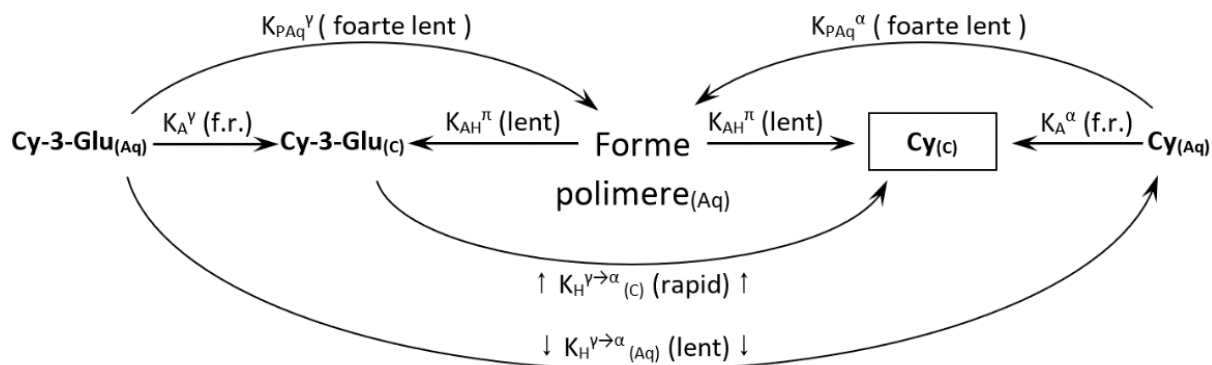
Stabilitatea coloranților naturali este influențată de sensibilitatea acestora la pH, îndeosebi la neutru și bazic (185), (186). Echilibrul acido-bazic caracteristic antocienilor este un factor hotărâtor, care determină stabilitatea acestor polifenoli *in vivo*, *in vitro* și *in situ*. În soluții apoase antocienii pot să se afle cel puțin în trei forme de bază (figura 1.4).



**Figura 1.4. Echilibrul acido-bazic al formelor colorate de antocieni:**  
*pH, denumire, culoare, perioada de înjumătățire* (187).

Autorii recunosc că schema reprezentată în figura 1.4 este suficient de simplificată față de realitate, indicând existența mai multor forme ale antocienilor. Totodată, pentru sistemele alimentare interesul cel mai mare reprezintă forma cationică a sării de flaviliu, stabilitatea căreia este foarte mare în comparație cu celelalte forme (188). Formele bazice ale antocienilor pot să se polimerizeze, formând compuși incolori sau de culoare brună (189).

Studiul efectelor de stabilizare a sărurilor de flaviliu în faza sulfocationitului puternic acid în H-formă a demonstrat că în faza H-sulfocationitului umed are loc depolimerizarea unor forme de antocieni. În aceleași condiții, antocienii-glicozidați suferă hidroliza până la aglicon (190). Schema proceselor care au loc în faza polimerului este reprezentată în figura 1.5.



**Figura 1.5. Mecanismul formării / hidrolizei antocienilor în faza sulfocationitului:**  
*P – polimerizare, A – absorbție, AH – adsorbția și hidroliza; Aq – faza apoasă; alpha – aglicon, gamma – glicozidă, pi – forme polimerizate; (f.r.) – foarte rapid* (188).

În figura 1.6 este reprezentat doar un exemplu de interacțiuni complexe între compuși biologic activi și polimerii funcționali. Interacțiunea compușilor biologic activi cu biopolimerii, ca procedee de separare a biopolimerilor și CBA din aceeași sursă vegetală, reprezintă o mare provocare pentru aplicațiile practice (191), (192), (193).

Utilizarea ulterioară a compușilor biologic activi în procesul de fabricare a produselor alimentare și a preparatelor cosmetice și farmaceutice impune restricții privind condițiile extracției și separării acestora, fiind posibilă utilizarea unui număr redus de solvenți și substanțe auxiliare (194). Efectul puternic de stabilizare a compușilor biologic activi, inclusiv a coloranților cu alcool etilic, este universal (195) și se manifestă puternic în cazul stabilizării antocienilor (190), betaninelor (196), (197) și chinocalconilor (198). Acceptabilitatea sistemelor alcool-apă, precum și altor solvenți pentru utilizarea lor în fabricarea alimentelor funcționale crește în seria, care ține cont atât de respectarea cerințelor pentru toxicitatea remanentă joasă, cât și de conformitatea rigorilor securității alimentare și antiincendiar (195), (199).

În grupul de solvenți-extractanți, siguri din punct de vedere antiincendiar și non-toxici, un loc aparte îl are CO<sub>2</sub> supercritic (200). În Republica Moldova acesta se utilizează la extracția unor compuși biologic activi din diferite clase pe scara de laborator (201). Eficiența înaltă a procesului se atinge dacă extracția cu CO<sub>2</sub> supercritic este asistată de tratarea cu microunde (202). Metoda combinată este de perspectivă pentru extracția CBA polari la scară industrială.

Polifenoxidazele din sucuri nefermentate contribuie direct la oxidarea rapidă a cateholilor, cu formarea chinonelor și altor compuși intermediari, care, la rândul lor, destabilizează antocienii prin intermediul reacțiilor de condensare oxidativă (203). Enzimele cu proprietăți reducătoare de tipul cateholazei și quercitinazei contribuie la dezoxigenarea mediului, stabilizând mai toate substanțele fenolice (204). A fost stabilit că preparatele enzimaticе, care conțin glucozidază sau galactozidază, contribuie la destabilizarea antocienilor naturali prin hidroliza 3-diglucozidelor până la 3-monoglucozide mai puțin stabile.

S-a constatat că în concentratele sucurilor naturale valorile constantelor de degradare  $k_1$  la 80°C, 33,97; 57,19; 97,14 min<sup>-1</sup> se află în concordanță directă cu conținutul substanțelor uscate, **SU**: 15; 45; 71 °**Brix**, respectiv (205). Conținutul substanțelor uscate este proporțional nu doar cu conținutul glucidelor, dar și cu al compușilor din alte clase, inclusiv enzimelor, fapt care limitează credibilitatea concluziei despre rolul destabilizator al glucidelor la creșterea concentrațiilor lor.

În majoritatea surselor analizate se relatează despre stabilizarea antocienilor în prezența zaharurilor (189). Efectul stabilizator se explică prin influența concomitentă a câtorva factori. Astfel, concentrația mare a glucidelor contribuie la inactivarea enzimelor și la scăderea solubilității oxigenului molecular (206). În sistemele cu concentrații mari de zaharuri și de alte substanțe hidrosolubile, efectul stabilizator se datorează scăderii activității apei (206), (207).

A fost demonstrat că efectul stabilizator al celulozei asupra cartaminei, cunoscut ca „efectul Saito” (208), are cauză similară (183). Datorită structurii lor nesaturate, majoritatea compușilor biologic activi sunt instabili la temperaturi moderate și ridicate, suferind uneori hidroliza sau



## Concluzii la Capitolul 1

1. Necesitatea fabricării alimentelor cu un conținut de compuși biologic activi, care exercită activitate fiziologică benefică asupra organismului uman, reprezintă o problemă actuală, apariția căreia este determinată de creșterea numărului populației și a cerințelor societății pentru ameliorarea calității vieții. Insuficiența CBA în alimentele cotidiene se datorează dezvoltării agriculturii intensive cu predominanța monoculturilor. Rezolvarea contradicțiilor nominalizate constă în aplicarea tehnologiilor avansate de fabricare a alimentelor inovative funcționale, structura și compoziția chimică a cărora va asigura proprietăți benefice asupra stării fiziologice a organismului.
2. Elaborarea și producția alimentelor cu ingrediente funcționale se confruntă cu diverse greutăți: necesită cercetări științifice extinse, re-educarea consumatorilor sceptici, respectarea standardelor legislative complexe, optimizarea costurilor ridicate de producție, alegerea soluțiilor tehnologice pentru menținerea stabilității ingredientelor cu proprietăți funcționale în cadrul produselor alimentare. Actualmente nu sunt evidențiate în mod suficient de amplu metodele efective de prolongare a stării active a compușilor biologic activi în compozițiile alimentare. Sunt insuficiente informații privind impactul compoziției chimice și proprietăților fizico-chimice ale mediilor alimentare asupra modificării structurii și funcției compușilor biologic activi din alimente. Necesită optimizare principiile teoretice și practice noi ale stabilizării stării active a compușilor biologic activi în sistemele biologice și alimentare.
3. Studiul surselor bibliografice analizate demonstrează că metodele clasice de fabricare a produselor alimentare funcționale, care prevăd simpla adăugare a compușilor biologic activi în compozițiile alimentare fără a ține cont de interacțiunea lor cu mediul alimentar, s-au epuizat. Pentru crearea sistemelor alimentare eficiente cu proprietăți funcționale sunt necesare noi abordări, care ar permite prolongarea funcționalității compușilor biologic activi și micșorarea entropiei sistemelor alimentare. Aceste metode, în general, trebuie să se bazeze pe crearea structurilor stabile în care compușii biologic activi sunt protejați de acțiunea factorilor agresivi ai mediului alimentar: structurizarea sistemelor cu un conținut de acizi grași polinesaturați, crearea compozițiilor biopolimer–compus biologic activ și microîncapsularea ingredientelor cu activitate înaltă.

## Capitolul 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

### 2.1. Caracteristica materiilor prime, biopolimerilor și compușilor biologic activi

Sursele vegetale de compuși biologic activi au compoziție chimică variată (tabelul 2.1). Condițiile de depozitare ale materiilor prime vegetale includ măsuri de deshidratare, protecție de lumină, condiții termice generale și specifice (195).

**Tabelul 2.1. Caracteristicile materiilor prime vegetale utilizate pentru obținerea CBA**

| Sursa vegetală     | Denumirea botanică          | Proteine          | Grăsimi              | Glucide               | Fibre<br>g·(100g) <sup>-1</sup> | CBA-țintă  | Ref.           |
|--------------------|-----------------------------|-------------------|----------------------|-----------------------|---------------------------------|--|----------------|
| Sfeclă, rădăcini   | <i>Beta vulgaris</i>        | 1,61              | 0,17                 | 9,56                  | 2,8                             | betalaina 2,1<br>betaxantina 1,9                 | (218)<br>(219) |
| Varză de mare, tal | <i>Saccharina japonica</i>  | 5,79...<br>9,39   | 1,17...<br>1,69      | ~25 incl.<br>mannitol | ~ 45                            | acid alginic ~ 25                                | (11)<br>(220)  |
| In, semințe        | <i>Linum usitatissimum</i>  | 15,81...<br>21,47 | 34,18...<br>40,71    | 31,92...<br>35,59     | 10,0...<br>12,0                 | arabinoxilan, rhamno-galacturonan, AGPNS         | (221)<br>(222) |
| Nuci, miez         | <i>Juglans regia</i>        | 12,15...<br>16,85 | 62,17...<br>68,93    | 10,54...<br>19,53     | 6,7                             | acid linoleic 53...70,<br>acid linolenic 10...13 | (223)<br>(66)  |
| Șofrănel, petale   | <i>Carthamus tinctorius</i> | 10,40...<br>12,86 | nu se ra-<br>portază | 7,36...<br>11,81      | 50,0...<br>70,0                 | C-glicozilchinocalconi<br>15...20, Cartamină 4.5 | (224)<br>(198) |

Sfecla roșie (*Beta vulgaris L.*) – rădăcini. Pentru obținerea extractelor de betanine au fost utilizate rădăcini de sfeclă roșie „Libero” și „Cilindra”, cărora le este caracteristică colorația intensă și omogenă: inelele și zonele fără pigment pe tăietura rădăcinilor practic lipsesc, iar omogenitatea repartizării betaninei contribuie la extracția ei cu un randament înalt.

Varza de mare (*Saccharina japonica*<sup>1</sup>) – talul (trunchiul stratificat). Pentru obținerea algi-naților cu masa moleculară *in situ* mare au fost utilizat talul uscat, presurat cu exces de sare, al cărui termen de valabilitate în ambalaj ermetic ferit de lumină constituie 3...5 ani.

Șofrănel (*Carthamus tinctorius L.*) – petale. Petalele au fost colectate pe câmpiile experimentale ale IGFP AȘ RM (2019-2022), uscate cu flux de aer cald, 40 ± 2°C, până la umiditatea relativă  $U_R < 5\%$ . Petalele uscate au fost păstrate în vase ermetice, la întunec.

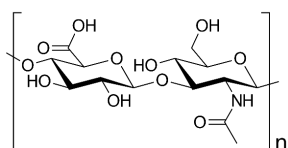
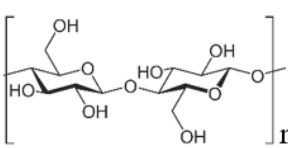
In (*Linum usitatissimum L.*) – semințe. Chiar și semințele întregi de in au un termen redus de păstrare datorită conținutului înalt al acidului linolenic. La temperatura camerei semințele măcinate sau strivite râncezesc în 1-2 săptămâni, din care cauză sunt păstrate la -18 ± 2°C.

<sup>1</sup>Denumirea botanică veche, dar utilizată până în prezent, este *Laminaria japonica*. Din anul 2006 alga a fost reclasificată, fiind mutată taxonomic din genul *Laminaria* în genul *Saccharina*.

Nuci (*Juglans regia L.*) – miez și părțile miezului. Drupele au fost păstrate în saci perforați la temperatura  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  și  $U_R = 65 \pm 5\%$ , apoi decojite manual pentru a obține miezul întreg. Miezul a fost inspectat pentru a exclude prezența ouălor și larvelor de infestatori. Miezul curățat a fost păstrat în containere de polipropilenă. Uleiul și tescovina au fost păstrate la  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Biopolimerii extrași inclusiv din materiile prime nominalizate reprezintă compuși biologic activi prin acțiunea lor funcțională prebiotică. Totodată, structura și compoziția biopolimerilor din sistemele alimentare (tabelul 2.2) determină parametri fizici și senzoriali: textura, viscozitatea, gustul și culoarea, influențând calitatea, siguranța și valoarea nutritivă.

**Tabelul 2.2. Caracteristicile unor biopolimeri comestibili**

| Biopolimerul                         | Formula de structură   | M, kDa          | C    | O    | N    | H   | CRA*, % | Ref.           |
|--------------------------------------|--|-----------------|------|------|------|-----|---------|----------------|
| Alcool poli-vinilic, <b>APV</b>      | $\text{R}-\left[\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}\right]_n-\text{R}$                                       | 85...<br>124    | 54,5 | 36,4 | -    | 9,1 | ~2500   | (225)          |
| Acid hialuronic, <b>HHur</b>         |                                     | 300...<br>1500  | 44,3 | 46,4 | 3,7  | 5,5 | ~3000   | (226)<br>(227) |
| Gelatina, <b>Gel</b>                 | $\text{H}-\left[\text{NH}-\underset{\text{R}}{\text{CH}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\right]_n-\text{OH}$ | 15...<br>300    | 50,5 | 25,5 | 17,0 | 6,8 | ~5000   | (228)<br>(229) |
| Celuloză micro-cristalină, <b>μC</b> |                                   | ~500...<br>5000 | 42,1 | 51,5 | -    | 6,4 | ~400    | (230)<br>(231) |

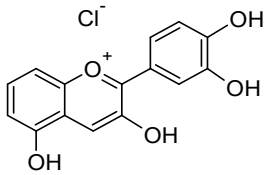
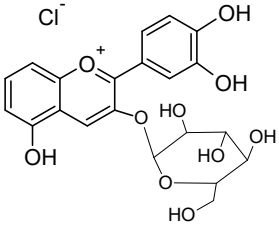
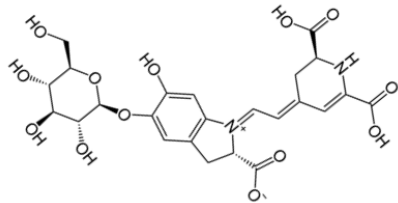
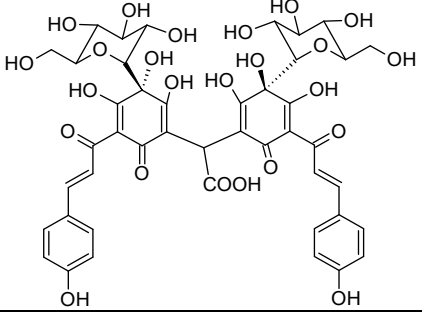
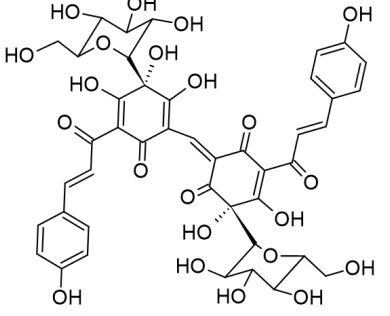
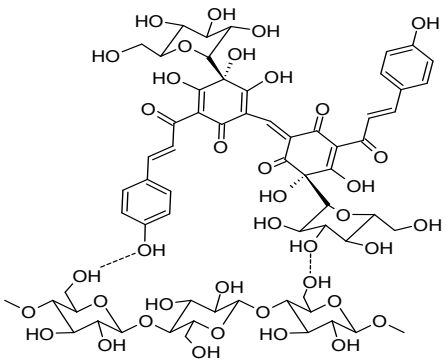
**Nota:** CRA – capacitatea de reținere a apei – datele estimative de autor.

**Gelatina.** Soluțiile de gelatină pură, precum și complexele macromoleculare GelAlg și GelHur au fost preparate folosind gelatină alimentară instant solubilă de calitate „premium” („Fabrica de gelatină din Lisichansk” S.A., Ucraina).

**Celuloza microcristalină.** Au fost utilizate preparatele comerciale de celuloză microcristalină cu dimensiunea particulelor de 50  $\mu\text{m}$  (*Sigma-Aldrich (Merck)*, Saint Louis, Missouri, SUA) și celuloză Flocel-102 (*Gujarat Microwax Pvt. Ltd*, Ahmedabad, Gujarat, India), cu dimensiunea medie a particulelor  $d = 90 \mu\text{m}$ , densitatea în vrac  $\rho = 0,28...0,33 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , umiditatea relativă 3...5%.

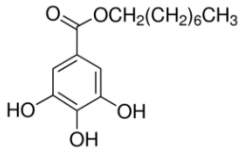
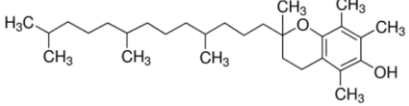
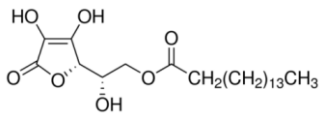
**Acidul hialuronic.** Reprezintă o polizaharidă liniară cu structura acidului glucuronic și a unităților repetate de N-acetilglucozamină legate prin punțile  $\beta$ -1,4 și  $\beta$ -1,3 (figura 4.1). În organismul omului acest acid este concentrat în organe importante ca globul ocular și cordonul ombilical, astfel prezentând un biopolimer esențial necesar. Sursa naturală accesibilă de acid hialuronic în formă concentrată – creasta cocoșului matur, *Gallus gallus L. masculinum* (232).

**Tabelul 2.3. Caracteristicile compușilor biologic activi – coloranților naturali**

| Denumire, prescurtare, masa molară relativă   | Structura chimică  | Metode de analiză, starea fizică, puritate   | Ref.                    |
|---|--|--|-------------------------|
| Clorură de cianidină,<br>cianidină<br><br><b>CyCl, Cy, Cy<sup>+</sup></b><br>Cation Cy <sup>+</sup> : 271.2<br>Sare CyCl: 306.7   |     | UV-Vis, IR, <sup>1</sup> H-RMN.<br>Cristale <b>roșii</b> aciforme<br>higroscopice solubile în<br>alcool și apă, insolubile în<br>HCl <sub>(concentrat)</sub> .<br>> 99%  | (186)<br>(190)<br>(188) |
| Clorură de 3-glucozida<br>cianidinei; 3-glucozida<br>cianidinei<br><br><b>CyGlu</b> sau <b>Cy-3-Glu</b><br>Cation CyGlu: 433.4<br>Sarea CyGluCl: 468.8                                |     | UV-Vis, IR, TLC.<br>Concentrat apos max 10%<br>instabil la temperatura<br>camerei<br><br>> 90...95% de Cy-3-Glu în<br>amestec cu Cy  | (233)<br>(234)          |
| Betanina<br>(Beetroot Red,<br>Roșu de sfeclă, E 162)<br><br><b>Bt</b><br>550.5<br>Aglicon: betanidină   |    | UV-Vis, TLC.<br><br>Extract 10% în amestec<br>EtOH : Aq (40 : 60), în<br>prezența acidului citric.<br>> 95% (a betaninei pure din<br>amestec)  | (196)<br>(197)          |
| Amestec de Chinocalconi<br>Galbene, <b>ACCG</b> :<br><br>Hydroxisafflor Yellow A,<br>HSYA, 612.5<br>Anhydrosafflor Yellow B,<br>AHSYB, 1044.9<br><b>Precartamină</b> ,<br>Pcrt, 956.8 |   | HPLC/MS, HPLC/PDA,<br>UV-Vis, RGB,<br>CIELab.<br><br>Pulbere <b>galbenă</b> , moderat<br>higroscopică<br><br>> 90% chalcone  | (198)<br>(235)<br>(236) |
| Cartamină<br>(Izocartamină)<br><br><b>Crt (iCrt)</b><br>910.8<br><br>Hidrocartamină<br><b>Crt·H<sub>2</sub>O</b><br>928.8   |  | HPLC/PDA, UV-Vis,<br>IR, RGB.<br><br>Pulbere <b>roșie</b> , aproape<br>nehigroscopică, rău solubilă<br>în apă, moderat în etanol,<br>bine solubilă în<br>dimetilformamidă.<br><br>> 99%                            | (41)<br>(237)<br>(183)  |
| Complexul<br>cartamină-celuloză<br>microcristalină, CCC.  |  | HPLC/PDA, UV-Vis,<br>IR, RGB.<br><br>Microcristale non-<br>higroscopice de culoare<br><b>magenta</b> .<br><br>10...25% cartamină în<br>compoziția complexului cu<br>celuloză (90...75% de<br>celuloză, respectiv). | (41)<br>(183)<br>(238)  |

## 2.2. Caracteristica materialelor auxiliare

Tabelul 2.4. Reactivi, substanțe auxiliare și consumabile

| Reactiv/material                                   | Sinonime și analogi                   | Producători                                  | Descrierea succintă   |
|--|---------------------------------------|--|---|
| <b>Polimeri sintetici și artificiali</b>           |                                       |  |   |
| Celuloza microcristalină, cu granule 50 μm         | „Flocel-102”                          | „Sigma-Aldrich”, Saint-Louis, MO, SUA        | $(C_6H_{10}O_5)_n$ , <i>Puriss. spec.</i>   |
| Celuloza, 100 μm, „Flocel-102”.                    | „Sigma-Aldrich”                       | „Gujarat Microwax Pvt Ltd”, Ahmedabad, India | $(C_6H_{10}O_5)_n$ , <i>Puriss.</i>   |
| Cărbune activat                                    | Cărbune activ                         | „ÎM Farmaco SA”, Chișinău, Moldova           | Pulbere sau granule, $C_n$  |
| Pectină PGZ 109 C                                  | E 440                                 | „Cargill Inc”, Minneapolis, MN, SUA          | $(C_5H_3O_4COOH)_n$   |
| <b>Solvenți esențiali</b>                          |                                       |  |   |
| Etanol absolut                                     | „Histanol”                            | „BioGnost Ltd.”, Zagreb, Croația             | $C_2H_5OH$ 100%   |
| Etanol rectificat                                  | Alcool etilic azeotrop                | „Kvint”, Tiraspol, Moldova                   | $C_2H_5OH$ 95,5% (exact)  |
| Metanol  | Alcool metilic                        | „IsoLab”, Wertheim, Germania                 | $CH_3OH > 99,8\%$   |
| Acetonitril  | Metilcianidă                          | „Central Drug House Ltd.”, Ahmedabad, India  | $CH_3CN > 99,8\%$   |
| Propan-2-ol  | Alcool izopropilic                    | „Thermo Fisher Scientific”, Waltham, MA, SUA | $CH_3CH(OH)CH_3 > 99,5\%$   |
| <b>Antioxidanți sintetici și artificiali</b>       |                                       |  |   |
| n-Octilgalat                                       | Esterul n-octilic al acidului galic   | „Alfa Aesar”, Lancashire, Marea Britanie     |  |
| DL-α-Tocoferol                                     | Vitamina E racemat                    | „Alfa Aesar”, Lancashire, Marea Britanie     |  |
| Acid L-ascorbic 6-palmitat                         | Esterul palmitic al acidului ascorbic | „Alfa Aesar”, Lancashire, Marea Britanie     |  |
| <b>Agenți de reglare pH și calibrare electrozi</b> |                                       |  |   |
| Carbonat de sodiu anhidru                          | Sodă calcinată E 500                  | Asociația „Azot”, Severodonețk, Ucraina      | $Na_2CO_3$ , <i>Puriss</i>  |
| Acid acetic (etanoic)                              | Acid acetic glacial, E 260            | Asociația „Azot”, Severodonețk, Ucraina      | $CH_3COOH$ , <i>P.A.</i>  |
| Acid citric alimentar, monohidrat                  | Sare de lămâe, E 330                  | „Shandong Fousi Chemical Co., Ltd”, China    | $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ , <i>Food grade</i>  |

## 2.3. Metode instrumentale de analiză

**Tabelul 2.5. Instrumente utilizate și caracteristica scurtă a metodei**

| <b>Instrumentul</b>   | <b>Descrierea generală a obiectului de studiu și metodei de analiză</b>  |
|---|--|
| <i>1</i>  | <i>2</i>   |
| <b>pH-metria extractelor CBA, sistemelor-model, produselor alimentare</b>   |  |
| <b>pH-150-MI.</b><br>„MinskNauchPribor”<br>(Belarus). UTM   | Sistemul combinat de electrozi „ESC-10603/7” (Ag/AgCl/KCl (soluție saturată) // electrod de membrană de sticlă, în regim de termocompenzație automată (20...30°C).   |
| <b>Determinarea activității apei (a<sub>w</sub>-metria) pulberilor</b>  |  |
| <b>LabSwiftAW.</b><br>„Novasina AG”<br>(Lachen, Elveția)  | Activitatea apei în probele de pulbere a fost înregistrată după 2 ore de expunere la aer la temperatura de 24°C.   |
| <b>Viscozimetria soluțiilor de biopolimeri</b>  |  |
| <b>Viscozimetrul Ostwald</b><br>diametrul capilar<br>d = 0,30...0,88 mm   | Metoda Mark-Houwink-Sakurada (239), (240), (241) presupune determinarea viscozității la diluție infinită, $[\eta]$ și calcularea masei molare viscozimetrice a polimerului utilizând ecuația 2.1:<br>$M_{polimer} = ([\eta]/K)^{1/\alpha} \quad (2.1)$   |
| <b>Codificarea culorilor în sistemul CIELab pentru coloranți și produsele alimentare</b>  |  |
| <b>Chroma Meter CR-400/410</b><br>„Konica Minolta”<br>(Tokyo, Japonia).<br>Universitatea Tehnică a Moldovei   | Parametrii CIELab ( $L^*$ - luminozitate, $a^*$ - coordonata verde versus roșie, $b^*$ - coordonata albastră versus galbenă) au fost măsurăți în cinci repetări. Instrumentul a fost calibrat cu plăci de referință albe și negre pentru probele omogenizate. Analiza culorii celor două tipuri de iaurt s-a realizat pe baza variațiilor $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , calculând diferența totală de culoare ( $\Delta E^*$ ) și folosind ecuația în care indicele „0” corespunde cu parametrii „zero” (inițiali) ai probei.<br>$\Delta E^* = \sqrt{(L_i^* - L_o^*)^2 + (a_i^* - a_o^*)^2 + (b_i^* - b_o^*)^2} \quad (2.2)$ |
| <b>Codificarea culorilor în sistemul RGB pentru coloranții chinocalconici și alimentele în baza lor</b>   |  |
| <b>Camera digitală cu rezoluție 12...64 MPixels</b><br>(orice model)  | Probele au fost fotografiate sub iluminare constantă ( $3000 \pm 50$ lx), folosind aplicația „Light Meter”. Imaginile au fost procesate în aplicația on-line „ImageColorPicker” pentru determinarea codurilor RGB. Pentru fiecare imagine s-au măsurat valorile componentelor <R>, <G> și <B> în trei puncte, care formează vârfurile unui triunghi echilateral. Mediile valorilor respective au fost rotunjite la numere întregi, componentele R, G și B fiind exprimate pe 1 byte de informație, având valorile discrete în diapazonul 0...255.  |
| <b>Spectroscopia UV-Vis a compușilor-standard, sistemelor-model și compozițiilor în baza apei și uleiului, extractelor din produsele alimentare</b> |  |
| <b>Spectrofotometrul UV-Vis „DR 5000”.</b><br>„Hach-Lange”<br>(Germania-SUA),<br>2006. UTM  | Spectrele au fost înregistrate în intervalul 200...800...nm, folosind celula de cuarț cu $l = 1,0$ cm sau celula din polistirenă. Pentru ajustarea valorii pH a soluțiilor de spectrofotometrie au fost utilizați acizii clorhidric (pH = 1...3), citric (pH = 3...6), carbonatul de sodiu (pH = 6...10), hidroxizii de sodiu și de potasiu (pH = 6...12).   |

Continuarea tabelului 2.5

| Instrumentul   | Descrierea generală a obiectului de studiu și metodei de analiză   |
|--|--|
| 1  | 2  |
| <b>Spectroscopia FTIR-ATR a pulberilor de biopolimeri și coloranți</b>   |  |
| <p>„IR Prestige 21”.<br/>„Shimadzu Corp.”,<br/>(SUA-Japonia-<br/>Germania), 2005.<br/>UȘAMV, Cluj, RO</p>  | <p>Mostrele în formă de pulbere fină, obținută prin dispersarea manuală mecanică clasică (în mojar din agat), au fost scanate la o rezoluție de 4 cm<sup>-1</sup>, în regim de 16 scanări repetate, folosind metoda „Atenuated Total Refraction”, ATR (reflexie totală redusă) pe un accesoriu de diamant, în intervalul de numere de undă de 600...4000 cm<sup>-1</sup>.</p>  |
| <b>Cromatografia lichidă de performanță cuplată cu matricea de fotodiozi (HPLC/PDA)</b>  |  |
| <p><b>Cromatograf HPLC „LC 2030-C 3D-Plus”.</b><br/>„Shimadzu Corporation”,<br/>(SUA-Japonia-<br/>Germania), 2020.<br/>Universitatea Tehnică a Moldovei, Chișinău.</p> | <p><b>Metoda izocratică:</b> chinocalconi roșii din petale de șofrănel.<br/>Coloana „Phenomenex” cu fază inversă, C<sub>18</sub>. Lungimea 150 mm, diametrul 4,5 mm; diametrul granulelor de absorbent 5 microni; diametrul porilor 0,08 microni. Eluarea izocratică cu amestec proaspăt preparat apă : acetonitril: metanol : acid trifluoroacetic (59 : 30 : 10 : 1) (184).<br/><b>Metoda gradient:</b> chinocalconi galbeni din șofrănel;<br/>CBA din semințe de struguri și fructe de josta (242).<br/>Varianta 1: faza A: apă bidistilată cu 0,1% (v) acid acetic glacial;<br/>faza B: acetonitril cu 0,1% acid acetic glacial.<br/>Varianta 2: faza A: apă bidistilată cu 0,1% (v) acid acetic glacial;<br/>faza B: acetonitril cu 1,0% acid acetic glacial.<br/>Flux eluant (flow): 0,5 mL/min, 5% faza B; temperatură coloană: 25 / 30°C, sampling: 12,5 Hz; temperatură celula detectoare: 30 / 32°C. Schema gradientului, timp - faza „B”: 0 min. - 5%; 2 min. - 5%; 18 min. - 40%; 20 min. - 90%; 24 min. - 90%; 25 min. - 5%; 30 min. - 5% (flow).</p> |
| <b>Cromatografia lichidă de performanță cuplată cu spectrometrul de masă (HPLC/MS) al extractelor din petale de șofrănel, amestecului de chinocalconi galbeni</b>      |  |
| <p><b>HPLC „Agilent 1200”</b><br/>cu MS „Agilent 6110”<br/>(Santa Clara, SUA).<br/>UȘAMV, Cluj, RO</p>   | <p>Coloană „Eclipse”, C<sub>18</sub>, (4,6 × 150 mm, 5 μm) la 25°C, injecții de 20 μL. Pentru fragmentarea spectrului de masă a fost aplicat modulul de ionizare pozitivă în „electrospray”, ESI(+), cu tensiunea capilară de 3.000 V, la 350°C și debit de azot de 8L·min<sup>-1</sup>. Au fost utilizate două niveluri de energie pentru a obține 50 sau 100 de fragmente în intervalul m/z: 100...1000 Da (243).</p>  |
| <b>Studierea stabilității coloranților iradiați cu UV-Vis</b>  |  |
| <p><b>Cromatograf HPLC „LC 2030-C 3D-Plus”.</b></p>  | <p>Chinocalconii ACCG și CCC au fost iradiați 4 ore cu două lămpi UV de putere nominală 30Wt fiecare, puterea convențională de iluminare („Light Meter” p/u Android): P = 100 ± 2 lx. Mostrele ACCG și CCC, neiradiați au fost folosiți în calitate de martor. Probele de 0,100 ± 0,001 g pulbere de ACCG au fost dizolvate în apă distilată. Soluțiile obținute au fost filtrate prin microfiltrul PTFE 0,22 microni și injectate imediat.</p>  |

## 2.4. Metode de optimizare a fluxului de date

### 2.4.1. Construirea diagramelor ternare $Y = f(X_1, X_2, X_3)$

Diagramele triunghiulare vizualizează topologia proprietăților sistemelor ternare. Avantajul diagramelor de acest tip constă în reducerea substanțială a numărului de experiențe, de exemplu, de la  $4^3 = 64$  în varianta clasică la 10 (figura 2.1). Fiecare vârf al triunghiului Gibbs – Roseboom – Stocks reprezintă componentul pur (100%), iar fiecare axa laterală – o compoziție binară exprimată în procente. Liniile care formează  $\angle 60^\circ$  cu axele  $a, b, c$  reprezintă mulțimea compozițiilor cu un conținut  $a, b, c$  exprimat în procente.

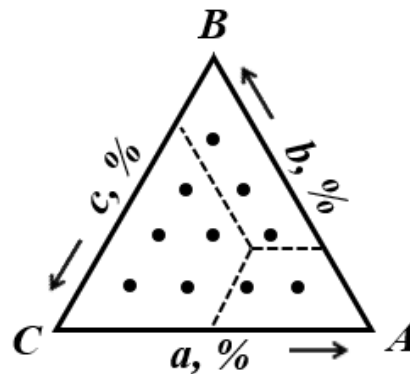


Figura 2.1. Triunghi Roseboom cu 10 compoziții experimentale ternare

### 2.4.2. Experimentul Factorial Liniar Binivelar. Analiza ecuațiilor de regresie

În sistemele alimentare sunt suficient de informative modelele liniare clasice (244), care se obțin prin planificarea și realizarea a  $N = 2^j$  tipuri de experiențe pentru  $j$  factori generatori pentru Experimentul Factorial Complet, *EFC*. Matrice *EFC* se transformă în matrice *EFF* (Experimentul Factorial Fraționat,  $N = 2^j$ , în care  $j = j_Z - j_S$  ( $j_Z$  – numărul factorilor de influență dintre care  $j_S$  au fost obținuți prin substituția factorilor de interacțiune).

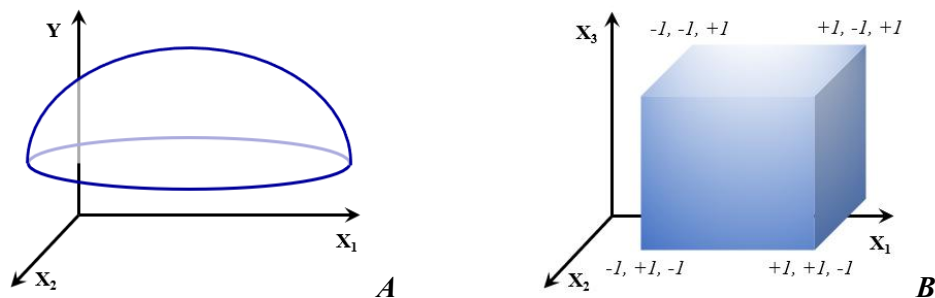


Figura 2.2. Schema spațiului factorial „real” și imaginar: *A* – suprafața de replică în spațiul bifactorial; *B* – hipercub 3D+ cu unele coordonate codificate.

$$\text{EFC } 2^2 : Y = \beta_0 X_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_{12} \quad (2.3)$$

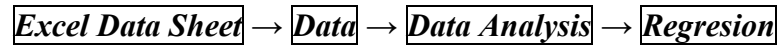
$$\text{EFF } 2^{3-1} : Y = \beta_0 X_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 \quad (2.4)$$

$$\begin{aligned} \text{EFC } 2^3 : Y = \beta_0 X_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \\ + \beta_{12} X_{12} + \beta_{13} X_{13} + \beta_{23} X_{23} + \beta_{123} X_{123} \end{aligned} \quad (2.5)$$

$$\begin{aligned} \text{EFF } 2^{4-1} : Y = \beta_0 X_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_{12} + \\ + \beta_{13} X_{13} + \beta_{23} X_{23} + \beta_4 X_4 \end{aligned} \quad (2.6.1)$$

$$\begin{aligned} \text{EFF } 2^{7-4} : Y = \beta_0 X_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \\ + \beta_4 X_4 + \beta_5 X_5 + \beta_6 X_6 + \beta_7 X_7 \end{aligned} \quad (2.6.4)$$

Regresiile, obținute în baza măsurărilor, care nu au fost *a priori* planificate ca EFC sau EFF, au fost obținute în baza masterului de analiză a datelor din Excel (245):



Instrumentul „Data Analysis”, la introducerea replicilor, obținute după planurile standard EFC și EFF, generează coeficienți de regresie, care sunt identici metodei clasice (244).

### 2.4.3. Determinarea polidispersității emulsiilor și suspensiilor

Metodele cunoscute de determinare a polidispersității presupun utilizarea unui set de site și nu se potrivesc pentru sistemele lichide și microcapsule cu un conținut lichid, de aceea a fost elaborată o metodă originală potrivită pentru sistemele-model, emulsii, produsele alimentare cu un conținut de microcapsule. Metoda este aplicabilă pentru emulsiile ulei/apă (lapte vegetal) și suspensiile de microcapsule comestibile. Probele studiate au fost fotografiate cu o cameră de înaltă rezoluție (12...64 MPx) instalată nemijlocit în ocularul microscopului optic. Modul de iluminare a probelor, în lumina transmisă sau laterală, se alege în funcție de transparența fazelor sistemului studiat. Diametrul real al câmpului de vedere observat se determină prin calibrare. Microcapsulele sau picăturile de emulsie de anumite dimensiuni se numără manual, folosind imagini mărite până la 15...20 cm și tipărite. Apoi se recalculează parametrii microcapsulelor determinând diametrul lor mediu, volumul fracțiunii și fracția de volum a microcapsulelor cu diametru mediu:

$$V_i = \frac{\pi \cdot \bar{d}_i^3}{6} \quad (2.7)$$

$$V_{\varphi_i} = N_i \cdot V_i \quad (2.8)$$

$$\varphi_i = \frac{V_{\varphi_i}}{\Sigma V} \quad (2.9)$$

în care:  $V_{\varphi_i}$  – volumul fracțiunii  $i$ ;

$V_i$  – volumul unui obiect sferic (microcapsulei sau a picăturii de emulsie) cu diametrul mediu  $\bar{d}_i$ ;

$N_i$  – numărul calculat al speciilor de microcapsule / picături de emulsie din fracțiune  $i$ ;

$\varphi_i$  – fracția volumică a microobiectelor cu diametrul mediu  $\bar{d}_i$ ;

$\Sigma V$  – volumul sumar analizat al tuturor fracțiilor.

Indicele de polidispersitate a distribuției, PDI, a fost calculat ca pătratul coeficientului de variație al distribuției  $(\sigma/\mu)^2$  pentru distribuții apropiate de forma Gaussiană (246). În cazul utilizării regulii  $\pm 2\sigma$ , relația poate fi exprimată prin forma aproximată (2.9.S):

$$\text{PDI} = \left( \frac{d_{\max} - d_{\min}}{4\mu} \right)^2 \quad (2.9.S)$$

în care  $\mu$  este diametrul particulelor din centrul curbei de distribuție.

#### 2.4.4. *Determinarea cantitativă cromatografică a unor CBA cu standard convențional*

Disponibilitatea redusă a mostrelor-standard reprezintă o problemă în cercetarea sistemelor policomponente. Cunoscând din surse veritabile valorile coeficienților molari de extincție și având la dispoziție un spectrofotometru cu prismă și un instrument HPLC/PDA, problema lipsei standardelor poate fi rezolvată. Pentru aceasta se combină Legea Boogher-Lambert-Beer și calcularea concentrațiilor, reieșind din aria picurilor cromatografice. Metoda a fost utilizată pentru caracteristica CBA din extractele din petale de șofrănel, pentru compușii biologic activi din vin și din sâmburi (semințe) de viță-de-vie (247). În calitate de sursă-standard se utilizează extractul natural, care conține standardul în cauză sau un component relativ pur cu parametrii optici cunoscuți (i.e., extractul de mure conține doar derivații cianidinei, predominând cianidin-3-O-glucozida (248)). După spectrofotometrirea și injectarea probei de standard convențional și injectarea probei de cu CBA măsurat se utilizează ecuația Ecuație (2.10):

$$C_{\text{probă}} = \frac{D \cdot A_{\text{pr.}}}{\varepsilon \cdot l \cdot A_{\text{st.con.}}} = K \cdot \frac{A_{\text{pr.}}}{A_{\text{st.con.}}} \quad (2.10)$$

în care:  $C_{\text{probă}}$  – concentrația molară a CBA în proba analizată;

$D$  – absorbanta soluției CBA la spectrofotometrul UV-Vis;

$\varepsilon$  – coeficient molar de extincție;  $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ;

$l$  – lungimea drumului optic, cm;

$A_{\text{probă}}$  – aria picului CBA analizat la HPLC/PDA, mAU·s .

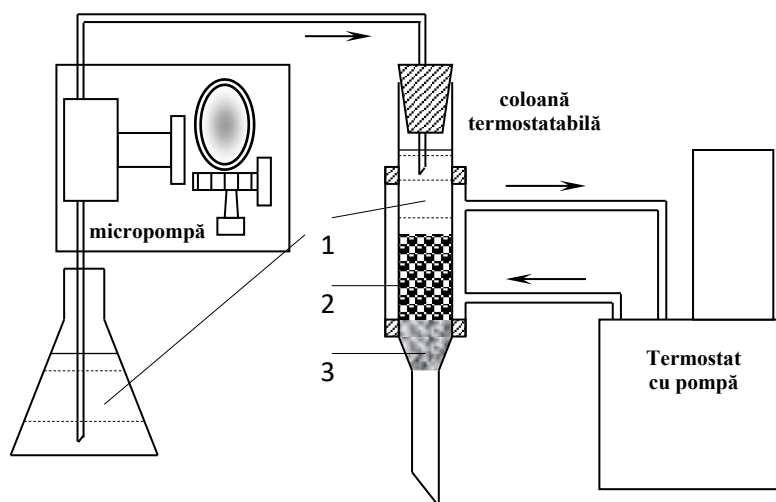
$A_{\text{st.con.}}$  – aria picului standardului convențional, mAU·s , pentru care este cunoscut și  $\varepsilon$ .

## 2.5. Sisteme de operare și de susținere

### 2.5.1. Sistem de operare a proceselor de filtrare-sorbție-eluare la viteza fluxului de eluant și temperatura controlată

Viteza și temperatura filtrării, sorbției, eluției sunt factori decisivi care influențează atât intensitatea (viteza) proceselor de sorbție și desorbție, cât și stabilitatea compușilor biologic activi. Asigurarea valorii constante a vitezei de filtrare la temperaturi diferite (dar constante în cadrul diferitor experiențe), *ceteris paribus*, este problematică, deoarece temperatura influențează direct proprietățile hidrodinamice ale lichidului și ale fazei polimerice. Pe parcursul procesului polimerul (sorbentul) suferă degazare și comprimare, ceea ce duce la micșorarea sau creșterea imprevizibilă a vitezei de filtrare. La temperaturi mai mari de 50°C, viteza filtrării poate să crească datorită presiunii suplimentare a gazului în coloană termostatabilă.

Toate aceste probleme tehnice, inclusiv procedura de degazare, se rezolvă cu succes în sistemele HPLC analitice, dar mai ales în cele preparative. Însă accesul la sistemele HPLC preparative este limitat datorită costului lor ridicat. Sistemul reprezentat în figura 2.3 este accesibil și util la studierea proceselor de sorbție-desorbție ale CBA pe faze staționare diferite (sorbenți diferiți), este soluție satisfăcătoare din punct de vedere al reproductibilității datelor, dar și accesibil în cercetările sistemelor „compus biologic activ – biopolimer” (190).

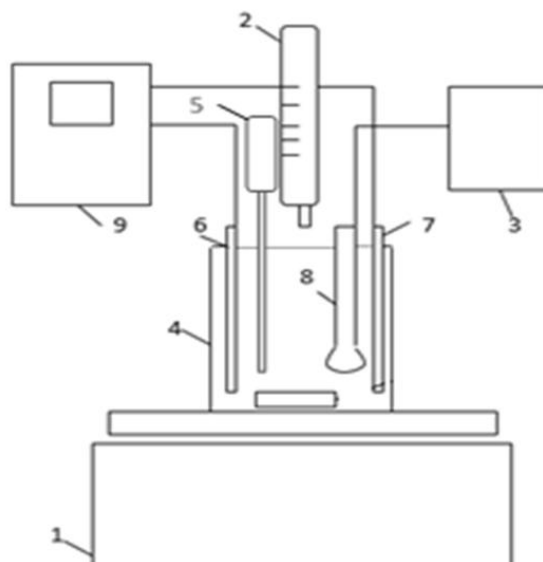


**Figura 2.3. Sistem de operare a proceselor de filtrare-sorbție-eluare:**  
*1 – fază lichidă cu CBA, 2 – sorbent, 3 – material inert (fibre de lavsan, celuloză, CA).*

Sistemul operațional este format din micropompă pentru propulsarea fazei mobile, capabilă să asigure viteza aproape constantă de  $0,1...10,0 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$  și o coloană termostatabilă, confecționată manual, care este unită la un termostat cu pompă (figura 2.3).

### 2.5.2. Sistem de susținere a funcționalității microcapsulelor cu controlul electrochimic al proceselor, SSF-MC-CEP

Orice sistem de susținere („enabling system”) completează un sistem de interes în timpul unor etape ale ciclului său de viață, dar nu neapărat contribuie direct la funcționarea acestuia în timpul etapei sale de funcționare (249).



**Figura 2.4. Schema sistemului de susținere a funcționalității microcapsulelor prin controlul electrochimic al proceselor, SSF-MC-CEP: 1 – agitator-încălzitor; 2 – dozator; 3 – pH-metru; 4 – reactor; 5 – termometru; 6, 7 – electrozii inox ai ohmmetrului; 8 – electrodul combinat al pH-metrului; 9 – ohmmetru (rezistometru).**

Sistemul de susținere a funcționalității microcapsulelor prin controlul electrochimic al proceselor, SSF-MC-CEP, a fost elaborat pentru studierea, controlul și programarea proceselor, care au loc în timpul asamblării microcapsulelor (158). SSF-MC-CEP permite realizarea și studierea diferitor procese în sistemele-model, care au replica electrochimică ușor măsurabilă, de exemplu, permite monitorizarea schimbării rezistenței, conductivității sau pH al soluției.

Valorile măsurate servesc la luarea deciziei – de exemplu, a finaliza un proces și a începe altul. Astfel, SSF-MC-CEP permite realizarea asamblării microcapsulelor și măsurării simultane a conductivității în supernatant, în care are loc asamblarea fără extracția probelor.

SSF-MC-CEP (figura 2.4) se assemblează pe agitatorul magnetic cu posibilitatea de încălzire (1). Reactorul (4) reprezintă un pahar Berzelius de 200...1000 cm<sup>3</sup>, care, în caz de necesitate, poate fi completat cu o cămașă de răcire (nu este indicată în schemă). În spațiul reactorului este imersat termometru digital cu corpul de lucru din inox (5) și două tipuri de electrozi: sistemul combinat „electrod saturat de KCl / electrod cu membrană din sticlă” ECS-10603/7 (8), unit la pH-metru „pH-150-MI” („Mensknauchpribor”, Mensk, Belarus) sau

analog (3), și doi electrozi inox (6), (7), uniți la ohmmetru (9) (Multitester digital „UT33C”, „Shenzhen Sunkoo-Reid Electronic Co.”, Shenzhen, Guangdong, China). Trebuie să fie asigurată poziția reciprocă constantă a electrozilor (6) și (7) în cadrul unei experiențe, ideal – în cadrul întregului experiment.

Dezavantajul agitatorului magnetic pentru măsurările electrochimice este că acesta nu asigură viteza constantă de agitare, îndeosebi la schimbarea viscozității soluțiilor, care are loc în sisteme și procese cu participarea biopolimerilor. Înlocuirea agitatorului magnetic cu un agitator mecanic rezolvă problema vitezei constante, dar prezintă pericol pentru integritatea electrozilor.

Avantajul SSF-MC-CEP, ca și a altor sisteme tip „multicooker”, constă în faptul că aceste sisteme sunt ușor realizabile în laboratoarele cu dotare modestă: pe lângă un pH-metru și un agitator este necesar un termometru digital și un multitester.

### **2.5.3. Sistem pentru studierea biopolimerilor, compozițiilor și microobiectelor în baza acestora prin metoda electroforetică**

Metoda electroforetică permite a determina semnul sarcinii particulei coloidale sau al microobiectului, care este mobil în câmpul electroforetic. Al doilea parametru foarte important și mai fin este potențialul electrocinetic, *zeta*,  $\zeta$ , care se descrie prin ecuația 2.2, cunoscută sub denumirea personalizată Helmholtz-Smoluchowski (176), (250).

$$\zeta = \frac{\eta \cdot V}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0 \cdot H} = \frac{\eta \cdot l \cdot L}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0 \cdot U \cdot \tau} \quad (2.11),$$

în care:

$\eta$  – vâscozitatea dinamică a apei,  $1 \cdot 10^{-3} Pa \cdot s$ ;

$\varepsilon$  – constanta dielectrică a apei, 89, non-dimensională;

$\varepsilon_0$  – permitivitatea electrică a vidului,  $8,85 \cdot 10^{-12} F \cdot m^{-1}$ ;

$V$  – viteza particulelor coloidale sau a microcapsulelor în câmpul electroforetic,  $m \cdot s^{-1}$ ;

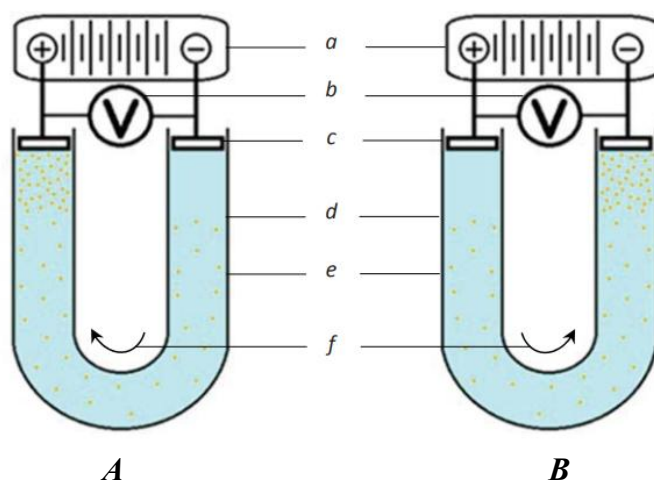
$H$  – intensitatea câmpului electric,  $F \cdot m^{-1}$ ;

$l$  – deplasarea particulelor coloidale în câmpul electric, m;

$\tau$  – timpul electroforezei, s;

$L$  – distanța dintre suprafețele electrozilor (lungimea efectivă a tubului), m;

$U$  – tensiunea sursei de curent continuu, V.



**Figura 2.5. Schema sistemului electroforetic pentru studierea particulelor coloidale și microcapsulelor: A – cu sarcină globală negativă, B – cu sarcină globală pozitivă.**

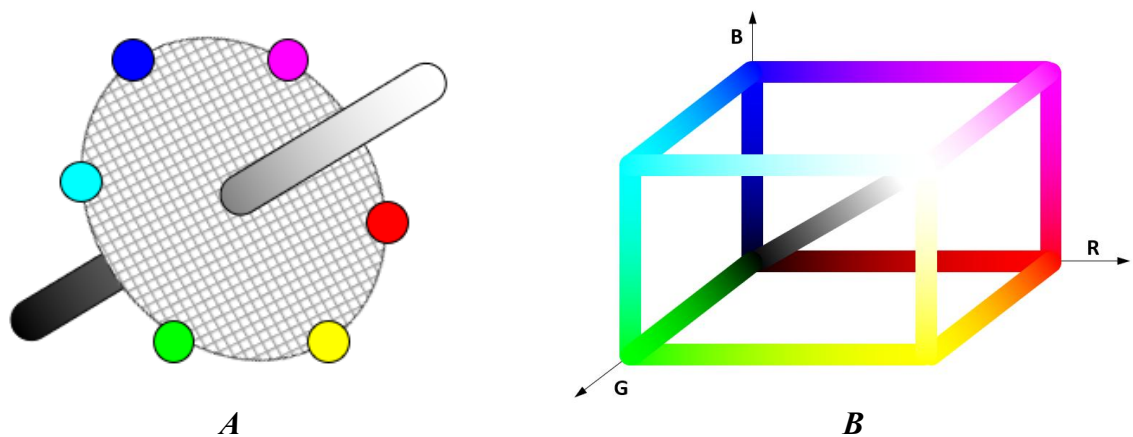
Pe schema dispozitivului electroforetic (figura 2.5) sunt evidențiate: a) sursa de tensiune constantă „SPA-97” (Contragent Company, Ltd, Harkiv, Ucraina); b) multi-testerul digital „UT33C” (Shenzhen Sunkoo-Reid Electronic Co., Shenzhen, Guangdong, China); c) electrozii cu suprafața plată executați manual din oțel inoxidabil AISI-304; d) hotarul format între particulele coloidale și supernatant (mediul de dispersie); e) tubul în formă de U cu diametrul de 1 cm și lungimea efectivă 15...25 cm; f) sensul mișcării particulelor cu sarcina globală „-” (A) și „+” (B).

#### **2.5.4. Sistem de analiză a culorii probelor în baza codificării red-green-blue (RGB)**

Culoarea obiectului reprezintă perceperea noastră subiectivă a undelor electromagnetice cu lungimea de 400...780 nm. Fiind derivată direct din structura chimică nesaturată, culoarea compușilor biologic activi reprezintă un indice important de stare și stabilitate a acestora.

Determinarea și digitalizarea culorii probelor în stare solidă (uscată) se efectuează prin metoda CIELab (251), (66). Metoda CIELab utilizează un spațiu virtual de coordonate ( $L, a, b$ ) în care culoarea este determinată de coordonatele  $a, b \in (-128; +128)$ , iar  $L$  este luminozitatea;  $L \in (0; 100)$ . Culorii negre îi corespund coordonatele  $L, a, b = 0, 0, 0$ , iar celei albe  $L, a, b = +100, 0, 0$ . Determinarea experimentală a nuanței exacte a culorii probelor în stare umedă se efectuează cu unele greutăți tehnice. Din această cauză a fost necesară elaborarea unei metode bazate pe utilizarea codului RGB („Red : Green : Blue” = „Roșu : Verde : Albastru”), direct compatibile cu instrumentele cromatice din Microsoft Office. Spațiul RGB reprezintă un cub în care intensitatea componentei respective este redată de un byte de informație (252).

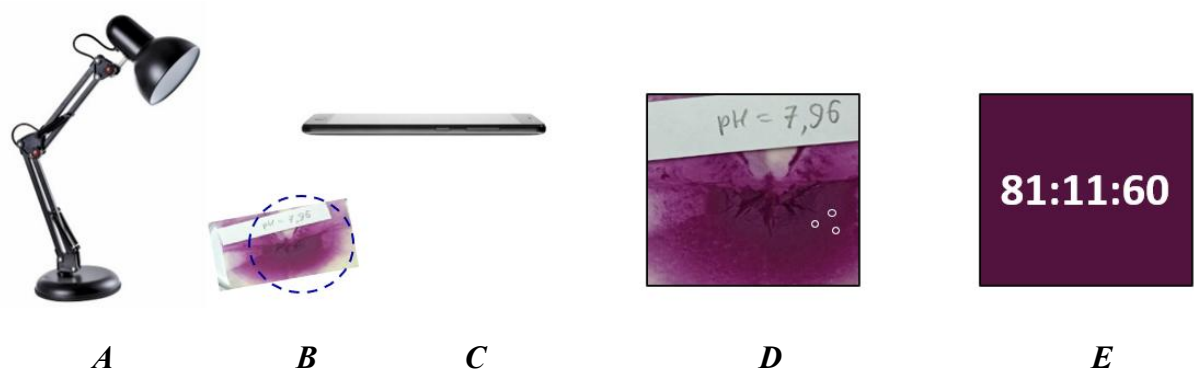
Schema care reflectă corelația dintre sistemele de coordonate cromatice CIELab și RGB este reprezentată în figura 2.6.



**Figura 2.6. Corelarea dintre sistemele de coordonate cromatice CIE Lab și RGB:**  
*A – sistemul CIE Lab: de la negru (0, 0, 0) prin centrul gri (50, 0, 0) la alb (100, 0, 0);*  
*B – sistemul RGB: de la negru (0, 0, 0) prin 254 nuanțe de gri la alb (255, 255, 255).*

Realizarea corectă a metodei necesită asigurarea condițiilor reproductibile de iluminare, care a fost cuprinsă în intervalul de  $3000 \pm 50$  lux și captarea imaginii (figura 2.7).

Imaginile captate se prelucrează cu ajutorul aplicației care determină codurile RGB ale pixelilor din imagine (253). Pentru a reduce din neomogenitatea inevitabilă a culorii, codurile RGB se înregistrează în trei puncte situate aproximativ echidistant, adică, formând un triunghi echilateral. Media aritmetică, calculată pentru fiecare byte, se rotunjește doar la un număr întreg, dat fiind faptul că codul RGB este format din numere întregi (negru – 0:0:0, roșu – 255:0:0, verde – 0:255:0, albastru – 0:0:255, alb – 255:255:255).



**Figura 2.7. Sistem de determinare a codului RGB pentru probele umede:** *A – sursa de lumină „rece” 6400 K; B – obiectul analizat în zona cu iluminare  $3000 \pm 50$  lux; C – smart phone la distanța fixă până la probă; D – imaginea analizată; E – cod <RGB> și <culoarea>.*

Imaginile captate se prelucrează cu ajutorul aplicațiilor, care determină codurile RGB ale pixelilor din imagine (253).

## 2.6. Interpretarea statistică a datelor experimentale

### 2.6.1. Estimarea erorilor măsurărilor directe și indirecte (254), (255)

Scopul final al majorității evaluărilor statistice constituie determinarea **intervalului de încredere** – domeniului, în care valoarea adevărată a parametrului  $X$  se încadrează cu o probabilitate  $P$ , determinată de metoda utilizată sau aleasă de cercetător. Valoarea probabilității  $P$  mai este numită **nivelul de încredere (certitudine)**. Mărimea, complementară valorii  $P$ , se numește **nivel de incertitudine** și se notează prin  $q$ . Deseori incertitudinea  $q$  de asemenea este numită „probabilitate”, de fapt, fiind mărimea complementară probabilității adevărate  $P$ :

$$P + q = 1 \quad (2.12)$$

**Coefficientul Student**  $T_{St(q,f)}$  este funcție dependentă de valoarea incertitudinii  $q$  și de numărul gradelor de libertate  $f = n - 1$ .  $T_{St(q,f)}$  descreește cu creșterea numărului de repetări (determinări suficient de independente),  $n$ .

**Deviația standard a eșantionului** („sample standard deviation”),  $\sigma_{n-1}$ , reprezintă suma pătratelor abaterilor absolute pe care le-au înregistrat valorile experimentale ale  $X$ , raportată la numărul gradelor de libertate  $f = n - 1$  ale eșantionului:

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum(\bar{X} - X_i)^2}{f}} = \sqrt{\frac{\sum(\bar{X} - X_i)^2}{n-1}} \quad (2.13)$$

Cunoașterea  $T_{St(q,f)}$  și  $\sigma_{n-1}$  permite determinarea probabilistică a erorilor absolute  $\Delta X$  și a **intervalului de încredere**:

$$X = \bar{X} \pm \Delta X = \bar{X} \pm T_{St(q,f)} \cdot \sigma_{n-1} \quad (2.14)$$

Tendința mondială actuală în calcularea intervalului de încredere constă în utilizarea valorilor simplificate ale  $T_{St(q,f)}$ . Astfel, pentru probabilitatea de încredere  $P = 0,95$  ( $q = 0,05$ ) se consideră că  $T_{St(q,f)} \sim 2,0$ , iar pentru  $P = 0,997$  ( $q = 0,003$ ),  $T_{St(q,f)} \sim 3,0$  ce permite utilizarea „regulii a două sigma” și regulii a trei sigma pentru calcularea erorii absolute:

$$P = 0,95: \quad X = \bar{X} \pm \Delta X = \bar{X} \pm 2 \cdot \sigma_{n-1} \quad (2.15.1)$$

$$P = 0,997: \quad X = \bar{X} \pm \Delta X = \bar{X} \pm 3 \cdot \sigma_{n-1} \quad (2.15.2)$$

**Erorile măsurărilor indirecte** pentru replicile  $Y$ , care pentru un număr de factori de influență  $j$  se descriu cu funcție de tipul  $Y = f(X_1...X_j)$ , au fost calculate folosind metoda sumei pătratelor erorilor relative:

$$\varepsilon_Y = \frac{\Delta Y}{\bar{Y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^j \left(\frac{\Delta X_i}{\bar{X}}\right)^2} \quad (2.16)$$

$$\Delta Y = \varepsilon_Y \cdot \bar{Y} \quad (2.17)$$

$$Y = \bar{Y} \pm \Delta Y \quad (2.18)$$

Aplicarea metodei derivatelor parțiale duce la aprecierea mai exactă a erorii măsurărilor indirecte, iar rezultatul (valoarea erorii absolute) este de obicei mai mic decât se obține prin metoda sumei pătratelor erorilor relative. Diferența în aprecierea erorii între aceste două metode diferite poate să ajungă chiar și la **un ordin**. Utilizarea metodei derivatelor parțiale este strict necesară când valoarea ridicată a erorii absolute poate afecta suficient interpretarea rezultatelor experimentale obținute (256).

$$\Delta Y = \sqrt{\sum_{i=1}^j \left(\frac{\partial Y}{\partial X_i}\right)^2 \cdot \Delta X_i^2} \quad (2.19)$$

în care  $\left(\frac{\partial Y}{\partial X_i}\right)$  reprezintă derivatele parțiale ale funcției  $Y$  după  $X_i$

### 2.6.2. Modelare statistică prin analogie. Modelul „bile colorate”

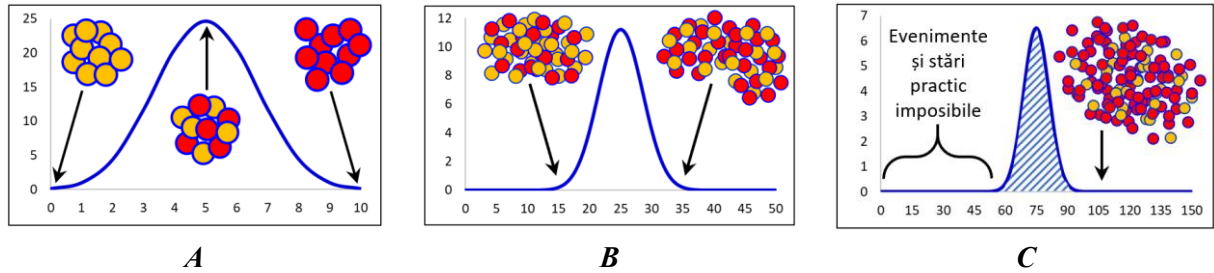
Pentru algoritimizarea determinării influenței calitative și cantitative a entropiei asupra stării sistemelor reale, inclusiv sistemelor alimentare, există necesitatea unui model matematic relativ simplu și reproductibil. Un astfel de model reprezintă o „pungă” imaginară, care „conține” un număr infinit (deoarece  $\infty - 1 = \infty$ ) de bile de două culori, de exemplu, portocaliu și roșu. La extracția aliatoare a bilelor din pungă probabilitățile de a extrage o bilă roșie sau una portocalie sunt egale. Probabilitatea de a obține  $N_R + N_P = N$  bile se calculează folosind ecuațiile (2.20...2.21):

$$P_{R/O} = \frac{N!}{N_R! \cdot N_O!} \quad (2.20)$$

$$P_{R/O}^{\%} = \frac{P_{R/O}}{\sum P_i} \cdot 100\% \quad (2.21)$$

Ecuația (2.21) permite calcularea și construirea curbei în coordonatele  $P_{R/O}^{\%} = f(N_R)$ , care descrie ponderea tuturor stărilor posibile ale sistemului-model, De exemplu, probabilitatea de

a obține la extragere doar 10 bile roșii sau doar zece bile portocalii nu depășește 0.1% (figura 2.8, A). Odată cu creșterea dimensiunii eșantionului, zona distribuției probabilității (și, de fapt, evenimentelor și stărilor realizabile ale sistemului) se îngustează și mai mult, iar zona de improbabilitate se extinde (figura 2.8, C). Pentru eșantioanele din 10, 50 și 150 de bile lățimea zonelor de improbabilitate este <1%, ~56% și, respectiv, ~73%, adică crește constant, deși neliniar.



**Figura 2.8. Legitățile repartizării probabilității termodinamice  $P\% = f(n)$  în sistemele-model bicomponente: A – din 10 particule; B – din 50 particule; C – din 150 particule.**

Probabilitatea termodinamică este numărul de stări posibile ale unui sistem-model termodinamic legat de entropie prin expresia (257), (258):

$$S \sim k \cdot \lg P \quad (2.22)$$

Pentru sistemele reale alcătuite dintr-un număr mare de particule, conform ecuației (2.22), cu creșterea probabilității termodinamice **cu un ordin**, entropia  $S$  va crește doar **cu o unitate**. Modelul „punga cu bile” demonstrează matematic și vizualizează ireversibilitatea procesului și creșterea entropiei sistemului. Predominarea unei culori corespunde nivelului scăzut de entropie, iar dezordinea (dezorganizarea, instabilitatea) indică o entropie ridicată. De aici rezultă concluzii importante, extrapolabile la sistemele alimentare reale:

- ✓ Cele mai ordonate stări ale sistemului (de exemplu, când doar numai un singur compus-țintă intră în componența extractului) sunt, concomitent, și cele mai **puțin probabile** din punct de vedere al statisticii termodinamice (figura 2.8, A);
- ✓ Creșterea complexității sistemului duce la creșterea numărului stărilor cu entropie relativ mare, care sunt practic imposibile. Pentru sistemele moleculare lățimea zonei de improbabilitate tinde spre 100%. Astfel, statistica termodinamică demonstrează că o impuritate, sau componentul-țintă, nu se pot separa spontan fără aplicarea forțelor externe;
- ✓ Cu cât numărul de particule dintr-un sistem real este mai mare, cu atât graficul funcției  $P\% = f(N)$  arată mai îngust (oricum, integrala funcției  $P\% = f(n) = 100\%$ );
- ✓ Dacă sistemul constă din mai multe subsisteme separate, fiecare subsistem de asemenea va avea funcție de probabilitate termodinamică proprie.

## Concluzii la Capitolul 2

1. În calitate de surse de compuși biologic activi și biopolimeri au fost utilizate fructe de talul *Saccharina japonica* (fosta *Laminaria*), rădăcini de *Beta vulgaris L.*, miezul semințelor *Juglans regia L.*, semințele *Linum usitatissimum*, petalele *Carthamus tinctorius L.* Din aceste surse au fost izolate, respectiv: algi nați de sodiu și de potasiu; extracte purificate de betacianină și betaxantină; ulei cu un conținut ridicat de esteri ai acizilor grași polinesaturați  $\omega_3$  și  $\omega_6$  (linolic și linolenic); arabinoxilan; amestec de chinocalconi galbeni, ACCG; preparat de cartamină și complexul cartamină-celuloză, CCC – în formă de pulbere.
2. Studiul sistemelor alimentare cu un conținut de compuși biologic activi necesită utilizarea combinată a metodelor de cercetare logice și abstracte (experimentul mental, analiza, sinteza, metoda bilelor colorate etc.); matematico-statistice (experimentul neprogramat și programat, planificarea experimentului, analiza ecuațiilor de regresie (metoda Box-Hunter, metoda analizei prin ipoteza „0”); metodele instrumentale de performanță (electrochimice, spectroscopice, cromatografice).
3. Au fost determinate experimental limitele de aplicare ale unor metode de cercetare ale compozițiilor cu CBA. Modelele clasice binivelare în diferite combinații sunt suficient de informative pentru sistemele alimentare, care *a priori* sunt sisteme labile. Atât activitatea biologică (fiziologică) a compusului, cât și parametrii spectrului UV-Vis al acestuia se datorează grupelor cromofore cu legături chimice duble conjugate și grupelor auxochrome, care oferă compusului funcționalitate. De aceea, metoda spectroscopiei UV-Vis reprezintă o metoda universală pentru studierea compușilor biologic activi în soluții, extracte și în produsele alimentare. Din aceeași cauză, anume pentru CBA, din toate metodele existente cromatografice de analiză, metoda cromatografică HPLC cu detector tip PDA (DAD) reprezintă o varianta optimală.
4. Au fost elaborate metode originale de analiză a sistemelor alimentare-model, care conțin compuși biologic activi: sistemul de adsorbție/eluție la viteză constantă, analog de cromatografie preparativă de înaltă performanță; instalația experimentală pentru cercetarea sistemelor proteină/polizaharidă prin electroforeză. Au fost elaborate sistemul de principiu și instalația pentru controlul producerii microcapsulelor folosind electrochimia clasică; metoda originală de analiză a polidispersității sistemelor U/A și a suspensiilor microcapsulelor; metoda de identificare cantitativă a culorii probelor uscate, umede și lichide prin scanarea codului „RGB” al probei în condiții de iluminare reproductibilă controlată.

### Capitolul 3. STABILIZAREA ȘI PROLONGAREA FUNCȚIONALITĂȚII COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI ÎN SISTEMELE ALIMENTARE

#### 3.1. Aspecte ale analizei coloranților alimentari prin combinarea metodelor spectrale și cromatografice

Culoarea produselor alimentare are un rol esențial în percepția calității și acceptabilității acestora de către consumatori. Aceasta reprezintă un indicator al prospețimii, maturității și siguranței alimentelor. Culoarea biogenă a sistemelor alimentare reprezintă un indicator fiabil al activității funcționale a acestora și al prezenței compușilor bioactivi, întrucât o mare parte dintre coloranții naturali manifestă activitate antioxidantă (259). Studiul compozițiilor de coloranți permite optimizarea proceselor tehnologice, care ar putea asigura păstrarea sau corectarea aspectului natural și a evita degradarea compușilor cu activitate biologică (242).

Diferite nuanțe naturale pot fi obținute prin combinarea coloranților galbeni și roșii naturali și artificiali, astfel simulând culorile naturale. În scopul studierii stabilității unor compoziții de acest tip au fost preparate sisteme, care conțin Tartrazină (E-102, Tr,  $\lambda_{\max.} = 431$  nm), Ponceau 4R (E-124, Po,  $\lambda_{\max.} = 513$  nm), Cianidină (E-163, Cy,  $\lambda_{\max.} = 536$  nm), având concentrații de  $10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup> și înregistrate spectrele lor electronice (260).

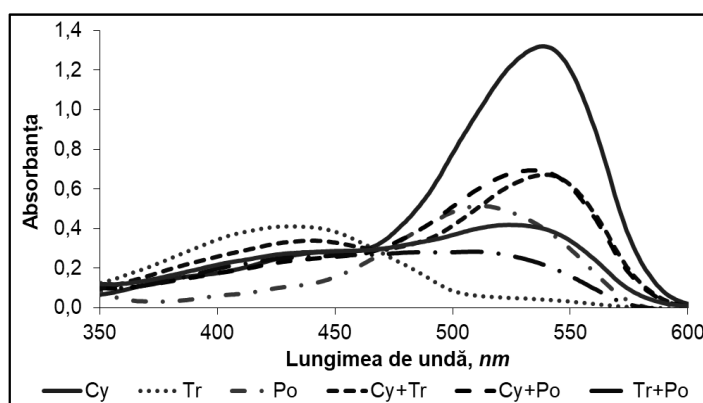
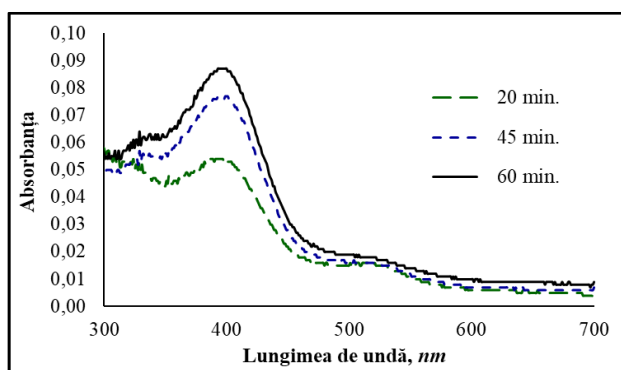


Figura 3.1. Spectrele UV-Vis ale sistemelor-model cu coloranți alimentari:  
*Cianidină E 163, Cy; Tartrazină E 102, Tr; Ponceau E 110, Po.*

În figura 3.1 se demonstrează că utilizarea doar a metodei spectroscopiei UV-Vis pentru sistemele din mai mulți coloranți din mai multe puncte de vedere nu este sigură. Exemplul sistemului Po + Cy dovedește că acești coloranți roșii nu pot fi identificați și dozați în mod univoc. În sistemul din doi coloranți sintetici, Po + Tr, se observă, că absorbanta Po scade considerabil peste un timp scurt. Degradarea Ponceau 4R în sistemul Po + Tr a fost confirmată prin dispariția

spotului Ponceau 4R în cromatogramele TLC. Această observație contrazice datele privind stabilitatea acestor compoziții obținute prin metoda voltamperometrică (261). Interpretarea spectrelor electronice ale compozițiilor CBA, care conțin componenți din diferite clase este influențată negativ de suprapunerea parțială sau coincidența domeniilor de absorbție a razelor UV-Vis : acidului ascorbic (240...265 nm), polifenolilor incolori (250...300 nm), acizilor cinamici (250...350 nm), flavanolilor (330...375 nm), chalconilor monomerici galbeni (385...415 nm) (198), carotenoidelor (400...500 nm), antocienilor (242), betacianinelor (500...550 nm), chalconilor roșii (500...525 nm) (41), clorofilelor (600...700 nm).

Compozițiile alimentare conțin biopolimeri incolori și transparenți cu structură solidă preponderent amorfă sau care reprezintă micle coloidale. Astfel de componente nu dau semnale directe în domeniul UV-Vis, deoarece nu prezintă sisteme cu legături duble conjugate. Totuși, polimerii pot influența absorbția în domeniul UV-Vis. Spectrele peliculelor polimerice conțin un surplus al absorbției datorat difuziei pe rețeaua de difracție formată de macromolecule (262). Activitatea optică similară se observă în spectrele extractelor hidrocartaminei din celuloză, în care difuzia se manifestă ca un platou în regiunea de 600...700 nm (figura 3.2)..



**Figura 3.2. Modificarea spectrelor extractului de hidrocartamină extrasă din faza celulozei microcristaline în funcție de timp**

Deoarece în sistemele studiate lipsesc coloranții verzi și albaștri, care absorb lumină în regiunea 600...700 nm, densitatea optică înregistrată în acest interval corespunde doar aportului rețelei de difracție, create de nanoparticulele biopolimerului. Această difracție, fiind persistentă pe toată lățimea spectrului, a fost luată în considerație în calculele respective (41).

Interacțiunile coloranților cu substratul polimeric oferă posibilitatea de separare relativ ușoară și eficientă a diferitor clase de coloranți din amestecurile complexe prin metoda cromatografiei în stratul subțire (“Thin Layer Chromatography”, TLC), actuale pentru compoziții, care conțin coloranți fenolici naturali din diferite clase (263), (198). Parametrii TLC ai unor coloranți studiați sunt prezentați în tabelul 3.1.

**Tabelul 3.1. TLC a coloranților fenolici în unele sisteme de eluare**

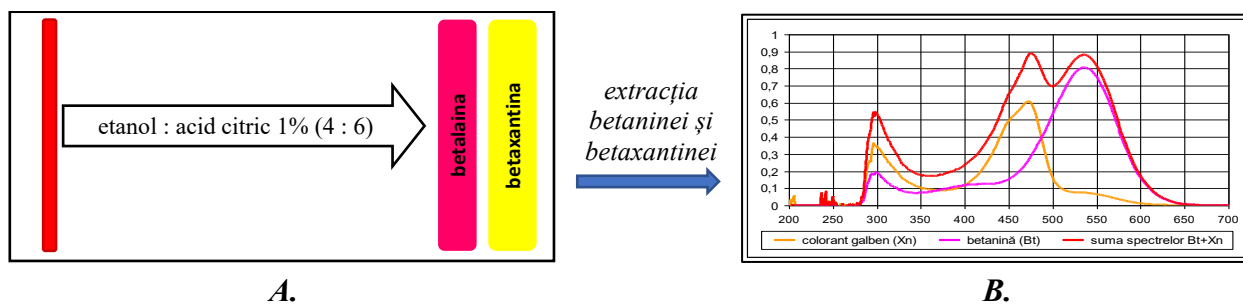
| Sursa de CBA     | CBA (colorant) | M, g·mol <sup>-1</sup> | EtOH : H <sub>3</sub> Cit (1%)<br>4 : 6 | HCl<br>1 %  | Aq:BuOH:HAc<br>4 : 5 : 1 | Bibl. |
|------------------|----------------|------------------------|---|-------------|--------------------------|-------|
| Aronia, fructe   | CyCl           | 323                    | ---                                     | 0,10 ± 0,05 | 0,50 ± 0,05              | (234) |
|                  | Cy-3-O-Glu     | 485                    | ---                                     | 0,25 ± 0,05 | 0,35 ± 0,05              | (188) |
| Sfeclă, rădăcini | Betaxantină    | 339                    | 0,85 ± 0,10                             | ---         | ---                      | (196) |
|                  | Betanină       | 550                    | 0,75 ± 0,10                             | ---         | ---                      |       |
| Șofrânel, petale | Crt, iCrt      | 911                    | 0,03 ± 0,03                             | 0,00        | 0,03 ± 0,03              | (237) |
|                  | ACCG           | 612...1045             | 0,70 ± 0,10                             | 0,50 ± 0,05 | 0,35 ± 0,05              | (238) |

**Notă:** CyCl – clorură de cianidină; Cy-3-O-Glu – Cianidin-3-O-Glucozidă; Crt, iCrt – cartamină, izocartamină; ACCG – amestec chinocalconi galbeni; Aq – apă, BuOH – butan-1-ol; EtOH – etanol; H<sub>3</sub>Cit – acid citric; HAc – acid acetic.

Atrage atenția faptul că valorile R<sub>f</sub> pentru clasele diferite ale coloranților naturali – antocieni, betalaine, calconi – nu depind în mod similar de masa lor molară și de polaritate. Molecula de cianidină, care nu conține rest de glucoză, este mai puțin polară decât molecula cianidin-3-O-glucozidei, dar se deplasează mai repede. Molecula simetrică a cartaminei este mai puțin polară decât moleculele asimetrice ale chinocalconilor galbeni, dar, spre deosebire de perechea Cy și Cy-3-O-Glu, se deplasează mai încet.

Retenția pronunțată și anomală pe celuloză a chalconilor roșii (cartaminei și izocartaminei) și stabilitatea înaltă a acestora pe cromatogramele obținute, cunoscută sub denumirea „efectul Saito”, a sugerat ideea privind stabilizarea chalconilor roșii prin formarea complexului cartamină-celuloză.

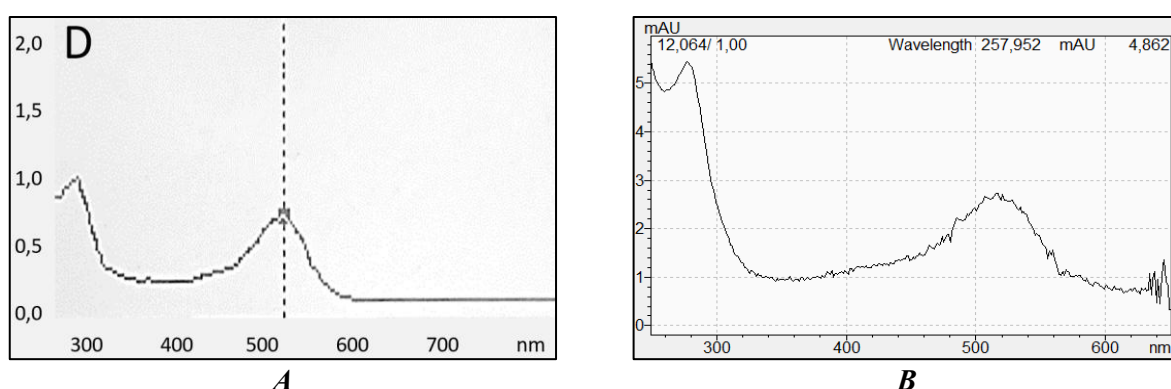
Datorită diferențelor semnificative ale valorilor R<sub>f</sub>, metoda TLC permite separarea preparativă a coloranților pe scara de laborator inclusiv în scopuri analitice (234). În acest caz, sistemul studiat se depune pe linia de start a cromatogramei sub forma unei benzi ce permite a aduce cantitatea depusă la ordinul miligramelor (196). După cromatografiere benzile se separă, urmând extracția și analiza separată a coloranților (figura 3.3).



**Figura 3.3. Schema analizei TLC => UV-Vis: A – TLC a sucului *Beta vulgaris* cu separarea betaninei purpurii și betaxantinei galbene; B – spectrele UV-Vis la spectrofotometrul cu prismă.**

Utilizarea HPLC în locul TLC este esențială pentru creșterea preciziei, sensibilității și reproductibilității determinărilor, permițând separarea și cuantificarea exactă a mai multor compuși din probele complexe într-un timp relativ scurt.

Maximumurile de absorbție în spectrul UV-Vis clasic și obținut cu PDA (DAD) nu coincid întocmai pentru aceiași compuși, iar în ultimul caz diferă pentru detectoarele furnizate de diferiți producători. În figura 3.4 sunt reprezentate spectrele extractului de mure, obținute la spectrofotometrul cu prismă și la instrumentul HPLC/PDA. Spectrele, fiind asemănătoare, diferă după poziția maximumului de absorbție (524 și 519 nm, respectiv). Cunoașterea extincției CBA oferă oportunitatea calculelor cantitative prin metoda HPLC chiar în lipsa standardului respectiv.



**Figura 3.4. Spectrele Cianidin-3-O-Glucozidei din extractul de mure:**  
*A – la spectrofotometrul cu prismă; B – la detectorul PDA al cromatografului HPLC.*

Coloranții roșii fenolici (antocieni și chinocalconi) și azocolorantul roșu betalaină, care diferă esențial de coloranții fenolici după structura chimică, arată un comportament chimic similar, ce pare paradoxal la prima vedere. Acestea sunt foarte labile în mediul neutru și bazic și se stabilizează considerabil în mediul acid slab, îndeosebi în prezența alcoolilor. Proprietatea comună a coloranților roșii de a se stabili în mediul slab acid este utilă pentru analiza lor HPLC/PDA cu fază inversă, cu condiția ca mediul respectiv (moderat acid și bogat în alcool sau în alt solvent organic) să fie potrivit și pentru funcționarea coloanei utilizate. Totodată, sensibilitatea extremă a coloranților roșii la pH lasă o amprentă puternică asupra condițiilor de eluare ale acestora. Datorită solubilității reduse a cartaminei în apă, utilizarea metodei de eluție gradientă în sistemul apă–acetonitril poate provoca blocarea coloanei tip C<sub>18</sub> din cauza formării cartaminei în stare solidă direct în faza staționară a coloanei. Intervalul recomandat de lucru al coloanei C<sub>18</sub> de obicei constituie 2...8 unități de pH sau în domeniul de pH = 1,5...10,0 dacă coloanele sunt rezistente la medii alcaline. În cazul depășirii limitelor indicate de pH există riscul de colapsare a fazei staționare sau chiar și degradarea ireversibilă a ei (264).

Pentru identificarea și separarea chinocalconilor roșii eluarea se efectuează în mod izocratic cu amestec  $H_2O : MeCN : MeOH : CF_3COOH$  (59 : 30 : 10 : 1) (184). Ținând cont de tăria acidului trifluoroacetic,  $K_{dis.}(CF_3COOH) = 0,588$  și concentrația molară a acestuia în sistemul de eluare, indicele teoretic pH al eluantului este  $\sim 0,96$ , însă coloana lucrează stabil. Probabil, disociația acidului trifluoroacetic este suprimată puternic datorită prezenței cantităților mari de solvenți organici cu masa molară mică: acetonitril, MeCN, 30 % volum, și metanol, MeOH, 10 % volum în eluant. Prin urmare, nici metoda izocratică nu permite studierea diferitor forme ale cartaminei la pH dorit și poate fi utilizată numai pentru identificarea calitativă și cantitativă a conținutului global de chinocalconi roșii.

Metoda de separare a chinocalconilor galbeni implică utilizarea unui acid slab, acetic  $CH_3COOH$ ,  $K_{dis.} = 1,75 \cdot 10^{-5}$ . Creșterea cantității acidului acetic micșorează considerabil timpul de retenție a calconilor în faza inversă  $C_{18}$ : timpul de retenție pentru precartamină scade de la 24,4 până la 18,8 minute la utilizarea fazei mobile cu 0,1 %  $CH_3COOH$  (198) și 1,0 %  $CH_3COOH$  (236), respectiv. Dimpotrivă, aciditatea înaltă a acidului trifluoroacetic,  $CF_3COOH$ , și compoziția fazei mobile cu un conținut ridicat de solvenți organici, egal cu 41 %, contribuie la deshidratarea și polarizarea și mai puternică a moleculelor de chinocalconi galbeni și acestea ies concomitent fără a se separa.

Toate legăturile observate menționate stabilesc condițiile pentru separarea și identificarea cromatografică a chinocalconilor galbeni și roșii, care sunt destul de diferiți, astfel încât nu există o metoda cromatografică universală potrivită pentru analiza lor concomitentă.

### **3.2. Influența factorilor fizico-chimici asupra stabilității calconilor în extracte și în sistemele-model**

Studierea proprietăților spectrale și a stabilității chinocalconilor din șofrănel reprezintă o etapă esențială în înțelegerea mecanismelor prin care acești compuși contribuie la stabilitatea și funcționalitatea coloranților naturali în sistemele alimentare. Analiza spectrofotometrică, coroborată cu determinarea coeficienților molari de extincție și cu evaluarea sensibilității la pH și radiații ultraviolete, creează baza pentru interpretarea comportamentului acestor pigmenți în condiții variate de mediu.

Prin integrarea datelor teoretice și experimentale, capitolul urmărește elucidarea corelației dintre structura cromoforă, stabilitatea în soluții apoase și persistența culorii, elemente definitorii pentru aplicarea chinocalconilor în compozițiile alimentare funcționale și în procesele tehnologice de extracție controlată.

### 3.2.1. Caracteristicile spectrale ale calconilor galbeni și roșii din șofrănel

Cromatograma 3D a amestecului de pigmenți galbeni din șofrănel (figura 3.5) demonstrează prezența derivaților de kaempferol (3,4',5,7-tetrahidroxiflavon), care sunt responsabili de absorbanta amestecului în regiunea 330-370 nm.

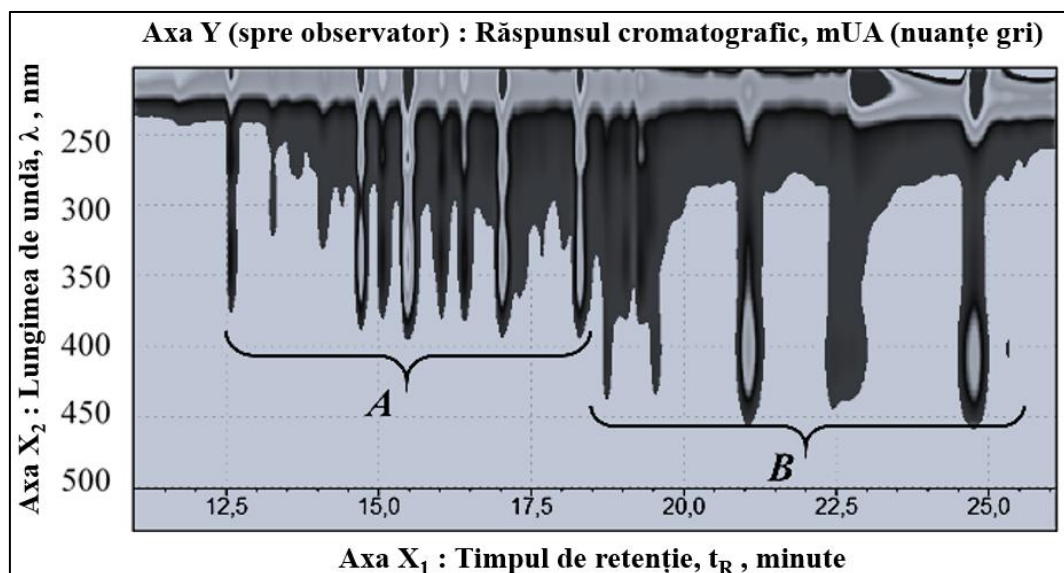
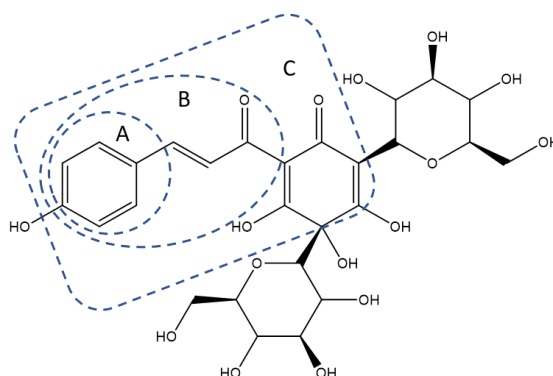


Figura 3.5. Cromatograma 3D a amestecului de pigmenți galbeni din șofrănel: *A* – derivații kaempferolului,  $\lambda_{max}$  330...370 nm; *B* – chinocalconi,  $\lambda_{max}$  390...415 nm.

Spectrele UV-Vis ale diferitor chinocalconi galbeni din șofrănel, obținute la un spectrofotometru clasic cu prismă, nu se vor deosebi considerabil, deoarece acești chinocalconi au structură practic identică a cromoforului, deosebindu-se numărul și aranjarea grupelor auxochrome. Toți chinocalconii din șofrănel conțin una sau două sisteme cromofore separate; fiecare dintre aceste sisteme conțin un ansamblu din 8 legături duble sau perechi de electroni conjugate (265). Scheletul cromoforului și grupele auxochrome, atașate la acesta, se caracterizează prin aportul numeric la valoarea lungimii de undă maximă de absorbție, dar metodologia de estimare teoretică a maximului nu este indubitabilă. Moleculele calconilor conțin un număr relativ mare (3...4) de grupe auxochrome – OH, care vor avea un aport variat, în funcție de poziția grupei în scheletul de bază al chinocalconilor.

Cel mai puțin studiate sunt grupările relativ rare de dezoxiglucoză, - C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>5</sub>, pentru care în sursele bibliografice analizate nu au fost găsite datele privind efectele lor auxochrome. Reieșind din faptul că un rest de dezoxiglucoză este atașat la calcon prin legătura C<sup>sp<sup>3</sup></sup> – C<sup>sp<sup>3</sup></sup> (figura 3.6), adică fără participarea electronilor de tip π, este justificabil că influența auxocromă a grupării de

dezoxiglucoză –  $C_6H_{11}O_5$  este aproape nulă. Totodată, fiind atașată prin legătura  $C^{sp^2} - C^{sp^3}$ , dezoxiglucoza poate avea o influență auxocromă moderată.

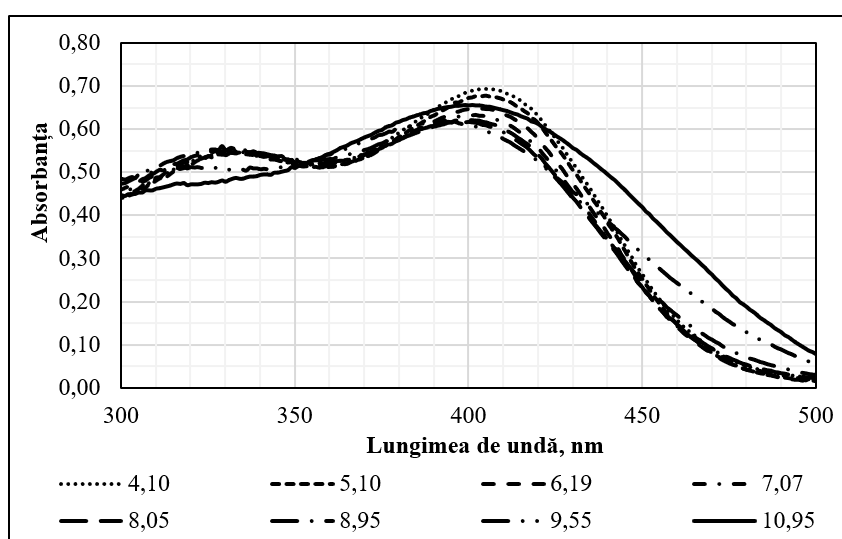


**Figura 3.6. Grupele cromofore de reper din structura chinocalconilor:**

*A – fenil, 205-215 nm; B – cinamoil, 260-280 nm; C – chinocalcon, 390-415 nm.*

Spectrele sunt cuantizate, adică, reprezintă replica structurii compusului și se supun legii aditive (266). În cazul chinocalconilor Hydroxisafflor Yellow A, HSYA, în calitate de cromofor de reper pot fi alese trei grupe funcționale (figura 3.6). Valoarea  $\lambda_{max}$  se determină considerând aportul incrementelor din restul moleculei (267) și în pofida faptului că trebuie să fie identică, pentru HSYA se apreciază cu o amplitudine mare, de la 390 nm până la 415 nm.

Maximumul de absorbție experimental pentru chinocalconii galbeni, analogici după structura cromoforului cu HSYA, și anume Anhydrosafflor Yellow B și Precartamină, se încadrează în diapazonul îngust de 402...412 nm (198). Absorbanța în domeniul vizibil pentru ACCG este moderat dependentă de pH (figura 3.7). Totodată, este problematică distingerea contribuțiilor individuale ale fiecăruia dintre chinocalconi aparte.



**Figura 3.7. Spectrele UV-Vis ale extractului apos 0,5% ACCG la diferite valori ale pH.**

$\Delta pH = \pm 0,03$

Chinocalconii roșii, cartamina și izocartamina conțin un sistem din 17 legături duble conjugate, respectiv, 34 orbitali hibridizați  $sp^2$ . Prezicerea teoretică a poziției maximului de absorbție al cartaminei este greu realizabilă datorită structurii exclusive a cromoforului chinocalconic și imposibilității evidențierii corecte a aporturilor grupărilor secundare.

Sensibilitatea chinocalconilor roșii la valoarea pH este mult mai pronunțată decât sensibilitatea chinocalconilor galbeni. După  $pH = 6$  maximul de absorbție al chinocalconilor treptat se deplasează hipsocromic până la 475 nm la  $pH = 10$  (figura 3.8).

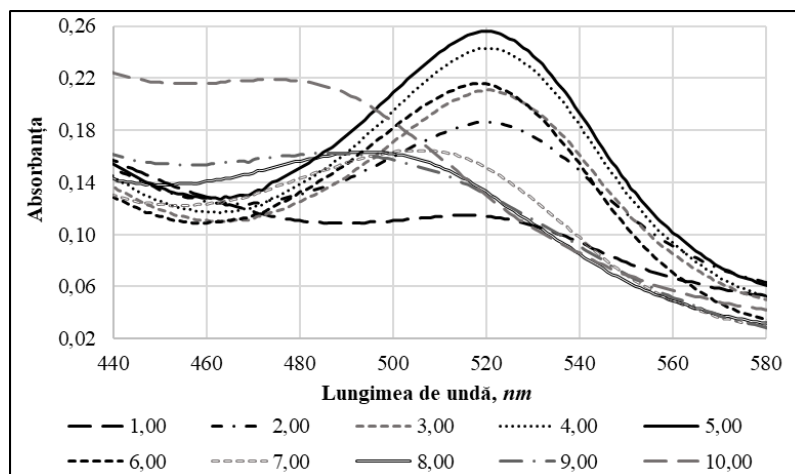
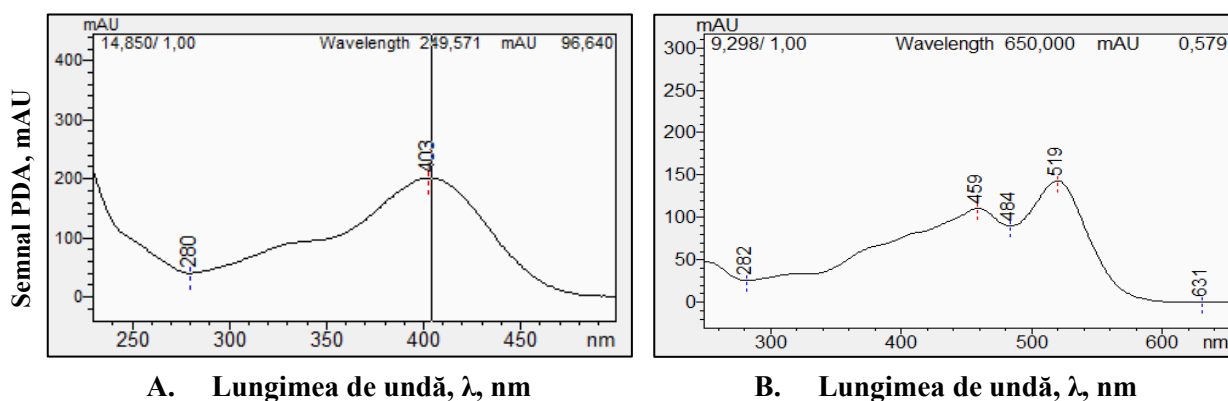


Figura 3.8. Spectrele UV-Vis ale cartaminei în soluțiile apoase:  $C_M = 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , la diferite valori ale pH.  $\Delta pH = \pm 0,03$ .

Pentru chinocalconii roșii, mai sensibili la pH, există mai multe diferențe între instrumentul cu prismă și matricea de fotodiode. Un rol important în apariția acestor divergențe revine purității și individualității compușilor înregistrați la matrice. Un dezavantaj al spectrelor UV-Vis PDA (figura 3.9) față de spectrele clasice este imposibilitatea de modelare a pH în momentul trecerii compusului prin detectorul PDA, în special dacă se utilizează metoda eluției în gradient. Acest lucru se observă la comparația figurii 3.7 cu figura 3,9, A și a figurii 3,8 cu 3,9, B.



A. Lungimea de undă,  $\lambda$ , nm

B. Lungimea de undă,  $\lambda$ , nm

Figura 3.9. Spectrele PDA ale calconilor individuali din șofrănel:

A – *Hydroxisafflor Yellow A*; B – *Cartamină*.

Măsurarea spectrofotometrică a absorbanței rămâne cea mai simplă metodă de monitorizare a concentrației coloranților în sistemele alimentare. Monitorizarea concentrației componentelor în amestecul de calconi galbeni și a formelor de cartamină a fost necesară pentru elaborarea și setarea argumentată a parametrilor proceselor tehnologice de extracție a coloranților calconici din petale pentru concentrarea extractelor.

Produsele alimentare sunt consumabile în intervale largi de pH, având valori de la 3,5 până la 8,0. Cunoașterea valorilor practice ale coeficienților molari de extincție (absorbanțelor molare) în funcție de pH este o problemă de interes practic, fiind de folos la determinarea condițiilor optime de utilizare a coloranților chinocalconici în alimente. Coeficientul molar de extincție,  $\epsilon$ ,  $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ , caracterizează obiectiv puterea de absorbție a luminii pentru soluția standard de colorant și se calculează utilizând ecuația 3.1:

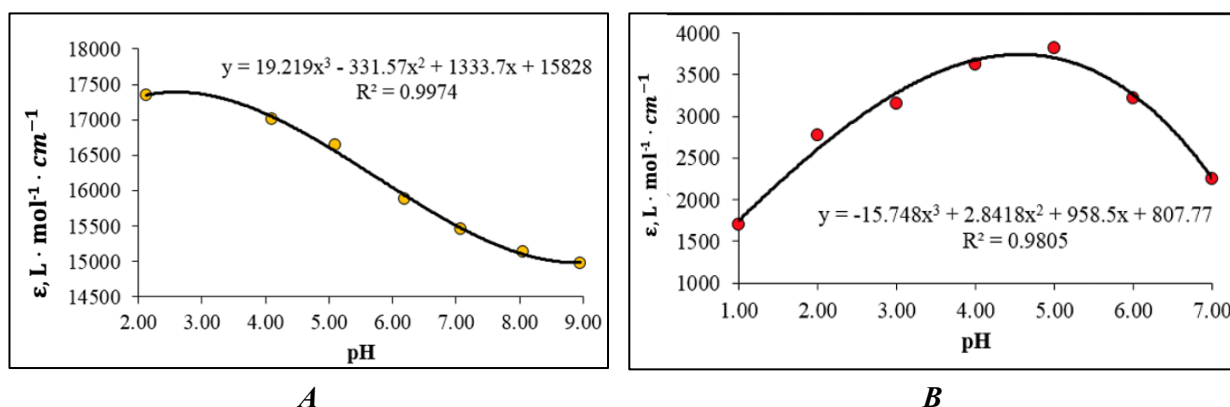
$$\epsilon(\text{pH}_i) = \frac{A(\text{pH}_i)}{C_M \cdot l}, \quad (3.1)$$

în care:  $A(\text{pH}_i)$  – absorbanțele experimentale ale soluțiilor la  $\text{pH}_i$  respectiv;

$C_M$  – concentrația molară a coloranților galbeni recalculată la precartamină;

$l$  – grosimea stratului de soluție (1 cm).

Valorile experimentale au fost supuse analizei matematice, elaborând funcțiile  $\epsilon = f(\text{pH})$  în aproximația polinomială, alegând polinomul respectiv după următoarele criterii: *criteriul 1* – polinomul obținut trebuie să fie de gradul minim; *criteriul 2* – credibilitatea aproximației,  $R^2$ , să fie mai mare decât 0,97...0,98. A fost stabilit că aceste două criterii satisfac ecuațiile de ordinul trei (figura 3.10). Funcțiile obținute sunt fără întreruperi și se caracterizează cu o abatere mică a punctelor experimentale față de modelul calculat. Respectiv, polinomul de gradul 3 reprezintă un model care descrie adecvat dependența funcțională  $\epsilon = f(\text{pH})$ .



**Figura 3.10. Extincțiile molare ale calconilor în soluțiile apoase în funcție de pH:**

*A – amestecul chinocalconilor galbeni, ACCG recalculat după precartamină; B – cartamină.*

Abaterile  $\Delta \varepsilon_i = \varepsilon_{i,exp.} - \varepsilon_{i,teor.}$  au fost calculate pentru  $n$  perechi de valori experimentale,  $\varepsilon_{i,exp.}$ , și teoretice,  $\varepsilon_{i,teor.}$ . Acestea au permis aprecierea erorilor medii ale determinării coeficienților molari de extincție folosind ecuația 3.2:

$$\bar{\Delta \varepsilon} = \Sigma \Delta \varepsilon_i^2 / \sqrt{n} \quad (3.2)$$

Ecuatiile finale permit calcularea extincțiilor molare ale coloranților calconici pentru șirul valorilor pH, ce corespunde unui sortiment larg de alimente și băuturi:

$$\varepsilon_{ACCG} = 19,219 (\text{pH})^3 - 331,57 (\text{pH})^2 + 1333,7 (\text{pH}) + 15828 \quad (3.3.1.)$$

$$R^2 = 0,9974 ; \text{pH} \in (2; 9) ; \bar{\Delta \varepsilon} = 1,9 \cdot 10^2$$

$$\varepsilon_{Crt} = -15,75 (\text{pH})^3 + 2,842 (\text{pH})^2 + 958,5 (\text{pH}) + 807,8 \quad (3.3.2.)$$

$$R^2 = 0,9805 ; \text{pH} \in (1; 7) ; \bar{\Delta \varepsilon} = 1,6 \cdot 10^2$$

Valorile maximale ale coeficienților molari de extincție, calculate conform ecuațiilor 3.3.1 și 3.3.2, sunt, respectiv, egale:

$$\varepsilon_{max}^{pH=2,5} (ACCG) = (173,0 \pm 1,9) \cdot 10^2 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1} \quad (3.4.1)$$

$$\varepsilon_{max}^{pH=4,5} (Crt) = (37,0 \pm 1,6) \cdot 10^2 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1} \quad (3.4.2)$$

Cunoașterea valorilor  $\varepsilon$  poate servi drept referință pentru estimarea concentrației optime a colorantului necesar pentru corecția culorii alimentelor (183).

Culorile generate de stratul de 1 cm al soluțiilor colorate (adică a celor care absorb razele electromagnetice din domeniul vizibil) variază de la ușor colorată până la destul de colorată, ce corespunde densităților optice cuprinse în intervalul de la 0,2 până la 1,0 unități.

Percepția intensității culorii devine mai puțin adecvată dacă densitățile optice depășesc 1,0, iar în intervalul  $A \in (10^1 - 10^4)$  soluțiile sunt supracolorate, tinzând spre culoarea „neagră”. Soluțiile ACCG cu concentrații de circa 5...10% au culoare brună închisă. Culoarea soluției ACCG devine galbenă aprinsă, plăcută la diluarea de sute de ori, respectiv, la 0,05...0,10%.

Spre deosebire de amestecul de chinalconi galbeni ACCG, complexul cartamină-celuloză, CCC, fiind plasat în mediul alimentar lichid sau solid, formează o suspensie a particulelor de celuloză, îmbibate cu lichid, în faza cărora sunt fixate forme de cartamină. De aceea se poate considera cu aproximație că expresia matematică liniarizată a legii Boogher–Lambert–Beer,  $A = \varepsilon \cdot C \cdot l$ , permite și estimarea ordinului concentrației colorantului roșu aflat în formă de microsuspensie din particulele polimerice îmbibate.

**Tabelul 3.2. Estimarea concentrațiilor molare ale calconilor în sistemele-model**

| Colorant<br>chinocalconic | Extincție, $\varepsilon$ ,<br>$L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ | M, $g \cdot mol^{-1}$ | $C_M^U$ , $mol \cdot L^{-1}$<br>$A \approx 0,2$ | $C_M^I$ , $mol \cdot L^{-1}$<br>$A \approx 1,0$ |
|---------------------------|--|-----------------------|---|---|
| ACCG                      | $(173,0 \pm 1,9) \cdot 10^2$                                   | 957                   | $1,2 \cdot 10^{-5}$                             | $5,8 \cdot 10^{-5}$                             |
| Cartamină                 | $(37,0 \pm 1,6) \cdot 10^2$                                    | 911                   | $5,4 \cdot 10^{-5}$                             | $27 \cdot 10^{-5}$                              |
| CCC (~ 25% Crt)           | $(37,0 \pm 1,6) \cdot 10^2$                                    | 3644                  | $5,4 \cdot 10^{-5}$                             | $27 \cdot 10^{-5}$                              |

**Notă:**  $C_M^U$  – concentrația molară estimativă a compusului colorant necesar pentru colorarea ușoară;  
 $C_M^I$  – concentrația molară necesară pentru colorarea intensă.

Valorile estimative prezentate în tabelul 3.2 trebuie verificate experimental pentru fiecare produs alimentar în funcție de puterea dorită de colorare și parametrii tehnologiei de fabricație a produsului respectiv.

Fără abateri esențiale, densitățile sistemului-model și ale alimentului modelat (care poate fi atât lichid, cât și solid) sunt egale cu densitatea apei,  $1,0 g \cdot cm^{-3}$ , de aceea 1 L de soluție-model se echivalează cu 1 kg de aliment în stare solidă.

Ultima admitere permite estimarea cantității optime de colorant administrate în produsul alimentar,  $DC_{PA}$ ,  $g \cdot kg^{-1}$  (gram colorant per kilogram produs) necesare pentru colorarea unui kilogram sau a unui litru de produs alimentar:

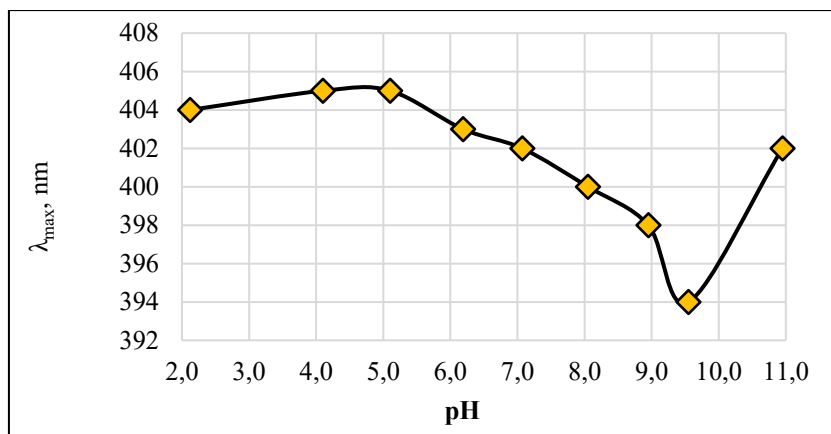
$$DC_{PA} = C_M^U \cdot M \quad (3.5)$$

### 3.2.2. Stabilitatea chinocalconilor „in situ” și „in vitro” în funcție de pH

Studierea stabilității compușilor biologic activi în soluțiile-model la diferit pH, în mediul slab acid și neutru, este necesară pentru explicarea și prezicerea comportamentului și stabilității lor în sistemele alimentare pentru crearea condițiilor și alegerea proceselor, care ar favoriza prolongarea funcționalității acestor compuși.

După cum a fost menționat (p. 3.2.1), într-un interval de pH larg, 2,0...9,0, se manifestă o influență destul de slabă a valorii pH asupra culorii chinocalconilor galbeni. Poziția maximumului de absorbție în spectru rămâne constantă în intervalul de pH de la 2,0 până la 5,0 (figura 3.7). La alcalinizarea treptată a mediului cu un agent bazic, când valorile pH variază în intervalul 6,0...9,5, în spectrele electronice se observă o deplasare hipsocromică slabă, exprimată prin scăderea lungimii de undă a maximumului de absorbție de la 405 nanometri până la 394 nanometri.

În mediul puternic alcalin, la pH mai mare de 9,5, structura cromoforului este influențată mai tare, aceasta având drept rezultat creșterea extincției globale la 400...500 nm, observată în figura 3.8, însoțită de deplasarea batocromică a maximumului (figura 3.11), ceea ce corespunde cu intensificarea culorii soluției și deplasarea ei spre nuanța portocalie.



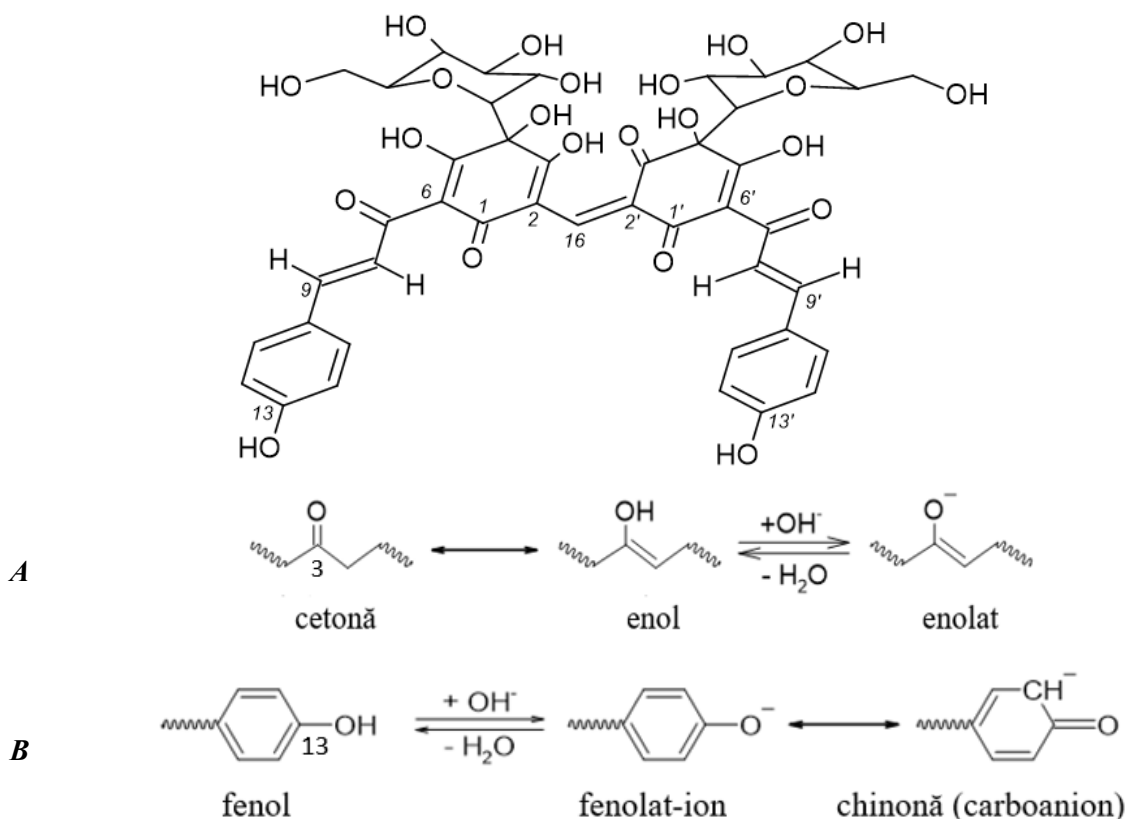
**Figura 3.11. Deplasările maximului de absorbție în amestecul de chinocalconi galbeni, ACCG, în funcție de pH.  $\Delta\text{pH} = \pm 0,03$ .**

Spectrele soluțiilor și extractelor de cartamină diferă semnificativ în funcție de valoarea pH, la care acestea au fost înregistrate (figura 3.8). Maximul de absorbție a cartaminei corespunde cu 520 nm pentru valorile pH cuprinse în intervalul de 2...5. Dacă valorile pH cresc peste 6,0, spectrele UV-Vis arată o deplasare hipsocromică puternică,  $\Delta\lambda = -30\text{...}40$  nm (spre unde cu lungimi mai scurte). De fapt, dispare banda de absorbție responsabilă de culoarea roșie (268).

Schimbările în spectrele soluțiilor de chinocalconi pot fi cauzate de rearanjarea legăturilor de hidrogen inter- și intramoleculare, care devin tot mai slabe la alcalinizarea mediului. Această ipoteză corelează cu datele obținute foarte recent prin analiza fină a spectrelor soluțiilor alcaline (269). Conform calculelor teoretice, la creșterea bazicității mediului, ponderea legăturilor de hidrogen scade, respectiv, crește ponderea clusterilor mai mici și a moleculelor monomere de apă, ce corespunde scăderii concentrației legăturilor de hidrogen apă-apă în sistem, ceea ce în mod direct influențează structura compușilor aquasolvați din soluție.

Molecula de cartamină (figura 3.12, A) este supozabilă modificărilor considerabile ale cromoforului echivalente cu formarea, sau invers, dispariția unor grupe funcționale cu proprietăți auxochrome. Aceste schimbări duc la scindarea definitivă a cromoforului cu 17 legături duble conjugate. Creșterea absorbției la  $\lambda = 390$  nm în medii alcaline este cauzată de grupele para-cumaroil (270), care fac parte din structura cartaminei. Grupele para-cumaroil sunt situate în pozițiile 6 și 6' în cazul numerotării clasice a formelor de cartamină. Fiind, la rândul lor, fenoli, grupele p-cumaroil sunt dispuse transformărilor tip fenol-chinonă la  $\text{pH} > 10$  (figura 3.12, B) și, evident, pot suferi degradări oxidative ale formelor chinonice în soluțiile apoase (212), (213).

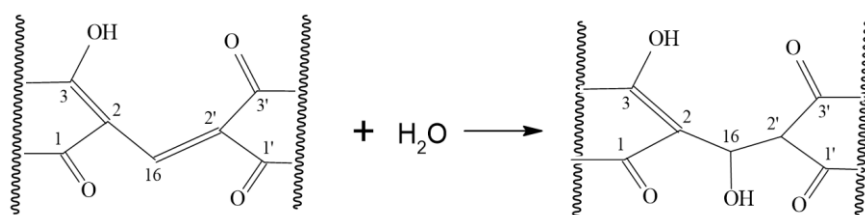
Astfel, creșterea bazicității peste  $\text{pH} = 6\text{...}7$  este însoțită nu doar de pierderea temporară a culorii roșii, dar și generează degradarea ireversibilă a cartaminei.



**Figura 3.12. Labilitatea structurală a cartaminei (cu structură plată la pH = 2,0...6,0):**  
**A: transformările ceto-enolice la pH = 6,0...8,0; B: transformările fenol-chinonă la pH = 8,0...11,0.**

Restructurările cromoforilor și grupelor auxochrome au ca urmare nu doar modificările vizibile și ireversibile de culoare, dar, de asemenea, prezintă dovada palpabilă a reactivității funcționale înalte, a instabilității caracteristice a coloranților naturali cu proprietăți funcționale.

În figura 3.13 este reprezentat detaliat doar fragmentul central al moleculei de cartamină. Este cunoscut că cartamina suportă adăția apei la legătura dublă între atomii de carbon din pozițiile 2' și 16, formând hidrocartină (184), (271). Din punct de vedere al mecanismelor reacțiilor organice, procesul de hidratare prezintă adăție anti-Markovnikov (272). Conform acestui mecanism, hidrogenul se adăționează la atomul de carbon din poziția 2', care este mai puțin hidrogenizat decât carbonul din poziția centrală 16. Cauza desfășurării adăției anti-Markovnikov constă în efectul mezomer negativ al grupărilor  $-CO-$  din pozițiile 1' și 3' a cartaminei (213).

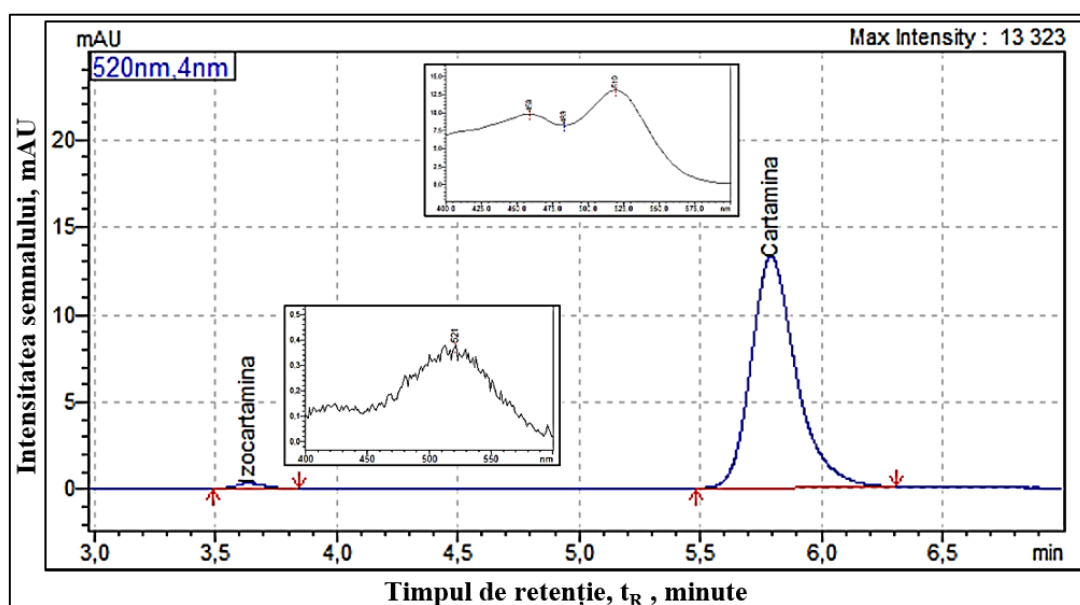


**Figura 3.13. Hidratarea cartaminei roșii ( $M = 910 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 17 legături duble conjugate) cu formarea hidrocartaminei galbene ( $M = 928 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 8 legături duble conjugate, 2 grupe).**

Transformarea grupării nesaturate „ $-HC^{16} = C^{2'} <$ ” a cartaminei în gruparea „ $-HC^{16}(OH) - C^{2'} H <$ ” a hidrocartaminei cauzează întreruperea conjugării în sistemul molecular cromatic, alcătuit din 17 legături duble (273), (274), responsabil pentru picul la 520 nm.

În rezultat, molecula de hidrocartamină prezintă două sisteme conjugate, care au câte opt perechi de electroni fiecare. Structura grupelor cromofore ale hidrocartaminei practic este identică cu structura acestora în molecula de precartamină, având maximumul de absorbție la 410 nm. Culoarea galbenă a soluțiilor de cartamină în medii slab bazice mărturisește că cartamina în soluție, de fapt, se află în formă hidratată, cromoforul ei fiind rupt în două.

Pe cromatogramele obținute la extracția cartaminei din complexul cartamină-celuloză se observă două picuri distincte cu spectre UV-Vis/PDA similare, având maximum de absorbție la 519...521 nm (figura 3.14).



**Figura 3.14. HPLC și spectrele UV-VIS/PDA a doi chinocalconi izomeri: izocartamină ( $t_R = 3,65$  ;  $\lambda_{max} = 521$  nm), cartamină ( $t_R = 5,75$  ;  $\lambda_{max} = 519$  nm).**

Informația referitor la structura coloranților roșii este insuficientă și contradictorie. Pentru cartamină există descifrări recente ale spectrelor  $H^1$ -RMN și  $C^{13}$ -RMN, care sunt foarte credibile (271). Pe lângă această, se confirmă structura moleculei de cartamină, care seamănă cu carcasa de pui, dar și faptul că deprotonarea cartaminei (numită uneori „acic cartamic”) are loc în pozițiile 3 sau 3', ce reprezintă o dovadă a existenței echilibrului ceto-enolic în cartamină. Totodată, în lucrarea recentă (275) despre compoziția pigmentilor din șofrănel de diferite genotipuri izocartamina nu se menționează. Totuși, este demonstrată ferm prezența a două picuri cu spectre PDA foarte similare, care, după valoarea  $\lambda_{max} = 519...521$  nm, aparțin coloranților roșii (268).

### 3.2.3. Modelarea și analiza cineticii de descompunere a cartaminei

Hidratarea moleculei de cartamină duce la scăderea rigidității moleculei prin apariția posibilității de rotire în jurul legăturilor  $C^{16} - C^{2'}$  și  $C^{16} - C^2$ . Așadar, împreună cu transformările ceto-enolice și fenol-chinonice, hidratarea rămâne un factor important, care mărește viteza procesului de degradare a formelor izomerice de cartamină.

Estimarea valorilor constantelor de viteză a procesului de descompunere a ambelor forme de cartamină în soluții caracterizează în mod cantitativ stabilitatea acestor chalconi în sistemele-model și în alimente. Totodată, este aproape imposibilă determinarea experimentală directă a ordinului de reacție prin metoda cromatografică; un astfel de experiment necesită un număr foarte mare de injecții în condiții strict reproductibile, care nu pot fi realizate în timp restrâns.

Pornind de la faptul că majoritatea reacțiilor de hidroliză și de descompunere sunt de ordinul întâi sau pseudoîntâi (257), s-a presupus că cartamina și izocartamina se transformă încet prin intermediul hidrocartaminei. Hidrocartamina galbenă reprezintă un intermediar între cei doi chalconi izomeri roșii. Dar acest compus, la rândul său, se transformă în produse de degradare. În condiții de exces al apei în mediul de reacție, cinetica globală a procesului de transformare chimică a cartaminei este determinată de stadia lentă a procesului, și anume, de procesul de hidratare. În cazul excesului de apă, cinetica formală corespunde cu probabilitatea și mai mare a reacției de ordinul întâi, care se supune ecuației cinetice clasice (276):

$$k_{I,T} = \frac{1}{\tau} \ln \frac{C_0}{C_0 - X_\tau} = \frac{1}{\tau} \ln \frac{C_0}{C_\tau}, \quad (3.6)$$

în care:  $C_0$  – concentrația în momentul „zero” (la începutul reacției) sau un indice fizic proporțional concentrației – densitatea optică, aria picului etc.;

$x_\tau$  – cantitatea reactantului care a reacționat la momentul  $\tau$ ;

$C_\tau$  – concentrația în momentul  $\tau$  (concentrația momentană) sau un indice fizic care este proporțional cu concentrația speciei reactante în momentul  $\tau$ .

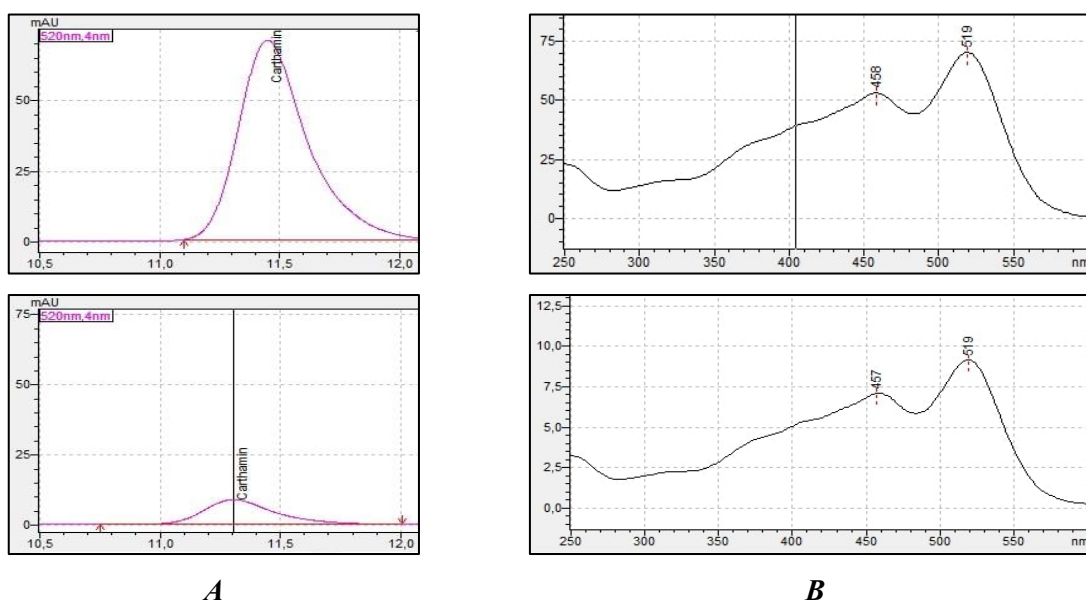
Deoarece ambele concentrații, inițială ( $C_0$ ) și curentă ( $C_\tau$ ), sunt proporționale cu ariile picurilor respective,  $A$ , atunci ecuația (3.6) capătă forma (3.7):

$$k_{I,T} = \frac{1}{\tau} \ln \frac{A_0}{A_\tau} \quad (3.7)$$

Pentru minimizarea impactului influenței factorilor necunoscuți, descompunerea formelor roșii de cartamină nu poate fi studiată *in situ*, adică nemijlocit în extractul cu compoziție complexă.

Este mai rațională și mai informativă realizarea experimentului *in vitro*, adică, studierea sistemelor-model în care cartamina se află în starea pură și se modelează compoziția solventului.

Cartamina pură a fost obținută prin extracție din complexul cartamină-celuloză cu soluție de carbonat de sodiu 1%, și adusă la pH = 4,5, apoi imediat filtrată prin microfiltru, obținând Soluția (I), care a fost injectată îndată după filtrare. Aria picului cartaminei la  $\lambda = 520$  nm a fost notată prin  $A(I) = 2,545 \cdot 10^6$ . O parte din Soluția (I) s-a menținut la +5°C, obținând Soluția (II) cu  $A(II) = 2,370 \cdot 10^6$ , iar o parte la +20°C, rezultând Soluția (III) cu  $A(III) = 0,489 \cdot 10^6$ . Peste 20 ore de la obținerea Soluției (I), Soluțiile (II) și (III) au fost injectate și cromatografiate (figura 3.15).



**Figura 3.15. Descompunerea cartaminei în soluții-model: A – picul cartaminei în soluție proaspăt preparată (I) și peste 24 ore la 20°C (III); B – spectre PDA (ibidem) (41).**

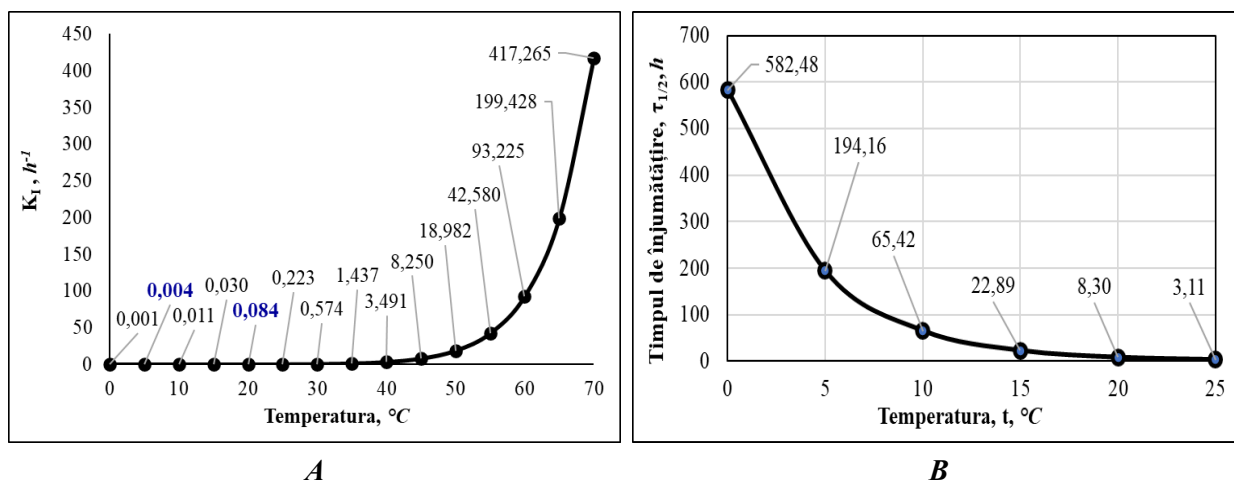
Constantele de viteză de descompunere a Crt la pH = 4,5, calculate folosind ecuația (3.7), au alcătuit la  $(5 \pm 1)^\circ\text{C}$  și la  $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$  respectiv:

$$K_{1,278\text{K}} = (0,0036 \pm 0,0002)\text{h}^{-1} \quad K_{1,293\text{K}} = (0,0835 \pm 0,0036)\text{h}^{-1}.$$

Valorile constantelor  $K_{1,278}$  și  $K_{1,293}$  permit calcularea  $E_A$  a procesului de descompunere, folosind ecuația clasică Arrhenius pentru aproximație  $E_A \neq f(T)$ :  $E_A = \frac{R \cdot T_1 \cdot T_2}{T_2 - T_1} \ln \frac{K_{T_2}}{K_{T_1}}$  (276) (277).

Aceasta din urmă a constituit  $142 \pm 9$  kJ. Astfel, valoarea energiei de activare a procesului de descompunere a cartaminei în faza apoasă depășește cu mult  $50 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ , corespunzând proceselor omogene sau mecanismului procesului în care fenomenele la interfață nu au un rol semnificativ. Proceselor de difuzie le corespund valori mici ale energiei de activare.

Ținând cont de valoarea mare a  $E_A$ , se trage concluzia că procesul de descompunere a cartaminei are loc exclusiv în faza lichidă, când cartamina formează o soluție reală și nu implică fenomenele în interiorul fazei solide și la interfață.



**Figura 3.16. Descompunerea cartaminei în soluții apoase: A – exponenta constantelor de viteză de descompunere ( $k_1$ ); B – variația  $\tau_{1/2}$  în funcție de temperatură.  $\varepsilon \approx 4,2\%$ .**

Cunoașterea valorii energiei de activare experimentală a procesului de descompunere permite pronosticarea, adică modelarea<sup>2</sup> valorilor constantelor de viteză în diapazonul larg de temperaturi (figura 3.16, A). Constanta vitezei de descompunere, de fapt, reprezintă viteza reacției de degradare în condiții standard, prin urmare, caracterizează exhaustiv stabilitatea compusului biologic activ și poate fi utilizată pentru diferite modelări și calcule la elaborarea tehnologiilor de fabricare a produselor alimentare.

Transformarea ecuației 3.6 în ecuația 3.8 permite calcularea timpului de înjumătățire:

$$\tau_{1/2} = (\ln 2)/K_1 = 0,69315/K_1 \quad (3.8)$$

Țimpul de înjumătățire al cartaminei dizolvate în apă scade dramatic la temperaturile mai mari de 20...25°C (figura 3.16, B). La 20°C, timpul de înjumătățire este egal cu doar 8 ore. Respectiv, la această temperatură în soluția apoasă de cartamină peste 24 de ore rămân doar circa 12% din cantitatea inițială. Cartamina este convențional stabilă doar la temperaturi mai mici de 10°C. Prin urmare, cartamina în stare dizolvată nu este utilă pentru colorarea băuturilor și altor sisteme alimentare cu un conținut ridicat de apă, îndeosebi luând în considerație că majoritatea acestor produse se păstrează la temperaturile camerei.

<sup>2</sup> Capacitatea de pronosticare este proprietatea definitivă a modelelor matematice veritabile.

### 3.2.4. Influența radiațiilor ultraviolete asupra stabilității calconilor

Unul dintre factori care determină menținerea în vigoare a proprietăților fiziologice ale compusului biologic activ în compoziția produsului alimentar este rezistența acestui compus la acțiunea luminii. Stabilitatea compusului, aflat în stare solidă, la acțiunea razelor de lumină, poate servi un indiciu suplimentar (dar nu și suficient) al stabilității lui în compozițiile alimentare.

**Tabelul 3.3. Influența radiațiilor ultraviolete asupra componentelor ACCG**

| Cod     | Calcon                | $\lambda(\text{max})$ , nm | $t_R$ , min    | $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (Pcrt) | $\Delta$ , % |
|---------|-----------------------|----------------------------|----------------|--------------------------------------|--------------|
| ACCG    | <i>HSYA</i>           | 403                        | $18,3 \pm 0,1$ | $336 \pm 11$                         | -            |
|         | <i>Neidentificată</i> | 409                        | $18,8 \pm 0,1$ | $56,3 \pm 1,7$                       | -            |
|         | <i>Pcrt</i>           | 411                        | $20,0 \pm 0,2$ | $309,5 \pm 9,3$                      | -            |
|         | <i>AHSYB</i>          | 411                        | $22,0 \pm 0,2$ | $248,4 \pm 7,5$                      | -            |
| ACCG/UV | <i>HSYA</i>           | 403                        | $18,2 \pm 0,1$ | $347 \pm 11$                         | + 3,4        |
|         | <i>Neidentificată</i> | 409                        | $18,8 \pm 0,1$ | $52,0 \pm 1,6$                       | - 7,7        |
|         | <i>Pcrt</i>           | 409                        | $20,0 \pm 0,2$ | $292,7 \pm 8,8$                      | - 5,5        |
|         | <i>AHSYB</i>          | 410                        | $22,0 \pm 0,2$ | $258,1 \pm 7,8$                      | + 3,9        |

**Notă:** ACCG – amestec chinocalconi galbeni; ACCG/UV – amestec chinocalconi galbeni iradiat cu raze UV;  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (Pcrt) – conținutul calconului respectiv în ACCG/UV exprimat în precartamină;  $\Delta$  – schimbarea conținutului chinocalconului în rezultatul iradierii cu UV.

Datele prezentate în tabelul 3.3 demonstrează că colorantul galben ACCG în stare de pulbere, fiind supus iradierii cu ultraviolet, nu suferă schimbări esențiale în compoziția chinocalconică. Concentrațiile chinocalconilor după expunerea probelor ACCG la ultraviolet rămân apropiate de cele ale mostrei care nu a fost iradiată.

Prin urmare, s-a confirmat că profilul calconilor galbeni practic nu se schimbă după iradierea cu UV. Rezultatele obținute demonstrează că colorantul ACCG este stabil față de acțiunea UV și poate fi expus la lumina solară fără să sufere degradări semnificative ale compoziției.

Probele pulberilor complexului cartamină-celuloză, neiradiate și radiate,  $0,100 \pm 0,001$  grame, au fost prelucrate cu soluție 1...4% carbonat de sodiu. Extractele bazice obținute au fost decantate și filtrate prin filtrul PTFE 0,22 microni. Neutralizarea extractului bazic al cartaminei nu este strict necesară în cazul în care injectarea ei are loc imediat după prepararea probei, deoarece volumul injectat, 10 microlitri, se neutralizează cu debitul („flow”) al eluantului ( $0,1\% \text{CH}_3\text{COOH}$ ), egal cu  $500 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Dacă extractele de cartamină nu pot fi injectate imediat după filtrare, este strict necesar ca acestea să fie imediat neutralizate și răcite pentru a exclude descompunerea hidrocartaminei și sărurilor acidului cartamic – formelor bazice instabile.

**Tabelul 3.4. Influența radiațiilor ultraviolete asupra componentilor complexului cartamină–celuloză–cartamină (Crt) și izo-cartamină (iCrt)**

| Cod    | Calcon | $\lambda(\text{max}), \text{nm}$ | $t_{\text{R}}, \text{min}$ | Crt/CCC, $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ | % izomer       |
|--------|--------|----------------------------------|----------------------------|--|----------------|
| CCC    | iCrt   | 513                              | $6,13 \pm 0,05$            | $120 \pm 5$                            | $2,7 \pm 0,2$  |
|        | Crt    | 519                              | $8,84 \pm 0,05$            |  | $97,3 \pm 0,2$ |
| CCC/UV | iCrt   | 522                              | $6,13 \pm 0,05$            | $104 \pm 4$                            | $5,2 \pm 0,2$  |
|        | Crt    | 520                              | $8,84 \pm 0,05$            |  | $94,8 \pm 0,2$ |

în care: CCC – complexul cartamină–celuloză neiradiat; CCC/UV – iradiat cu UV; iCrt – izocartamină.

Din datele tabelului 3.4 observăm sensibilitatea mai mare a cartaminei față de iradierea cu UV față de componentii ACCG. În primul rând, se observă scăderea simțitoare a concentrației de cartamină: de la  $\sim 120 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  până la  $\sim 104 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ . Totodată, se modifică raportul izomerilor Crt și iCrt. Astfel, ponderea izocartaminei în CCC-UV crește până la 5,20% în comparație cu CCC neiradiat, în care ponderea iCrt = 2,66%. Ambele efecte observate confirmă că distrugerea cartaminei include etapa de izomerizare, care, la rândul ei, este posibilă doar cu formarea hidrocartaminei, în care atomul  $\text{C}^{16}$  al scheletului chinocalconic se află în stare de hibridizare  $sp^3$ .

Analiza comparativă a tuturor mostrelor, neiradiate și iradiate, evidențiază o influență mai pronunțată a radiației ultraviolete asupra complexului cartamină–celuloză decât asupra amestecului de chinocalconi galbeni. Valorile prezentate în tabelul 3.4 arată o scădere semnificativă a concentrației totale de chinocalconi roșii, concomitent cu modificarea raportului dintre izomerii Crt și iCrt. Creșterea ponderii izocartaminei la iradiere indică o parțială izomerizare fotoindusă asociată cu ruperea temporară a conjugării duble și cu formarea intermediară a hidrocartaminei. Aceste transformări confirmă că radiația UV induce procese de conversie structurală, dar fără degradări masive ale chinocalconilor roșii în matricea celulozică, ceea ce confirmă efectul de prolongare a funcționalității colorantului în structura complexului.

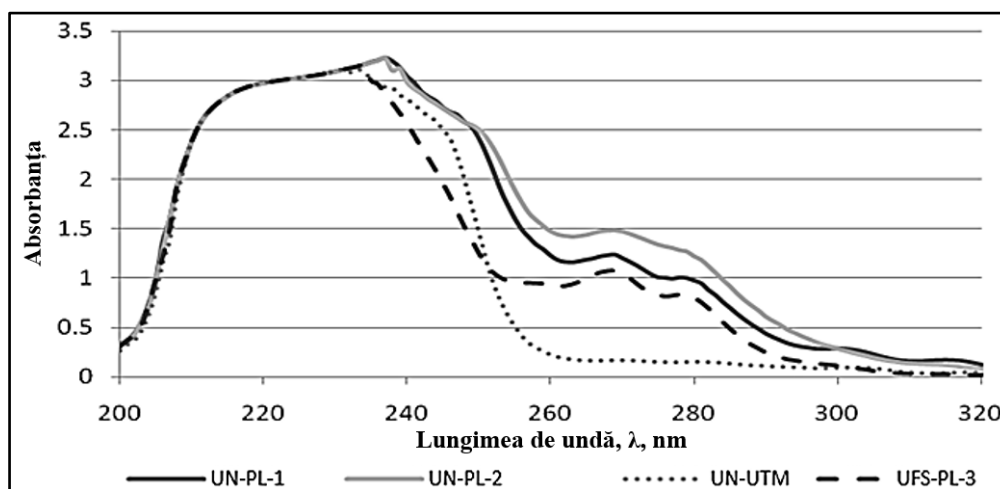
### 3.3. Influența unor factori specifici asupra prolongării funcționalității lipidelor

Caracterul instabil al uleiurilor vegetale față de degradările oxidative se datorează cantităților considerabile de acizi grași polinesaturați din compoziția acestora. Profunzimea transformărilor chimice ale componentelor active din sistemele lipidice depind de prezența și activitatea microorganismelor naturale și patogene în materia primă oleaginoasă, compoziția

chimică a uleiului, umiditatea, intensitatea parametrilor procesării tehnologice, suprafața de contact dintre fazele produsului, caracteristicile ambalajului (66), (63), (278). Prevenirea degradării lipidelor, reducerea vitezelor reacțiilor de oxidare și, ca rezultat, creșterea duratei de valabilitate, constituie o sarcină de prim-ordin atât pentru industria uleiurilor vegetale, cât și pentru elaborarea produselor alimentare funcționale cu activitate prelungită (279), (280).

### 3.3.1. Prevenirea oxidării lipidelor în sistemele cu antioxidanți

Autooxidarea uleiurilor duce la formarea peroxizilor, apariția mirosului și gustului neplăcut specific lipidelor rânzite. Au fost analizate spectrele UV-Vis ale uleiurilor de nucă (UN) (figura 3.17). Două dintre uleiurile de nucă, codificate ca UN-PL-1 și UN-PL-2, reprezintă produse comerciale, declarate de producătorii locali (PL) ca fiind obținute prin presare la rece. O probă de ulei de nucă, UN-UTM, a fost obținută prin presare la rece la presa hidraulică la 20 MPa.



**Figura 3.17. Spectre UV ale uleiurilor vegetale:**  
*Raport ulei : hexan – 1 : 80. Celula – cuarț, 1 cm. Referința – hexan.*

Spectrele UV-Vis ale uleiurilor de nucă și de floarea-soarelui de la producători locali conțin benzi de absorbție similare la 270 și 280 nm, ce poate indica prezența unor fenoli liposolubili. Proba de ulei UN-UTM, care indubitabil a fost obținută prin presare la rece, nu conține aceste benzi. Cu mare probabilitate, toate cele trei probe de uleiuri de la producătorii locali (PL), inclusiv proba de ulei de floarea-soarelui, UFS-PL-3, au fost obținute folosind o tehnologie similară. Reieșind din faptul că în Moldova uleiul de floarea-soarelui se presează după prăjirea materiei prime și nici într-un caz la rece, tragem o concluzie non-reconfortantă: producătorii locali procesează uleiurile de nucă cu abateri de la tehnologia de presare la rece. Conținutul ridicat de compuși fenolici în probele UN-PL se datorează prelucrării termice a materiei prime.

Spectrele IR ale uleiurilor de nucă comerciale de asemenea au demonstrat unele abateri: creșterea ponderii oscilațiilor de deformare a grupelor – CH<sub>3</sub> la 1380 cm<sup>-1</sup> și a oscilațiilor de deformare a grupelor – OH la 1410 cm<sup>-1</sup> (267). Aceste semnale au fost aduse ca argumente, care dau dovada de prelucrarea termică a materiei prime la presarea uleiurilor comerciale (281). Totodată, datele IR necesită a fi precizate prin utilizarea tehnicilor IR mai performante.

Așadar, tehnicile spectroscopice UV-Vis și IR, fiind aplicate uleiurilor atât separat, cât și în ansamblu, nu sunt suficiente pentru constatarea sigură a falsificării uleiurilor vegetale (mai bine-zis, a materiilor prime din care se presează acestea), dar pot servi ca indicatorii respectării sau a fraudării tehnologiei de producere.

Din punct de vedere al siguranței produselor alimentare, este cel puțin regretabilă și chiar absurdă folosirea abundentă a antioxidanților sintetici pentru mărirea duratei proprietăților funcționale – i.e., prolongarea funcționalității compușilor biologic activi naturali încorporați în acest produs. Pentru a nu comite supradozarea antioxidanților, se recurge la diferite măsuri de reducere a cantității sumare de antioxidanți utilizați pentru ameliorarea activității biologice a diferitelor componente ale alimentelor. Una dintre aceste abordări este exploatarea fenomenului de interacțiune sinergică a diferiților antioxidanți (282), (63).

Esența abordării nominalizate constă în utilizarea în scopuri practice a efectului de superradiție datorită căruia compoziția de antioxidanți manifestă activitate antioxidantă mai exprimată decât suma activităților componentelor compoziției, dacă ar fi în stare individuală.

A fost analizată influența compozițiilor din antioxidanți: DL- $\alpha$ -tocoferol (DLTP), palmitatul de ascorbil (AAP), galatul de octil (OG) (Tabelul 3.6) asupra uleiului de nucă.

**Tabelul 3.5. Planificarea EFC 2<sup>3</sup> pentru compozițiile de antioxidanți în uleiul de nucă**

| Factor de intrare                       |                     | Cod  | X <sub>min</sub> (-) | X(0)   | X <sub>max</sub> (+) | $\Delta X$ |     |
|---|---------------------|------|----------------------|--------|----------------------|------------|-----|
| <b>n-octil galat</b>                    | mg·kg <sup>-1</sup> | OG   | X <sub>1</sub>       | 25 ± 1 | 50                   | 75 ± 3     | 50  |
| <b>DL-<math>\alpha</math>-tocoferol</b> | mg·kg <sup>-1</sup> | DLTP | X <sub>2</sub>       | 65 ± 3 | 130                  | 195 ± 8    | 130 |
| <b>L-acid ascorbic 6-palmitat</b>       | mg·kg <sup>-1</sup> | AAP  | X <sub>3</sub>       | 40 ± 2 | 70                   | 100 ± 4    | 70  |

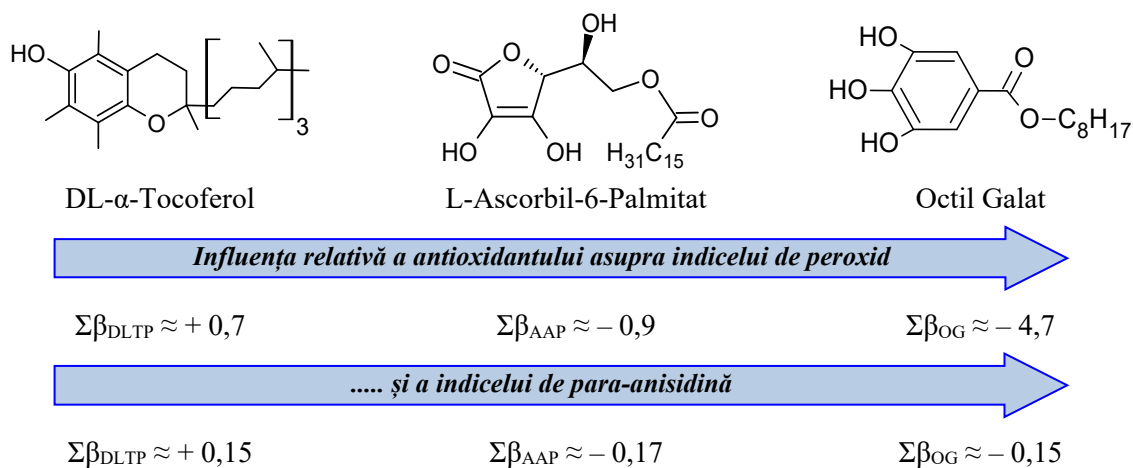
Analiza compozițiilor acestor antioxidanți prin aplicarea procedurilor de modelare Box-Hunter a demonstrat că galatul de octil și esterul palmitic al acidului ascorbic contribuie la scăderea indicelui de peroxid, PN, și a indicelui de para-anisidină, PAI, al uleiului cu AGPNS (282):

$$\overline{PN}_{14zile} = 3,06X_0 - 0,54X_1 - 0,24X_2 - 0,39X_3 + 0,27X_{12} + 0,12X_{13} + 0,08X_{23} + 0,19X_{123}$$

$$\overline{PAI}_{75zile} = 2,039X_0 - 0,059X_1 + 0,197X_2 - 0,030X_3 + 0,001X_{12} - 0,093X_{13} - 0,069X_{23} + 0,019X_{123}$$

$$\Delta\beta_{PN(14)} \approx \pm 0,019 ; \Delta\beta_{PAI(75)} \approx \pm 0,007$$

Ecuatiile obținute demonstrează, prin valorile coeficienților  $\beta$ , că antioxidanții nominalizați manifestă atât activitate independentă, cât și comună. Totodată, antioxidantul răspândit, controversat și criticat pentru „lipsa de acțiune”, DL- $\alpha$ -Tocopherol (283) (284), contribuie la creșterea indicelui de p-anisidină atât prin influență directă, cât și prin interacțiunea cu alți antioxidanți din compozițiile studiate.



**Figura 3.18. Activitatea antioxidantilor în unitățile coeficienților regresionali**

Din figura 3.18 se observă că șirul DLTP – AAP – OG se caracterizează și prin evidențierea fragmentelor polare și apolare ale moleculelor respective urmată de creșterea tensioactivității. Această observație corelează cu rezultatele obținute de alți cercetători, după care activitatea antioxidantului corelează în mod direct cu tensioactivitatea lui (285).

### 3.3.2. Prolongarea funcționalității acizilor grași polinesaturați prin încorporarea lor în compozițiile lipidice

Crearea compozițiilor lipidice cu textură asemănătoare cu cea a untului și cu un conținut echilibrat al AGPNS poate servi drept bază pentru elaborarea tehnologiilor de obținere a compozițiilor alimentare lipidice tartinabile (65). Compozițiile lipidice, bogate în AGPNS, trebuie să fie asemănătoare după proprietăți cu untul obișnuit, adică să treacă în stare lichidă în urma actului de consum, ideal la temperaturi de circa 33...36°C, ce corespunde condițiilor de temperatură caracteristice cavității bucale (66). Componentele unui ulei natural au puncte de topire diferite și pot fi separate prin cristalizarea și eliminarea fracțiunilor cu punct de topire mai ridicat. Etapele fracționării includ răcirea uleiului până la formarea nucleelor de cristalizare la suprasaturare urmată de formarea cristalelor în interiorul fazei lichide, separarea fazelor lichidă și solidă (286). Totodată, temperaturile de topire ale grăsimilor sunt nedefinite datorită fenomenului

de polimorfism structural. Exploatarea polimorfismului grăsimilor deschide posibilitatea pentru formarea compozițiilor lipidice cu textură potrivită și cu stabilitate ridicată la păstrarea la rece, care au temperaturile de topire de cca 30...36°C, în care va avea loc solidificarea grăsimilor lichide cu un conținut înalt de AGPNS, de exemplu, al uleiului de nucă (287).

În scopul determinării influenței acidului gras saturat (a fost utilizat acid stearic) și a acidului mononesaturat (i.e., oleic) asupra temperaturii de topire a compozițiilor cu ulei de nucă (bogat în AGPNS) au fost utilizate compoziții cu ulei de nucă, acid stearic și acid oleic și elaborată diagrama Rosenboom de topire a acestor compoziții (figura 3.19).

Din figura 3.19 se observă că compozițiile uleiului de nucă cu 10...20% acid stearic și 10...30% acid oleic au temperatura de topire necesară.

Datele obținute pot fi utilizate la elaborarea compoziției spread-urilor și altor produse tartinabile cu un conținut de grăsimi polinesaturați. O astfel de abordare este nouă pentru compozițiile lipidice și produsele alimentare, deoarece în urma co-cristalizării AGS cu AGPNS rezultă o compoziție alimentară în care componentele formează o fază lipidică solidă comună, mai stabilă (datorită stării solide și ordonate) față de degradarea oxidativă decât AGPNS în stare individuală.

Formarea structurilor cristaline polimorfe ale trigliceridelor se datorează controlului riguros al temperaturii și vitezei de răcire a compozițiilor lipidice. Dependența efectului procesului de **viteza de răcire** (și nu numai doar de **faptul de răcire**) denotă în mod direct că reorientarea moleculelor în spațiu este un proces cinetic și statistic pentru care valoarea factorului entropic va avea un rol important. Atomii de carbon, care participă la formarea doar a unei legături duble, se află în stare de hibridizare  $sp^2$ , care exclude posibilitatea de rotație liberă a substituenților.

De aceea, lanțurile alifatiche care conțin legături duble separate sunt mai rigide în comparație cu lanțurile alifatiche saturate, constituite în exclusivitate din atomi de carbon în stare de hibridizare  $sp^3$ . În aceste stări nu este împiedicată rotirea liberă a substituenților în jurul legăturilor tip  $\sigma$ . Prin urmare, flexibilitatea lanțurilor alifatiche cu același număr de atomi de carbon va scădea odată cu creșterea numărului de legături duble (figura 3.20).

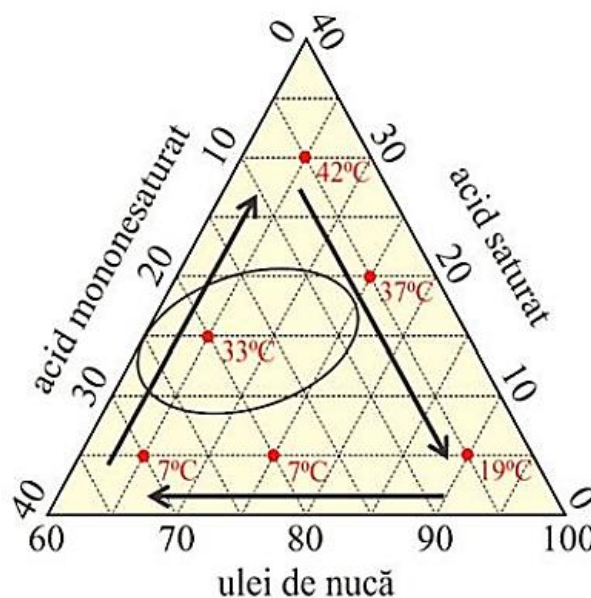
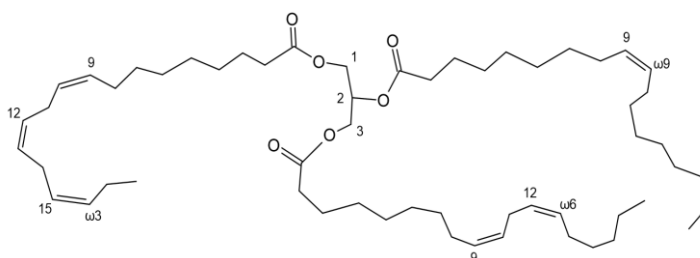


Figura 3.19. Diagrama de topire a sistemului UN-Acid stearic-Acid oleic



*Scăderea flexibilității lanțului alifatic*



**Figura 3.20. Conformația dezordonată a lipidei complexe (lichide la 20...25°C) cu AGNS și AGPNS: gliceril 1-(cis<sup>9,12,15</sup>-linoleniat)-2-(cis<sup>9</sup>-oleat)-3-(cis<sup>9,12</sup>-linoleat).**

Figura 3.20 sugerează ideea că în cazul trigliceridelor naturale de origine vegetală cu rest-acizi nesaturați se creează o situație aparent paradoxală în care ordinea, i.e., entropia joasă a structurii moleculare a rest-acidului, provoacă dezordine (entropie înaltă) la nivel de fază lipidică. Inflexiunea lanțului de hidrocarbură, cauzată de prezența legăturilor duble cu izomeria predominantă *cis*-, împiedică posibilitatea realizării conformațiilor, ordonate liniar, necesare pentru cristalizarea ușoară a moleculelor de grăsime. Respectiv, ordinea suplimentară impusă de prezența legăturilor duble reprezintă un obstacol pentru trecerea grăsimilor vegetale nesaturate în stare solidă (cristalină), adică, în starea mai ordonată și mai stabilă.

Prin urmare, compușii biologic activi din clasa gliceridelor acizilor grași polinesaturați creează piedici suplimentare pentru formarea structurilor cristaline lipidice ordonate. Acest lucru conduce la așteptări rezervate privind obținerea produselor funcționale cu un conținut foarte înalt al acizilor grași polinesaturați. Este **practic imposibilă** crearea sistemului termodinamic și cinetic stabil, similar cu produsele clasice din laptele de animale (structural și după indicii fizico-chimici), folosind în exclusivitate doar componenta lipidică din grăsimile vegetale cu un conținut ridicat de AGNS. Este termodinamic imposibil a fabrica un produs identic cu untul de vacă, dar grăsimile căruia sunt în exclusivitate uleiuri bogate în AGNS: ulei din miez de nucă, din semințe de struguri, in, quinoa, chia etc. Sistemele alimentare lipidice reale (smântână, maionez, unt, spread etc.), pe lângă faza lipidică conțin fază apoasă. De aceea, prezintă interes studierea efectelor de stabilizare și destabilizare, care se manifestă în aceste sisteme di- și polifazice. Reieșind din datele preventive privind rolul stabilizator al extractului frunzelor de ceai verde în ulei (EFCVU), au fost formulate sisteme EFCVU-UN-Apă, care au fost formulate pentru a elabora diagramele triunghiulare Gibbs-Roseboom. Această procedură a permis determinarea tipurilor de emulsii și a condițiilor topologice în care aceste emulsii au stabilitate structurală și cinetică diferită.

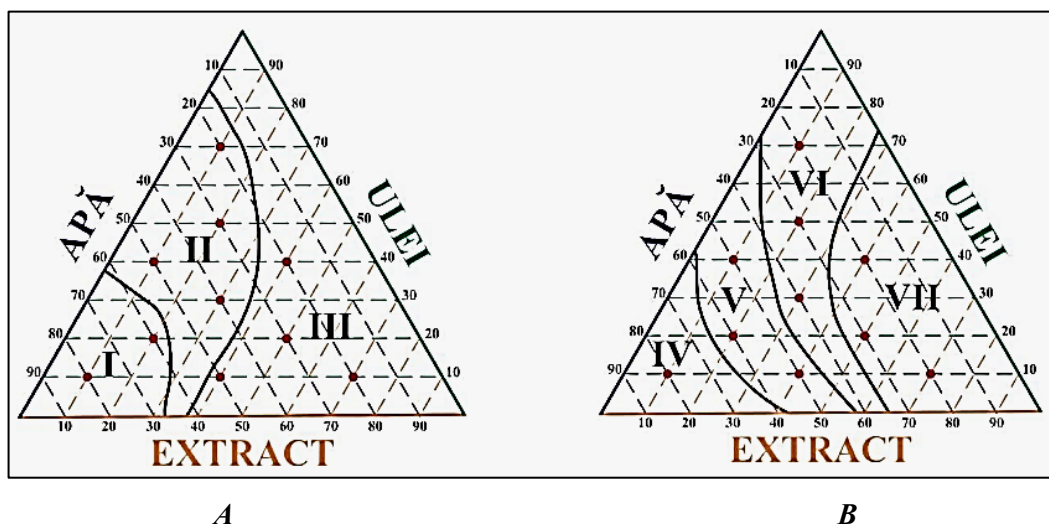
S-a stabilit că în sistemele nominalizate se formează trei tipuri de emulsii (figura 3.21, A):

- ✓ Domeniul I – emulsia directă U/A;
- ✓ Domeniul II – emulsia triplă U/A/U – cel mai instabil tip de emulsii din punct de vedere structural și termodinamic (288), (289);
- ✓ Domeniul III – emulsia inversă A/U.

Emulsia de ultimul tip este cea mai apropiată după structură de unt și spread, adică raporturile componentelor, ce corespund Domeniului III al diagramei (figura 3.21, A), reprezintă un mare interes pentru elaborarea produselor respective. Totodată, a fost stabilită o corelație între compoziția fazică și stabilitatea cinetică a sistemelor respective, evidențiindu-se zonele IV, V, VI și VII (figura 3.21, B):

- ✓ Domeniul IV – emulsii foarte puțin stabile ( $\tau_{1/2} < 1$  min.);
- ✓ Domeniul V – puțin stabile ( $\tau_{1/2} = 2 \dots 4$  min.);
- ✓ Domeniul VI – relativ stabile ( $\tau_{1/2} = 4 \dots 7$  min.);
- ✓ Domeniul VII – emulsii destul de stabile ( $\tau_{1/2} > 7$  min.).

Diagramele de stare a sistemului EFCVU-UN-APă demonstrează că compozițiile stabile lipidice cu un conținut de ulei de nucă se formează, dacă conținutul global al apei este cuprins în intervalul de la 0 până la 30%; conținutul uleiului de nucă variază de la 0 până la 50%, iar cantitatea extractului de frunze de ceai verde în ulei, EFCVU, variază de la 30 la 100%.



**Figura 3.21. Diagramele de stare ale sistemului ternar EFCVU – UN – APĂ:**

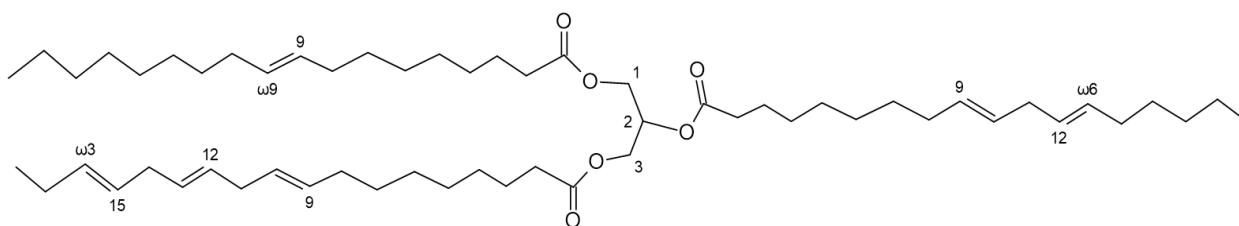
*A – starea fazică; B – stabilitatea cinetică.*

Astfel, se poate concluce că anume extractul frunzelor de ceai verde în ulei de floarea-soarelui favorizează creșterea stabilității emulsiilor tip U/A, cel puțin în cazul discutat, când faza apolară (U) este bogată în lipide din uleiul din miez de nucă.

E de menționat că compoziția chimică a ceaiului verde include derivații catechinei, epicatechinei și ai acidului gallic în diferite combinații (290) – compuși polifenolici, care au solubilitate moderată în faza apoasă și proprietatea de a se concentra la interfața Ulei/Apă și a manifesta activitate interfacială. Acest exemplu demonstrează că compușii biologic activi, care posedă un „bonus” de activitate funcțională în forma tensioactivității proprii, contribuie în mod divers și, probabil, sinergic, la stabilizarea structurală a emulsiilor alimentare.

Insuficiența globală a grăsimilor animaliere, „halalitatea” și „coșeritatea” grăsimilor vegetale au condiționat dezvoltarea trendului pentru elaborarea compozițiilor alimentare de tipul spread-urilor. Cuvântul englez „spread” în contextul produselor alimentare înseamnă „a se unge”, astfel caracterizând un produs care acoperă ușor suprafața pâinii, chiflei, lavașului etc. În terminologia națională, spread-urile, prin definiția lor, fac parte din grupa de „grăsimi tartinabile” (291). Industria produce diferite spread-uri cu termene mari de păstrare, însă consumătorii sunt rezervați în privința acestor produse „chimice”, „artificiale” sau chiar „sintetice”. Părerile negative și deseori greșite ale consumatorilor se bazează pe informațiile, care se referă la alte produse tartinabile, și anume, la margarine. Asemănarea structurală, dar și după prețul de vânzare a margarinelor și spread-urilor, funcția lor comună de a fi înlocuitori mai ieftini ai untului „adevărat” – acești factori impun consumatorul mai puțin informat să egaleze aceste două tipuri de produse, care în realitate sunt diferite din punct de vedere al compoziției și funcționalității.

În pofida similitudinii aparente, principiile fizico-chimice, care stau la baza stabilității structurale a acestor două tipuri de produse tartinabile, se deosebesc esențial. Margarinele conțin mai multe grăsimi **artificiale** obținute prin transformarea chimică a AGNS în AGS. Această transformare este însoțită de un proces nedorit de izomerizare parțială a moleculelor AGNS din configurația *cis*- în *trans*- . Moleculele cu configurația *trans*- sunt mult mai ordonate în comparație cu *cis*- (figurile 3.20, 3.22). De aceea, lipidele *trans*- se cristalizează la temperaturi mai mici. Grăsimilor *trans*- li se atribuie responsabilitatea pentru nivelul ridicat de colesterol „rău” LDL, obezitate greu reversibilă, predisponibilitate la diabetul zaharat de tipul II și, în consecință, acutizarea problemelor cardiovasculare (292).



**Figura 3.22. Conformația ordonată a unui *trans*-AGPNS:  
1-*trans*<sup>9</sup>-oleil-2-*trans*<sup>9,12</sup>-linolil-3-*trans*<sup>9,12,15</sup>-linolenilglicerol.**

Deosebirea principală, care prezintă și avantajul principal al spread-urilor față de margarine, constă în potențialul spread-urilor de a fi analogi structurali și funcționali ai untului, dar nu pe contul lipidelor trans-hidrogenate. Totodată, stabilitatea agregativă și structurală a compoziției lipidice de tip spread este asigurată de fenomenele fizico-chimice la interfață și în interiorul fazelor „U” și „A”, care permit imitarea mecanismelor naturale de stabilizare.

### 3.3.3. Modelul combinatoric al stabilității structurale a emulsiei A/U tartinabile

Spread-ul comercial reprezintă o compoziție multicomponentă polifazică cu polidispersitate moderată. Polidispersitatea este un factor destabilizator, care provoacă „îmbătrânirea” fazelor dispersate solide descrisă matematic prin legile lui Thomson (293). Pe lângă polidispersitatea este posibilă prezența a două faze lipidice: cristaline, cu dimensiunile cristalelor de cca 0,01...2,00 microni, și amorfe. Un astfel de sistem este puțin stabil chiar în condiții izotermice, cu atât mai mult, dacă au loc fluctuații de temperatură. În al doilea rând, fazele dispersate, secundare după volum, apoasă, **W**, și gazoasă, **G**, formează, respectiv, bule și picături cu dimensiuni de cca 20...30 microni (294), (295). Prezența fazelor disperse **W** și **G**, influențează proprietățile reologice, fizico-chimice și senzoriale ale spread-ului – temperatura de topire, termostabilitatea, plasticitatea, afectând stabilitatea și proprietățile funcționale ale compușilor biologic activi din spread (296). Componentele de proveniență naturală și artificială cauzează compoziția și textura spread-urilor care pot fi mai complicate decât a untului natural.

Există diferite modele care încearcă să explice structura fazică a spread-urilor, cum ar fi:

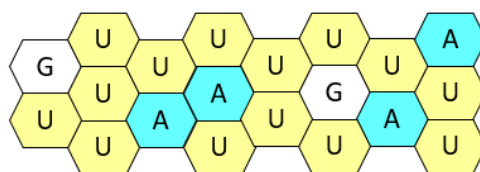
- ✓ spread-ul reprezintă o fază solidă formată din aglomerații de cristale mici de lipide;
- ✓ picăturile de ulei lichid (CBA) și de apă sunt dispersate uniform între cristalele de lipide;
- ✓ uleiul lichid este încorporat și stabilizat în interiorul rețelei formate din cristale solide, fiind distribuit omogen și neîntrerupt, continuu, în fazele solide (295).

Ultimul model reprezintă o structură de tip „3D în 3D”. În natură, structurile mai mult sau mai puțin similare se obțin în cadrul proceselor complexe de fotosinteză, care sunt catalizate enzimatic și care au loc în celulele plantelor superioare cu viteză relativ mică (272), (231). Tehnologiile actuale de obținere a spread-urilor includ etapa de emulsionare, adică, dispersarea energetică și rapidă (cu viteza mare) a celor două faze: lipidică, apolară și apoasă, polară.

Obținerea spread-ului cu un conținut de ulei de nucă a fost efectuată conform procedurii (64), în prezența coloranților Albastru de Metilen, solubil în fază apolară și Sudan III, solubil în faza lipidică, în prezența surfactantului lecitinei. Microfotografierea a demonstrat că fazele lipidică apolară („ulei”, U), apoasă polară („apă”, W) și de aer („gaz”, G), contactează între ele în toate combinațiile posibile (280).

În acest context, prezintă interes estimarea rolului tuturor fazelor emulsiei și, în special, al aportului separat al acestor faze asupra stabilității AGPNS din spread. Pentru clarificarea modelului fazic și caracterizarea stabilității CBA în compoziția spread-ului U/A/G, au fost utilizate unele baze ale modelor combinatorice (297).

A fost postulat că toate fazele care alcătuiesc spread-ul sunt formate din corpuri geometrice identice după formă și volum. Pentru corectitudinea modelului în spațiul bidimensional 2D, poate fi aleasă forma pătratului, rombului, triunghiului echilateral. Totuși, ținând cont și de principiul energiei minime, reprezentarea hexagonală este cea mai corectă în spațiul 2D (figura 3.23). În spațiul real, 3D, celulele modelului vor reprezenta dodecaedre.



**Figura 3.23. Modelul combinatoric hexagonal al emulsiei trifazice U/A/G, 7v : 2v : 1v**

Prezintă interes calcularea teoretică a suprafețelor interfazice, respectiv, a ponderilor agentului activ de suprafață necesar pentru stabilizarea acestor suprafețe.

Vom nota prin  $\Phi_U$ ,  $\Phi_A$  și  $\Phi_G$  fracțiile de volum ale uleiului, apei și a aerului în spread:

$$\Phi_U + \Phi_A + \Phi_G = 1 \quad (3.9)$$

La calcularea fracțiilor de volum trebuie ținut cont că conținutul de lipide se reglementează prin fracția de masă,  $\Omega_U$ , %, iar densitatea uleiului este de circa  $0,925 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ . Densitatea aerului practic este egală cu 0, respectiv, volumul aerului înglobat **nu modifică** masa spread-ului, dar micșorează proporțional fracțiile de volum ale uleiului și apei:

$$\Phi_G = \Phi_G, \% / 100\% \quad (3.10)$$

$$\Phi_U = \{1 - \Phi_G\} \cdot \{\Omega_U / 0,925\} / \{\Omega_U / 0,925 + 100 - \Omega_U\} \quad (3.11)$$

$$\Phi_A = \{1 - \Phi_G\} \cdot \{100 - \Omega_U\} / \{\Omega_U / 0,925 + 100 - \Omega_U\} \quad (3.12)$$

Pentru un număr infinit de hexagoane, probabilitățile contactării laturilor hexagoanelor din fazele identice, X, și diferite, X și Y, vor fi egale, respectiv:

$$S_{X/X} = \Phi_X \cdot \Phi_X \quad (3.13)$$

$$S_{X/Y} = \Phi_X \cdot \Phi_Y \quad (3.14)$$

Diferența considerabilă dintre aceste două cazuri constă în faptul că compușii tensioactivi se vor concentra la hotarul fazelor diferite. Atunci fracția de masă a AAS la hotarul dintre faze:

$$\Omega(\text{AAS})_{X/Y} = S_{X/Y} / (S_{U/A} + S_{U/G} + S_{A/G}) \quad (3.15)$$

**Tabelul 3.6. Valorile relative ale interfețelor în sistemele U / A / G  
obținute în baza modelului combinatoric hexagonal**

| $\Omega(U) : \Omega(A) : \Phi(G)$                              | $\Omega(AAS)_{U/A}$ | $\Omega(AAS)_{U/G}$ | $\Omega(AAS)_{A/G}$ | AAS inutil |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|------------|
| <i>Spread-uri cu compoziția reală</i>                          |                     |                     |                     |            |
| 72 m : 28 m : 1 v  | 0,951               | 0,036               | 0,013               | 5%         |
| 72 m : 28 m : 3 v  | 0,863               | 0,101               | 0,036               | 14%        |
| 82 m : 18 m : 1 v  | 0,933               | 0,056               | 0,011               | 7%         |
| 82 m : 18 m : 3 v  | 0,819               | 0,150               | 0,031               | 18%        |
| <i>Modelul combinatoric hexagonal prezentat în figura 3.23</i> |                     |                     |                     |            |
| 76,4 m : 23,6 m : 10 v   | 0,609               | 0,304               | 0,087               | 39%        |
| (7 v : 2 v : 1 v)  | 15 (0,652)          | 8 (0,348)           | 1 (0,043)           |            |

**Notă:** date calculate de autor în baza ecuațiilor (3.9)...(3.17). Ultimul rând conține numărul fizic de interfețe U/A, U/G și A/G și ponderea lor (în paranteze).

Datele prezentate în tabelul 3.6 demonstrează că la creșterea ponderii fracției lipidice în sistemele U/A/G crește considerabil și aria de contact U/G pentru același grad de aerare: sistemul cu un conținut mai mare de fază lipidică se va oxida mai repede decât unul cu un conținut mai mic de lipide la aceeași aerare. Altă observație importantă constă în faptul că aerarea cu 3% de volum duce la utilizarea a circa 14...18% din AAS, pentru un proces absolut inutil de „stabilizare” a bulelor de aer. Așadar, prolongarea funcționalității AGPNS în compozițiile de tip spread poate fi asigurată de doi factori de bază: omogenitatea structurală a fazei lipidice și micșorarea fracției volumetrică de aer înglobat în sistem. Modelul hexagonal totodată permite estimarea mărimii „pragului de percolare”, În cazul de față, „pragul de percolare” reprezintă concentrația fazei lipidice,  $\Phi_{U(PP)}$ , pentru care această fază este continuă, formând un cluster lipidic neîntrerupt. Pentru probabilitatea 0,999 a evenimentului, că nici unul dintre hexagoanele lipidice nu va rămâne singur (înconjurat de apă și gaz), obținem:

$$0,001 = (1 - \Phi_{U(PP)})^6 \quad (3.16)$$

Rezolvarea ecuației (3.16) duce la valoarea  $\Phi_{U(PP)} = 0,684$  sau 68,4%. În spread-ul cu 72% lipide (cu atât mai mult, în cel cu 82% lipide) pragul de percolare estimat este depășit, adică, cu o probabilitate de peste 99,9%, faza lipidică a spread-ului fiind continuă. Modelul elaborat demonstrează că formarea structurilor cu două faze continue și reciproc întrepătrunse, în condițiile repartizării aleatorii a trei faze diferite, este imposibilă: nu pot exista două faze, conținutul fiecăreia depășind 68. Structurile cu două faze întrepătrunse **nu pot fi aleatorii**, respectiv sunt doar ordonate, structurate și rămân în exclusivitate un privilegiu important al organismelor vii - entităților cu entropia internă joasă.

### 3.4. Tehnologia de obținere a spread-ului cu acizi grași polinesaturați

Încercări de a obține produse lactate cu un conținut ridicat de AGPNS au fost întreprinse de mai multe ori, uneori folosind metode foarte originale. În particular, a fost efectuat studiul de suplimentare a dietei **vacilor** cu ulei de soia și ulei de pește (298). Consecințele surprinzătoare ale acestei diete sunt scăderea producției de lapte și creșterea neînsemnată a conținutului acizilor  $\omega_3$ , care nu asigură beneficiile funcționale ale laptelui și ale alimentelor obținute din acest lapte.

Spread-ul („to spread” – a se unge) reprezintă un produs, care poate fi clasificat printre „produsele tartinabile sub formă de emulsie solidă și maleabilă în principal de tipul A/U, provenite din grăsimi solide și/sau lichide vegetale și/sau din grăsimi animale destinate consumului uman cu un conținut de grăsime din lapte între 10 și 80%” (299). Spread-ul în bază de ulei de nucă prezintă interes datorită cantității ridicate a grăsimilor polinesaturate  $\omega_3$  și  $\omega_6$ . Utilizând metoda brevetată (64), au fost preparate mostrele spread-ului cu un conținut de AGPNS cuprins în diapazonul de la 20% până la 50% grăsime din conținutul total de grăsimi în spread.

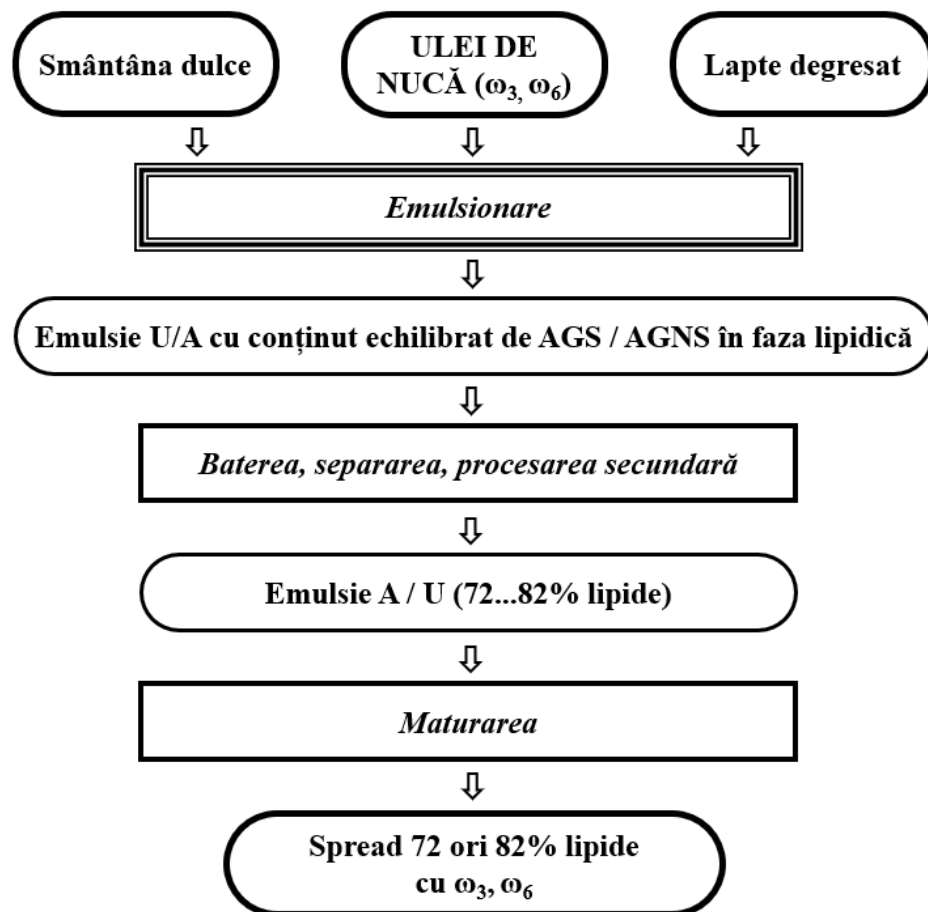


Figura 3.24. Schema tehnologică de producere a spread-ului funcțional cu lipide  $\omega_3$  și  $\omega_6$

Schema tehnologică (figura 3.24) descrie procedeul în care etapa esențială de prolongare a funcționalității AGPNS corespunde procesului de emulsionare. Procedeul de obținere a spread-ului îmbogățit în AGPNS se bazează pe formarea și inversarea controlată a emulsiei, urmată de structurarea fazei lipidice. Smântâna dulce (30...35% grăsime), laptele degresat și uleiul de nucă sunt aduse la temperaturi 40...55°C, după pasteurizarea prealabilă (85...95°C, 15...30 s) și răcirea acestora la temperatura de emulsifiere. Uleiul de nucă este introdus la 35...45°C. Emulsifierea se realizează la 45...60°C la 1500...3000 rot·min<sup>-1</sup>, urmată de omogenizare în două trepte (la 10...20 MPa și la 2...5 MPa), obținându-se o emulsie U/A. Prin răcire la 8...14°C și batere mecanică (30...60 rot·min<sup>-1</sup>, 10...20 min) are loc coalescența și separarea paței, conducând la concentrația lipidelor până la 72...82% și la inversarea emulsiei în A/U. Structurarea finală a produsului se realizează în echipamente cu răcire intensă și forfecare controlată de tip schimbător de căldură cu suprafață raclată, la 8...10 °C și 200...600 rot·min<sup>-1</sup>, unde se induce cristalizarea fracției solide a grăsimilor. Maturarea la 4...8°C, 12...24 ore asigură tartinabilitatea, stabilitatea structurală și rezistența la separare. Rezultatul este un spread cu 72...82% lipide, structură stabilă de tip A/U, profil lipidic echilibrat AGS/AGPNS și aport funcțional de acizi grași  $\omega_3$  și  $\omega_6$ , care, în mod firesc, variază liniar în funcție de cantitatea AGPNS introduse (tabelul 3.7). Totodată, dependența coeficientului de termostabilitate nu este liniară, încadrându-se în valorile cu calificativul „bun” (0,86...1,00) și „satisfăcător” (0,70...0,85) prevăzute pentru unt (300).

**Tabelul 3.7. Compoziția și termostabilitatea spread-ului cu ulei de nucă (66)**

| Ulei de nucă | AGS | AGMNS | AGPNS | Raportul $\omega_6 : \omega_3$ | T           |
|--------------|-----|-------|-------|--------------------------------|-------------|
| 20           | 55  | 28    | 17    | 14,3 : 1,7                     | 0,93 ± 0,01 |
| 30           | 51  | 25    | 23    | 20,3 : 2,4                     | 0,88 ± 0,01 |
| 40           | 47  | 23    | 30    | 26,4 : 3,2                     | 0,88 ± 0,01 |
| 50           | 43  | 20    | 36    | 32,5 : 3,9                     | 0,71 ± 0,02 |

Din tabelul 3.7 rezultă compoziția optimă a spread-ului, având conținut înalt de AGPNS (40% de ulei de nucă) și termostabilitatea înaltă. Totodată, raportul AGS : AGPNS în acest caz este de circa 9 : 3, adică, puțin mai mare de valoarea 7 : 3, considerată ideală (301). La mostra cu 30% ulei de nucă, raportul AGS : AGPNS este mai mic de 6 : 3. Spread-ul cu un conținut optimal de AGPNS va conține 30...40% de ulei de nucă și respectiv 60...70% grăsimi lactice.

Studiile efectuate de O. Radu (66) demonstrează că riscul cel mai mare pentru stabilitatea spread-ului prezintă nu AGPNS în sine, dar **faza apoasă** care constituie 18...28% (m). Această concluzie experimentală corelează cu datele obținute în modelul combinatoric privind rolul destabilizator al apei, chiar dacă faza apoasă este secundară după importanță. Se confirmă și posibilitatea prolongării activității AGPNS prin încorporarea lor în spread-uri.

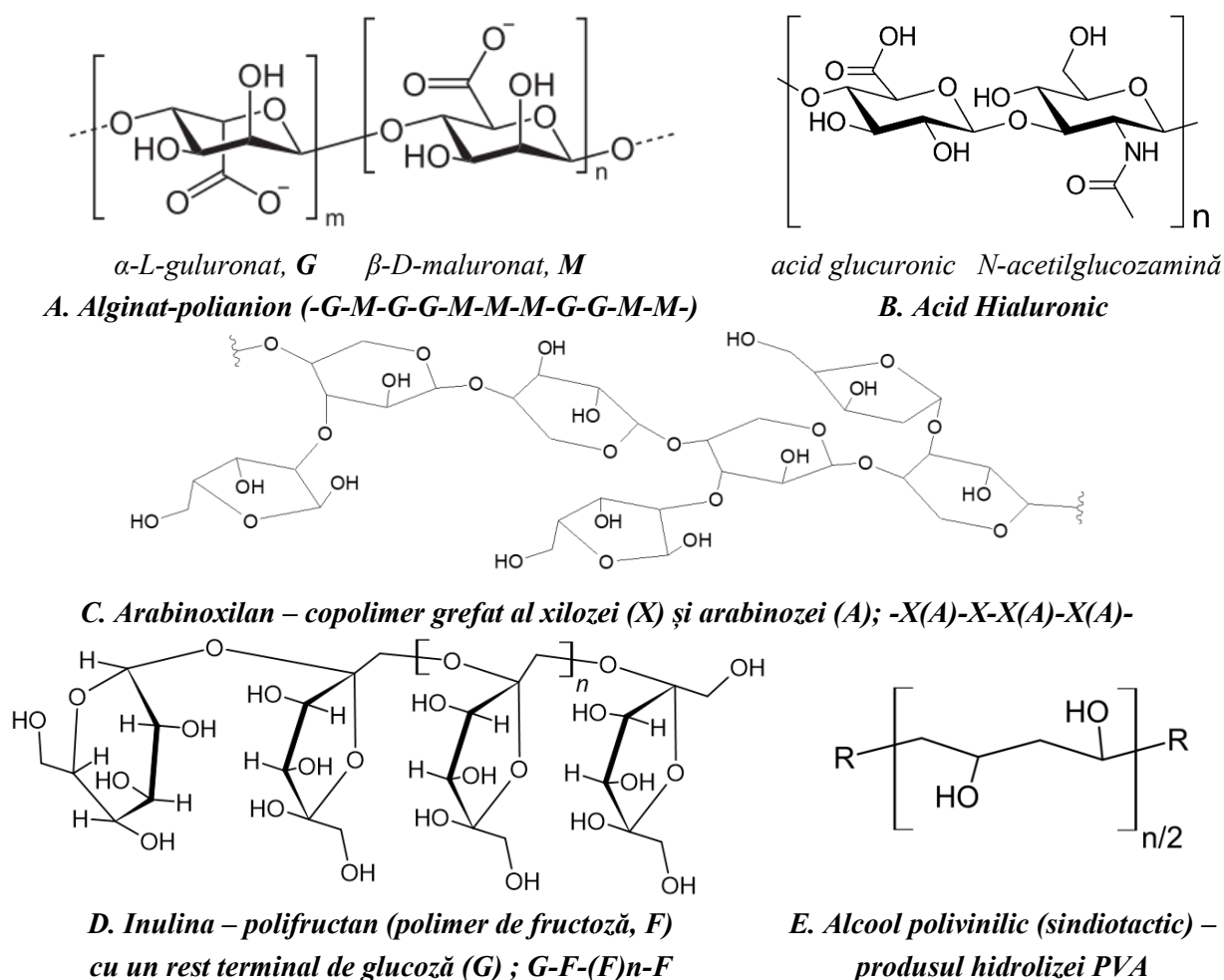
### Concluzii la capitolul 3

1. Reducerea activității apei reprezintă un factor crucial pentru mărirea stabilității compușilor biologic activi fenolici și a lipidelor în sistemele apoase, precum și în sistemele care conțin solvenți organici. Efectele stabilizatoare ale alcoolilor de asemenea se datorează în mare măsură impactului lor asupra atenuării activității apei. Coloranții roșii de tipul antocienilor, betalainelor și chinocalconilor reprezintă coloranți vulnerabili în condițiile mediului apos al sistemelor alimentare. Degradarea antocienilor duce la formarea compușilor de culoare galbenă din clasa calconilor. Din punct de vedere termodinamic, în comparație cu antocienii în stare activă, monocalconii reprezintă produsul de degradare a acestora, adică se află în stare energetică mai stabilă decât antocienii – argument în favoarea utilizării calconilor.
2. S-a demonstrat că stabilitatea calconilor roșii, cartaminei este foarte mică în comparație cu calconii galbeni, ceea ce se exprimă prin valorile reduse ale timpului de înjumătățire: la 20°C,  $\tau_{1/2} = 8,3$  ore, iar la 25°C  $\tau_{1/2} = 3,1$  ore. Totuși, din punct de vedere al exercitării funcției de coloranți alimentari roșii în alimente, calconul cartamină are un avantaj mare față de antocieni, păstrând culoarea roșie în intervalul de pH 1...6, comparativ cu pH 2...4, caracteristic formei sării de flaviliu (roșii) a majorității antocienilor. Pentru valorificarea acestui avantaj important sunt necesare măsuri, care ar asigura creșterea stabilității cinetice (în timp) a cartaminei.
3. În sistemele polifazice (emulsiile U/A și A/U), care conțin lipide cu proprietăți biologice active (esterii acizilor grași polinesaturați), apa exercită un rol destabilizator, deoarece nu formează o barieră suficient de impermeabilă pentru moleculele de oxigen, mai mult decât atât, contribuie la oxidarea accelerată a lipidelor. Această ipoteză corelează cu modelul combinatoric elaborat pentru sistemul trifazic Ulei / Apă / Aer. Prolongarea funcționalității AGPNS poate avea loc doar prin formarea sistemelor structurate în care AGPNS  $\omega_3$  și  $\omega_6$  nu sunt introduse sub forma unei faze aparte, dar formează o fază integră, în care lanțurile acizilor și esterilor  $\omega_3$  și  $\omega_6$  sunt co-structurizate cu lanțurile AGS și AGMNS.
4. A fost elaborată o schemă tehnologică de producere a spread-ului (produsului tartinabil) cu un conținut echilibrat al AGPNS de origine vegetală. Încorporarea în compoziția spread-urilor a acizilor grași polinesaturați de origine vegetală  $\omega_3$  și  $\omega_6$ , însoțită de crearea identității structurale Ulei / Apă / Aer, caracteristice untului de vacă, este o cale posibilă de valorificare a surselor vegetale ale acizilor grași polinesaturați, de prolongare a funcționalității acestora în compozițiile lipidice și de obținere a produsului tartinabil cu valoare funcțională înaltă.

## Capitolul 4. PROLONGAREA FUNCȚIONALITĂȚII COMPUȘILOR BIOLOGICI ACTIVI ÎN SISTEMELE ȘI COMPOZIȚIILE CU POLIMERI FUNCȚIONALI

### 4.1. Caracteristica chimică și tehnologică a unor biopolimeri

Biopolimerii exercită o gamă largă de efecte structurale asupra sistemelor alimentare datorită vâscozității crescute a soluțiilor, capacității mari de reținere a apei și, ca urmare, scăderii activității apei în aceste sisteme. În acest capitol se examinează câteva aspecte ale stabilizării coloranților (antocienilor, betalainelor, chalconilor) cu unele polizaharide (figura 4.1).



**Figura 4.1.** Structura unor biopolimeri-carbohidrați cu capacitate înaltă de reținere a apei din diferite surse vegetale: **A** – alginat; **B** – acid hialuronic; **C** – arabinoxulan; **D** – inulina; **E** – APV.

Acidul hialuronic, **HHur**, conține grupe laterale de acetilamină, -NH-CO-CH<sub>3</sub>, care îl face înrudit cu proteinele. Compozițiile acidului hialuronic cu proteina sunt foarte stabile (226), din care cauză separarea acidului hialuronic pur din complexii cu proteină traversează mai multe etape

(232). Natura convențional „proteică” a acidului hialuronic îi oferă funcționalitate importantă în organismele animale (302).

Spre deosebire de alte polizaharide, acidul hialuronic își păstrează capacitatea de a rămâne hidratat chiar în condiții de umiditate joasă (303). Această proprietate prezintă interes pentru crearea compozițiilor în care menținerea umidității este critic necesară pentru păstrarea structurii, aspectului și culorii sistemului..

Inulina, **In**, este compusă din macromoleculele de oligo- sau polifructani. Este bine solubilă în apă, rezistentă la temperaturile de până la 90°C (304). Proprietățile prebiotice și reologice ale inulinei se utilizează în designul unor produse funcționale (305).

Alcoolul polivinilic, **APV**, reprezintă un agent de îngroșare și de glazurare artificială non-toxic, admis pentru utilizare în compozițiile alimentare, codificat prin E-1203 (306).

#### **4.1.1. Tehnologia de separare și stabilizare a algiților în stare nativă**

Producerea globală actuală a algiților se estimează la 30 mii de tone metrice pe an (307). Algele se procesează direct în locul de recoltare. Metodele industriale de extracție a algiților duc la scăderea de 2...5 ori a masei moleculare (308). De aceea, a devenit necesară elaborarea procedurii de separare a algiților în stare nativă, având masa molară maximă (309).

Esența tehnologiei constă în extracția talului cu soluție diluată NaOH și separarea alginatului în formă de fibre în exces de alcool etilic. Extracția are loc la 40...60°C, la un pH de 11...12, hidromodulul constituie 1:2...1:3. Partea insolubilă a talului se separă prin centrifugare. Pentru extracție sunt suficiente 2 cicluri (al treilea ciclu nu contribuie la creșterea randamentului). Extractul obținut de alginat de sodiu, NaAlg, sau de potasiu, KAlg, se transformă în produs finit prin două metode. Metoda expres (figura 4.2, A) presupune tratarea extractului cu exces triplu de alcool etilic. Varianta mai îndelungată presupune obținerea acidului alginic HAlg ca intermediar. Avantajul acestei variante constă în ușurința și plenitudinea separării HAlg la tratarea extractului diluat de alginat cu HCl. Masa gmoasă de acid alginic se spală cu apă acidulată, amestec de apă- etanol și etanol. Acidul alginic se dizolvă la rece în cantitatea calculată de NaOH, formând soluție concentrată de NaAlg. Sarea se separă din această soluție cu un exces triplu de alcool etilic. Avantajul metodei „B” constă în utilizarea alcoolului în cantități de 2...3 ori mai mici și obținerea fibrelor. **Agitarea lentă** a amestecului format din extractul bazic de alginat și din reagent de sedimentare contribuie la structurarea biopolimerului în fibre și la prolongarea funcționalității produsului. Masa moleculară viscozimetrică a alginatului, obținut conform (309), este mai mare decât valorile indicate în literatură (241). Gradul experimental de extracție a algiților din probele comerciale ale talului uscat de *Saccharina japonica* atinge  $25\text{g}\cdot(100\text{g})^{-1}$ .

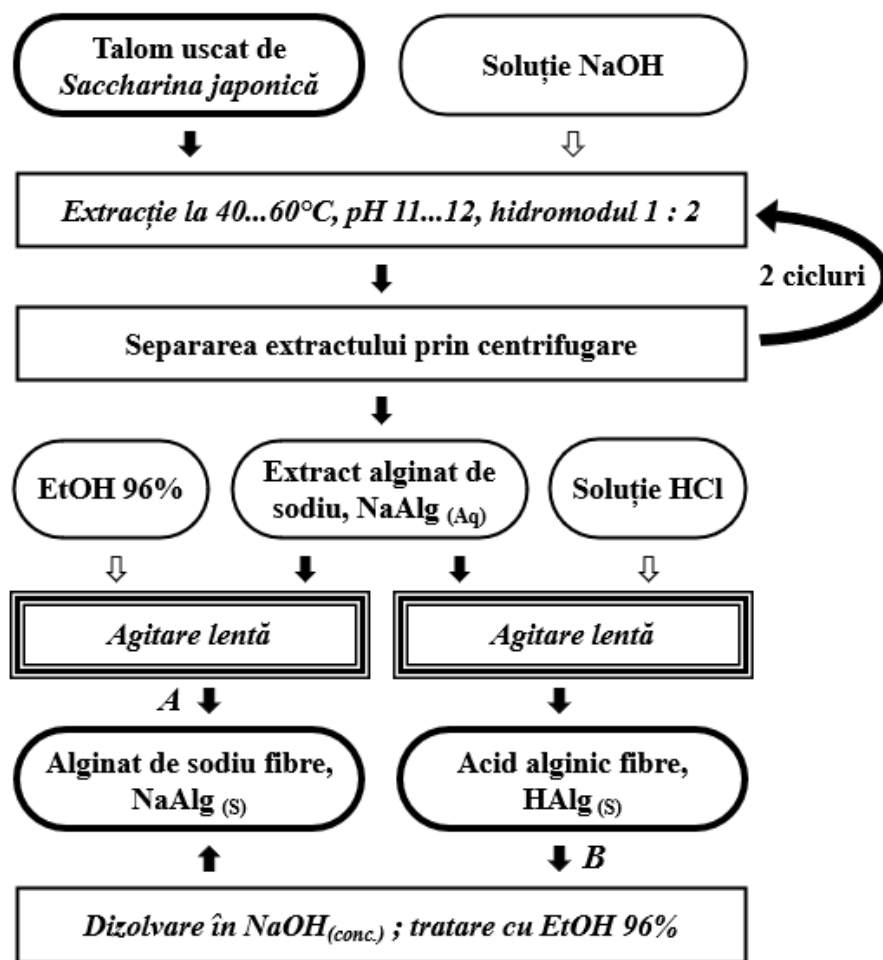


Figura 4.2. Schema tehnologică de obținere a fibrelor de alginat de sodiu și acid alginic:  
*A – pe cale scurtă cu obținerea alginatului de sodiu brut direct din extract;*  
*B – prin separarea acidului alginic, dizolvarea lui și sedimentarea NaAlg.*

Pentru o purificare și mai profundă a algiનાંilor NaAlg sau KAlg este posibilă utilizarea schimbului ionic clasic, folosind sistemul de filtrare-sorbție-eluare (figura 2.3) încărcată cu sulfocationiți tip „Amberlite IRC-120” în formă R-[SO<sub>3</sub>Na]<sub>n</sub> sau R-[SO<sub>3</sub>K]<sub>n</sub>, respectiv.

#### 4.1.2. Tehnologia de separare și stabilizare a arabinoxilanului și AGPNS din semințe de in

Semințele de in, *Linum usitatissimum L.*, reprezintă un concentrat natural de compuși biologic activi, deoarece conțin ulei bogat în AGPNS și în arabinoxilan. Problema tehnică constă în separarea acestor componente cu polaritate contrară din același lot de semințe de in.

Macromolecula de arabinoxilan reprezintă un lanț polimeric din α-D-xilopiranoză, care este grefat cu resturi de α-D-arabinofuranoză (310). Prezența grupelor -COOH în structura arabinoxilanului, indicată în unele surse (311), ar cauza sensibilitatea soluțiilor de arabinoxilan la pH, ceea ce nu a găsit confirmare în rezultatele experimentale. Procedul de obținere a

arabinoxilanului în formă de fibre a fost brevetat (193) (192). Conform acestuia, semințele de in sunt strivite. Strivirea, spre deosebire de măcinarea fină, limitează distrugerea mecanică a structurilor mucilagiilor și reduce formarea emulsiilor stabile ulei/apă. Prin această abordare se menține separabilitatea fazelor și se diminuează contactul dintre uleiul bogat în AGPNS și mediul apos, ceea ce contribuie la creșterea stabilității compușilor biologic activi. Procesul are loc la agitarea lentă ( $30\text{...}60 \text{ rot}\cdot\text{min}^{-1}$ ), asigurând transferul de masă între matricea vegetală și faza hidroalcoolică fără formarea unei emulsii stabile U/A. Prin presarea la  $\approx 20 \text{ MPa}$  se produce expulzarea simultană a fazei lipidice și a extractului hidrocoloidal, reducând conținutul rezidual de lichid în turtă până la aproximativ 40...50%. Extractul hidrocoloidal se tratează cu etanol, rezultând un amestec de polizaharide: arabinoxilan, arabinogalactan și ramnogalacturonan (222).

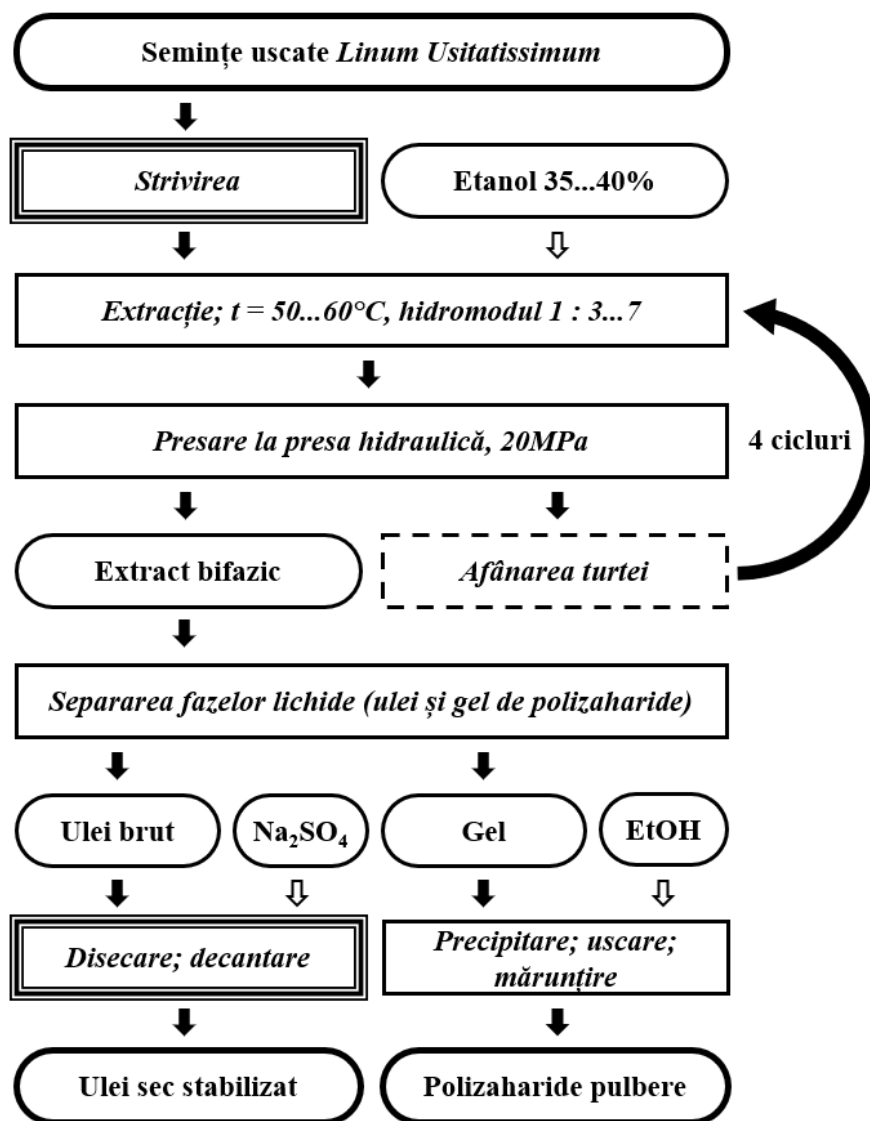


Figura 4.3. Schema tehnologică de obținere simultană a uleiului de in (bogat în AGPNS) și polizaharidelor (arabinoxilan și arabinogalactan) din același lot de semințe de *Linum*

Extracția primară a semințelor strivite se efectuează cu etanol 35...40%, încălzit la 50...60°C, la hidromodulul 1 : 7. La repetarea ciclului, hidromodulul se micșorează până la 1 : 3. Turta se afânează, ciclul „extracție-presare” se repetă de trei-patru ori. Amestecul bifazic se separă în ulei brut și soluție concentrată de polizaharide. Uleiul brut reprezintă emulsie A/U, care se tratează cu Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidru pentru a obține ulei deshidratat. Polizaharidele se obțin din soluție concentrată prin tratarea cu volum triplu de etanol, precipitarea și uscarea.

Astfel, succesiunea operațiilor tehnologice – strivirea controlată a semințelor, extracția hidroalcoolică și separarea rapidă a fazelor – permite limitarea contactului prelungit dintre faza lipidică bogată în AGPNS și mediul apos, contribuind la menținerea stabilității oxidative și la prelungirea funcționalității CBA a uleiului de in.

#### 4.2. Stabilizarea coloranților naturali roșii – antocienilor și betaninei – influența unor biopolimeri funcționali

##### 4.2.1. Impactul biopolimerilor asupra prolongării activității antocienilor și betaninei

Experimentul a fost realizat conform planului EFC<sup>3</sup> folosind aproximația liniară (244). Soluția de acid hialuronic a fost obținută, păstrată și deproteinizată (232). A fost utilizat preparatul pur de clorură de cianidină (186). Preparatele de betanină au fost pregătite prin extracția *in situ* a rădăcinilor de sfeclă roșie (*Beta Vulgaris*) și purificate de colorantul galben betaxantină, folosind cromatografia preparativă pe hârtie (40). Pentru studierea efectelor de prolongare, pe care biopolimerii leexercită asupra antocienilor, au fost preparate probele de sisteme-model „CyCl / Hhur-APV-Inu” cu un conținut constant de clorură de cianidină, 10 mg·L<sup>-1</sup>. Matricea completă a experimentului EFC 2<sup>3</sup> este prezentată în tabelul 4.1.

**Tabelul 4.1. Experimentul EFC 2<sup>3</sup> în sistemele-model „CyCl / HHur-APV-In”**

| N <sub>exp.</sub> | Factorii codificați |                |                |                 |                 |                 |                  | Coordonatele reale     |                      |                     |
|-------------------|---------------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------------|----------------------|---------------------|
|                   | generatori          |                |                | de interacțiune |                 |                 |                  | HHur (X <sub>1</sub> ) | APV(X <sub>2</sub> ) | In(X <sub>3</sub> ) |
|                   | X <sub>1</sub>      | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> | X <sub>12</sub> | X <sub>13</sub> | X <sub>23</sub> | X <sub>123</sub> | v (0,1%) / ω (%)       | v (4%) / ω (%)       | v (4%) / ω (%)      |
| 1                 | +                   | +              | +              | +               | +               | +               | +                | 10,0 / 0,040           | 2,00 / 0,32          | 2,00 / 0,32         |
| 2                 | +                   | +              | -              | +               | -               | -               | -                | 10,0 / 0,040           | 2,00 / 0,32          | 0,50 / 0,08         |
| 3                 | +                   | -              | +              | -               | +               | -               | -                | 10,0 / 0,040           | 0,50 / 0,08          | 2,00 / 0,32         |
| 4                 | +                   | -              | -              | -               | -               | +               | +                | 10,0 / 0,040           | 0,50 / 0,08          | 0,50 / 0,08         |
| 5                 | -                   | +              | +              | -               | -               | +               | -                | 2,00 / 0,008           | 2,00 / 0,32          | 2,00 / 0,32         |
| 6                 | -                   | +              | -              | -               | +               | -               | +                | 2,00 / 0,008           | 2,00 / 0,32          | 0,50 / 0,08         |
| 7                 | -                   | -              | +              | +               | -               | -               | +                | 2,00 / 0,008           | 0,50 / 0,08          | 2,00 / 0,32         |
| 8                 | -                   | -              | -              | +               | +               | +               | -                | 2,00 / 0,008           | 0,50 / 0,08          | 0,50 / 0,08         |

Spectrele electronice au fost înregistrate peste 24 și 72 de ore după formarea compozițiilor de cianidină cu biopolimeri. Soluția de control „0” conține aceeași cantitate de clorură de cianidină, dar nici unul din compușii macromoleculari (HHur, APV, In). Schimbările culorii sistemelor-model au devenit vizibile peste 24 de ore, după ce aceste sisteme au fost spectrofotometriate și supuse analizei regresionale.

Deoarece experimentele pe linia N a matricei de planificare în cadrul acestui experiment au fost realizate o singură dată, validitatea coeficienților ecuațiilor de regresie a fost determinată prin analiza comparativă a valorilor maxime din întreaga populație.

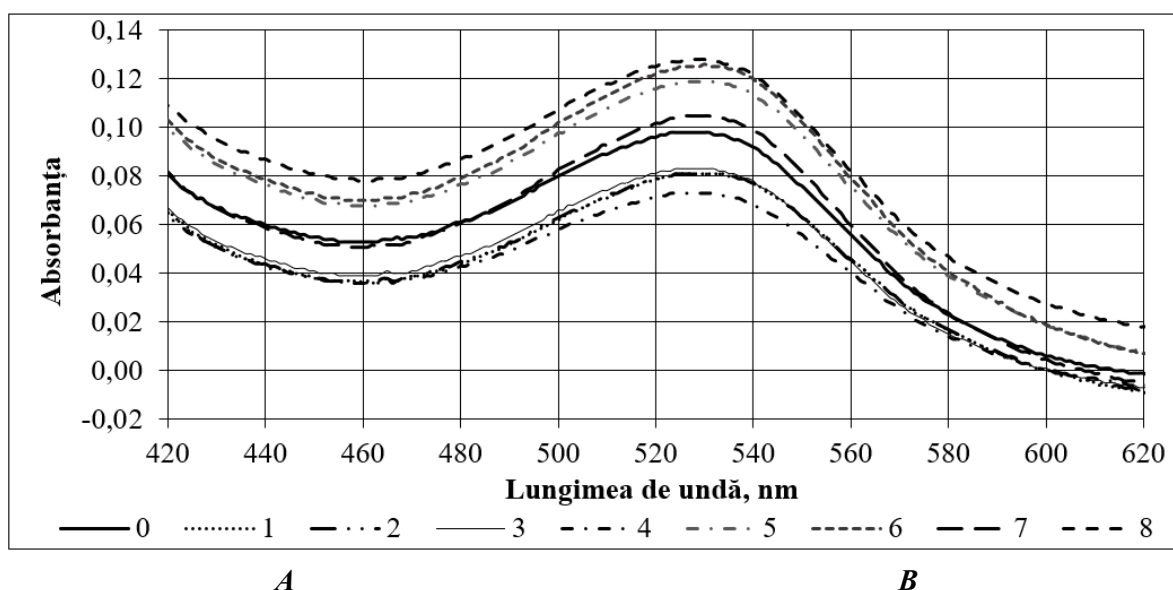


Figura 4.4. Spectrele CyCl (0) și compozițiilor CyCl / HHur-APV-In (1-8) la 72 ore

A fost calculată ecuația de regresie pentru  $A_{Cy,24}$  – valoarea absorbantei soluțiilor la 530 nm peste 24 ore de la inițierea experimentului cu cianidină:

$$A_{Cy,24,530} = 0.541X_0 - 0.029X_1 + 0.001X_2 - 0.010X_3 - 0.007X_{12} + 0.005X_{13} - 0.006X_{23} - 0.006X_{123}$$

S-a evidențiat că cel mai mare, după valoarea absolută, este coeficientul de influență  $b_1$  pe lângă  $X_1$ , iar valorile tuturor celorlalți coeficienți sunt mult mai mici, 0,001...0,010. Spectrele se divizează în 2 grupuri: unul cu spectrele mai reduse față de proba martor, care cuprinde probele 5...8, și altul cu spectrele mai intense, format din probele 1...4. Acest efect se confirmă și prin ecuația de regresie, care modelează densitatea optică în regiunea la 280 nm, la banda II:  $A_{Cy,24,280}$ :

$$A_{Cy,24,280} = 0.834X_0 + 0.120X_1 - 0.005X_2 - 0.003X_3 - 0.021X_{12} + 0.000X_{13} - 0.011X_{23} - 0.019X_{123}$$

Această ecuație denotă influența dominantă a factorului  $X_1$  – concentrației HHur – asupra spectrului UV-Vis în comparație cu ceilalți factori. Creșterea densității optice în această regiune

corespunde apariției produșilor de policondensare ai antocianilor. Menționăm că factorii de influență directă,  $X_2$  și  $X_3$ , sunt mai mici decât cei de interacțiune ( $X_{12}$ ,  $X_{23}$ ,  $X_{123}$ ).

După 2 zile de la formarea soluțiilor cu betanină apar semne de degradare a antocianinei, care în spectrele UV-Vis se exprimă prin diminuarea absorbției cationului de flaviliu la 500...550 nm și creșterea absorbției produselor de transformare a antocienilor sub 300 nm.

Următoarea ecuație de regresie reprezintă modelarea absorbanței (densității optice)  $A_{Cy,72,t}$ , corespunzătoare maximului de absorbție al cationului de flaviliu la 72 ore:

$$A_{Cy,72,530} = 0.100X_0 - 0.020X_1 + 0.002X_2 - 0.003X_3 - 0.001X_{12} + 0.005X_{13} + 0.001X_{23} - 0.004X_{123}$$

Ecuatiile de regresie denotă univoc influența negativă a acidului hialuronic asupra stabilității clorurii de cianidină (cu mare certitudine – și a tuturor antocienilor în general). Concomitent, a fost demonstrat că biopolimerii non-proteici – inulina și alcoolul polivinilic – atât individual, cât și prin interacțiunea cu alți factori, nu influențează stabilitatea cianidinei.

#### 4.2.2. Influența biopolimerilor asupra extractului *in situ* de betanină

Extractul *in situ* a betaninei a fost preparat prin extracția rumegușului de rădăcini de sfeclă rase cu amestec etanol : apă (2 : 1), cromatografierea preparativă frontală a extractului obținut pe hârtie Whatman, extracția benzii cu betalaină de pe hârtie cu amestecul etanol : apă (2 : 1), distilarea în vid a etanolului (maximum 50°C, rotor, P < 0,01MPa ), filtrarea concentratului apos obținut prin cărbune activ, stabilizarea extractului de betanină prin adăugarea acizilor citric și clorhidric până la pH = 2,50.

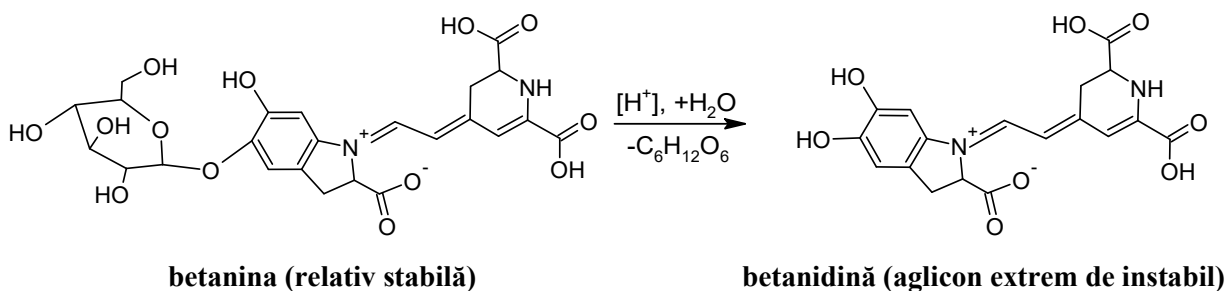
În fiecare sistem-model, elaborat conform planului experimentului (tabelul 4.2), au fost adăugate volume egale, 5 mL extract *in situ* de betanină. Spectrele UV-Vis au fost înregistrate peste 48 ore de la momentul pregătirii sistemelor-model.

**Tabelul 4.2. Experimentul EFC 2<sup>3</sup> în sistemele-model „Bt / HHur-APV-In”**

| N <sub>exp.</sub> | Coordonate codificate |                |                |                 |                 |                 |                  | Coordonate reale       |                       |                           |
|-------------------|-----------------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------------|-----------------------|---------------------------|
|                   | directe               |                |                | de interacțiune |                 |                 |                  | HHur (X <sub>1</sub> ) | APV (X <sub>2</sub> ) | Inulină (X <sub>3</sub> ) |
|                   | X <sub>1</sub>        | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> | X <sub>12</sub> | X <sub>13</sub> | X <sub>23</sub> | X <sub>123</sub> | v (0,1%) / ω (%)       | v (4%) / ω (%)        | v (4%) / ω (%)            |
| 1                 | +                     | +              | +              | +               | +               | +               | +                | 8,00 / 0,032           | 2,00 / 0,320          | 3,00 / 0,48               |
| 2                 | +                     | +              | -              | +               | -               | -               | -                | 8,00 / 0,032           | 2,00 / 0,320          | 1,00 / 0,16               |
| 3                 | +                     | -              | +              | -               | +               | -               | -                | 8,00 / 0,032           | 0,60 / 0,096          | 3,00 / 0,48               |
| 4                 | +                     | -              | -              | -               | -               | +               | +                | 8,00 / 0,032           | 0,60 / 0,096          | 1,00 / 0,16               |
| 5                 | -                     | +              | +              | -               | -               | +               | -                | 2,00 / 0,008           | 2,00 / 0,320          | 3,00 / 0,48               |
| 6                 | -                     | +              | -              | -               | +               | -               | +                | 2,00 / 0,008           | 2,00 / 0,320          | 1,00 / 0,16               |
| 7                 | -                     | -              | +              | +               | -               | -               | +                | 2,00 / 0,008           | 0,60 / 0,096          | 3,00 / 0,48               |
| 8                 | -                     | -              | -              | +               | +               | +               | -                | 2,00 / 0,008           | 0,60 / 0,096          | 1,00 / 0,16               |

Betalainele sunt pigmenți galbeni și roșii, care prezintă interes ca agenți naturali cu acțiune fiziologică demonstrată (312). Betanina este un colorant alimentar natural roșu, E 162, cu formula brută  $C_{24}H_{27}N_2O_{13}$ , care se găsește în cantități mari în rădăcinile de sfecla roșie (*Beta vulgaris*) și în alte plante: pătlăgele vinete (*Solanum melongena*), unele soiuri de petunia. Extractul uscat de rădăcină de sfeclă roșie conține circa  $4,0 \text{ g} \cdot (100\text{g})^{-1}$  pigmenți betalaine ( $2,1 \text{ g} \cdot (100\text{g})^{-1}$  betalainele roșii și  $1,9 \text{ g} \cdot (100\text{g})^{-1}$  betaxantine galbene) și  $0,2\text{...}0,3 \text{ g} \cdot (100\text{g})^{-1}$  compuși fenolici (219).

În unele surse bibliografice informația că betaninele aparțin clasei de antocieni este eronată (313). În realitate, betaninele („betalanine” în unele surse), dar și betaxantinele, pot fi considerate ca fiind derivați ai tirozinei – unui aminoacid non-esențial (219), (312). Diferența radicală în structura coloranților roșii naturali – betaninei și antocienilor – prezintă interes deosebit din punct de vedere al studierii lor comparative și competitive în scopul prolongării funcționalității și utilizării acestor coloranți în produsele alimentare și farmaceutice.



Chitosanul, extras din deșeurile de carapace de nevertebrate, se utilizează ca un adsorbant adecvat și disponibil pentru adsorbția și stabilizarea pigmenților de betacianină și betaxantină. Capacitatea optimă de adsorbție pentru pigmenții de betacianină și betaxantină ajunge la valori înalte,  $144,15 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  și, respectiv,  $114,50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  (314), adică, la 11...14% după masa chitosanului.

Atrage atenția structura funcțională similară a coloranților din *Beta vulgaris* și a chitosanului. Chitosanul reprezintă o polizaharida poliaminată, conținând grupele funcționale laterale  $-\text{NH}_2$  de-a lungul lanțului polimeric. Datorită grupei acidofile  $-\text{NH}_2$ , care suportă ușor adiția protonului prin schema  $-\text{NH}_2 + \text{H}^+ \leftrightarrow -\text{NH}_3^+$ , chitosanul reprezintă un polication, deci, are proprietățile **anionitului natural** (schimbător de anioni) la valorile mici ale pH. Respectiv, sorbția betaninei (cromoforul cărora este de asemenea un cation) poate avea loc doar la pH neutru sau bazic, fără a avea loc schimbul ionic. Complexarea cu chitosan nu permite separarea eficientă a betalainelor bazată pe proprietățile de cationit. Totuși, similitudinea parțială structurală a coloranților betalainici și a biopolimerilor cu grupările amine (chitosan și acidul hialuronic) presupune un oarecare efect de stabilizare a betalainelor în prezența acestor polimeri.

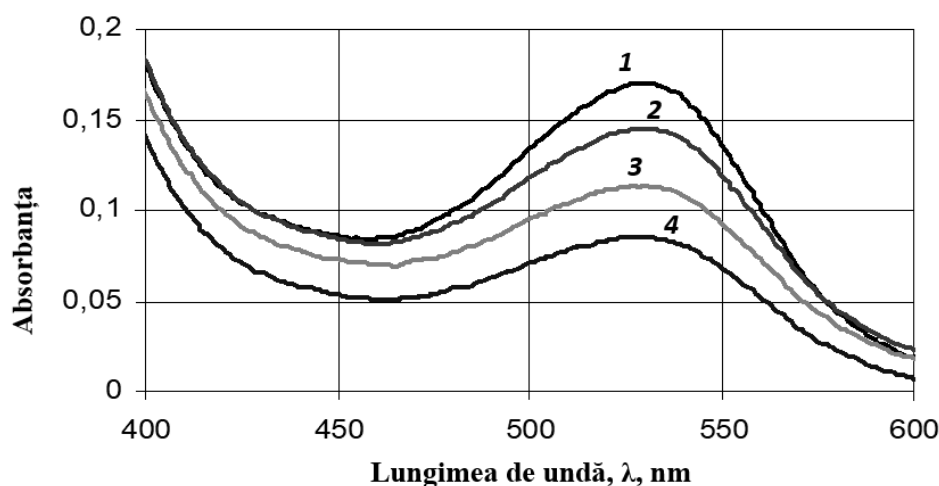
Densitatea optică maximă a soluțiilor de betanină se manifestă la lungimea de undă 535 nm și este caracteristică betalainelor din diferite surse vegetale (312).

Spectrele sistemelor-model au fost înregistrate peste 48 de ore, iar în baza lor obținută ecuația de regresie în care replica reprezintă absorbanta la 535 nm,  $A_{535\text{nm}}^{48\text{h}}$ :

$$A_{535\text{nm}}^{48\text{h}} = 0.992X_0 + 0.045X_1 + 0.030X_2 - 0.005X_3 + 0.026X_{12} + 0.003X_{13} - 0.002X_{23} - 0.002X_{123}$$

Această ecuație se deosebește considerabil de ecuațiile precedente, care descriu influența biopolimerilor asupra stabilității cianidinei. Deosebirea importantă constă în influența stabilizatoare pozitivă a alcoolului polivinilic (factorul  $X_2$ ) asupra betaninei. În al doilea rând, aici își manifestă valoarea un factor de interacțiune, și anume,  $X_{12}$  – factorul de influență comună a tandemului „acid hialuronic–alcool polivinilic” asupra stabilității betaninei. Coeficienții pe lângă  $X_1$ ,  $X_2$  și  $X_{12}$  sunt de același ordin, mai superior decât toți ceilalți coeficienți, și sunt pozitivi, adică, factorii respectivi (HHur, APV și HHur-APV) stabilizează betanina.

Peste 15 zile de la începutul experimentului în probele cu concentrația minimă a acidului hialuronic, 0,008%, culoarea roșie caracteristică dispare complet, ceea ce face inutilă analiza spectrală ulterioară a acestor sisteme. Pentru verificarea efectului observat au fost pregătite două serii de soluții cu concentrații crescătoare ale acidului hialuronic cuprinse între 0,004% și 0,032%,  $\Delta C(\text{HHur}) = 0,004\%$ , în care au fost adăugate clorură de cianidină și extract de betalaină.



**Figura 4.5. Influența acidului hialuronic asupra stabilității cianidinei:**  
**1 – HHur 0,004%; 2 – HHur 0,008%; 3 – HHur 0,012%; 4 – HHur 0,016%.**

Spectrele sistemelor-model au fost înregistrate peste 24 de ore. În figura 4.5 sunt reprezentate fragmentele spectrelor soluțiilor 1...4 din seria compozițiilor, care conține cianidină.

Se observă că odată cu creșterea concentrației acidului hialuronic, în mod aproape liniar scade absorbanta la 530 nm, ce corespunde antocianului nedegradat.

În condiții identice, spectrele electronice ale soluțiilor de betanină nu demonstrează deosebiri esențiale, menținând stabilitatea culorii roșii timp de 2...3 săptămâni. La încălzirea soluțiilor betanină-acid hialouronic timp de 5 minute probele cu  $C(\text{HHur}) = 0,004...0,024\%$  capătă aspectul caracteristic produselor de degradare termică a betaninei. În condiții identice, în probele cu  $\omega(\text{HHur}) = 0,028\%$  și cu  $\omega(\text{HHur}) = 0,032\%$ , betanina degradează mai puțin, pierzând din transparență, dar păstrând culoarea roșie.

Astfel, s-a stabilit că acidul hialuronic – biopolimerul de natură glucoproteică – destabilizează colorantul fenolic cianidină în soluții apoase, fapt confirmat prin valorile coeficienților ecuațiilor de regresie și prin experiențe de control. Totodată, prezența acidului hialuronic stabilizează cinetic și termic colorantul betanină, care, datorită prezenței în structura sa a azotului organic, convențional poate fi de asemenea atribuit la compușii de natură proteică. Influența stabilizatoare a acidului hialuronic asupra betaninei se observă la concentrațiile HHur de 0,028% și mai mari. Pe lângă influența pozitivă a acidului hialuronic, stabilitatea betaninei este pozitiv influențată de alcoolul polivinilic (APV) – un bioplimer cu polaritate duală și agent activ de suprafață, cât și de factorul de influență comună a HHur și a APV. Compozițiile care conțin acid hialuronic, alcool polivinilic și betanină reprezintă sisteme de perspectivă pentru elaborarea produselor noi datorită efectelor demonstrate de stabilizare ale colorantului natural betanină de către acidul hialuronic.

### **4.3. Structura și proprietățile complexului cartamină-celuloză**

#### ***4.3.1. Studiul cromatografic și peculiaritățile structurale ale chinocalconilor roșii***

Stabilitatea înaltă a cartaminei complexată cu biopolimeri este cunoscută timp de cca 1500 ani, fără a fi fost cunoscut faptul complexării cu biopolimeri. În cultura japoneză, extractele din petale de șofrănel au fost folosite pentru colorarea în roșu a țesăturilor de bumbac. Există și artefacte din mătase (fibră proteică) colorată cu cartamină datate din sec. XV (315).

Efectul stabilizator al celulozei asupra cartaminei este cunoscut în literatură ca „efectul Saito” (208). Efectul Saito se observă direct pe cromatogramele pe hârtie (celuloză), cartamină manifestând  $R_f \sim 0$  în diverse compoziții ale fazelor mobile (tabelul 3.2).

Proprietatea cartaminei de a se fixa rigid pe polimeri reprezintă multe provocări pentru realizarea metodelor cromatografice de cercetare a acestui colorant.

Cromatografiile TLC și pe hârtie reprezintă un grup de metode informative și raționale pentru studierea coloranților, iar cromatogramele sistemelor de coloranți nici nu necesită dezvoltare. Valorile joase ale  $R_f$  pentru cartamină în faza staționară a celulozei,  $R_f = 0,00...0,03$ , denotă că cartamină se absoarbe foarte trainic de celuloza fibroasă și se deplasează cu viteză redusă de-a lungul fazei staționare. Mobilitatea extrem de mică a cartaminei se observă la utilizarea diferitor sisteme de eluanți. Totodată, spoturile de cartamină în forma sa roșie rămân vizibile pe cromatogramele atât umede, cât și uscate, după circa 3..4 săptămâni de preparare a cromatogramelor. Aceste proprietăți contrazic stabilitatea joasă a cartaminei demonstrată anterior pentru soluțiile apoase ale ei (316) (317).

În pofida polarității destul de mari exprimate prin prezența grupelor -OH și a două resturi de dezoxiglucoză, cartamina nu este bine solubilă în apă. Formarea solzilor roșii de cartamină în apa slab acidulată se observă în câteva minute sau ore, la concentrații ale cartaminei mai mari de  $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $> 0,01 \%$ ). La concentrațiile de  $10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (0,001%, sau  $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) soluțiile de cartamină își păstrează stabilitatea agregativă, pierzând repede culoarea roșie. În soluții apoase cu concentrații mici, conținutul colorantului scade de peste opt ori în decurs de 24 de ore.

În mediul bazic slab format de soluțiile 1..4% de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sau 0,2...0,5% NaOH, cartamina se extrage din petalele roșii, formând o soluție de culoare portocalie.

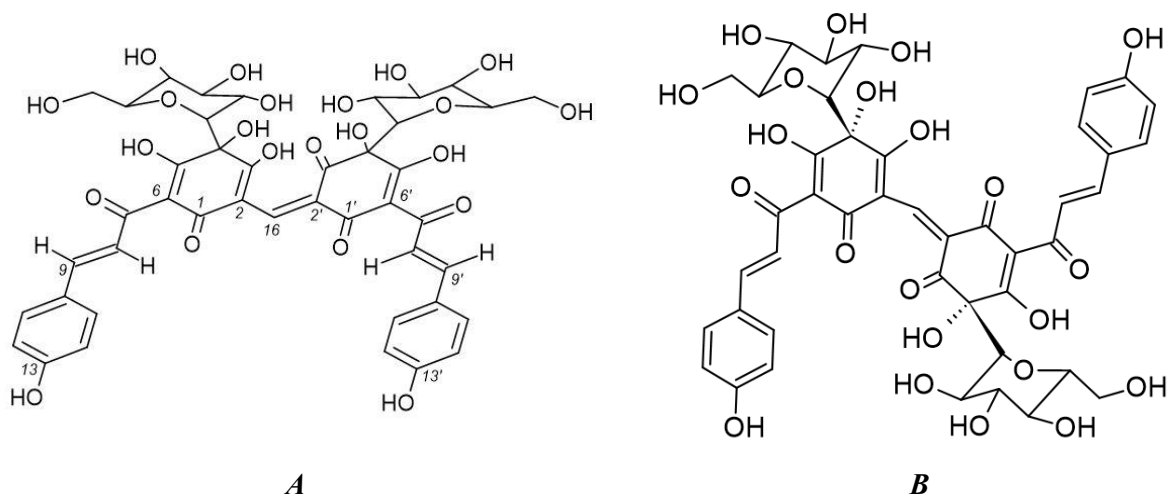
Pe lângă modificarea cromoforului de cartamină, mediul influențează și structura celulozei. Astfel, în mediul bazic are loc scăderea considerabilă a numărului de legături de hidrogen între macromoleculele de celuloză. Practic, structura tridimensională „încordată” a fibrelor de celuloză se transformă în una amorfă liniară, „relaxată” (318). Interacțiunea dintre cartamină și celuloză în diferite medii a fost studiată prin utilizarea spectroscopiei IR în combinație cu analiza culorii prin metoda RGB și a activității apei (41). Datele obținute pentru complexul format de cartamină și celuloză microcristalină, CCC, pot fi folosite la interpretarea interacțiunilor polizaharidă–cartamină, care au loc în materia primă.

La neutralizarea și acidularea extractului bazic, soluția de cartamină revine la culoarea roșie din care peste un timp scurt cartamina se precipită sub formă de fulgi voluminoși.

Solubilitatea relativ joasă a cartaminei și formarea fazei solide în apă și în mediile slab acide impun modificarea protocoalelor studiilor cromatografice TLC și HPLC ale acestui chinocalcon.

În cazul în care faza mobilă este bogată în apă, pe coloana HPLC  $\text{C}_{18}$  pot să se formeze incluziuni solide de cartamină, ceea ce duce la blocarea coloanei și eșuarea analizei. A fost stabilit în mod experimental că dacă faza mobilă conține 10...40% solvent organic plus un acid suficient de puternic, formarea cartaminei solide, respectiv, blocarea coloanei nu are loc.

Metoda HPLC evidențiază doi chinocalconi, denumiți respectiv, cartamină, Crt, și izocartamină, iCrt. Culoarea roșie generată de acești compuși se datorează cromoforului, format din 17 perechi de electroni conjugați (figura 4.4). Acest cromofor voluminos mai conține grupele atașate de C-glucozil (dezoxiglucoză), a căror influență auxocromă nu a fost raportată în literatura analizată, probabil, datorită rarității relative a acestor grupe în natură. În sursele bibliografice examinate, prin termenul „cartamină” se înțelege varianta de structură în care grupele calconice sunt situate în aceeași parte a zigzagului format de pozițiile 6-1-2-16-2'-1'-6' (figura 4.4, A). În mod aparent logic, izomerul trans-, prezentat în figura 4.4, B, trebuie să fie numit „izocartamină”.



**Figura 4.6. Structura calconilor roșii din șofrănel: A – cartamină (conformație „carcasă de pui”); B – izocartamină (conformație „quadrocopter”).**

Spectrele optice ale izomerilor sunt similare (figura 3.14) maximul de absorbție al cartaminei și izocartaminei se găsesc la 519 nm și la 521 nm, respectiv. O diferență atât de mică nu permite stabilirea definitivă a structurii cis- sau trans- (izomerii trans- în general având tendința de deplasare batocromică, spre lungimi de undă mai mari).

Astfel, nici prin metoda HPLC/PDA(DAD), nici HPLC/MS, nu se pot deosebi cu certitudine aceste două structuri izomere în soluția apoasă. Totuși, configurația spațială moleculară cu caracter exprimat lipofil va fi reținută mai eficient pe coloanele de fază inversă C<sub>18</sub>...C<sub>30</sub> (319). Acest fapt reprezintă un argument care susține configurația cis- a chinocalconului de bază, care se observă la 5.75 minute, cu 2.10 minute mai târziu decât colorantul roșu secundar .

Cartamina poate să treacă în izocartamină, sau invers, prin rotirea reciprocă a jumătăților moleculei dimerului în jurul axei C<sup>2</sup> – C<sup>16</sup>, dar datorită existenței sistemului rigid planar din legături duble conjugate, această rotire va fi stopată (213).

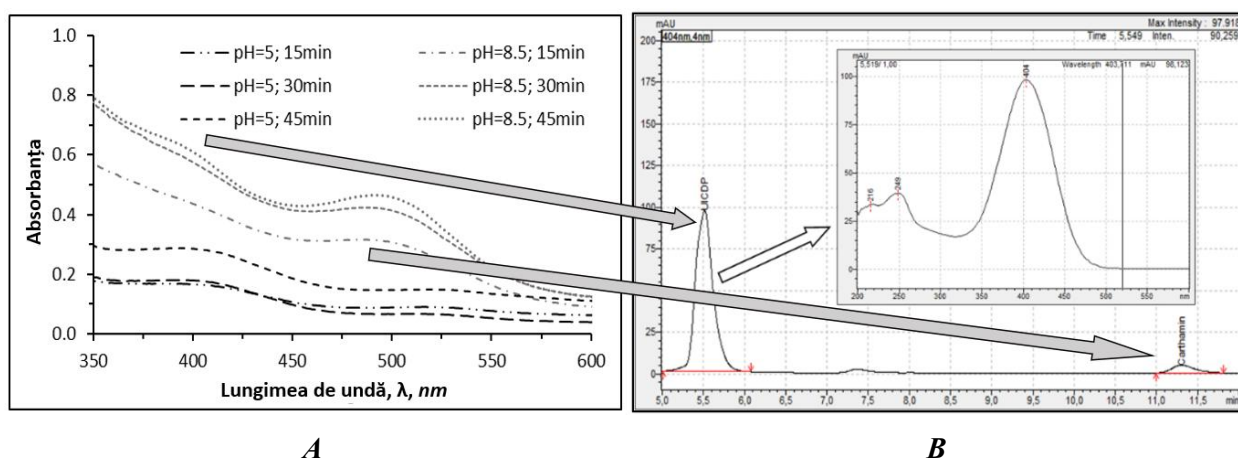
#### 4.3.2. Stabilitatea complexului cartamină–celuloză: influența temperaturii, pH și a timpului

După cum a fost menționat, funcția valorii timpului de înjumătățire de temperatură (figura 3.16, B – pag. 101) demonstrează că degradarea ireversibilă a cartaminei la temperaturi mai mari de 50°C are loc în timp de 1...3 ore. S-a stabilit că în mediul apos cartamina se transformă în produs galben neidentificat. Maximul de absorbție al acestui produs se înregistrează în spectrele UV-Vis clasice și în spectrele UV-Vis/PDA la  $\lambda_{\max} = 404$  nm, fiind un indicator al faptului că produsul galben de descompunere a cartaminei reprezintă un chinocalcon.

Conform datelor bibliografice, țesăturile tradiționale de bumbac, colorate cu colorantul roșu din sofrănel, nu se decolorează mult timp, semnificând uneori mărturii istorice importante.

Fiind expuse acțiunii factorilor agresivi, se observă degradarea cartaminei în țesăturile colorate. Durata acestui proces are loc 500...1500 ore (320). Atât în UV-Vis cu prismă, cât și în spectrele UV-Vis/PDA, degradarea cartaminei se observă prin micșorarea densității optice la 519...520 nm (figura 4.7, A). Brațul la 404 nm, vizibil în spectrele cartaminei parțial degradate, se transformă într-un vârf pronunțat nou după separarea cromatografică a calconilor (figura 4.7, B).

Absorbția cu maximum la 404 nm este caracteristică și pentru precursorii biochimici ai cartaminei, inclusiv precursorului direct, precartaminei, care conține două fragmente neconjugate de C-glucozilchinoxalconă separate prin **doi** legături simple (184).

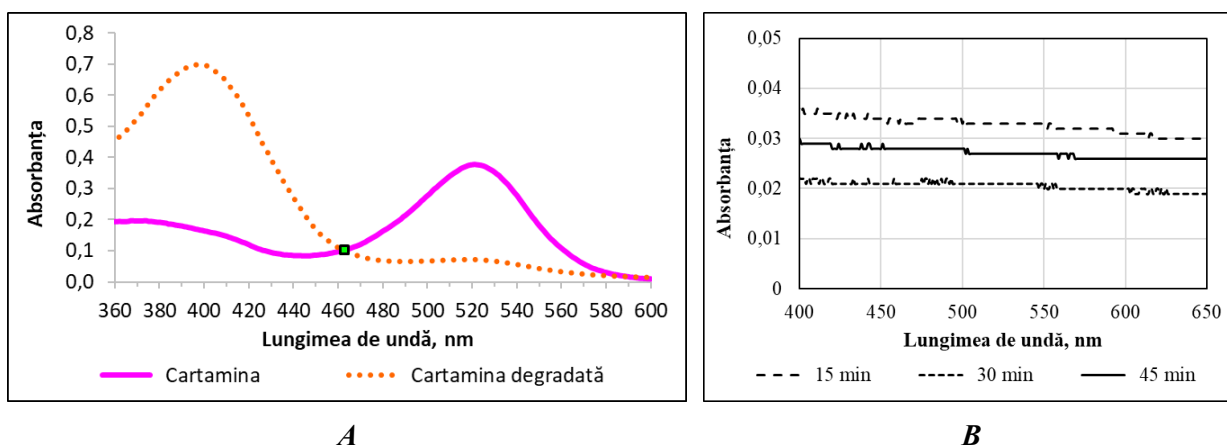


**Figura 4.7. Schema analizei complexe a procesului de degradare a cartaminei:**  
*A - apariția semnalului calconului neidentificat în spectrele UV-Vis clasice (la spectrofotometrul cu prismă) ale extractelor apoase din complexul cartamină–celuloză;*  
*B – picul la 404 nm și spectrul UV-Vis/PDA al chinocalconilor neidentificați.*

Deoarece cartamina este foarte puțin stabilă în soluțiile apoase, ea începe să se descompună cu viteză mare imediat după evenimentul extracției din faza celulozei. Degradarea cartaminei în soluțiile apoase are loc atât de rapid, încât devine practic imposibilă evaluarea directă a concentrației acesteia îndată după extracția din celuloză în mod direct, prin măsurarea absorbției

la 520 nm. Spectrele UV-Vis clasice ale extractelor cartaminei de pe celuloză arată prezența cartaminei nedescompuse, dar și a derivatului (ori mai multor derivați), care se obțin la descompunere, ceea ce se manifestă la creșterea absorbției la lungimea de undă de 404 nm (figura 4.8, A).

Maximum (ori brațul în unele cazuri) de absorbție la lungimea de undă 404 nm, generat de apariția produsului de descompunere al cartaminei, este situat suficient de departe de maximumul de absorbție al cartaminei.



**Figura 4.8. Analiza extractelor de cartamină din CCC:**

*A - punctul izobestic; B – absorbanta suplimentară generată de difracția pe polimer.*

Punctul izobestic, situat la 462 nm, permite calcularea mai precisă a cantității globale de cartamină, care a fost extrasă din complexul cartamină-celuloză. În același timp, s-a observa că extractele din celuloză au adsorbție suplimentară în forma unui platou în tot diapazonul lungimilor de unde din domeniul vizibil. Trebuie de menționat că astfel de absorbție este caracteristică spectrelor UV-Vis ale polimerilor (262), care, datorită structurii nanomicelare, reprezintă rețele de difracție. În extractele calconilor din celuloză microcristalină, această absorbție mai degrabă este cauzată de difuzia luminii pe nanoparticulele de celuloză, care rămân dispersate în extract. Pentru a lua în considerație absorbția suplimentară, cauzată de celuloză, a fost măsurată valoarea absorbției la 600 nm (figura 4.8, B), deoarece începând de la această lungime de undă, nici cartamina, nici produsul chinocalconic neidentificat de transformare a cartaminei nu absorb razele din diapazonul vizibil.

Păstrarea culorii complexului cartamină-celuloză la temperaturi de la 60°C până la 70°C oferă posibilitatea de utilizare practică a complexului cartamină-celuloză în calitate de colorant alimentar. Această afirmație este în special valabilă pentru produsele lactate, pasteurizarea cărora se realizează la valori similare de temperatură.

Datele prezentate în tabelul 4.3 demonstrează că complexul cartamină-celuloză este stabil în condițiile determinate. Astfel, parametrul  $S_{CCC}$  este mai mare de 90%, când pH este cuprins în intervalul de 3,9...5,0 și la temperaturi de 50...60°C, dacă expunerea are loc timp de 30 de minute. Extracția cartaminei din faza de celuloză în soluție este bine exprimată chiar în condiții statice, fără agitare, la pH = 8,5. În aceste condiții, peste 50% de cartamină se extrag din matricea CCC și în 15 minute chiar la temperatura de 50°C.

**Tabelul 4.3. Stabilitatea colorantului „complexul cartamină-celuloză”,  $S_{CCC}$ , %, exprimată în ponderea cartaminei rămase intacte în faza celulozei după tratamentul respectiv**

| Temperatura, °C | $\tau$ , min | pH = 3,9 ± 0,1 | pH = 5,0 ± 0,1 | pH = 8,5 ± 0,1 |
|-----------------|--------------|----------------|----------------|----------------|
| 50 ± 0,5        | 15           | 96,1 ± 0,5     | 93,8 ± 0,8     | 59,6 ± 4,8     |
|                 | 30           | 94,6 ± 0,7     | 92,1 ± 1,0     | 47,6 ± 6,3     |
|                 | 45           | 94,0 ± 0,7     | 89,9 ± 1,2     | 43,3 ± 6,8     |
| Temperatura, °C | $\tau$ , min | pH = 4,0 ± 0,1 | pH = 5,0 ± 0,1 | pH = 6,0 ± 0,1 |
| 60 ± 0,5        | 15           | 94,6 ± 0,7     | 91,8 ± 1,0     | 84,3 ± 1,9     |
|                 | 30           | 93,4 ± 0,8     | 90,8 ± 1,1     | 82,0 ± 2,1     |
|                 | 45           | 89,3 ± 1,3     | 79,0 ± 2,5     | 88,8 ± 1,3     |
| 70 ± 0,5        | 15           | 93,8 ± 0,8     | 89,7 ± 1,3     | 77,0 ± 2,7     |
|                 | 30           | 92,7 ± 0,9     | 88,9 ± 1,3     | -              |
|                 | 45           | 92,1 ± 1,0     | 87,8 ± 1,5     | 72,8 ± 3,2     |

**Notă:** pH al soluțiilor-model a fost stabilit la temperatura (25±2)°C.

Important este că pe parcursul tratării complexului cartamină-celuloză cu soluțiile-model la pH de la 3,0 până la 6,0, culoarea acestuia (fazei solide) practic nu se schimbă, iar extractul devine galben. Prin urmare, numai faptul trecerii cartaminei din faza solidă în cea lichidă condiționează transformările ireversibile ale cromoforului cartaminei. Atât transformarea cromoforului, cât și a moleculei întregi, are loc în faza apoasă, dar nu în faza celulozei.

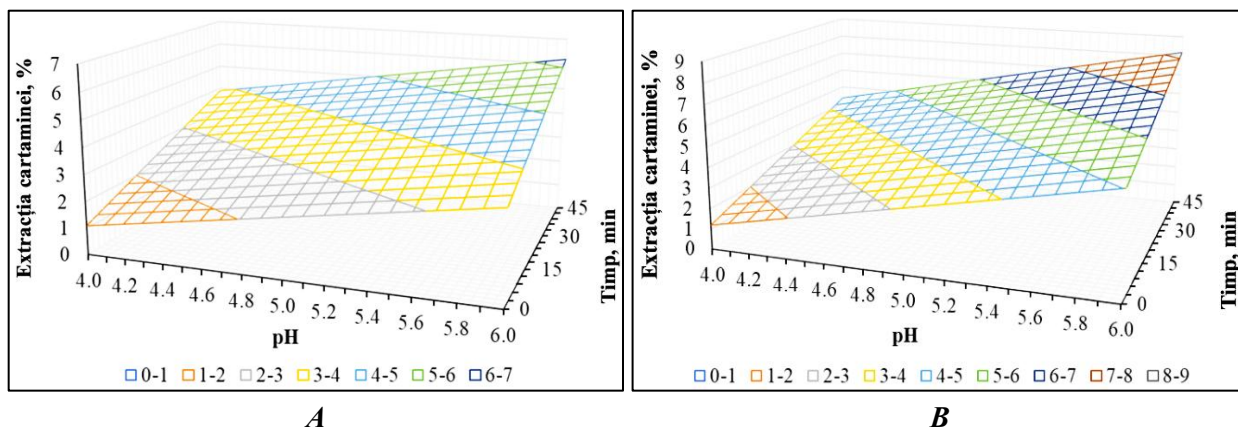
Utilizarea procedurii „Regresii” din instrumentul „Analiza datelor” din Excel, permite estimarea aportului factorilor de influență (valorii pH și a timpului,  $\tau$ ) și obținerea ecuațiilor de regresie în aproximație liniară. Astfel, au fost obținute regresii simple ale procesului de extracție al cartaminei din faza celulozei.

S-au obținut ecuații liniare pentru dependența gradului de extracție a cartaminei din complex, E, %, în funcție de timp,  $\tau$ , și pH:

$$E_{60^{\circ}C} = -3,51 + 0,06\tau + 1,15pH, \quad (4.1)$$

$$E_{70^{\circ}C} = -6,47 + 0,07\tau + 1,92pH, \quad (4.2)$$

Este de menționat că ecuațiile (4.1) și (4.2) și suprafețele corespunzătoare de răspuns, prezentate în figura 4.9, sunt veritabile doar în domeniul relativ de îngust de valori ale pH: de la pH = 3,9 până la pH = 6,0. Aceste valori ale lui pH corespund unei game largi de produse alimentare (321).



**Figura 4.9. Replica gradului de extracție,  $E = f(\text{pH}, \tau)$ : A – la 60°C; B – la 70°C.**

Suprafețele de replică, prezentate în figura 4.9, arată că la temperatura de 60°C procentul de extracție al cartaminei din faza celulozei este mai mic de 5%, dacă timpul extracției nu depășește 27 minute. La temperaturi mai ridicate, 70°C, 5% de cartamină se extrag la pH = 5,4 în intervalul de timp mai scurt (15 minute). Când valorile indicelui pH și ale timpului de extracție  $\tau$  sunt mai mari, gradul de extracție depășește 5%.

Reieșind din ecuațiile (4.1) și (4.2) și din vizualizarea suprafeței de replică (figura 4.9), urmează că pentru utilizarea în tehnologia produselor alimentare a complexului cartamină-celuloză în calitate de colorant roșu, pH al produsului nu trebuie să depășească valoarea 5,0. Procesarea produselor la temperaturi de 60°C trebuie să dureze nu mai mult de 30 de minute, iar la 70°C – 15 minute.

Ipoieza privind stabilitatea înaltă a complexului cartamină-celuloză în comparație cu stabilitatea cartaminei necesită verificare experimentală în mediul sistemelor-model, care sunt similare după compoziția chimică cu sistemele alimentare reale. Cartamina, fiind stabilă în complexul cu celuloza în stare solidă, poate să degradeze dacă este îmbibată cu soluțiile care au compoziția chimică similară cu compoziția sistemelor alimentare. Prezintă interes determinarea cantitativă a valorilor constantelor de viteză în procesul de transformare a CCC.

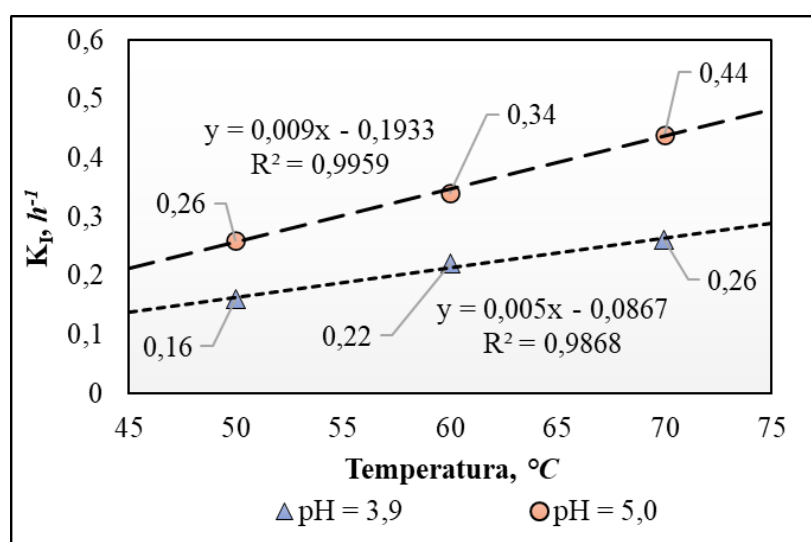
Similar cazului descompunerii cartaminei în soluțiile lichide, pentru complexul CCC a fost înaintată ipoteza, precum că procesul de descompunere a cartaminei din compoziția complexului are loc după mecanismul reacției de ordinul unu.

Constantele de viteză  $K_I$  au fost calculate pentru probele complexului cartamină-celuloză, care au fost supuse extracției la diferite temperaturi și pH (tabelul 4.4).

**Tabelul 4.4. Constantele de viteză de descompunere a cartaminei în momentul extracției din complexul cartamină-celuloză**

| Valoarea pH | t, °C | $\tau$ , h | S <sub>CCC</sub> , % | K, h <sup>-1</sup> |
|-------------|-------|------------|----------------------|--------------------|
| 3,9         | 50    | 0,25       | 96,1                 | 0,16 ± 0,02        |
|             |       | 0,50       | 94,6                 | 0,11 ± 0,01        |
|             |       | 0,75       | 94,0                 | 0,08 ± 0,01        |
|             | 60    | 0,25       | 94,6                 | 0,22 ± 0,02        |
|             |       | 0,50       | 93,4                 | 0,14 ± 0,02        |
|             |       | 0,75       | 89,3                 | 0,15 ± 0,02        |
|             | 70    | 0,25       | 93,9                 | 0,26 ± 0,02        |
|             |       | 0,50       | 92,7                 | 0,15 ± 0,02        |
|             |       | 0,75       | 92,1                 | 0,11 ± 0,01        |
| 5,0         | 50    | 0,25       | 93,8                 | 0,26 ± 0,02        |
|             |       | 0,5        | 92,1                 | 0,17 ± 0,02        |
|             |       | 0,75       | 89,9                 | 0,15 ± 0,02        |
|             | 60    | 0,25       | 91,8                 | 0,34 ± 0,03        |
|             |       | 0,50       | 90,8                 | 0,19 ± 0,02        |
|             |       | 0,75       | 79,0                 | 0,31 ± 0,03        |
|             | 70    | 0,25       | 89,7                 | 0,44 ± 0,04        |
|             |       | 0,50       | 88,9                 | 0,24 ± 0,02        |
|             |       | 0,75       | 87,8                 | 0,17 ± 0,02        |

Din datele prezentate în tabelul 4.4 se observă scăderea constantelor de viteză. Acest fapt arată că mecanismul procesului include cel puțin o etapă, care împiedică extracția cartaminei în apă. Aceasta este cu mare probabilitate difuzia lentă spre interfața celuloză / apă a cartaminei fixată în CCC. Viteza de extracție scade pe măsură ce stratul de difuzie devine mai lat.



**Figura 4.10. Constantele de viteză ale descompunerii cartaminei *in nascendi* (în momentul extracției din complexul cu celuloza) calculate la 15 minute de expunere**

Această ipoteză a fost confirmată prin calcularea energiilor de activare a procesului. Valorile energiilor de activare a procesului de descompunere a cartaminei, extractate în soluție apoasă din complexul cartamină-celuloză, calculată pentru intervalul de temperaturi de la 50 până la 70°C la pH = 3,9 și la pH = 5,0, au constituit 22,4 kJ și 24,2 kJ, respectiv.

Energiile de activare la ambele valori ale pH sunt foarte apropiate și corespund coeficientului van't Hoff mic al reacției caracteristic proceselor eterogene. Acesta este un argument important pentru susținerea ipotezei că procesul de descompunere a cartaminei din complexul cartamină-celuloză are loc anume la interfața celuloză-soluție, *in nascendi*, adică în momentul formării cartaminei libere, când cartamina deja nu face parte din CCC, respectiv în momentul, când cartamina se află în faza lichidă.

Stabilitatea cinetică a compusului este direct proporțională cu timpul de înjumătățire, respectiv, este invers proporțională cu valoarea constantei de viteză a procesului de descompunere a acestui compus. Prin urmare, relația  $K_{I,T(Aq)} / K_{I,T(CCC)}$  va arăta de câte ori cartamina, **complexată** în faza celulozei, va fi mai stabilă decât cartamina liberă aflată în faza apoasă. Datele prezentate în tabelul 4.5 confirmă că cartamina este foarte stabilă, fiind fixată în faza solidă a complexului cu celuloză, iar această stabilitate relativă crește cu majorarea temperaturii.

**Tabelul 4.5. Stabilitatea relativă ( $\alpha$ ) a cartaminei în faza complexului / în soluție**

| Temperatura, °C                       | 50,0 ± 0,5  | 60 ± 0,5    | 70 ± 0,5                   |
|---------------------------------------|-------------|-------------|----------------------------|
| $K_{I,T(Aq)}$                         | 19 ± 4      | 93 ± 16     | 417 ± 71                   |
| $K_{I,T(CCC)}$                        | 0,26 ± 0,01 | 0,34 ± 0,02 | 0,44 ± 0,02                |
| $\alpha = K_{I,T(Aq)} / K_{I,T(CCC)}$ | 73 ± 13     | 273 ± 47    | $(9,5 \pm 1,7) \cdot 10^2$ |

La creșterea temperaturii se observă creșterea stabilității relative a cartaminei în faza celulozei în raport cu stabilitatea cartaminei în soluție, exprimată numeric prin  $\alpha$ . Acesta este încă un argument care susține ipoteza, precum că descompunerea cartaminei are loc nu în interiorul fazei solide a CCC, dar în momentul când cartamina se extrage în faza apoasă. În compoziția chimică a majorității alimentelor componentul de bază este apa. Este bine cunoscut că apa determină stabilitatea și longevitatea întregului sistem, influențând direct și indirect toate procesele biochimice și fizico-chimice. În contextul prezumabilei utilizări practice a cartaminei sau complexului cartamină-celuloză pentru colorarea alimentelor, prezintă interes analiza comparativă a parametrilor cromatici, nuanțelor culorilor cartaminei în faza apoasă și în faza complexului cartamină-celuloză în starea îmbibată (ce corespunde cu starea sa în alimente). În condiții de iluminare și calibrare controlată, analiza digitală în spațiul RGB poate fi utilizată ca alternativă la determinarea valorilor CIELab, oferind o corelație liniară stabilă între parametrii celor două

sisteme. Această metodă permite evaluarea variațiilor de culoare ( $\Delta E$ ) fără instrumentar spectrofotometric, cu o abatere sub 2 unități de culoare și cu un  $R^2 \in 0,90...0,99$  (322).

În funcție de pH, soluțiile apoase de cartamină de 0,1% se grupează în cel puțin patru nuanțe de culoare: oranj, oranj-roz, roz și bej (tabelul 4.6). Înregistrarea profilului RGB a acestor soluții a arătat că valoarea componentei verde („G”, Green) scade semnificativ în intervalul  $pH \in (3; 6)$ , care are loc odată cu creșterea ponderii componentei roșii („R”, Red) și albastre („B”, Blue). Predominarea componentei „R” în profilul RGB al soluțiilor de cartamină în domeniul indicat de pH corespunde cu maximumul spectrelor de absorbție situat la 470...520 nm.

Probele complexului cartamină-celuloză în stare îmbibată au fost obținute prin formarea suspensiilor complexului CCC (cântărit în stare uscată, 0,1g) în soluții-model cu pH respectiv, agitarea acestor suspensii timp de 15 minute, spălarea cu aceeași soluție și separarea CCC îmbibat prin filtrare. Mostrele CCC în stare îmbibată cu soluție-model au fost imediat fotografiate pentru obținerea profilului RGB (tabelul 4.6).

**Tabelul 4.6. Valorile RGB digitalizate ale soluțiilor de cartamină și ale complexului cartamină-celuloză umed**

| pH  | 10              | 9                | 8              | 7          | 6   | 5   | 4          | 3   | 2   | 1   |
|---|-----------------|------------------|----------------|------------|-----|-----|------------|-----|-----|-----|
| <b>Cartamină în soluții apoase</b>          |                 |                  |                |            |     |     |            |     |     |     |
| <R>   | 232             | 233              | 229            | 234        | 241 | 240 | 232        | 230 | 228 | 224 |
| <G>   | 176             | 165              | 167            | 161        | 143 | 133 | 130        | 137 | 147 | 176 |
| <B>   | 84              | 102              | 118            | 123        | 141 | 141 | 136        | 139 | 135 | 128 |
| <b>Culoare</b>                              | <b>Oranj</b>    | <b>Oranj-roz</b> |                | <b>Roz</b> |     |     | <b>Bej</b> |     |     |     |
| <b>Complexul cartamină-celuloză îmbibat</b> |                 |                  |                |            |     |     |            |     |     |     |
| <R>   | 144             | 97               | 86             | 82         | 89  | 136 | 132        | 123 | 135 | 128 |
| <G>   | 90              | 41               | 20             | 19         | 21  | 14  | 6          | 8   | 7   | 11  |
| <B>   | 139             | 79               | 59             | 62         | 65  | 37  | 31         | 29  | 36  | 39  |
| <b>Culoare</b>                              | <b>Purpuriu</b> |                  | <b>Magenta</b> |            |     |     |            |     |     |     |

Compararea valorilor componentelor „R”, „G”, și „B” conduce la concluzia că partea cromoforă a moleculei de cartamină în faza apoasă și în faza celulozei microcristaline se comportă diferit. La pH mai mare decât 6, cartamina în faza celulozei microcristaline în stare îmbibată are culoarea purpurie. În condiții similare de pH și concentrație, cartamina aflată în faza apoasă posedă diferite nuanțe ale culorii oranj.

În domeniul valorilor pH de la 1,0 până la 5, probele îmbibate ale complexului cartamină-celuloză au culoarea magenta-bordeaux. Este remarcabil că culoarea „pur” magenta reprezintă un vârf al sistemului de coordonate cromatice RGB, ce corespunde codului (255, 0, 255). În domeniul

de pH de la 6,0 până la 9,0 culoarea CCC îmbibat este asemănătoare culorii prunelor coapte. Această nuanță este total absentă pentru cartamina în faza apoasă la aceleași valori ale lui pH.

Diferențele considerabile între culorile cartaminei în funcție de starea fazică, presumabil, pot fi explicate doar prin influența macromoleculelor polare de celuloză asupra structurii cromoforului cartaminei și asupra moleculei de cartamină în întregime. În fază apoasă la pH de la 6,0 până la 9,0 are loc tranziția ușoară a nuanțelor de la roz până la oranj.

Variația culorii ca urmare a modificării structurii cromoforului poate fi explicată prin două transformări, care sunt posibile reieșind din structura moleculei de cartamină: a echilibrului ceto-enolic și de conversie a fenolului în fenolați (figura 3.12, B, pagina 73). Acestea din urmă participă la echilibrul fenol-chinonice, iar ambele tipuri de transformări sunt influențate de pH (212).

Grupările de p-hidroxifenil, formal atașate la pozițiile 9 și 9' ale moleculei de cartamină, pot fi privite ca analogii moleculei de para-crezol, iar grupa -OH a para-crezolului reprezintă analogul structural al grupărilor -OH în pozițiile 13 și 13' ale cartaminei. De aceea, cartamina reprezintă un indicator acido-bazic pentru care se presupune existența unei corelații între pH teoretic, care corespunde cu transformările fenol-chinonice ale para-crezolului și cel experimental, care determină tranziția culorii cartaminei. Folosindu-se de conceptele de bază ale teoriei indicatorilor, intervalul de viraj, sau intervalul de tranziție al culorii, ITC, se estimează prin ecuația:

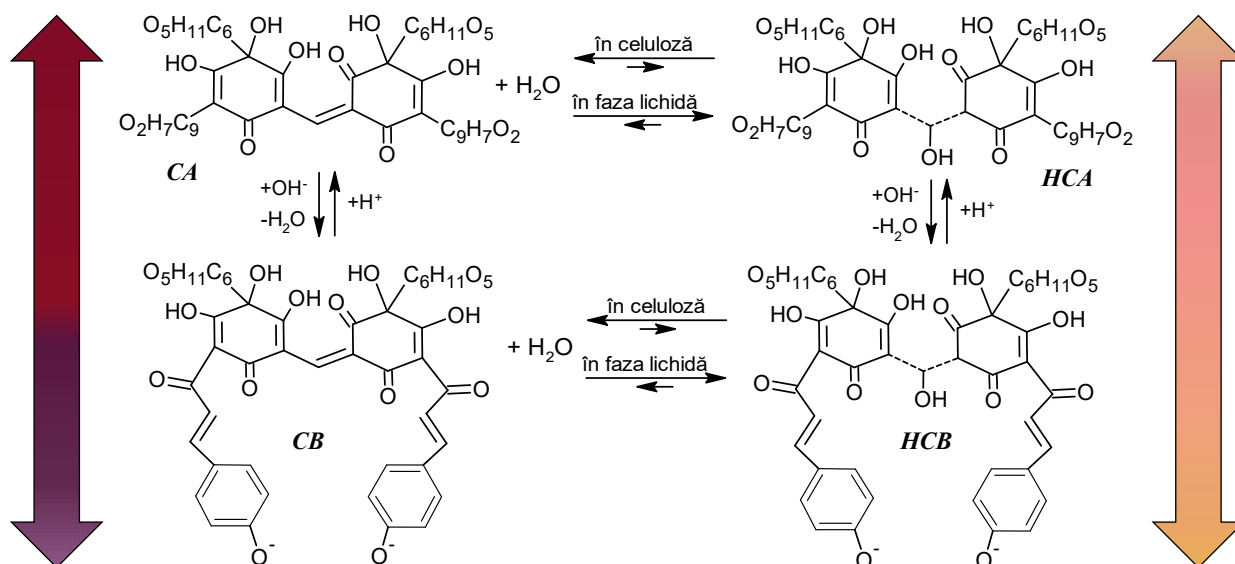
$$\text{pH}_{\text{ITC}} \approx \text{pK}_e \pm 1, \quad (4.3)$$

în care  $\text{pK}_e$  este constanta de echilibru a procesului de disociație a indicatorului.

Pentru para-crezol,  $\text{pK}_a = 10,2$  (323). Conform ecuației (4.3),  $\text{pH}_{\text{ITC}}$  pentru fragmentul p-crezolic al cartaminei va fi cuprins în intervalul 9,2...11,2 unități de pH. În această valoare a ITC se încadrează variația finală a culorii soluțiilor de cartamină din roz în oranj la  $\text{pH} \approx 10$ . De asemenea, la acest pH are loc extracția rapidă a cartaminei din faza celulozei, urmată de decolorarea ei.

În figura 4.11, legăturile covalente dintre atomii de carbon  $\text{C}^1 - \text{C}^{16}$  și  $\text{C}^{1'} - \text{C}^{16}$  din hidrocartamina acidă (HCA) și hidrocartamina bazică (HCB) sunt evidențiate prin linii punctate. Spre deosebire de formele anhidre ale cartaminei acide (CA) și cartaminei bazice (CB), atomul de carbon  $\text{C}^{16}$  în HCA și HCB se află în stare de hibridizare  $sp^3$ , care permite rotația fragmentelor chalconice în jurul axelor legăturilor respective.

Folosind ca precedent efectul de blocare a antocienilor în faza cationitului (190), a fost emisă o ipoteză precum că dacă cartamina se află în interiorul fazei celulozei, rotația liberă a moleculei va fi restricționată de macromoleculele de celuloză, în timp ce în faza apoasă această rotație se desfășoară liber. În acest caz, echilibrele tautomerice vor oferi formelor de cartamină culori diferite în soluții apoase și în faza celulozei. Acest lucru și se atestă în realitate.



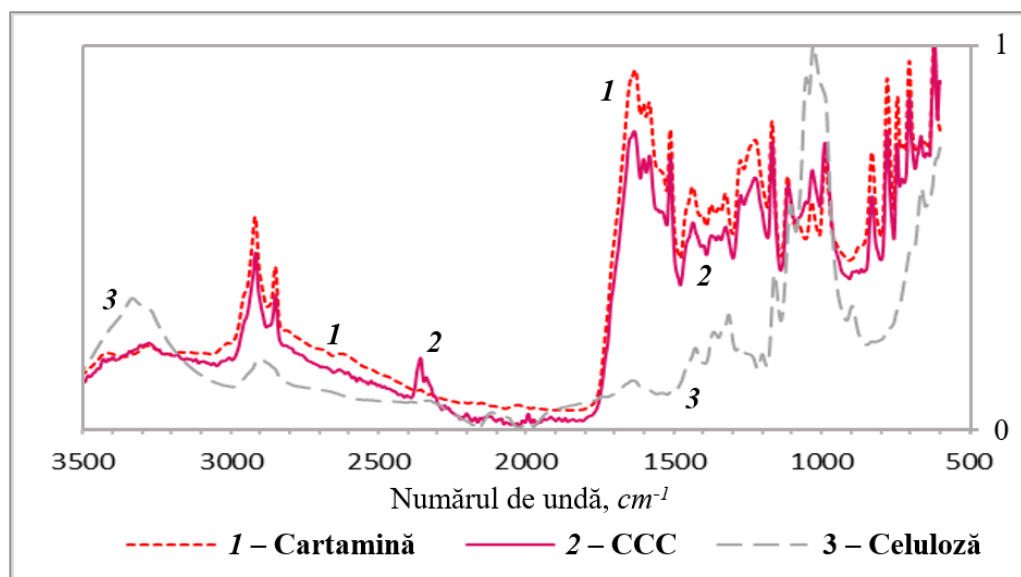
**Figura 4.11. Echilibrul acido-bazic și virajul culorii cartaminei în faza celulozei și în apă: CA – cartamină acidă; HCA – hidrocartamină acidă; CB – cartamină bazică; HCB – hidrocartamină bazică.**

În literatură se menționează că cartamina anhidră cu masa molară  $M = 910 \text{ g/mol}$  poate să treacă în starea hidratată cu  $M = 928 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  (324). Această trecere, fiind însoțită de modificarea stării de hibridizare a atomului de carbon  $C^{16}$  din  $sp^2$  în  $sp^3$ , face posibilă rotația liberă a grupărilor chinocalconice, urmată de destabilizarea moleculei. Totodată, stabilitatea înaltă a cartaminei în faza de celuloză reprezintă un indiciu că în celuloză sau nu are loc descompunerea hidrocartaminei sau nici formarea acesteia.

#### 4.3.3. Mecanismul de stabilizare a cartaminei în faza celulozei

Ipoteza privind rolul celulozei în stabilizarea grupărilor cromofore ale cartaminei a fost verificată prin înregistrarea și analiza spectrelor FTIR (figura 4.12). În spectrele FTIR ale cartaminei, fixate în faza celulozei, se înregistrează benzile de intensitate slabă la frecvențe de  $2340 \text{ cm}^{-1}$  și  $2360 \text{ cm}^{-1}$ . Benzile respective nu se observă nici în spectrul FTIR al celulozei microcristaline pure, nici în spectrele pulberii de cartamină. Benzile noi cu intensitate slabă la  $2340 \text{ cm}^{-1}$  și la  $2360 \text{ cm}^{-1}$  nu au fost atribuite la nici o grupare funcțională anumită.

Totodată, apariția unor benzi noi, care nu sunt caracteristice nici celulozei, nici cartaminei, indică o interacțiune puternică între macromoleculele de celuloză și moleculele de cartamină. Aceasta reprezintă un indiciu instrumental independent, care, pe lângă parametrii cinetici se interpretează ca un argument în favoarea formării complexului stabil cartamină–celuloză (CCC).

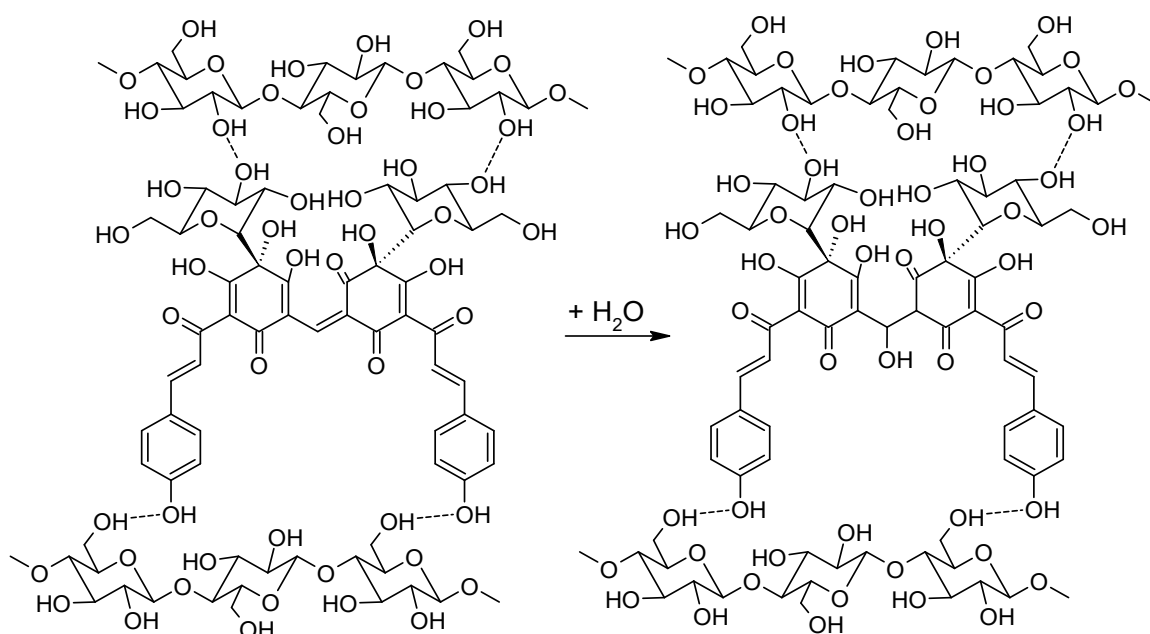


**Figura 4.12. Spectrele FTIR-ATR normalizate (0-1 unități):**  
**1 – cartamină (*Crt*,  $M = 910$ ), 2 – complexul cartamină-celuloză (CCC), 3 – celuloză.**

Pe lângă benzile noi, apărute în spectrele FTIR, au fost observate efecte informative în regiunea frecvențelor caracteristice oscilațiilor diferite ale grupelor – OH. Astfel, spectrul FTIR al celulozei conține o bandă largă la frecvența  $3330\text{ cm}^{-1}$ , atribuită legăturilor de hidrogen intermoleculare ale celulozei. Totodată, spectrul infraroșu al complexului cartamină-celuloză în domeniul frecvențelor  $3200\text{...}3500\text{ cm}^{-1}$  practic este identic spectrului pulberii de cartamină pură. Explicația acestei asemănări constă în fixarea moleculelor de cartamină în faza solidă, formată de macromoleculele de celuloză prin formarea legăturilor de hidrogen colorant-polimer.

Ca urmare a acestei complexări, în spectrul FTIR al CCC se observă scăderea ponderii legăturilor de hidrogen,  $-\text{OH} \cdots \text{HO}-$ , între macromoleculele de celuloză. Conform unor date recente, banda legăturilor de hidrogen intermoleculare corespunde cu frecvența  $3370\text{ cm}^{-1}$  (325). Astfel, adsorbția cartaminei pe celuloză, conform datelor FTIR, duce la recombinarea legăturilor de hidrogen intermoleculare ale celulozei pe cartamină.

Rezultatele obținute atât prin analiza profilurilor RGB, cât și prin interpretarea spectrelor FTIR-ATR demonstrează că moleculele de cartamină sunt fixate rigid pe celuloză. Modelul molecular al complexului este reprezentat în figura 4.13. Ca rezultat al acestei fixări rigide se presupune că chiar în caz de hidratare, molecula de cartamină va pierde capacitatea de rotație internă liberă de-a lungul legăturilor  $\text{C}^1 - \text{C}^{16}$  și  $\text{C}^{16} - \text{C}^1$ . Această presupunere se confirmă parțial prin numărul mai mic de nuanțe de culori ale complexului cartamină-celuloză în comparație cu cartamina liberă, aflată în faza de soluție.



**Figura 4.13. Schema blocării rotirii hidrocartaminei la complexarea cu celuloză**

Blocarea rotațiilor în molecula de hidrocartamină explică scăderea posibilităților de modificare a structurii cromoforului și, respectiv, contribuie la dispariția semitonurilor. Acest lucru se confirmă prin datele analizei profilului RGB al cartaminei prelucrate cu soluții-model la diferit pH (tabelul 3.6).

Stabilitatea valorilor RGB ale complexului cartamină-celuloză în stare umedă în comparație cu soluția reală de cartamină corelează cu datele raportate de alți cercetători. Astfel, se raportează că soluțiile de zahăr asigură o creștere măsurabilă a stabilității chinocalconilor din șofrănel (326).

Efectul de stabilizare care se manifestă fie în prezența moleculelor zaharurilor solubile, fie în prezența fazei de celuloză, poate fi explicat prin faptul că în ambele cazuri zaharida respectivă contribuie la scăderea importantă a activității apei în sistem (207).

Pentru verificarea acestei ipoteze au fost măsurate activitățile apei,  $a_w$ , a probelor de celuloză, de cartamină și a complexului CCC. Probele au fost menținute 24 de ore în aceleași condiții de temperatură și presiune, apoi au fost înregistrate valorile activității apei (41):

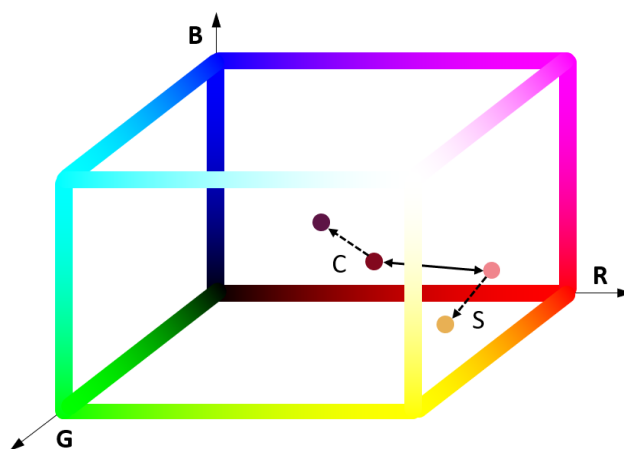
$$a_w(\text{celuloză}) = 0,522 \pm 0,002,$$

$$a_w(\text{cartamină}) = 0,503 \pm 0,002,$$

$$a_w(\text{CCC}) = 0,527 \pm 0,002.$$

Se observă scăderea activității apei în șirul  $a_w(\text{CCC}) > a_w(\text{celuloză}) > a_w(\text{cartamină})$ . Activitatea maximală a apei asupra complexului cartamină-celuloză este un indiciu suplimentar, care confirmă respingerea moleculelor de apă în stare gazoasă, respectiv, rearanjarea legăturilor de

hidrogen (Cel) – OH ... HO – (Cel) și (Car) – OH ... HO – (Car) cu formarea preponderentă a legăturilor (Cel) – OH ... HO – (Car), adică, a unui complex stabil între celuloză și cartamină.



**Figura 4.14. Modificările cartaminei în coordonatele spațiului cromatic RGB:**  
*variația culorii cartaminei în soluție (S) și în faza de celuloză (C)*  
*la alcalinizarea fazei respective de la pH = 5,0 până la pH = 10,0.*

În figura 4.14 este reprezentată evoluția formelor de cartamină în sistemul tridimensional de coordonate RGB. Astfel, la alcalinizarea mediului apos, care conține cartamină, are loc creșterea valorii componentei coordonatei verzi, ce se reflectă în modificarea culorii în galben. Totodată, alcalinizarea complexului solid cartamină-celuloză conduce la deplasarea vectorului culorii spre culoarea blackcurrant. Vizual, acesta corespunde modificării în portocaliu a culorii soluției de cartamină (tabelul 4.6). Analiza comparativă a profilurilor RGB demonstrează că, aflându-se în faza solidă de celuloză, moleculele de cartamină sunt stabilizate în formă anhidră. În cazul în care totuși ar avea loc hidratarea moleculei de cartamină nerotabilă, celuloza „protejează” culoarea roșie. Extracția cartaminei în faza apoasă duce la deplasarea echilibrului  $\text{Crt} \rightleftharpoons \text{Crt} \cdot \text{H}_2\text{O}$  spre dreapta, adică, spre formarea hidrocartaminei  $\text{Crt} \cdot \text{H}_2\text{O}$  ( $M = 928 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Hidrocartamina reprezintă o moleculă labilă, care suferă o descompunere rapidă.

Reducerea riscului de infectare cu microorganismele patogene impune necesitatea obținerii coloranților sterili. Cercetările stabilității calconilor la încălzire sunt necesare pentru a asigura posibilitatea obținerii unui produs steril, care nu va prezenta o sursă suplimentară de contaminare cu microorganismele patogene.

În scopul determinării stabilității la încălzire a CCC uscat, probele CCC cu  $\text{Crt} / \text{CCC} = 120 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , cu masa  $0,100 \pm 0,001$  grame au fost termostatate,  $\Delta t = \pm 0,2^\circ\text{C}$ , apoi au fost extractate cu  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1% și cromatografiate imediat (tabelul 4.7).

**Tabelul 4.7. Influența temperaturii și timpului asupra raportului izomerilor cartaminei în complexul cartamină-celuloză uscat**

| Izomerul | t, °C | τ, min | λ(max), nm | Rt, min | Crt/CCC, mg·g <sup>-1</sup> | % izomer   |
|----------|-------|--------|------------|---------|-----------------------------|------------|
| izoCrt   | 20    | 0      | 515        | 5,91    | 2,3                         | 1,9 ± 0,2  |
| Crt      |       |        | 519        | 8,41    | 117,7                       | 98,1 ± 0,2 |
| izoCrt   | 70    | 15     | 514        | 5,91    | 2,1                         | 1,8 ± 0,2  |
| Crt      |       |        | 519        | 8,41    | 117,9                       | 98,2 ± 0,2 |
| izoCrt   | 70    | 45     | 520        | 5,90    | 2,3                         | 1,9 ± 0,2  |
| Crt      |       |        | 519        | 8,40    | 117,7                       | 98,1 ± 0,2 |
| izoCrt   | 85    | 10     | 518        | 5,91    | 2,1                         | 1,7 ± 0,2  |
| Crt      |       |        | 520        | 8,40    | 117,9                       | 98,3 ± 0,2 |
| izoCrt   | 85    | 30     | 517        | 5,91    | 2,4                         | 2,0 ± 0,2  |
| Crt      |       |        | 520        | 8,41    | 117,6                       | 98,0 ± 0,2 |
| izoCrt   | 100   | 5      | 520        | 5,91    | 2,0                         | 1,6 ± 0,2  |
| Crt      |       |        | 519        | 8,41    | 118,0                       | 98,4 ± 0,2 |
| izoCrt   | 100   | 15     | 516        | 5,91    | 2,3                         | 1,9 ± 0,2  |
| Crt      |       |        | 519        | 8,41    | 117,7                       | 98,1 ± 0,2 |

Valorile aproape constante ale raportului cartamină / izocartamină la prima vedere demonstrează că în interiorul fazei celulozei nu are loc izomerizarea cartaminei. Însă analiza regresională *a posteriori* a datelor prezentate în tabelul 4.7, cu ajutorul instrumentului de analiză regresională încorporat din Excel, conduce la ecuația (4.4):

$$iCrt_{\%} = 1,9107 - 0,0023 t + 0,0054 \tau \quad \Delta\beta = 0,15 \quad (4.4)$$

în care:  $iCrt_{\%}$  – conținutul izocartaminei, %;

t – temperatura, °C;

τ – timpul de expunere, min.

Valorile coeficienților de regresie  $\beta_t$  și  $\beta_{\tau}$  din ecuația (4.4) au semnificație statistică joasă, fiind mai mici decât  $\Delta\beta$ . Este corect doar a presupune că conținutul  $iCrt$  scade cu creșterea temperaturii și crește la mărirea duratei de încălzire a complexului. Dependența joasă a procesului  $Crt \Rightarrow iCrt$  de durata încălzirii confirmă că în CCC, îndeosebi în stare de pulbere uscată, nu are loc formarea intermediarului  $Crt \cdot H_2O$ , iar CCC manifestă stabilitate excelentă.

#### 4.4. Tehnologia de obținere și prolongare a funcționalității coloranților chinocalconici

Elaborarea unei tehnologii necesită aplicarea „goal-settingului” exprimată în formularea prealabilă a cerințelor față de produsul dorit. În industria alimentară aceste cerințe sunt proprietățile senzoriale și asigurarea stabilității produselor (327). Obiectivul-cadru privind tehnologia de producere a coloranților alimentari constă în asigurarea aplicabilității coloranților pentru producerea alimentelor la scară industrială și în unitățile de alimentație publică. Obiectivele

operaționale, care rezultă din obiectivul-cadru și care au servit la elaborarea caietului de sarcini al sistemului de producere a coloranților chinocalconici (tabelul 4.8), sunt următoarele:

- ✓ diminuarea degradărilor acido-bazice, oxidative și enzimaticice ale coloranților alimentari;
- ✓ asigurarea colorării semifabricatelor și alimentelor cu acești coloranți;
- ✓ atingerea stabilității agregative și structurale a coloranților încorporați în alimente.

**Tabelul 4.8. Parametrii programați ai sistemului de producere a coloranților calconici**

| Constituentul sistemului de producere | Parametrii programați de intrare și de ieșire ai sistemului tehnologic de producere  |
|---------------------------------------|--|
| Petale de șofrănel                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Petalele „mature” (de culoare roșie);</li> <li>✓ Conținut global de chinocalconi în petale: <math>25 \pm 5\%</math> din SU;</li> <li>✓ Umiditatea absolută a petalelor: <math>4 \pm 1\%</math>;</li> </ul>  |
| Linia tehnologică                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Asigură obținerea colorantului roșu (CCC) și colorantului galben (ACCG) din <b>același lot</b> de materie primă (petale uscate mature);</li> <li>✓ Capacitatea liniei de cca <math>50 \pm 10</math> kg de petale per ciclu de producție; trei cicluri de aproximativ 2 ore per schimb (opt ore);</li> <li>✓ Randamentul global al coloranților (plenitudinea de extracție-separare-ambalare): <math>85 \pm 5\%</math>;</li> </ul>                         |
| Produsul finit (coloranții)           | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Colorant roșu (roz-magenta), CCC, sub formă de pulbere microcristalină insolubilă, cu un conținut de cartamină de la 10% (roz) până la 25% (magenta) în ambalaje de <math>10 \pm 1</math> grame;</li> <li>✓ colorant galben, ACCG, solubil în apă, care poate avea formă de pastă (30–35% chinocalconi), sau pulbere (<math>96 \pm 1\%</math> SU, dintre care <math>85 \pm 5\%</math> chinocalconi în ambalaje de <math>10 \pm 1</math> grame.</li> </ul> |

Folosind caracteristicile fizico-chimice studiate ale coloranților calconici (paragrafele 3.1, 3.2, 4.1 și 4.2) și caietul de sarcini prezentat în tabelul 4.8, a fost elaborată schema de producere a coloranților (figura 4.15). Petalele mature uscate ( $U_a < 5\%$ ) sunt supuse extracției alcaline cu 1...4%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , la hidromodul 1:10...1:2, în patru cicluri, cu acumularea extractului la 18...25°C, obținându-se un extract ce conține ACCG și forme bazice hidratate de cartamină. Extractul este tratat de două ori cu celuloză microcristalină (Crt :  $\mu\text{C} = 1:9...1:3$ ), urmat de separarea complexului CCC sub formă de masă umedă și spălarea cu soluție de acid citric 0,5%, rezultând două fracții: colorant roșu CCC și extract de colorant galben ACCG. Frațiile sunt concentrate ( $\text{SU} > 35\%$ ), uscate până la  $U_A < 5\%$  și sterilizate (UV, 120°C), obținându-se un colorant roșu CCC pulbere și un colorant galben ACCG sub formă de pastă sau pulbere. Raportul Crt :  $\mu\text{C}$  în limitele 1 : 9 ... 1 : 3 duce la obținerea CCC cu un conținut de cartamină de 10...25%. Fiind demonstrată instabilitatea cartaminei în stare dizolvată, prezența urmelor de cartamină în ACCG destabilizează compoziția colorantului și a sistemului alimentar în întregime. Din aceste considerente, etapa de tratare cu

celuloză microcristalină este crucială nu doar pentru obținerea colorantului roșu CCC, dar și pentru calitatea și prolongarea funcționalității colorantului galben ACCG.

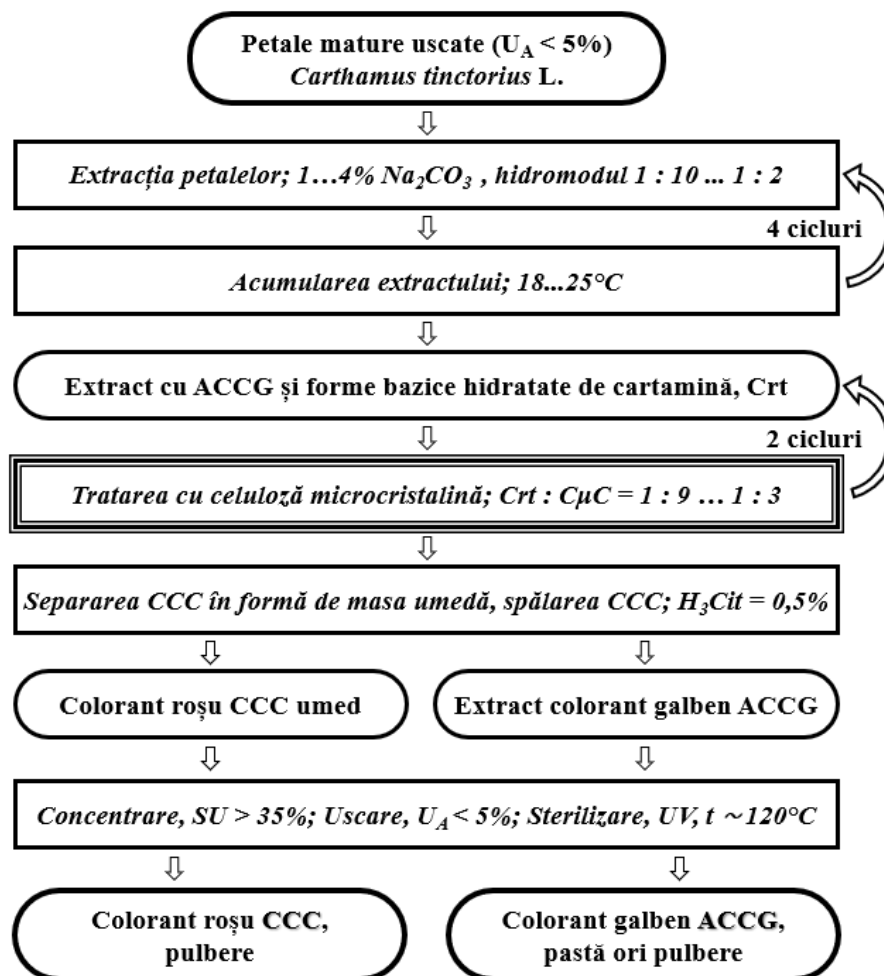


Figura 4.15. Schema tehnologică de producere a coloranților chinocalconici

„Sunt considerați coloranți... preparatele obținute din... materii prime comestibile naturale, obținute prin extracția fizică și / sau chimică... a pigmentilor în raport cu conținutul nutritiv sau aromatic” (8). Coloranții chinocalconici (figura 4.16) se supun întocmai acestei definiții.

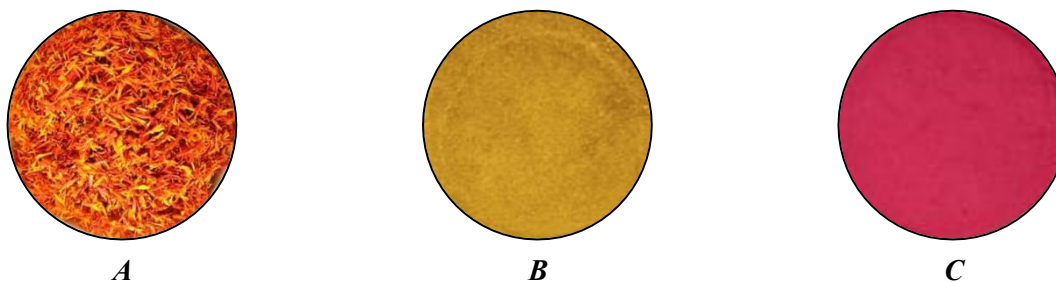


Figura 4.16. Coloranți din petale de șofrănel (*Carthamus tinctorius L.*): A – petale mature galbene-roșii; B – ACCG { HSYA; AHSYB; Pcr}; C – complex cartamină-celuloză, CCC.

Studiile recente demonstrează că consumatorii anticipează calitățile produselor alimentare după culorile acestora. Cele mai pozitive așteptări au fost înregistrate pentru culorile tipice, familiare pentru produsul în cauză (328). Saturația mai scăzută a culorii tipice se asociază cu prospețimea joasă, iar saturația mai mare se evaluează ca și culoare artificială. Produsele în culori atipice se evaluează ca fiind mai puțin atractive și mai puțin sănătoase decât produsele colorate în mod tipic. Aceste rezultate arată că nuanța și saturația culorii are un impact substanțial asupra consumatorilor, formând așteptările lor privind proprietățile senzoriale și funcționale, inclusiv prospețimea și valoarea nutritivă.

Deoarece pentru ochiul omului culoarea este determinată de fenomenul de absorbție / reflecție a undelor electromagnetice în domeniul 380...780 nm, iar energia undelor crește odată cu **scăderea** lunginii de undă, în mod firesc, se observă tendința de scădere a stabilității CBA colorați cu creșterea maximumului de absorbție (figura 4.17).

| Galben                    | Portocaliu              | Roșu                    | Verde, albastru          |
|---------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 380...425 nm              | 425...475 nm            | 500...600 nm            | 600...750 nm             |
| <i>Calconi (ACCG) (8)</i> | <i>Betaxantină (8+)</i> | <i>Antocieni (8+)</i>   | <i>Indigo (11+)</i>      |
| <i>Quercitină (8)</i>     | <i>Riboflavin (9)</i>   | <i>Betacianina (8+)</i> | <i>Clorofilă a (12+)</i> |
| <i>Rutin (8)</i>          | <i>Carotene (11)</i>    | <i>Cartamină (17)</i>   | <i>Clorofilă b (12+)</i> |

Numărului de legături duble =>  $\lambda_{max}$  => instabilitatea (foto)chimică => activitatea biologică

**Figura 4.17. Legătura cauzală structură => culoare => activitatea biologică a coloranților**

Culoarea maro este de obicei o suprapunere a mai multor culori, iar coloranții naturali corespunzători sunt sisteme cu o compoziție complexă (329). Din spectrul culorilor utilizate în industria alimentară, două culori prezintă dificultăți tehnologice semnificative: alb și negru. Culoarea albă, percepută ca un amestec optic al tuturor lungimilor de undă reflectate, și culoarea neagră, definită ca absorbția completă a luminii vizibile, implică necesitatea utilizării unor concentrații ridicate de pigmenți sau agenți de opacifiere pentru a obține efectul vizual dorit (330). Pe lângă doze mari, coloranții cărbune și dioxid de titan se suspectează, respectiv, la prezența hidrocarburilor policiclice și acțiunea potențială cancerigenă (331).

Colorarea produselor alimentare de origine vegetală cu coloranți obținuți din alte produse vegetale (332) este ceva paradoxal sau irațional din considerente economice și termodinamice. Dar astfel de abordare irațională este deseori o singura cale, care permite obținerea unei colorări naturale inofensive, redarea alimentului proprietăților senzoriale dorite și transmiterea unor mesaje consumatorilor. Astfel, culorile roșu și galben provoacă senzație de foame, contribuind la influențarea deciziilor consumatorilor referitor la procurarea sau consumul de alimente (333).

Coloranții naturali pot fi adăugați în alimente conform principiului *quantum satis*, adică, în cantități necesare, nefiind restricționați în mod legislativ. Totuși, utilizarea lor în cantități exagerate nu este rentabilă, evocând necesitatea determinării dozei optime.

Puterea de colorare poate fi exprimată în cantitatea minimă de colorant, care formează culoarea necesară, și se măsoară în grame de colorant per un litru de produs lichid ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), sau în grame de colorant per un kg de produs solid ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), la temperatura de  $20^\circ\text{C}$ .

Cantitatea optimă de colorant se determină reieșind din absorbanta soluțiilor, colorate suficient, manifestând absorbanta 0,20...2,00 la  $l = 1 \text{ cm}$ . Soluțiile cu  $A < 0,20$  au nuanțe neclare. La  $A > 2,00$ , culoarea devine foarte intensă, nenaturală. La un anumit moment, abundența de colorant devine toxică pentru consumator, deoarece alimentele „subcolorate” și „supracolorate” provoacă la consumatori un efect de scepticism privind siguranța și calitatea acestora (334).

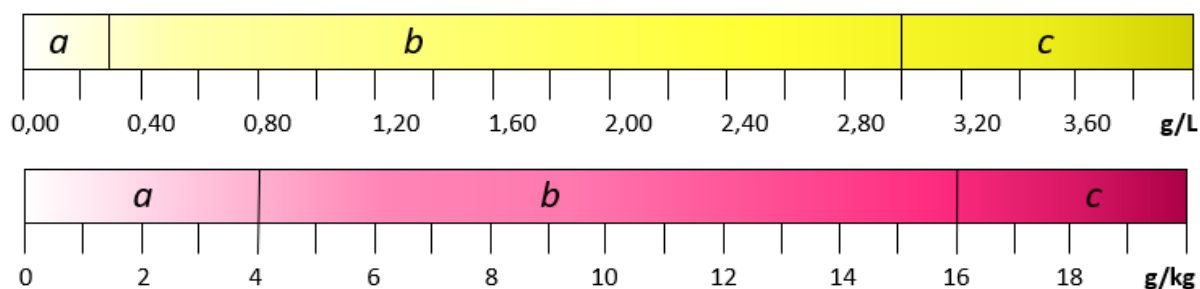
Modelarea teoretică a cantității necesare de ACCG este posibilă prin utilizarea directă a legii Lambert-Beer, ACCG fiind bine solubil în apă. S-a presupus că perceperea culorii sistemelor semiopace se formează în stratul cu grosimea de  $0,05 \text{ cm}$ .

Extincția colorantului galben ACCG, calculată referitor la precartamină (Pcrt), constituie  $16500 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  la pH egal cu 5,00. Masa programată a colorantului ACCG per 1 kilogram de produs se va calcula prin ecuația (4.5):

$$m_{\text{ACCG}} = \frac{A}{\varepsilon \cdot l} \cdot M_{\text{Pcrt}} = \frac{A \cdot 957 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}}{0,05 \text{ cm} \cdot 16500 \text{ L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}} = 1,16 \cdot A \quad (4.5)$$

Conform ecuației (4.5), masa colorantului galben, care asigură densitățile optice,  $A \in (0,20; 2,00)$ , se estimează la 0,25 până la  $3,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  (figura 4.18, **b**).

În baza extincției cartaminei,  $3800 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  și a părții de masă a cartaminei în compoziția complexului cartamină-celuloză, 10...25%, fiind utilizată ecuația (4.5), tregem concluzia că pentru colorarea cu roșu, masa complexului cartamină-celuloză trebuie să fie cu circa 5...10 ori mai mare decât în cazul ACCG, fiind de  $4...16 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  produs solid (figura 4.18).



**Figura 4.18. Scara-etalon pentru dozele coloranților galben și roșu din șofrănel:**  
***a*** – în produsul abia colorat; ***b*** – în produsul suficient de colorat cu cantitățile optime ale coloranților;  
***c*** – în produsul supracolorat cu cantitățile iraționale ale coloranților.

Ecuția (4.5) și figura 4.18 sunt modele, care servesc la estimarea cantității de colorant necesare pentru corecția culorii produsului. Culoarea sistemelor reale depinde de textura alimentului, efectele de copigmentare, parametrii tehnologiei de fabricare. În funcție de stabilitatea colorantului natural față de factorii fizico-chimici de producere, administrarea colorantului poate fi efectuată preferențial în procesul de formare a compoziției alimentului sau nemijlocit înainte de ambalarea produsului. Culoarea iaurtului, caracteristică fructelor omonime, determină decizia consumatorilor de a-l procura, iar în raport cu alți indici senzoriali este martorul stării și calității.

Mostrele de iaurt au fost fabricate prin metoda brevetată (335), introducând colorantul ACCG în etapa finală de fabricare. Culorile mostrelor de iaurt au fost evaluate prin tehnica CIELab (instrumentul „Konika-Minolta”), folosind ca reper iaurtul fără colorantul adăugat. Au fost determinate valorile coordonatelor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  care sunt prezentate în tabelul 4.9.

**Tabelul 4.9. Parametrii CIELab și fizico-chimici ai mostrelor de iaurt cu ACCG**

| <b>Concentrația ACCG</b>                            | <b>0%</b>    | <b>0,1%</b>  | <b>0,2%</b>  | <b>0,3%</b>  | <b>0,4%</b>  |
|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>Luminozitate (<math>L^*</math>)</b>              | 75,1         | 75,3         | 74,8         | 74,4         | 74,6         |
| <b>Coordonata „Roșu-Verde” (<math>a^*</math>)</b>   | -2,9         | -4,2         | -4,7         | -5,2         | -5,2         |
| <b>Coordonata „Galben-Cian” (<math>b^*</math>)</b>  | 9,1          | 13,3         | 15,5         | 18,0         | 18,4         |
| <b>Diferența de culoare (<math>\Delta E</math>)</b> | ---          | 4,4          | 6,7          | 9,2          | 9,6          |
| <b>Substanța uscată, %</b>                          | 11,7 ± 0,1   | 11,8 ± 0,1   | 11,9 ± 0,2   | 12,0 ± 0,2   | 12,1 ± 0,2   |
| <b>Grăsimi, %</b>                                   | 3,00 ± 0,11  | 2,97 ± 0,10  | 2,96 ± 0,09  | 2,96 ± 0,09  | 2,96 ± 0,09  |
| <b>pH</b>   | 4,40 ± 0,03  | 4,41 ± 0,03  | 4,46 ± 0,03  | 4,48 ± 0,03  | 4,44 ± 0,03  |
| <b>Viscozitatea, Pa · s</b>                         | 3,31 ± 0,17  | 3,90 ± 0,20  | 3,84 ± 0,19  | 3,93 ± 0,20  | 3,97 ± 0,18  |
| <b>Indice de sinereză, %</b>                        | 70,86 ± 0,71 | 66,31 ± 0,67 | 62,84 ± 0,63 | 60,78 ± 0,61 | 61,65 ± 0,62 |
| <b>Scoruri senzoriale</b>                           | 4,8 ± 0,2    | 4,2 ± 0,4    | 4,4 ± 0,3    | 4,6 ± 0,2    | 4,9 ± 0,1    |

Din datele prezentate în tabelul 4.9 rezultă că conținutul rezonabil de colorant galben este de 0,3...0,4%, respectiv, 3...4 g colorant per 1 kg iaurt. Depășirea acestei cantități nu duce la variații substanțiale ale parametrilor cromatici  $a^*$ ,  $b^*$  și  $\Delta E$ . La creșterea conținutului ACCG de la 0,3 la 0,4%, parametrul  $\Delta E$  crește doar cu 0,4 unități, în timp ce  $\Delta E$  în diapazonul 0...1 nu este perceput cu ochiul liber fără instrumente cromometrice digitale (336). Datele obținute corelează bine cu modelul estimativ obținut în baza extincțiilor și reprezentat în forma unei scări (figura 4.18). Valorile parametrilor fizico-chimici evidențiază o creștere ușoară a conținutului de substanțe uscate și a vâscozității, concomitent cu reducerea indicelui de sinereză, în timp ce conținutul de grăsimi și pH s-au menținut relativ constante. Reducerea indicelui de sinereză (ce reprezintă un efect pozitiv pentru calitatea iaurtului) poate fi atribuită capacității coloranților de a lega moleculele de apă în matricea produsului. Mostrele de iaurt cu un conținut ACCG de 3 și 4 g·kg<sup>-1</sup> iaurt au fost monitorizate în perioada de depozitare, inclusiv măsurând parametrii cromatici (236). În calitate de probă-martor s-a utilizat proba de iaurt cu adaos de Tartrazina, E-102 (tabelul 4.10).

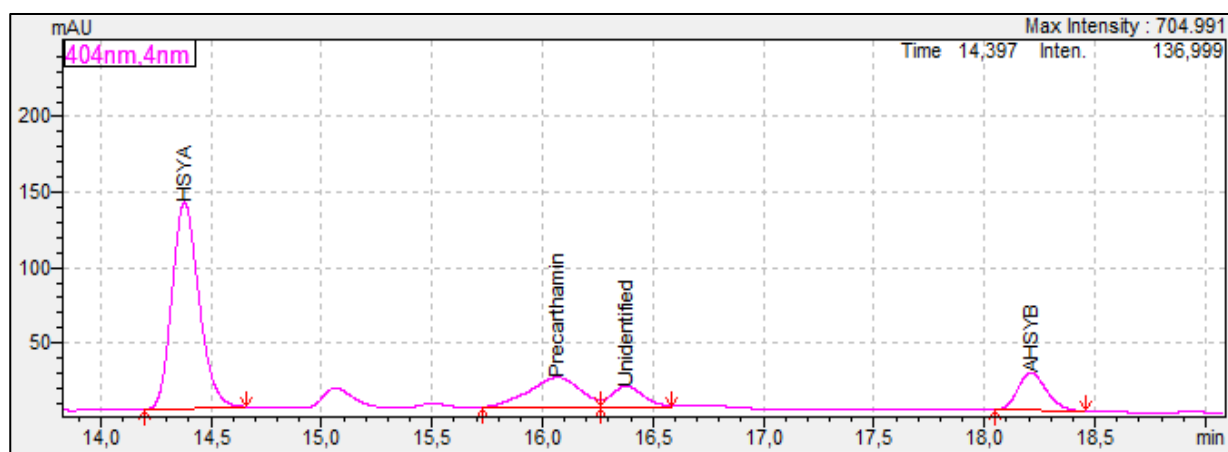
**Tabelul 4.10. Valorile parametrilor cromatici CIELab ai iaurturilor cu coloranți**

| Colorant                     | 0,3% ACCG |           | 0,4% ACCG |           | 0,1% Tartrazină |           |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------------|-----------|
| <b>Timp depozitare, zile</b> | <b>0</b>  | <b>28</b> | <b>0</b>  | <b>28</b> | <b>0</b>        | <b>28</b> |
| <b>Luminozitate, L*</b>      | 74,4      | 74,6      | 74,6      | 74,0      | 75,2            | 75,5      |
| <b>Roșu-Verde, a*</b>        | -5,2      | -5,1      | -5,2      | -5,3      | -5,8            | -5,9      |
| <b>Galben-Cian, b*</b>       | 18,0      | 18,0      | 18,4      | 18,9      | 18,3            | 18,6      |

Valorile parametrilor cromatici, prezentate în tabelul 5.9 demonstrează indubitabil stabilitatea cromatică a iaurtului cu colorantul ACCG al sistemului alimentar integral în decurs de 4 săptămâni. Culoarea iaurtului atât apreciată vizual, cât și determinată prin metoda CIELab, este practic constantă în toată perioada monitorizării. E de menționat că adăugarea colorantului ACCG în proporții de 0,3 și 0,4% de asemenea a conferit probelor de iaurt, în afară de nuanțe galbene plăcute, și o aromă discretă, specifică inflorescențelor de șofrănel.

Analiză prin metoda HPLC a sistemelor alimentare polifazice necesită pregătirea specială a mostrelor pentru injectare. Avantajul iaurtului ca obiect de studiu constă în ușurința relativă de a obține faza apoasă supusă analizei. La centrifugare la 6000 rotații per minut timp de 15 minute iaurtul se stratifică în trei faze: solidă proteică, apoasă și lipidică. Faza colorată apoasă este prelevată, se trece prin filtrul PTFE cu diametrul porilor 0,45 sau 0,22 micrometri și se injectează.

Vizualizarea rezultatelor identificării chinocalconilor în iaurt după 7 zile de depozitare se observă pe cromatograma înregistrată la  $\lambda = 404$  nm, „medie” pentru calconii din ACCG.

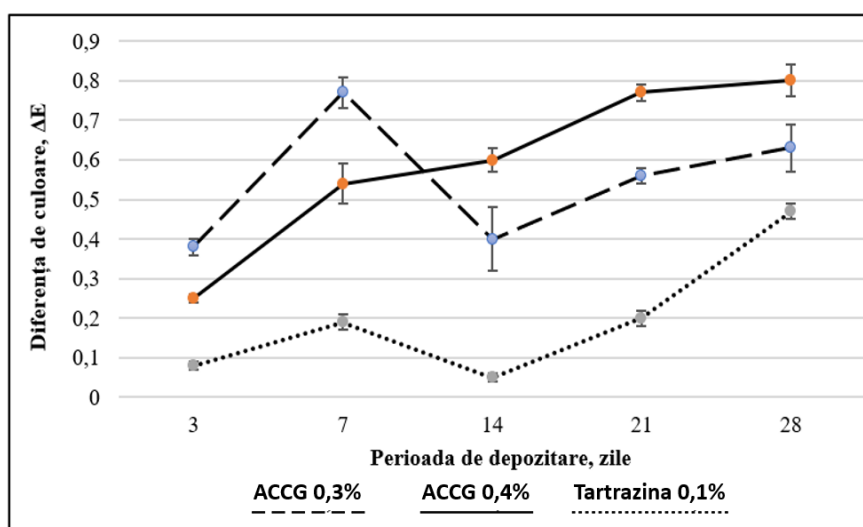
**Figura 4.19. Chinocalconii identificați în iaurt cu ACCG după 7 zile de depozitare**

Datele obținute prin prelucrarea valorilor ariilor picurilor calconilor (hidroxisafflor galben A, HSYA, anhidrosafflor galben B, AHSYB, precartamină, Pct) demonstrează un raport constant al calconilor de-a lungul perioadei de depozitare.

**Tabelul 4.11. Chinocalconii galbeni detectați în iaurt cu adaos de 0,4% ACCG**

| Chinocalcon   | $t_R$ , minute | $\lambda$ , nm | Specie, $mg \cdot (100g)^{-1}$ |
|---------------|----------------|----------------|--------------------------------|
| HSYA          | $14,4 \pm 0,1$ | 402            | $248 \pm 9$                    |
| Pcrt          | $16,1 \pm 0,1$ | 407            | $72 \pm 3$                     |
| Neidentificat | $16,4 \pm 0,1$ | 406            | $32 \pm 2$                     |
| AHSYB         | $18,2 \pm 0,1$ | 409            | $48 \pm 2$                     |

Parametrul cromatic „diferența de culoare”,  $\Delta E$ , caracterizează direct lungimea (dar nu și direcția) vectorului de schimbare a culorii. Dacă în compoziția iaurtului ar avea loc degradarea chimică a chinocalconilor de culoare galbenă, acest lucru ar putea provoca schimbări vizibile ale parametrilor cromatici, în special luminozității, care ar deveni esențiale în perioada de depozitare a iaurtului. Diferențele de culoare experimentale,  $\Delta E$ , obținute în decurs de 4 săptămâni de depozitare, sunt reprezentate în figura 4.20. Diagramele indică o creștere a diferenței de culoare ( $\Delta E$ ) până în ziua a 7-a, urmată de un minim local în ziua a 14-a, explicată prin atingerea unui echilibru între formele coloranților și fixarea lor cu proteinele și polizaharidele din matricea iaurtului. După 14 zile, procesele oxidative predomină, crescând și  $\Delta E$  (337), (338).



**Figura 4.20. Dinamica parametrului  $\Delta E$  a iaurtului cu ACCG și cu tartrazină**

Dinamica valorilor parametrului cromatic  $\Delta E$  demonstrează că în timpul depozitării iaurtului variația maximală a culorii nu depășește 0,8 unități. Este un rezultat foarte bun din considerentele că variația  $\Delta E < 3,0$  nu se observă cu ochiul liber. Cu alte cuvinte, colorantul ACCG asigură funcția sa de bază – culoarea produsului – pe toată perioada de depozitare.

Analiza stabilității înalte a colorantului chinocalconic în structura complexă lipo-proteică a iaurtului demonstrează că culorile naturale **nu întotdeauna** au tendința să se decoloreze *a priori* în perioadă de depozitare, constatată pentru majoritatea coloranților naturali (332). Din aceste considerente, colorantul ACCG s-a manifestat ca un substituent excelent al tartrazinei.

## Concluzii la Capitolul 4

1. Au fost elaborate tehnologii de obținere a biopolimerilor alginat de sodiu (de potasiu, de hidrogen) și arabinoxilan, bazate pe utilizarea proprietăților fizico-chimice ale acestora. Avantajul tehnologiei elaborate de extracție a algițiilor constă în obținerea polimerului cu masă moleculară înaltă. Arabinoxilanul se obține din același lot de semințe de *Linum Usitatissimum L.*, din care se extrage ulei bogat în acizi grași polinesaturați.
2. S-a demonstrat că biopolimerii posedă proprietăți funcționale proprii, care se datorează structurii macromoleculare și grupelor funcționale în cadrul acestor structuri. Acidul hialuronic, inulina, algițiilor și alcoolul polivinilic influențează semnificativ stabilitatea coloranților naturali roșii din diferite clase, acționând fie ca agenți de protecție, fie ca factori destabilizatori, în funcție de structura colorantului roșu și de natura biopolimerului.
3. Acidul hialuronic are efect destabilizator asupra antocienilor, în special asupra derivaților cianidinei, fapt care se manifestă prin reducerea absorbției la 500...560 nm și accelerarea transformărilor degradative ale antocienilor în soluțiile apoase. Aceste efecte limitează utilizarea acidului hialuronic în formulele alimentare, care conțin antocieni. În contrast, betanina roșie – pigment din clasa betalainelor – este stabilizată în prezența acidului hialuronic și a alcoolului polivinilic, în special la concentrații de acid hialuronic mai mari de 0,03%, ceea ce confirmă potențialul acestor biopolimeri privind aplicațiile sinergice.
4. Cartamina, chinocalconul extras din șofrănel, fiind extrem de instabil în faza apoasă, formează un complex stabil și comestibil cu celuloza microcristalină. Complexarea cartaminei cu celuloză protejează moleculele chinocalconului de acțiunea factorilor de mediu (temperatură, pH) prin formarea legăturii de hidrogen, limitarea rotației interne și scăderea activității apei. Stabilitatea complexului cartamină–celuloză este influențată de pH și temperatură, fiind maximă în intervalul pH 3,9–5,0 și la temperaturi sub 60°C, ceea ce recomandă acest complex pentru utilizare în produsele alimentare pasteurizate sau semiumede.
5. Studiile spectroscopice (UV-Vis și FTIR) și analiza RGB confirmă diferențele semnificative dintre comportamentul coloranților în soluția apoasă și în matricea polimerică, subliniind importanța fazei solide și a compoziției matricei pentru prolongarea funcționalității coloranților naturali în alimente. Combinând procesele de extracție, complexare și stabilizare, a fost elaborată tehnologia de obținere a coloranților chinocalconici ACCG și CCC de înaltă stabilitate, utilizabili în aplicațiile alimentare, îndeosebi la pH < 5, cum ar fi iaurturile cu fructe pentru care stabilitatea cromatică și compatibilitatea cu matricea lactată sunt esențiale.

*„O idee nu este nimic altceva, decât conceptul despre o perfecțiune ce nu se găsește încă în experiență”*

Immanuel Kant

## **Capitolul 5. PROLONGAREA FUNCȚIONALITĂȚII COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI PRIN MICROÎNCAPSULARE**

Interacțiunile proteinelor cu polizaharidele și cu polimerii din alte clase conduc la apariția compozițiilor, care de regulă nu sunt stoechiometrice. Studiarea directă și descrierea non-contradictorie a acestor compoziții este problematică datorită ireproductibilității proprietăților acestor compoziții și, deseori, imposibilității obținerii lor în stare solidă. Pereții mono- și bifazici ai microcapsulelor, obținuți prin procedee tehnice, numite tradițional „coacervare simplă” și „coacervare complexă”, de asemenea, fac parte din astfel de compoziții. Conform definiției clasice, „coacervatul” este un concentrat de polimer sau un agent activ de suprafață (AAS), care se separă spontan dintr-o fază lichidă, în rezultatul procesului de separare fazică lichid-lichid („Liquid-Liquid Phase Separation”, LLPS), numită „coacervare” (339).

Totodată, termenul de „coacervare”, folosit foarte frecvent în terminologia microcapsulării și asociat cu LLPS, nu descrie în mod exhaustiv totalitatea fenomenelor și proceselor fizico-chimice, care au loc în timpul construirii pereților microcapsulelor.

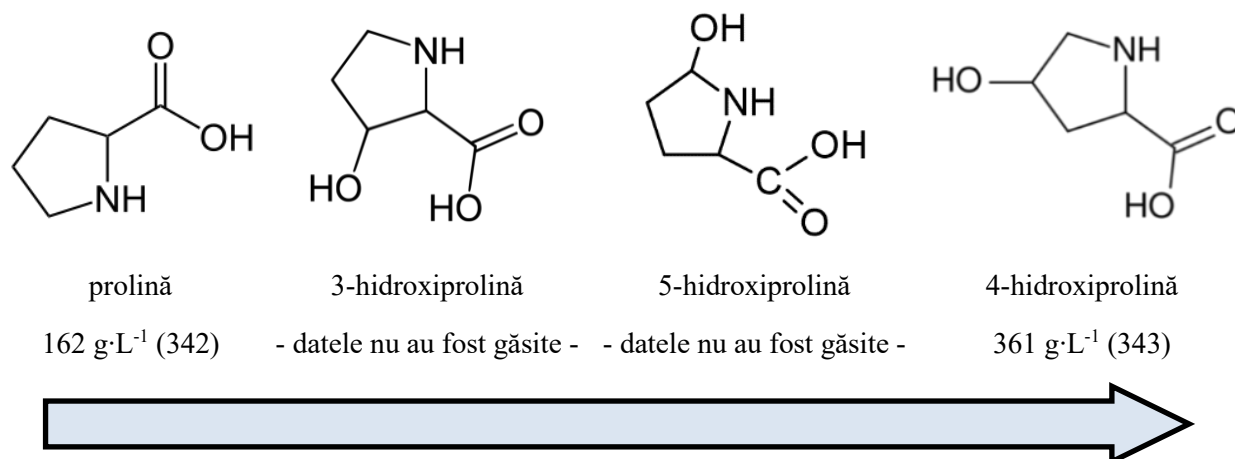
### **5.1. Modelarea mecanismului adsorbției gelatinei pe interfața U / A**

Proprietățile hidrofile și hidrofobe ale proteinelor influențează fenomenele de autoasamblare a biomoleculilor atât *in vivo*, cât și *in vitro* și *in situ* (340). Gelatina, hidrolizatul colagenului, ocupă un loc aparte între biopolimeri, iar unele particularități de compoziție și structurale o deosebesc considerabil de alte proteine. Gelatina este un polimer liniar cu masa moleculară de ordinul 50...150 kDa, care se formează la hidroliza spiralei triple a colagenului. Este una dintre proteinele solubile în apă, care are proprietatea de a forma geluri. Această proprietate se datorează în mare măsură memoriei moleculare a gelatinei și capacității ei de „a-și restabili” parțial structura spiralată a colagenului prin intermediul legăturilor de hidrogen.

Compoziția cantitativă a gelatinei în aminoacizii din grupa izomerilor prolinei diferă semnificativ de compoziția altor proteine. Astfel, în proteinele miofibrilare, adică celor care formează mușchii, predomină prolina hidrofobă (1,3...5,7 %), în timp ce hidroxiprolinile aproape lipsesc. Dimpotrivă, gelatina conține cantități semnificative de hidroxiprolină (11). Cantitatea

hidroxiprolinelor în gelatina alimentară, care se obține prin hidroliza acidă sau bazică a deșeurilor din piele de mamifere și de pești, poate să ajungă până la 14...15 % (11), (341).

Datorită atașării grupei – OH la inelul tetrahidropirolic (pirimidinic), hidroxiprolinenele sunt aminoacizi mai hidrofilii decât prolina, fapt care parțial se confirmă prin solubilitatea dublă a 4-hidroxiprolinei față de prolina (figura 5.1).



**Figura 5.1. Solubilitatea în apă și hidrofilitatea prolinei și hidroxiderivaților ei**

Deosebirile structurale ale gelatinei vor influența direct proprietățile tensioactive ale soluțiilor ei și procesele tehnologice, care au loc cu participarea acestui biopolimer în timpul formării microcapsulelor. Prezintă interes teoretic și practic elucidarea naturii proceselor fizico-chimice, care conduc la fixarea macromoleculelor de gelatină la interfața picăturilor de ulei în emulsiile U/A – precursorii microcapsulelor. Caracterizarea hidrofobității sistemelor moleculare reale, la scara zecilor și sutelor de nanometri, rămâne o provocare pentru cercetători datorită dependenței sale netriviiale de structura chimică și topografia suprafețelor biomoleculare (340), (344). Hidrofobitatea proteinelor influențează fenomenele importante de organizare structurală a proteinelor în soluții, în rezultatul cărora grupele hidrofobe și hidrofile formează aglomerații (344), respectând regula „*sicut attrahit sicut*”, „asemănătorul atrage asemănătorul”). La aprecierea hidrofobității gelatinei de obicei nu se ia în considerație faptul că fiecare reziduu de aminoacid din compoziția polipeptidelor și proteinelor conține gruparea polară  $-\text{NH}-\text{CH}^*-\text{CO}-$ : (scurtă, cu  $n(\text{C}) < 4$ , și cu grupa  $>\text{C}=\text{O}$  asimetrică). Lanțul poliamidic al macromoleculii de gelatină  $(-\text{NH}-\text{CH}^*-\text{CO}-)_n$  este puternic hidrofil, iar hidrofobitatea locală a macromoleculii de gelatină se bazează în exclusivitate pe proprietățile radicalilor apolari laterali. Polaritatea exprimată a scheletului macromoleculii de proteină  $(-\text{NH}-\text{CH}^*-\text{CO}-)_n$  denotă că doar numărul resturilor de aminoacizi cu grupări hidrofobe nu reprezintă un indicator corect al hidrofobității macromoleculii de polipeptidă sau proteină.

Se propune modelul care estimează hidrofobicitatea sumară,  $HFob_{\Sigma}$ , exprimând numeric afinitatea proteinei respective pentru faza nepolară (ulei). Modelul este elaborat în baza relațiilor:

- Pentru majoritatea aminoacizilor, în afară de prolină și hidroxiprolin izomere:

$$M(R) = M(AAR) - M(NH_2 - \dot{C}H - COOH) = M(AAR) - 74 \quad (5.1)$$

- Numai pentru prolină și hidroxiprolin izomere:

$$M(R) = M(AAR) - M(\dot{N}H - \dot{C}H - COOH) = M(AAR) - 73 \quad (5.2)$$

$$\omega(R) = \frac{M(R) \cdot \omega(AAR)}{M(AAR-Aq)} \quad (5.3)$$

$$HPhob_{\Sigma} = \sum \omega(R)_{HPhob} \quad (5.4)$$

în care:

- ✓  $M(R)$  – masa molară a radicalului lateral;
- ✓  $M(AAR)$  – masa molară a aminoacidului;
- ✓  $M(AAR-Aq)$  – masa molară a aminoacidului deshidratat, adică a restului de aminoacid, care intră în compoziția polipeptidei sau proteinei;
- ✓  $\omega(R)$  – fracția de masă a radicalului lateral în compoziția polipeptidei sau proteinei;
- ✓  $\omega(R)_{HFob}$  – fracția de masă a radicalilor laterali hidrofobi;
- ✓  $\omega(AAR)$  – fracția de masă a aminoacidului în proteină, conform datelor din literatură;
- ✓  $HPhob_{\Sigma}$  – hidrofobicitatea sumară;  $HPhil_{\Sigma}$ , hidrofilitatea sumară se va **aprecia** similar.

Rezultatele calculelor hidrofobității sunt incluse în tabelul 5.1.

**Tabelul 5.1. Compoziția gelatinei și conținutul recalculat de grupări laterale hidrofile și hidrofobe**

| Hidrofile                   | Cod     | $\omega(AAR)$ | $M(AAR)$ | $M(AAR-Aq)$ | $M(R)$                             | $\omega(R)$ |
|-----------------------------|---------|---------------|----------|-------------|------------------------------------|-------------|
| 1                           | 2       | 3 (11)        | 4        | 5           | 6                                  | 7           |
| Arginină                    | Arg, R  | 10,0          | 174      | 156         | 100                                | 6,4         |
| Acid asparagic              | Asp, D  | 6,7           | 133      | 115         | 59                                 | 3,4         |
| Hidroxilizină               | Hyl, hK | 1,3           | 162      | 144         | 88                                 | 0,8         |
| <b>Hidroxiprolină</b>       | Hyp, hP | 14,7          | 131      | 113         | 58*                                | 7,5         |
| Histidină                   | His, H  | 0,7           | 155      | 137         | 81                                 | 0,4         |
| Acid glutamic               | Glu, E  | 11,8          | 147      | 129         | 73                                 | 6,7         |
| Lizină                      | Lys, K  | 4,0           | 146      | 128         | 72                                 | 2,3         |
| Serină                      | Ser, S  | 3,1           | 105      | 87          | 31                                 | 1,1         |
| Tirozină                    | Tyr, Y  | 0,4           | 181      | 163         | 107                                | 0,3         |
| Treonină                    | Thr, T  | 2,2           | 119      | 101         | 45                                 | 1,0         |
| <b>Acizilor hidrofilii:</b> |         | <b>54</b>     |          |             | <b><math>HPhil_{\Sigma}</math></b> | <b>29.9</b> |

**Tabelul 5.1 (continuare)**

| <b>Hidrofobe</b>           | <b>Cod</b> | $\omega(\text{AAR})$ | $M(\text{AAR})$                             | $M(\text{AAR-Aq})$ | $M(\text{R})$                        | $\omega(\text{R})$ |
|----------------------------|------------|----------------------|---|--------------------|--------------------------------------|--------------------|
| Alanină                    | Ala, A     | 9,0                  | 89  | 71                 | 15                                   | 1,9                |
| Valină                     | Val, V     | 2,5                  | 117   | 99                 | 43                                   | 1,1                |
| Glicină                    | Gly, G     | 26,0                 | 75  | 57                 | 1                                    | 0,5                |
| Izoleucină                 | Ile, I     | 1,0                  | 131   | 113                | 57                                   | 0,5                |
| Leucină                    | Leu, L     | 5,3                  | 131   | 113                | 57                                   | 2,7                |
| Metionină                  | Met, M     | 0,6                  | 149   | 131                | 75                                   | 0,3                |
| <b>Prolină</b>             | Pro, P     | 0,0                  | 115   | 97                 | 42                                   | 0,0                |
| Triptofan                  | Trp, W     | 0,0                  | 204   | 186                | 130                                  | 0,0                |
| Fenilalanină               | Phe, F     | 2,5                  | 165   | 147                | 91                                   | 1,5                |
| Cisteină                   | Cys, C     | 0,0                  | 121   | 103                | 47                                   | 0,0                |
| <b>Acizilor hidrofobi:</b> |            | <b>46</b>            |   |                    | <b>H-Phob<math>\Sigma</math>, %:</b> | <b>8,5</b>         |
| <b>Total acizi:</b>        |            | <b>100</b>           | <b>Total ponderea grupelor laterale, %:</b> |                    | <b>38,4</b>                          |                    |

**Notă:** Datele din coloanele 4...7 sunt calculate de autor, utilizând ecuațiile (5.1)...(5.4).

Hidrofobicitatea totală a gelatinei, egală cu 47.0%, care ar fi calculată ca suma simplă a aminoacizilor, considerați hidrofobi, este cu mult mai mică, fiind calculată după modelul propus. Dacă se iau în cont doar ponderile radicalilor laterali hidrofobi,  $H\text{Phob}_{\Sigma} = 8,5\%$ .

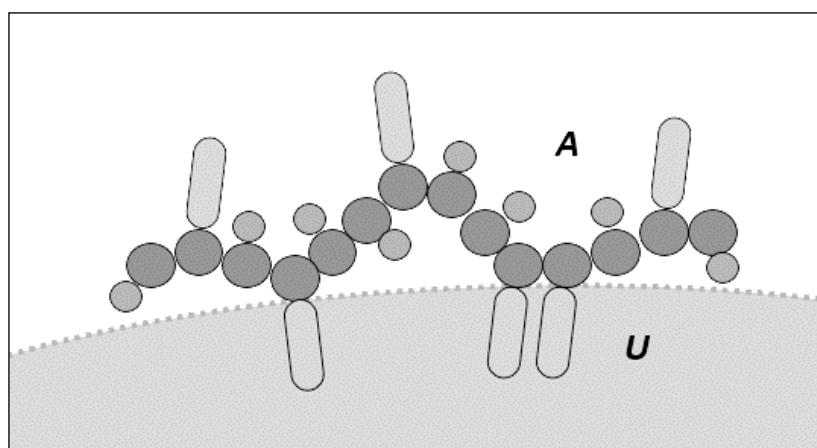
Este remarcabil faptul că anume absența prolinei hidrofobe și prezența hidroxiprolinelor hidrofile, reduce aproape dublu hidrofobicitatea reală,  $H\text{Phob}_{\Sigma}$  a gelatinei în comparație cu alte proteine. Această precizare introduce unele corectări importante în descrierea fenomenelor superficiale, care au loc în timpul formării pereților microcapsulelor prin mecanismul aproape unanim denumit ca fiind „coacervare simplă”.

Coacervarea, în sensul strict al cuvântului, reprezintă formarea cheagurilor sau „picăturilor” din biopolimeri în stare condensată. De aceea, termenul „coacervare simplă”, utilizat pe scară largă în lucrările dedicate microîncapsulării, presupune formarea de aglomerări („picături”) de macromolecule ale biopolimerilor la interfața U/A. Totodată, pentru gelatină, aranjarea structurală a macromoleculelor în ghemuri este tipică numai în vecinătatea punctului izoelectric, când un număr aproape egal de sarcini pozitive și negative contribuie la realizarea conformației compacte a moleculei (289). Măsurările potențialului electrocinetic  $\zeta$  și diagrama sistemului GelAlg la concentrații foarte mici de alginat demonstrează că punctul izoelectric **este nu este** potrivit pentru formarea pereților stabili ai microcapsulelor (99). Construirea pereților MC are loc dacă se respectă ecuația (5.5):

$$\text{IEP} - \text{pH} \approx 1,0 \dots 1,5. \quad (5.5)$$

În aceste condiții, molecula de gelatină reprezintă un zwitter-ion cu predominarea sarcinii pozitive, notat prin  $\text{Gel}^{+>}$ . La valorile pH, care diferă mai mult de valoarea punctului izoelectric, molecula de gelatină se încarcă cu mult mai puternic și capacitatea de a forma un ghem datorită apariției centrelor intramoleculare de repulsie electrostatică (345). Totodată, macromolecula nu-și pierde complet flexibilitatea, cum ar fi fost în cazul dacă ar fi transformată într-un polication sau invers, într-un polianion pur, grupele funcționale ale căruia au sarcini electrice doar de același semn (346). Prin urmare, acumularea de macromolecule de gelatină la interfața ulei/apă de fapt nu reprezintă coacervarea clasică, adică, formarea „picăturilor” de fază condensată în care macromoleculele ar semăna cu ghemul.

Reieșind din „*sicut attrahit sicut*”, formarea unui strat de gelatină pe suprafața fazei lipidice va fi determinată de adsorbția anume a radicalilor laterali hidrofobi, i.e., lipofili (figura 5.2) și este posibilă când moleculele gelatinei se află în conformații non-rigide, ce corespund stării electrice de zwitter-ion cu sarcină globală moderată - nici „0”, nici foarte mare.



- – gruparea polară  $-\text{NH}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{COO}-$  sau  $-\dot{\text{N}}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{COO}-$  (la derivații prolinei)
- – gruparea laterală hidrofilă
- ▭ – gruparea laterală hidrofobă

**Figura 5.2. Schema de adsorbție a macromoleculii de gelatină pe suprafața picăturii de ulei**

La o concentrație suficientă de gelatină în faza apoasă, un strat subțire de macromolecule adsorbite (și nu **coacervate**!) și moderat încărcate va acoperi întreaga suprafață a picăturii de ulei, creând o barieră mecanică și electrostatică împotriva coalescenței.

Figura 5.2 de asemenea ilustrează că din numărul destul de mic de grupări hidrofobe, care formează doar cca 8,5% din masa totală a gelatinei, nu toate participă la actul de adsorbție. Ca rezultat, la interfața U/A se formează în realitate nu un strat de picături de coacervat, dar un strat fin, care, în așa stare firavă, poate fi numit „peretele microcapsulei” doar cu o mare rezervă și care necesită a fi întărit și fixat pe suprafața picăturii fazei lipidice în mod energetic convenabil.

## 5.2. Elaborarea și interpretarea diagramei de stare a sistemului gelatină–sarea acidului poliuronic

Au fost măsurate vâscozitățile soluțiilor de alginat de masă molară înaltă, obținut conform (309), și de gelatină comercială de calitate, la diferite valori ale pH. Au fost reprezentate dependențele grafice ale vâscozității specifice de fracția de masă a polimerului (figura 5.3).

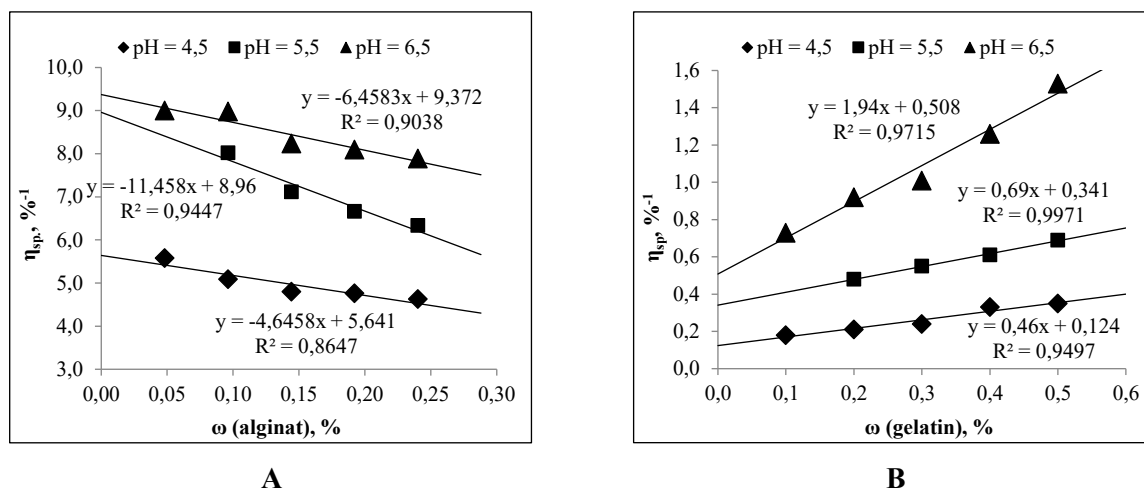


Figura 5.3. Funcții Mark-Hauwink-Sakurada,  $\eta_{sp} = f(\omega_{polimer})$ : A – alginat (309); B – gelatina „B”.

Extrapolările funcțiilor  $\eta_{sp} = f(\omega_{polimer})$  la  $\omega_{polimer} = 0$  sau la diluție infinită dau valoarea vâscozităților caracteristice,  $[\eta]$ , utilizată în metoda Mark-Houwink-Sakurada, ecuația (2.1).

Pentru alginatul nativ, obținut din talul de *Saccharina japonica*,  $[\eta]$  a alcătuit  $9,37\%^{-1}$ , respectiv,  $937 \text{ mL/g}$ , și este potrivit cu valorile  $[\eta]$  pentru probele comerciale de alginat pur de la „Sigma-Aldrich” (actual „Merck”) –  $1040 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$  (241). Din acest motiv, au fost utilizate constantele  $K = 0,0073$  și  $\alpha = 0,92$  preluate din surse bibliografice. Valoarea rezultată a masei moleculare,  $357\text{kD}$ , corelează cu multe referințe. În cazul proteinelor liniare, cum ar fi gelatina, Ecuația Mark-Houwink-Sakurada, (2.1), se transformă în ecuația (5.6):

$$M_{polimer}/M_0 = ([\eta]/K)^{1/\alpha} \quad (5.6),$$

în care  $M_0$  este masa molară medie a unităților structurale (aminoacizilor) din proteina respectivă și pentru gelatina de tipul „B”,  $M_0 = 110\text{D}$ . Vâscozitatea intrinsecă experimentală a gelatinei,  $[\eta] = 0,508\%^{-1} = 50,8 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ . Valorile constantelor  $K = 0,166$  și  $\alpha = 0,885$  (347) duc la masa molară viscozimetrică experimentală a gelatinei de tip „B”, egală cu  $70,8 \text{ kD}$ .

Cunoașterea maselor molare ale ambilor biopolimeri și ipoteza argumentată detaliat în (99), precum că alginatul și gelatina formează o fază continuă în orice proporție, dând posibilitatea de estimare a maselor moleculare ale complexilor supramoleculari Gelatină-Alginat:

$$M_{\text{GelAlg}} = M_{\text{Alg}} + \frac{n_{\text{Gel}}}{n_{\text{Alg}}} \cdot M_{\text{Gel}} = M_{\text{Alg}} \left( \frac{m_{\text{Gel}}}{m_{\text{Alg}}} + 1 \right) \quad (5.7).$$

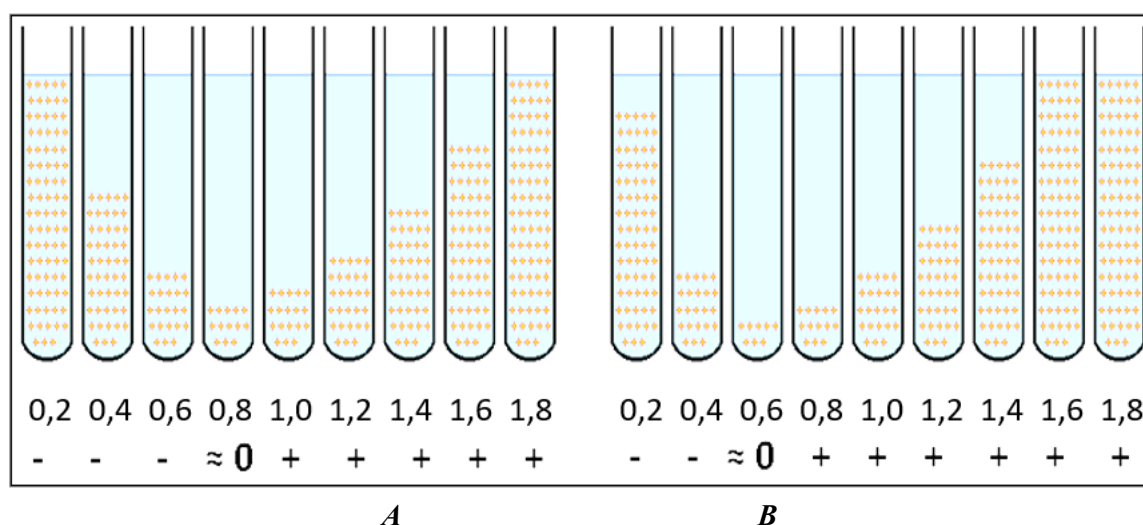
Produselor alimentare le corespund valorile  $\text{pH} = 3,0 \dots 7,0$ . Pentru limpezirea băuturilor fermentate și nefermentate se utilizează tratamente consecutive cu soluții de gelatină de  $0,0 \dots 3,0\%$  și cu sărurile acizilor poliuronicici de  $0,0 \dots 0,3\%$ . Se constată că în aceste condiții limpezirea are loc prin co-sedimentarea complexelor proteină-poliuronați (348). Soluțiile cu concentrații similare se folosesc și pentru microîncapsulările prin metoda „coacervării complexe” (349), (98).

Experimental au fost create sisteme în care concentrația gelatinei este de  $1 \dots 3\%$ , iar raportul  $m_{\text{Gel}}/m_{\text{Alg}}$  variază de la 1 până la 90 (99). Au fost prestabiliți factorii, măsurăți parametrii electroforetici ai acestor sisteme și calculate potențialele electrocinetice în cazul formării solurilor. Rezultatele calculelor cu ajutorul ecuațiilor (2.1) și (5.6) sunt prezentate în tabelul 5.2.

**Tabelul 5.2. Tipuri de coloizi și  $\zeta$ -potențiale ale solurilor în sistemul Gelatină-Alginat**

| $m_{\text{Gel}}/m_{\text{Alg}}$            | 1,1   | 2,5   | 4,3   | 6,7                        | 10   | 15    | 23    | 40    | 90    |
|--|---|-------|-------|----------------------------|------|-------|-------|-------|-------|
| $\log_{10}(m_{\text{Gel}}/m_{\text{Alg}})$ | 0,041   | 0,398 | 0,633 | 0,826                      | 1,00 | 1,18  | 1,37  | 1,60  | 1,95  |
| $n_{\text{Gel}} / n_{\text{Alg}}$          | 8   | 18    | 30    | 47                         | 70   | 105   | 162   | 281   | 632   |
| $M_{\text{GelAlg}} \cdot 10^{-6}, D$       | 0,75  | 1,25  | 1,89  | 2,75                       | 3,93 | 5,71  | 8,57  | 14,6  | 32,5  |
| <b>pH</b>                                  | <b>Tip coloid. Sol, dacă este indicat potențialul <math>\zeta</math>, mV. <math>\Delta\zeta = \pm 3,0</math> mV</b> |       |       |                            |      |       |       |       |       |
| <b>4,5</b>                                 | soluție vâscoasă  |       |       |                            |      |       | -40,7 | -32,0 | +14,5 |
| <b>4,0</b>                                 | -34,1   | -39,8 | -22,7 | suspensie de floccule mari |      |       | +17,0 | gel   |       |
| <b>3,5</b>                                 | -37,8   | -34,9 | -26,2 | -20,3                      | +8,7 | +11,6 | +17,4 | +29,1 | gel   |

La valori scăzute ale pH, electroforeza a fost perturbată de mediul acid. De aceea, a fost găsită o modalitate de a evalua sarcina electrică a complexelor în mod vizual (figura 5.4).



**Figura 5.4. Echilibrul de sedimentare a sistemelor GelAlg,  $\log_{10}(m_{\text{Gel}}/m_{\text{Alg}})$ , semnul sarcinii flocculelor: A – la  $\text{pH} = 3,0$ ; B – la  $\text{pH} = 2,5$ .**

În coloizii GelAlg, obținuți la pH = 3,0 și la pH = 2,5, se stabilește un echilibru persistent timp de 3...5 zile. Semnul fazei solide se determină din aspectul seriei în întregime (figura 5.4). Astfel, combinând electroforeza cu controlul vizual al stării coloizilor la pH mic, au fost determinate condițiile de formare a complexelor neutre GelAlg<sup>0</sup> la diferit pH (tabelul 5.3).

**Tabelul 5.3. Parametrii complexului neutru GelAlg<sup>0</sup> la diferit pH**

| pH   | 4,5            | 4,0             | 3,5             | 3,0             | 2,5             |
|--|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| $\log_{10}(m_{\text{Gel}}/m_{\text{Alg}})$ | 1,7            | 1,1             | 0,9             | 0,80            | 0,60            |
| $m_{\text{Gel}}/m_{\text{Alg}}$            | 50,1           | 12,6            | 7,9             | 6,3             | 4,0             |
| $n_{\text{Gel}}/n_{\text{Alg}}$            | 352            | 89              | 56              | 44              | 28              |
| $M_{\text{GelAlg}}^0 \cdot 10^{-6}, D$     | $18,2 \pm 1,3$ | $4,86 \pm 0,35$ | $3,18 \pm 0,23$ | $2,61 \pm 0,19$ | $1,79 \pm 0,13$ |

Prezența grupelor funcționale acide și bazice îmbogățește proprietățile electrochimice ale soluțiilor de gelatină. La valorile pH mai mari decât punctul izoelectric (IEP) gelatina se află în stare de zwitter-ion cu predominanța sarcinilor negative, notat Gel<sup>+<-</sup>. La pH > 10 macromolecula de gelatină devine un anion doar cu sarcinile negative, Gel<sup>-</sup>. Totodată, gelatina se află în formă de zwitter-ion, încărcat preponderent pozitiv, Gel<sup>+>-</sup>, la pH mai mic decât IEP și este convertită în policationul Gel<sup>+</sup>, la pH < 2,0 (350) (351).

Tabelul 5.3 demonstrează că punctul de neutralitate se deplasează către valori mai mici ale raportului  $m_{\text{Gel}}/m_{\text{Alg}}$ , când pH scade. Totodată, la valorile pH apropiate de IEP o cantitate foarte mică de săruri poliuronice provoacă formarea fazei solide GelAlg.

Diagrama de fază a sistemului gelatină–poliuronat, construită în coordonatele „Raport Gelatina/Poliuronat = f (pH)” (figura 5.5), reprezintă conceptualizarea grafică a legităților raportate în tabelele 5.2 și 5.3. Fiind o extindere la un domeniu larg de pH și raport de biopolimeri, diagrama prezintă un mare interes practic pentru controlul proceselor de interacțiune între gelatină și sărurile acizilor poliuronici sau alți polianioni, care se utilizează în tehnici de microîncapsulare. În diagramă se evidențiază cel puțin 6 domenii, I...VI.

**Domeniul I** corespunde respingerii electrostatice reciproce a anionilor Gel<sup>-</sup> și anionilor Alg<sup>-</sup>. Cea mai mare parte a Domeniului I este situată în partea superioară a diagramei, la pH > 5, adică, deasupra punctului izoelectric al gelatinei. În partea stângă a diagramei, unde raportul  $m_{\text{Gel}}/m_{\text{Alg}} \approx 1$ , hotarul acestui domeniu coboară spre valorile de pH mai mici (4,50...4,00), probabil, datorită excesului alginatului, respectiv, formării complexelor cu sarcină negativă mare. Această ipoteză se confirmă prin formarea în condițiile respective a soluțiilor vâscoase transparente, în locul solurilor coloidale sau flocculelor, care se formează la neutralizarea reciprocă.

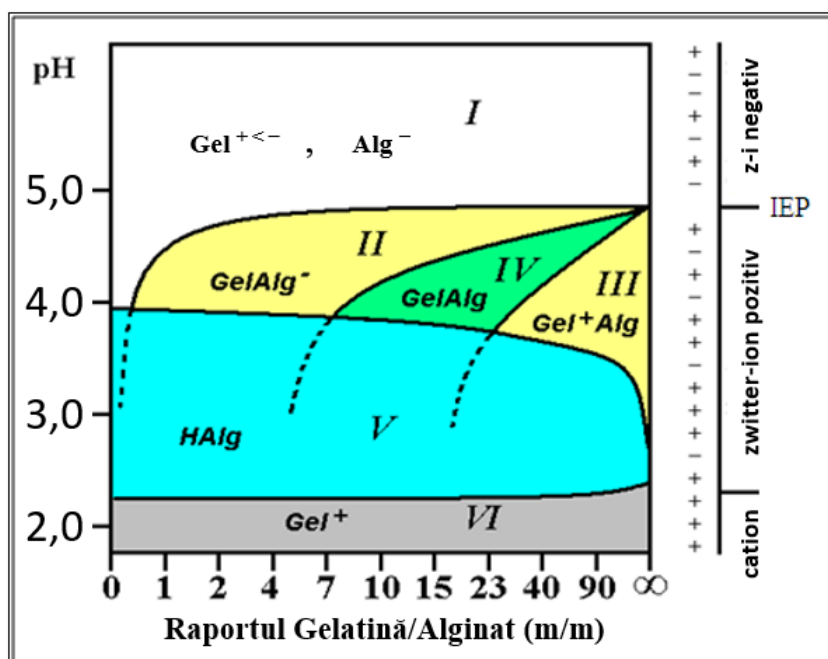


Figura 5.5. Diagrama de fază a sistemului gelatină-alginat în coordonatele „tipul complexului și sarcina moleculei gelatinei = f (raport Gel/Alg, pH)” (99)

**Domeniul II** corespunde formării particulelor cu sarcină negativă,  $\text{GelAlg}^-$  (ori, în cazul acidului hialuronic, a  $\text{GelHUr}^-$ ) în lipsa formelor libere  $\text{Alg}^-$  sau  $\text{HUr}^-$ . Experimental s-a demonstrat că, în funcție de concentrație și gradul de maturitate a sistemului coloidal, particulele  $\text{GelAlg}^-$  sau  $\text{GelHUr}^-$  pot forma soluri opalescente, floculi sau suspensii (tabelul 5.2). Se cunoaște că acizii uronici alimentari, alginic și hialuronic au formă anionică la  $\text{pH} > 3,5$  (352) (239). Prin urmare, anume la aceste valori ale pH în sistem predomină polianionii de alginat sau hialuronat, care compensează sarcinile pozitive ale zwitter-ionilor de gelatină. Sedimentarea structurilor formate supramoleculare încărcate și puternic hidratate este foarte lentă datorită respingerii dintre suprafețele particulelor cu sarcina globală negativă și durează uneori zile și săptămâni.

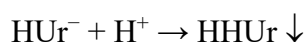
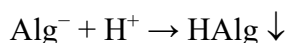
Coloizii, formați în condiții ce corespund Domeniului II, ar putea să reducă utilizarea gelatinei pentru limpezirea băuturilor. Efectul poate fi util la elaborarea alimentelor speciale pentru diferite categorii de consumatori, care, din diferite motive, se abțin de la consumul proteinelor de origine animală (353). Prezentând, de fapt, niște structuri supramoleculare cu sarcină globală negativă, complexii  $\text{GelAlg}^-$  și  $\text{GelHUr}^-$  manifestă proprietăți de legare a cationilor metalelor (354). Din aceste considerente, complexii respectivi prezintă interes în calitate de aditivi autorizați în producția vinurilor și băuturilor non-alcoolice (348).

În **Domeniul III** se observă o interacțiune similară cu cea descrisă pentru Domeniul II. Un exces mare de gelatină sub formă de zwitter-ion, dar încărcat pozitiv,  $\text{Gel}^{+>}$ , determină sarcina pozitivă globală a coloizilor în formă de floculi și soluri  $\text{Gel}^+\text{Alg}$ . Sistemele coloidale, fiind încărcate, sunt stabile cinetic și se sedimentează lent.

**Domeniul IV** se caracterizează prin formarea sedimentelor sub formă de fulgi (flocule) voluminoși și denși, care se depun rapid. Faptul formării și sedimentării bruște a floculelor, precum și experiențele nereușite privind determinarea sarcinii lor, folosind electroforeza, demonstrează că sarcinile solurilor și floculelor, obținute în condițiile Domeniului IV, sunt aproape nule. Se formează complecșii neutri  $\text{GelAlg}^0$ . Pe măsura creșterii pH, Domeniul IV (cu particule neutre) înclină spre concentrații mai mari ale gelatinei, deoarece astfel se compensează creșterea ponderii sarcinilor negative ale biopolimerilor respectivi. Gelurile din gelatina alimentară pură manifestă cea mai mare turbiditate la  $\text{pH} = 4,75 \dots 5,00$ , ce corespunde punctului izoelectric al gelatinei de tipul „B” (355) și, astfel, determină poziția punctului superior al Domeniului IV. Sarcina complecșilor  $\text{GelAlg}$  tinde spre zero în condițiile în care raportul  $m_{\text{Gel}} / m_{\text{Alg}}$  crește și pH se apropie de IEP. În timpul sedimentării, fulgii  $\text{GelAlg}^0$  formează aglomerate care își pierd rapid capacitatea de a se peptiza.

Condițiile corespunzătoare Domeniului IV au importanță practică pentru precipitarea coloizilor nedorți în băuturi, folosind procedeele de co-sedimentare (289). Pe de altă parte, se poate constata că formarea structurilor tridimensionale neutre  $\text{GelAlg}^0$  este nedorită în cazurile când repulsia electrostatică intermoleculară este necesară pentru a evita coagularea particulelor solide ale fazei coloidale. În procesul producerii microcapsulelor prin metoda **coacervării** complexe, condițiile ce corespund Domeniului IV, neutralitatea complecșilor  $\text{GelAlg}$ ,  $\text{GelHur}$  sau analogilor săi este contraindicată pentru stabilitatea termodinamică a pereților.

**Domeniul V** se caracterizează prin valori scăzute ale pH. La  $\text{pH} < 4$ , soluțiile de gelatină capătă o transparență ridicată, care este inerentă soluțiilor reale ale SMM și soluțiilor non-coloidale. Această transparență apare din cauza întinderii moleculelor în urma repulsiei intramoleculare (predominanța sarcinilor pozitive în zwitter-ionul  $\text{Gel}^{+>}$  (289), (356). În același timp, alginatul la valori mici ale pH se comportă cu totul altfel. La  $\text{pH} < 3,5$  alginatul începe să se precipite în forma acidului alginic, deoarece  $\text{pK}_{\text{acid}} \approx 3,5$  (241), ce se observă prin pierderea transparenței soluțiilor de alginat, urmată de gelifierea lor. Simplificat, anionii acizilor poliuronici pot fi notați ca  $\text{Alg}^-$  și  $\text{HUr}^-$ . În acest caz, reacțiile de formare a acizilor respectivi vor arăta identic:



**Domeniul VI** corespunde valorilor  $\text{pH} < 2$  în care HAlg sau HUr sunt deja precipitați, dar macromoleculele de gelatină, ca și în cazul Domeniului I, capătă formă liniară, aceasta reprezentând practic policationul  $\text{Gel}^+$ . Așadar, în condițiile ce corespund Domeniului VI, macromoleculelor de gelatină le aparține în exclusivitate sarcina pozitivă, iar formarea complexilor  $\text{GelAlg}^+$  sau  $\text{GelHUr}^+$  este imposibilă, deoarece alginatul și hialuronatul la  $\text{pH} < 3,2$  se află în exclusivitate în forme electrice neutre,  $\text{HAlg}^0$  și  $\text{HHUr}^0$  (99).

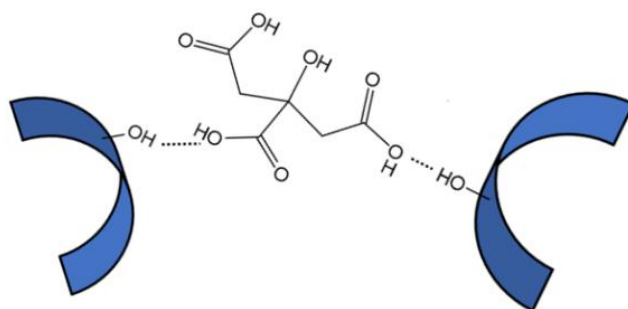
Diagrama de fază, obținută experimental și reprezentată în figura 5.5, a fost utilizată ulterior pentru caracterizarea proceselor de formare și stabilizare a microcapsulelor, obținute prin utilizarea sistemului gelatină-poliuronat, prin încapsularea picăturilor de lipide cu CBA. Diagrama ajută la explicarea mecanismelor de destrucție a microcapsulelor în diferite medii, respectiv, la stabilirea condițiilor de eliberare controlată a conținutului biologic activ în sistemul gastrointestinal.

### 5.3. Tehnologia microîncapsulării CBA și controlul stabilității microcapsulelor

Tehnologia de obținere a microcapsulelor comestibile care conțin compuși biologic activi liposolubili trebuie să micșoreze pierderea fazei lipidice biologic active, care ar putea avea loc datorită microîncapsulării incomplete. Pereții microcapsulelor trebuie să conțină doar componente comestibile, admiși în calitate de aditivi. Examinarea sistemelor-model prezentate anterior a demonstrat că prezența în faza lipidică a compușilor și compozițiilor tensioactive naturale (extractului de ceai verde în ulei, lecitinei) favorizează formarea emulsiilor stabile U/A. De asemenea, pentru a stabiliza emulsia U/A și, concomitent, a iniția procesul de formare a microcapsulelor pot fi utilizate proprietățile gelatinei de a se adsorbi pe suprafața uleiului, efectuând totodată controlul temperaturii în timpul procesului.

Emulsia U/A cu caracteristicile necesare pentru inițierea formării microcapsulelor se formează prin amestecarea fazei uleioase, supuse microîncapsulării, cu soluții de gelatină de 3...4%, pH careia este de 2,5...4,0 (98). Anume în acest interval al pH microcapsulele cu pereții din gelatină-alginat au stabilitate mecanică înaltă. Acest interval poate fi extins până la  $\text{pH} = 1,5...5,0$  pentru microcapsulele cu pereții din gelatină-hialuronat.

Prin multiple încercări și experiențe nereușite a fost observat că efectul stabilizator depinde nu doar de valoarea pH, dar și de natura acidului utilizat la reglarea pH. Pentru aceleași valori de pH, acidul citric contribuie mai bine la consolidarea straturilor proteice la suprafața picăturilor de ulei decât acidul clorhidric. Din datele bibliografice relativ recente (357) rezultă că acidul citric (monohidroxitricarboxilic) poate genera până la șapte legături de hidrogen (figura 5.6).



**Figura 5.6. Formarea structurilor supramoleculare 3D între acidul citric și biopolimeri**

Modelările computaționale recente au demonstrat că formarea legăturilor de hidrogen multiple este energetic mai convenabilă decât realizarea stărilor conformaționale, în care gradul de saturare cu legăturile de hidrogen este redus (358). Conform datelor modelărilor, molecula de acid citric tinde să formeze un număr maximal, șapte legături de hidrogen cu alți componenți ai sistemului. Astfel, în sistemele care conțin biopolimeri cu proprietăți hidrofile, acidul citric va favoriza formarea unor structuri supramoleculare 3D. Tăria legăturilor de hidrogen este funcție de pH; de aceea controlul pH are un rol decisiv la formarea structurilor tridimensionale între polimerii încărcăți cu „+” ale proteinei și cei încărcăți cu „-” ale acizilor poliuronicici (359), (360).

Etapa de formare a emulsiei necesită respectarea unui interval îngust de temperatură, 50...60°C, mai rar 60...80°C, care se restricționează cu  $\Delta\tau = \pm 2,0^\circ\text{C}$ . Respectarea limitelor temperaturii este necesară nu doar din cauza sensibilității proceselor interfaciale la fluctuațiile de temperatură, dar și datorită instabilității CBA la încălzire. După formarea emulsiei urmează răcirea ei lentă până la 15...20°C (tabelul 5.4).

**Tabelul 5.4. Interacțiunea factorilor de influență în procesul de formare a microcapsulelor tip rezervor**

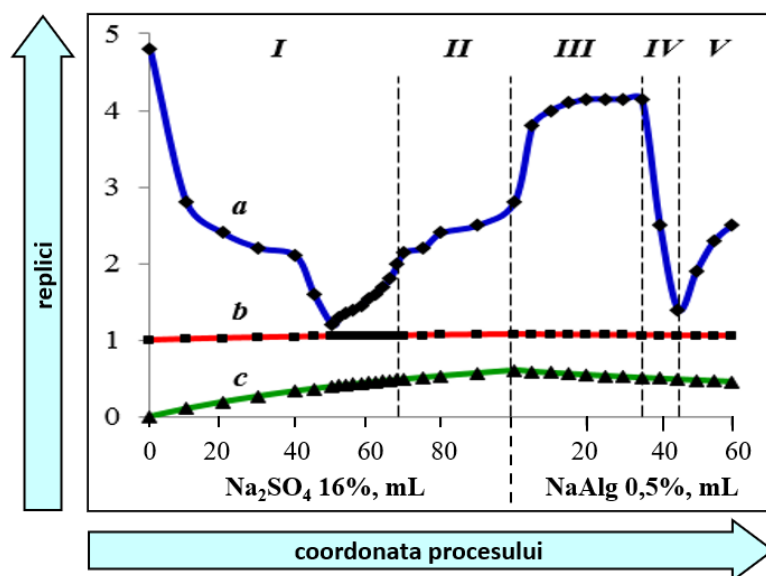
|                                 | <b>Regim „viteză-temperatură-timp”</b>   | <b>Replica sistemului studiat</b>  |
|---------------------------------|--|--|
| <br>Eficiența microîncapsulării | Viteză joasă de agitare (25...75 rot·min <sup>-1</sup> ) în toate etapele microîncapsulării și la toate regimuri termice | ➡ Formarea emulsiei instabile cu picături mari de ulei (50...100 μm), scăderea randamentului microîncapsulării |
|                                 | Viteză înaltă (300...450 rot·min <sup>-1</sup> ) de agitare în toate etapele microîncapsulării                           | ➡ Formarea solzilor de gelatină în stare liberă care nu participă la formarea pereților MC                     |
|                                 | Scăderea lentă a vitezei de agitare urmată de micșorarea bruscă a temperaturii   | ➡ Distrugerea MC prin formarea a trei faze aparte: ulei, apă și solzi de gelatină                              |
|                                 | Scăderea lentă a temperaturii care are loc concomitent cu scăderea treptată a vitezei de agitare                         | ➡ Formarea „protomicrocapsulelor” stabile, lipsa fazelor separate de ulei și de gelatină                       |

Viteza agitării influențează neunivoc în diferite etape ale procesului de microîncapsulare și necesită a fi monitorizată. S-a observat că scăderea bruscă a vitezei de rotație poate să provoace coalescența fazelor și eșuarea microîncapsulării. Rezultate bune au fost obținute când viteza de agitare scădea lent de la 300...450 rot·min<sup>-1</sup> până la 25...75 rot·min<sup>-1</sup>, concomitent cu răcirea lentă a amestecului de reacție de la 60...90°C până la 15...20°C (tabelul 5.4). După cele remarcate, creșterea eficienței microîncapsulării coincide după direcție cu scăderea entropiei.

### 5.3.1. Formarea și consolidarea pereților microcapsulelor

Administrarea soluțiilor de alginat cu concentrații de 0,02...0,50% în sistemele-model, care conțin gelatină, duce la creșterea rezistenței soluțiilor. Acest semnal electrochimic indică o scădere bruscă a numărului de purtători de sarcini datorită formării complexilor proteină-polizaharidă.

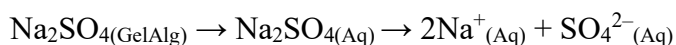
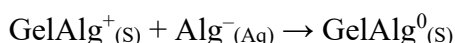
Etapile procesului de consolidare a pereților microcapsulelor gelatină-alginat pot fi determinate experimental și vizualizate cu ajutorul profilului electrochimic, determinat cu ajutorul SSF-MC-CEP (figura 2.4). Patternul experimental tipic (158) este reprezentat în figura 5.7.



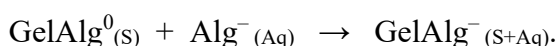
**Figura 5.7. Profilul electrochimic al procesului de interacțiune Gelatină-Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Alginat:**  
*Replici (0...5): a – rezistența, kΩ; b – densitatea, g·mL<sup>-1</sup>; c – molaritatea Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, mol·L<sup>-1</sup>;*  
*Fenomene (etape): I – deshidratarea gelatinei; II – depunerea Gel<sup>+</sup> pe suprafața picăturilor;*  
*III – formarea complexului GelAlg<sup>+</sup>; IV – formarea GelAlg<sup>0</sup>; V – formarea GelAlg<sup>-</sup>.*

În etapele I și II (figura 5.7) la soluția de gelatină se administrează soluție 16% de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Odată cu administrarea cantităților mici de alginat, la începutul etapei III, rezistența soluției crește lent. Ținând cont de diagrama sistemului GelAlg (figura 5.5), aceste condiții corespund unei creșteri treptate a masei moleculare a complexilor GelAlg<sup>+</sup>, menținându-se, în același timp, o

sarcină pozitivă. La finalul etapei III, odată cu adăugarea a aproximativ 1/2 din cantitatea totală de alginat, are loc o reducere bruscă a rezistenței sistemului. Aceasta corespunde realizării unui raport de masă de  $m(\text{Gel}) / m(\text{Alg})$ , ce corespunde formării agregatelor neutre  $\text{GelAlg}^0$  și precipitării lor ulterioare. Procesul este însoțit de o scădere a viscozității sistemului și de sinereza fazei de biopolimer, ducând la expulzarea sulfatului de sodiu în soluție, conform ecuațiilor:



Deși primul proces este însoțit de o scădere a numărului de sarcini, urmează sinereza și expulzarea excesului de sulfat de sodiu în faza apoasă, care contribuie la creșterea concentrației de particule conductoare și la o scădere a rezistenței (etapa IV). În cele din urmă, odată cu adăugarea unor cantități mai mari de alginat, are loc formarea miclei bifazice, încărcate negativ,  $\text{GelAlg}^-$ . Viscositatea soluției crește din nou, în consecință, crește și rezistența:



Formarea fazei condensate a gelatinei, corespunzătoare formării pereților microcapsulelor, are loc prin expulzarea excesului de apă din gelatină prin deshidratare cu sulfat de sodiu, concentrația căruia, conform datelor obținute prin utilizarea SSF-MC-CEP, constituie 6...7%. Etapele de formare a pereților microcapsulelor de tip  $\text{GelAlg}$ , inclusiv neutralizarea și reîncărcarea lor, sunt însoțite de modificări măsurabile ale valorilor rezistenței fazei apoase în care are loc microîncapsularea lipidelor biologic active. Scăderea bruscă a rezistenței în punctul de reîncărcare este cauzată atât de scăderea viscozității fazei lichide, cât și de sinereza fazei polimerice la formarea complexilor neutri  $\text{GelAlg}^0$ , care, la rândul lor, provoacă difuzia sulfatului de sodiu din peretele microcapsulei în soluție.

Pereții microcapsulelor de tip rezervor, mononucleul cărora constă din lipide lichide, reprezintă nu un solid, dar un gel hidrofil, care acoperă nucleul microcapsulei cu un strat continuu subțire (118). Compușii cu proprietăți de disecați pot să provoace sinereza stratului gelului, care formează peretele microcapsulei. Aparent, fenomenul de sinereză va cauza consolidarea pereților microcapsulelor, dar, după cum a fost demonstrat, nu este întocmai așa.

Datorită solubilității anormale a sulfatului de sodiu, sinereza eficientă are loc prin administrarea soluției de sulfat de sodiu de 12...16%. Folosind acest diapazon de concentrații al soluției administrate, este asigurată formarea pereților MC. Totodată, se evită coagularea iminentă a gelatinei (98). Utilizarea sulfatului de sodiu cu concentrația mai mică de 12% nu asigură stabilizarea pereților gelatinoși, iar la concentrația soluției de sulfat de sodiu mai mare de 16% se

formează un sediment mărunț nedorit, care constă din diferite forme de sulfat de sodiu cristalohidrat și provoacă distrugerea mecanică a microcapsulelor. La administrarea soluției de sulfat de sodiu cu concentrația, ce depășește 16%, gelatina coagulează în locul administrării.

A fost studiată influența  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  asupra dinamicii consolidării membranelor MC (256). Probe de 20 mL ulei vitaminizat (UFS : concentrat de beta-caroten, 3...4 : 1) a fost adăugate peste 100 mL soluție gelatină (3%, pH = 2,5...4,5), încălzită la 80°C. Amestecul a fost agitat energetic până la formarea emulsiei U/A. După răcirea lentă, 2°C·min<sup>-1</sup>, la agitarea continuă a emulsiei până la 25°C, s-a picurat soluție sulfat de sodiu 16%, 1..2 mL·min<sup>-1</sup>. În timpul administrării  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  s-au prelevat probe a câte 20 mL din amestecul de reacție. Probele selectate au fost tratate cu 4 mL soluție NaAlg cu o vâscozitate specifică de  $\eta = 0,72 \pm 0,01$ . Probele au fost centrifugate timp de 10 minute la 9000 rpm. Microcapsulele au fost separate de mediul supernatant și fierte în apă distilată timp de 15 minute. În proba cu concentrație minimă, după astfel de prelucrare, s-a degajat ulei în stare liberă, care a fost absent în probele următoare. Microcapsulele au fost centrifugate în aceleași condiții, separate de faza apoasă, uscate ușor pe hârtie de filtru și plasate pe lamele de portobiect cântărite în prealabil. Lamelele au fost uscate până la o masă constantă a rezidului solid,  $m_{RS}$ , la temperatura de  $75 \pm 5^\circ\text{C}$  (tabelul 5.5).

**Tabelul 5.5. Influența concentrației  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  asupra ponderii peretelui în microcapsulă**

| Probă     | $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , % | $m_{MC}$ , g | $m_L$ , g      | $m_{RS}$ , g   | $\omega_{perete} = \bar{\omega} \pm \Delta\omega$ |
|-----------|------------------------------|--------------|----------------|----------------|---|
| <i>S1</i> | 4,57                         | 0,50 ± 0,01  | 16,993 ± 0,017 | 17,327 ± 0,017 | 0,33 ± 0,05                                       |
| <i>S2</i> | <b>5,45</b>                  | 0,67 ± 0,01  | 31,177 ± 0,017 | 31,693 ± 0,017 | <b>0,23 ± 0,04</b>                                |
| <i>S3</i> | <b>6,33</b>                  | 0,88 ± 0,01  | 31,037 ± 0,017 | 31,727 ± 0,017 | <b>0,22 ± 0,03</b>                                |
| <i>S4</i> | 7,21                         | 0,32 ± 0,01  | 30,123 ± 0,017 | 30,367 ± 0,017 | 0,24 ± 0,08                                       |

**Notă:**  $m_{MC}$  – masa probei de microcapsule centrifugate, spălate și uscate cu hârtie de filtru;  $m_L$  – masa lamelei de portobiect;  $m_{RS}$  – masa rezidului solid.

Starea maximal trainică a peretelui MC corespunde cu minimumul valorii parametrului  $\omega_{perete}$  și, conform datelor prezentate în tabelul 5.5, corespunde concentrațiilor  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , cuprinse în intervalul 5,4...6,4%. E de menționat că aceste date se încadrează, în sensul direct, în intervalul determinat prin utilizarea SSF-MC-CEP. Adică, valoarea optimă a concentrației  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  a fost determinată prin două metode independente, obținându-se corelarea rezultatelor.

Desicantul își va îndeplini funcția numai atât timp, cât va face parte din compoziția peretelui microcapsulei. După stabilirea echilibrului dintre peretele microcapsulei, PMC, și supernatantul, SN, desicantul va fi repartizat între aceste două faze, îndeplinind rolul componentului al treilea, pentru care se respectă Legea de repartiție, ecuația (5.8):

$$K_{\text{rep.}} = \frac{C_d^{\text{PMC}}}{C_d^{\text{SN}}} \quad (5.8)$$

Aflându-se în peretele MC, sulfatul de sodiu contribuie la sinereza, autocompresia gelului, transformându-l într-un perete stabil: o peliculă subțire, densă și trainică. Desicantul concurează pentru moleculele de apă, împiedicând procesul de hidratare și de gonflare a peretelui. Asigurarea comestibilității microcapsulelor presupune îndepărtarea excesului de desicant. Dializa și electrodializa prin peliculă de celuloză sunt eficiente pentru îndepărtarea excesului de desicant din supernatantul cu microcapsule. Electrodeializa se efectuează cu monitorizarea conductivității, evitând îndepărtarea completă a  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  din pereții MC (98). Conform ecuației (5.8), substituția supernatantului cu un mediu în care desicantul lipsește va provoca difuzia (extracția) acestuia, ce va duce la destabilizarea și lezarea peretelui microcapsulei. De aceea, depășirea timpului de electrodeializă conduce la destabilizarea pereților și eliberarea conținutului biologic activ.

Precipitarea complexilor cation-proteină are loc când moleculele de proteine sunt încărcate negativ, la  $\text{pH} > \text{IEP}$  (361). Formarea complexilor cation-proteină ar trebui să favorizeze formarea unui perete mai dens al microcapsulei. În realitate, interacțiunea ionilor metalici cu macromoleculele polianionice conduce la neutralizarea sarcinii negative a polianionului și la coagularea sistemului (348). Studiile sistemului gelatină-gumă arabică de asemenea confirmă că calificativele „gros” și „trainic” nu sunt sinonime pentru pereții microcapsulelor. Studiul sistemului gelatină-gumă arabică (GA) a arătat că eficiența (randamentul) microîncapsulării practic nu depinde de fracția masică globală a peretelui, crescând la creșterea **raportului** gelatina/gumă arabică (152). Autorii mai relatează că eficiența microîncapsulării **scade**, dacă biopolimerii se depun în mai multe straturi, urmând fiecare dată procedura reticulării ionice. În cazul combinării reticulării ionice cu cea covalentă microcapsulele pot deveni **mai puțin stabile** în prezența unui exces de agent de reticulare ionic, de exemplu, sodiu-trifenilfosfat, Na-TPP (101), ce reprezintă un caz rar de acțiune antagonistă a factorilor independenți cu influența proprie pozitivă (255). Stabilitatea peretelui este influențată puternic și de factorul de densitate. Biopolimerii adsorbiți reduc aproape de două ori tensiunea superficială pe interfața U/A (257) (288). Se consideră că picătura de ulei este capabilă să mențină la suprafață doar un strat subțire, practic monomolecular de biopolimer (362). Densitățile lipidelor („Ulei”), proteinelor („Apă”) și carbohidraților („Apă”) se raportează ca 0,9 : 2,0 : 1,5. Acest raport în sine reprezintă un factor de destabilizare, deoarece un strat gros de biopolimer nu poate fi reținut, fiind smuls de pe suprafața picăturilor prin stratificare gravitațională. Astfel, atât întărirea prin subțiere, cât și îngroșarea excesivă a peretelui biopolimeric prin utilizarea excesului de biopolimeri pot provoca distrugerea pereților microcapsulelor.

### 5.3.2. Schema tehnologică a microîncapsulării lipidelor cu CBA în stare lichidă

Microcapsulele potrivite pentru produsele alimentare lactate sunt particule sferice, dimensiunea cărora nu trebuie să depășească 2...50 micrometri, pentru a nu influența proprietățile senzoriale (363), (364). Tehnologia elaborată de microîncapsulare se bazează pe datele prezentate și discutate în subcapitolele 5.2, 5.3.1, 5.3.2. Schema procedurii de obținere a microcapsulelor de tip rezervor cu un conținut lipidic lichid (98) este reprezentată în figura 5.8.

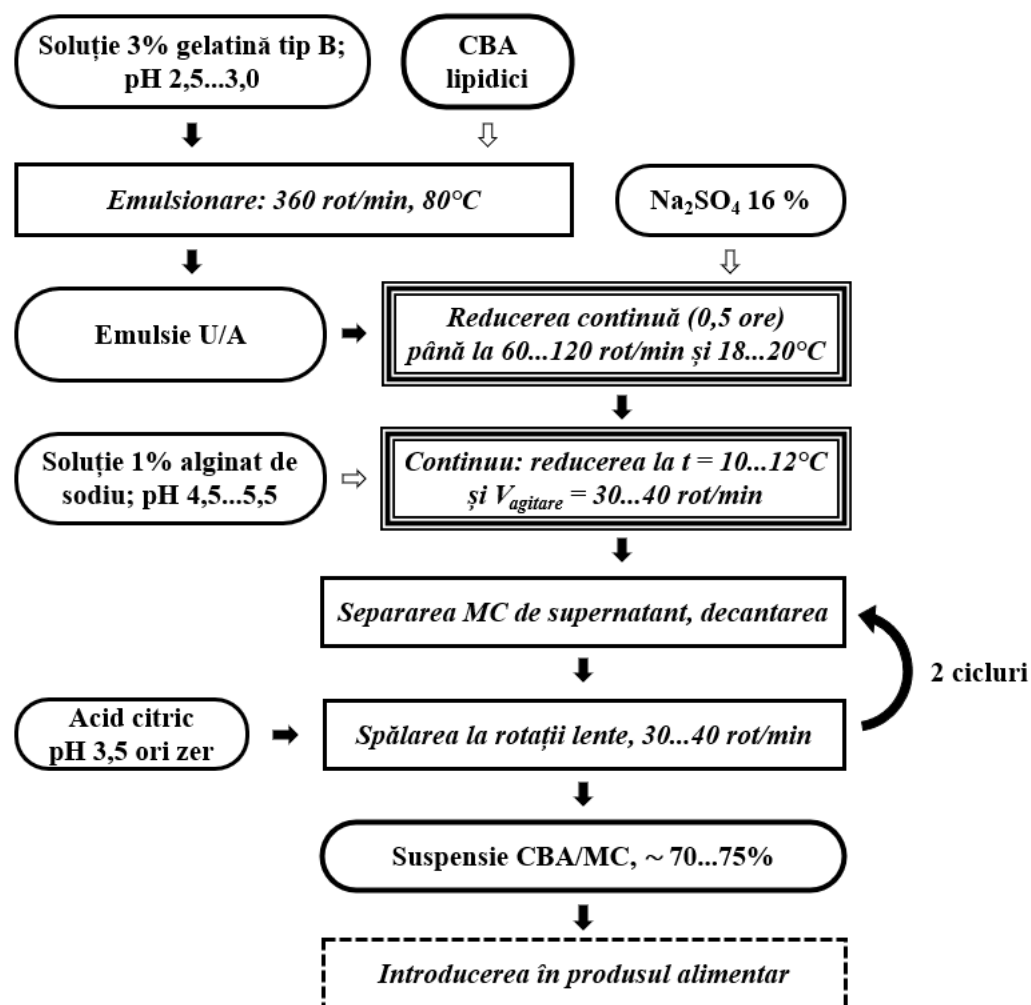


Figura 5.8. Schema tehnologică de obținere a microcapsulelor tip rezervor cu nucleu din CBA-lipidice și perete din sistemul gelatină-poliuronat

Etapele de administrare lentă a componentelor,  $0,5...2,0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  (referitor la 100 mL soluție gelatină), sunt notate prin săgeată de contur ( $\Downarrow$ ). Soluția de 3% gelatină tip B cu pH de 2,5...3,0 se prepară prin dizolvarea gelatinei în apă fierbinte și ajustarea pH cu acid citric și, la necesitate, clorhidric. Soluția de gelatină se introduce în reactor cu un agitator și sistem de încălzire și răcire. La agitarea intensă,  $360 \text{ rot} \cdot \text{min}^{-1}$  și la o temperatură de 60...80°C, în soluția de gelatină

se introduce lent faza lipidă, supusă microîncapsulării. După obținerea emulsiei în reactor se introduce lent soluție de sulfat de sodiu 16%. Concomitent, în timpul administrării sulfatului de sodiu, în decurs de 0,5...1,0 ore, viteza de agitare este redusă în continuare până la 60...120 rot·min<sup>-1</sup>. În același timp, temperatura se micșorează până la 18...20°C. În această etapă, picătura de lipidă se acoperă cu un perete din gelatină condensată, însă acest perete este instabil. Microcapsulele, pereții cărora constau doar din gelatină, încep să se coaguleze în mod vizibil cu eliberarea abundentă a fazei lipidice deja peste 15...20 de minute după oprirea agitatorului. Fiind lăsate peste noapte, protomicrocapsulele sunt supuse sinerezei totale cu eliberarea fazei uleioase. De aceea, etapa de construire a unui perete trainic trebuie să urmeze îndată după etapa formării protomicrocapsulelor, fără pauză în ciclul tehnologic.

După finisarea administrării Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 16%, în reactor se administrează treptat soluție 1% alginat de sodiu, ajustată la pH = 4,5...6,5 cu NaOH și/sau acid citric. Procesul administrării lente a NaAlg are loc concomitent cu reducerea temperaturii până la 10...12°C și a vitezei de agitare până la 30...40 rot·min<sup>-1</sup>. În această etapă, în jurul picăturii de lipidă se formează un perete din complexul încărcat pozitiv, GelAlg<sup>+</sup>. Această etapă este etapa-cheie care asigură prolongarea funcționalității CBA lipidici.

Microcapsulele obținute sunt separate de supernatant prin decantare rapidă și sunt clătite cu o soluție diluată de acid citric cu pH = 3,5. Ciclul de separare și spălare se repetă de 2 ori. Ultima spălare poate fi efectuată și cu zer, dacă urmează introducerea MC în produsele lactate. Concentratul obținut de microcapsule conține nu mai mult de 60...70% de microcapsule, iar restul volumului 30...40%, reprezintă supernatantul. Microcapsulele, separate din supernatant, sunt instabile, lipindu-se împreună, după ce devine aproape imposibilă distribuția uniformă a microcapsulelor în produsul alimentar.

Procedeu elaborat se deosebește de variantele cunoscute prin reducerea considerabilă a numărului de etape intermediare, ceea ce contribuie la micșorarea consumului de timp și resurse și creșterea randamentului microîncapsulării. Spre deosebire de alte metode cunoscute, etapa de spălare a proto-microcapsulelor, care au doar perete din gelatină, poate fi omisă, iar proto-microcapsulele obținute se tratează imediat cu acizi poliuronici. Se utilizează soluție 1...2% acid poliuronic în stare pură sau extractul (5...15%) obținut din materia primă corespunzătoare: talul de varză de mare (*Saccharina Japonica*) sau creasta cocoșului (*Gallus gallus domesticus, masculus*) (98), (309), (226).

Prin evitarea etapei intermediare de spălare, de fapt, se asigură combinarea proceselor de deshidratare, desulfatare și de stabilizare a MC prin formarea peretelui din complexul proteină-poliuronat. Înlăturarea prin decantare a soluției supernatante, urmată de dializa sau electro-dializa

microcapsulelor până la conductivitatea apelor de spălare de ordinul  $10^{-3} \text{ Sm}\cdot\text{m}^{-1}$  face ca suspensia concentrată de microcapsule să-și piardă gustul amar datorat prezenței cantităților semnificative ale sulfatului de sodiu, microcapsulele devenind potrivite pentru administrarea lor în produsele alimentare.

### 5.3.3. Stabilitatea agregativă a microcapsulelor în câmpul electroforetic

Microcapsule au fost supuse electroforezei și analizei polidispersității prin metoda descrisă în paragraful 2.3, cu utilizarea ecuațiilor (2.7), (2.8) și (2.9). În tabelul 5.6 este prezentat un exemplu de calcul al polidispersităților MC cu pereții din GelHur în momentul obținerii.

**Tabelul 5.6. Parametrii polidispersității microcapsulelor *in nascendi* cu pereți GelHur**

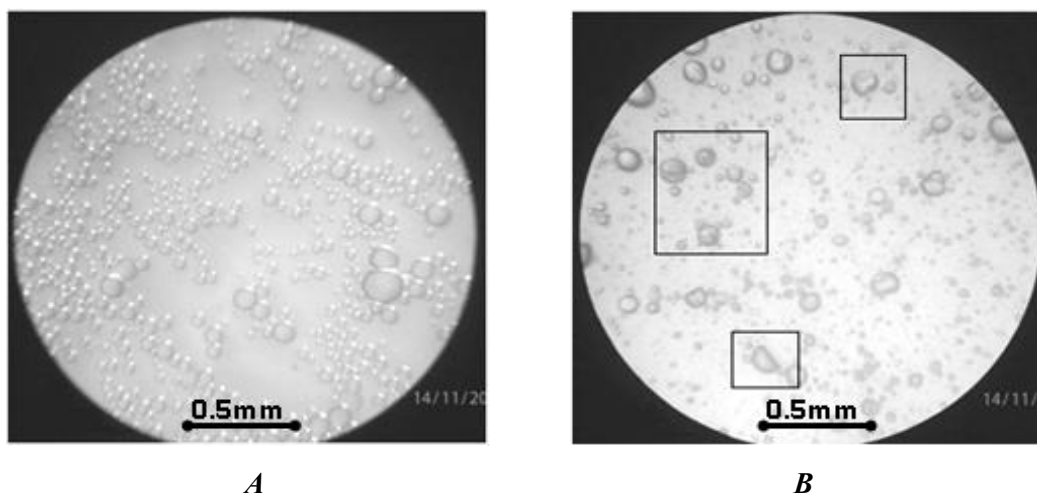
| $d_{i,\text{min.}}, \mu\text{m}$ | $d_{i,\text{max.}}, \mu\text{m}$ | $\langle d_i \rangle, \mu\text{m}$ | $N_{\text{MC},i}$ | $V_{\text{MC},i}, \mu\text{m}^3$ | $V_i, \mu\text{m}^3$ | $\varphi_i, \%$ |
|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|-------------------|----------------------------------|----------------------|-----------------|
| 0                                | 11,9                             | 5,95                               | 77                | 110                              | 8493                 | $0,16 \pm 0,02$ |
| 11,9                             | 23,8                             | 17,80                              | 20                | 2953                             | 59060                | $1,1 \pm 0,1$   |
| 23,8                             | 35,7                             | 29,65                              | 37                | 13648                            | 504980               | $9,4 \pm 0,7$   |
| 35,7                             | 47,6                             | 41,55                              | 25                | 37559                            | 938970               | $17,4 \pm 1,3$  |
| 47,6                             | 59,5                             | 53,40                              | 14                | 79730                            | 1116222              | $20,7 \pm 1,5$  |
| 59,5                             | 71,4                             | 65,25                              | 7                 | 145459                           | 1018212              | $18,8 \pm 1,4$  |
| 71,4                             | 83,3                             | 77,15                              | 2                 | 240440                           | 480880               | $8,9 \pm 0,7$   |
| 83,3                             | 95,2                             | 89,00                              | 2                 | 369121                           | 738242               | $13,7 \pm 1,0$  |
| 95,2                             | 107,1                            | 100,95                             | 1                 | 538664                           | 538664               | $9,9 \pm 0,7$   |

**Notă:**  $V_i$  – volumul fracției;  $\varphi_i$  – fracția de volum a microcapsulelor cu diametrul mediu  $\langle d_i \rangle$ .

Din tabelul 5.6 se observă că funcția  $\varphi_i = f(\langle d_i \rangle)$  va reprezenta o distribuție de tip Gauss, dar asimetrică. Eroarea medie ponderată a metodei pentru determinarea fiecărei fracții individuale este estimată la aproximativ 7%. Pentru vizibilitatea și interpretarea mai ușoară a datelor, celelalte distribuții vor fi prezentate în formă grafică.

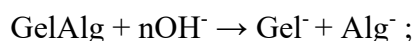
Prezența  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  impune purificarea concentratului care conține microcapsule prin dializă sau electrodializă. Cele mai bune rezultate dintre toate metodele de purificare testate a arătat dializa suspensiilor de microcapsule prin membrane din folie de celuloză. Dializa sau electrodializa continuă până la atingerea conductivității  $10^{-3} \text{ Sm}\cdot\text{m}^{-1}$  a apelor de spălare. Dializatului (suspensia de microcapsule) se supune electroforezei, folosind următorii parametri pentru electrozii din grafit / oțel inox, respectiv: distanța catod-anod: 10 / 25 cm; tensiune: 10 / 100 V; intensitatea câmpului electric: 100 / 400  $\text{V}\cdot\text{m}^{-1}$ . La anod (+) distrugerea microcapsulelor nu a fost observată nici după 10...20 minute de electroforeză. La catod microcapsulele, îndeosebi cele mari, au fost deformat și chiar sparte (figura 5.9, B). În spațiul catodic a apărut ulei liber, indicând distrugerea pereților microcapsulelor. Distrugerea MC la catod are loc prin intermediul interacțiunii pereților

cu producții electrolizei apei, la catod(+) având loc reducerea apei cu formarea H<sub>2</sub> și ionilor OH<sup>-</sup>, iar la anod (+) – oxidarea apei cu formarea O<sub>2</sub> și H<sup>+</sup>. Întrucât nu a fost posibilă combinarea electroforezei cu măsurarea directă a pH în vecinătatea electrodului plat (electroforetic), pH a fost estimat din Legea lui Faraday, considerând I = 100mA, τ = 15 minute. În aceste condiții, pH<sub>anod</sub> ≈ 3, pH<sub>catod</sub> ≈ 11.

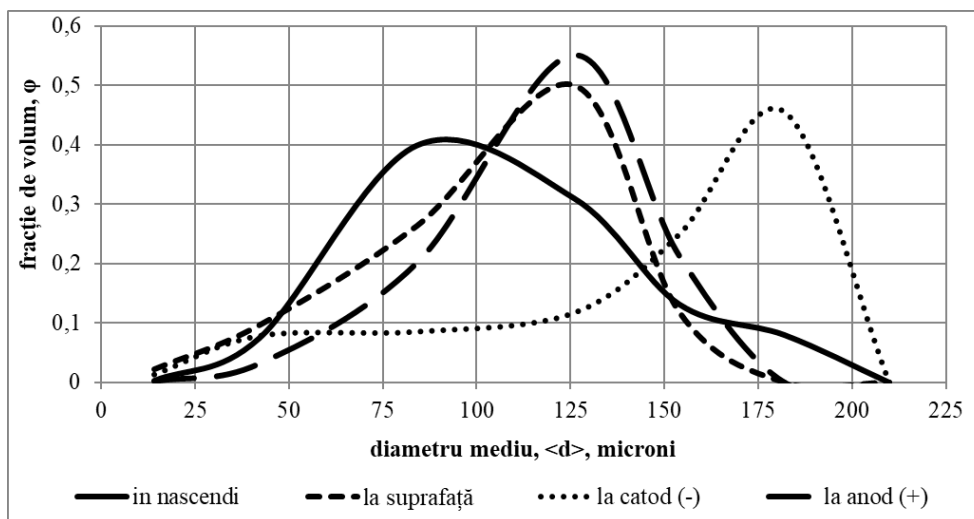


**Figura 5.9. Microcapsulele cu pereți GelHur după electroforeză:**  
*A – la anod; B – la catod (sunt conturate microcapsulele deformate și sparte).*

Se cunoaște că sistemele formate de proteine cu poliuronati sunt stabile într-un interval restrâns de pH, și anume, pH ≈ 2...5 (365), ceea ce se confirmă și prin informațiile furnizate de diagrama de stare a sistemului gelatina-poliuronat (99). Microcapsulele lângă anod se află în valori pH confortabile. La catod, pe măsura creșterii pH, are loc distrugerea pereților lor:



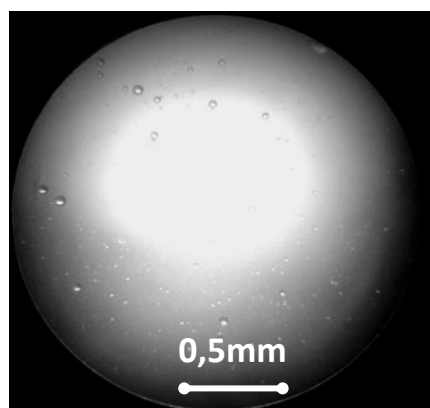
Prin urmare, procesul care distruge microcapsule nu este electroforeza, totodată, nici nu poate fi numit „electroliza microcapsulelor”. În mod corect are loc distrugerea microcapsulelor, cauzată de producții de electroliză. Stabilitatea ridicată a microcapsulelor în spațiul anodic se confirmă și de datele statistice pentru polidispersitatea probelor (figura 5.10). Maximul curbei de distribuție a microcapsulelor luate direct din reactor *in (status) nascendi* este situat la 75...100 μm. În comparație cu celelalte curbe, maximumul este deplasat spre microcapsulele mai mici. În același timp, curba de polidispersitate a microcapsulelor extrase din spațiul anodic este similară cu curba respectivă a probei de MC, preluate de pe suprafața suspensiei dializate. În ambele cazuri, maximumul este situat la  $\langle d \rangle \approx 125 \mu\text{m}$ . Diametrele mai mari se explică prin flotarea microcapsulelor mari și depunerea celor mici (366).



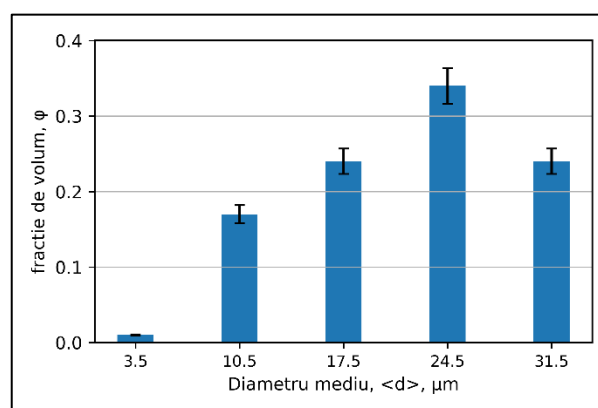
**Figura 5.10. Distribuțiile statistice ale microcapsulelor în câmpul electroforetic**

Acest lucru este confirmat și de aspectul distribuției polidispersității microcapsulelor din spațiul catodic, care este puternic deplasată spre diametre mai mari.

Conform distribuției statistice, fracția MC, care datorită electroforezei se deplasează de la catod spre anod, constă din MC cu  $d < 35 \mu\text{m}$  (figura 5.11). Indicele polidispersității,  $\text{PDI} \approx 0,16$ .



**A**



**B**

**Figura 5.11. Microcapsule stabile cu pereți GelAlg (A), polidispersitatea lor (B)**

Efectul migrării microcapsulelor în timpul electroforezei prezintă interes pentru separarea fracțiilor stabile, care conțin microcapsule valoroase pentru utilizarea practică.

Comportamentul diferențiat al microcapsulelor în spațiile anodic și catodic oferă un instrument util pentru separarea microcapsulelor cu proprietăți funcționale. Astfel, poate fi propus un protocol de separare și purificare a microcapsulelor bazat pe migrarea lor sub acțiunea câmpului electric. Aceasta deschide perspective aplicative importante la formularea sistemelor livrabile în domeniul produselor alimentare și cosmetice.

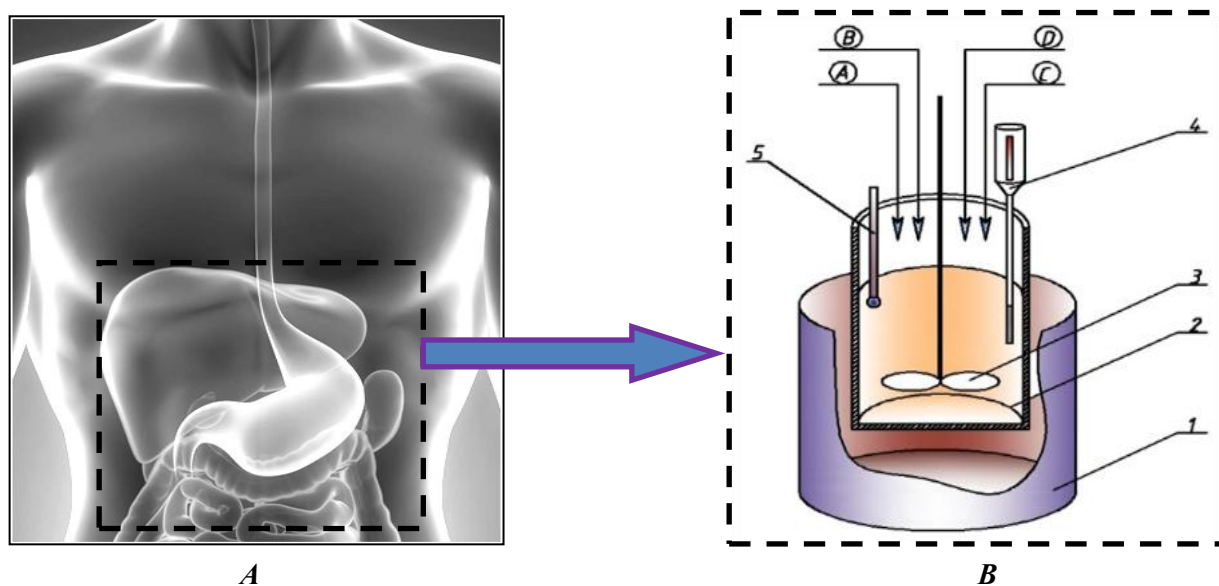
### 5.3.4. Comportamentul microcapsulelor în modelul sistemului digestiv uman (SDU)

În mod condiționat, sistemul digestiv uman (SDU) poate fi divizat în trei zone, care reprezintă sisteme cu cavități funcționale și glande de secreție. Valorile pH, activitatea enzimatică specifică, timpul aflării bolului alimentar în zona respectivă diferă substanțial (tabelul 5.7).

**Tabelul 5.7. Zonele sistemului digestiv uman (321) (367)**

| Zona SDU           | pH      | Enzime active                        | $\tau$ , h |
|--------------------|---------|--------------------------------------|------------|
| <b>Ingestivă:</b>  |         |                                      |            |
| Cavitatea bucală   | 6,5-7,5 | $\alpha$ -amilaze: ptialină, maltază | 0,01       |
| Faringe, esofag    | 6,0-7,0 | $\alpha$ -amilaze: ptialină, maltază | 0,02       |
| <b>Digestivă:</b>  |         |                                      |            |
| Stomac             | 0,9-1,1 | maltază, proteaze, gelatinază        | 1-2        |
| Intestinul subțire | 7,0-7,5 | peptidaze, lipaze, nucleaze          | 3-5        |
| <b>Egestivă:</b>   |         |                                      |            |
| Intestinul gros    | 8,5-9,0 | peptidaze, lipaze, nucleaze          | 4-6        |

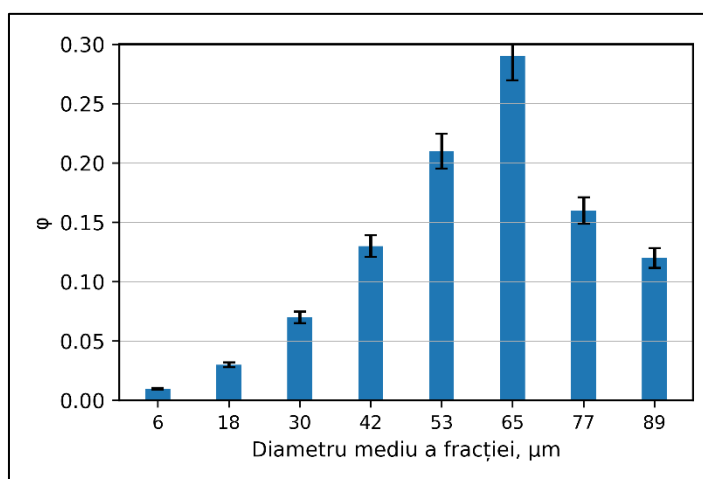
Modelarea multifactorială, adică simularea condițiilor fizico-mecanice și chimice caracteristice sistemului digestiv uman, a fost realizată în scopul prezicerii comportamentului microcapsulelor în sistemul digestiv uman (SDU). A fost elaborat un sistem de control al funcționalității, SCF-SDU, care conține elemente de control mecanic (viteza agitării), chimico-mecanic (viteza administrării componentelor), fizico-chimic (modelare și control al temperaturii, pH), sistem de control electrochimic (măsurarea rezistenței și conductivității).



**Figura 5.12. Modelarea părții digestive a SDU. A: realitate; B: model SCF-SDU. 1 – termostat; 2 – „cavitatea bucală” / „stomacul” / „duodenul”; 3 – agitator cu viteză redusă; 4 – termometru; 5 – electrozi; A – HCl; B – enzime; C – microcapsule; D – NaHCO<sub>3</sub>.**

Corelația dintre SDU și SCF-SDU este reprezentată schematic în figura 5.12. Microcapsulele au fost introduse în SCF-SDU și supuse tratamentelor corespunzătoare parametrilor fizico-chimici indicați în tabelul 5.7. După realizarea tratamentelor a fost analizată integritatea microcapsulelor în funcția de polidispersitatea lor.

Microîncapsularea medicamentelor și compușilor parafarmaceutici în matricele din materialele semisintetice permite împărțirea dozei de substanță activă în unități mai mici. Unii autori exprimă o părere discutabilă, precum că astfel CBA se distribuie pe o zonă mai mare a sistemului digestiv, contribuind la absorbția mai completă a medicamentelor sau CBA cu acțiune parafarmaceutică (87). Procesul digestiv începe în cavitatea bucală sub acțiunea enzimelor din grupa  $\alpha$ -amilazelor, care hidrolizează amilopectina și analogii ei structurali (368). Mâncarea solidă de obicei se găsește în cavitatea bucală mai puțin de un minut, dar cea lichidă și mai puțin. Din acest motiv, saliva, care are un pH neutru, practic nici nu neutralizează alimentele acide (ori micșorează aciditatea lor doar datorită diluării). Simultan,  $\alpha$ -amilaza din componența salivei nu este capabilă să hidrolizeze alginatul, care posedă legături  $\beta$ -glicozidice între unitățile structurale, la fel ca și celuloza (308). Contribuția majoră la degradarea învelișurilor microcapsulelor și eliberarea conținutului MC în cavitatea bucală ar putea avea doar mestecarea. Însă studiile fiziologice arată că prin mestecare practic se obțin particule de circa 500 micrometri, respectiv, nu se distrug particulele cu diametrul mai mic de 2...50 micrometri (369).

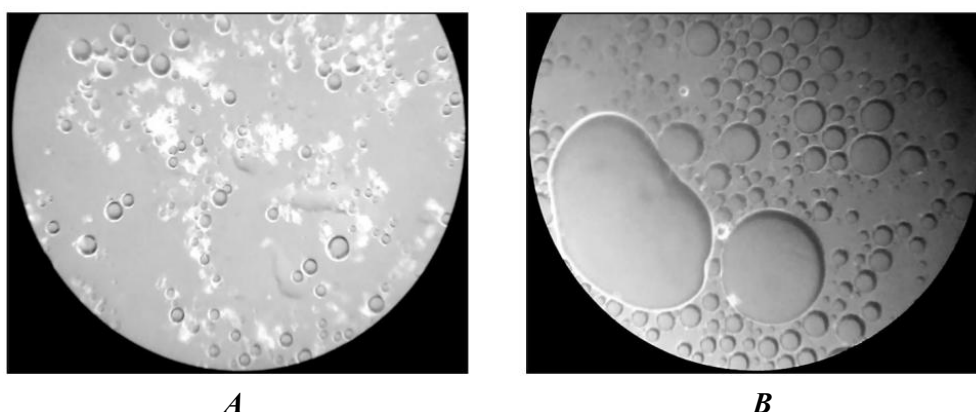


**Figura 5.13. Distribuția microcapsulelor cu ulei de nucă și stabilitatea la acțiunea mecanică:**  
 *$d < 30 \mu\text{m}$  – foarte stabile;  $d = 30...65 \mu\text{m}$  – stabile;  $d > 65 \mu\text{m}$  – nestabile.*

Fracția de volum a microcapsulelor în funcție de diametrul lor respectă, cu unele abateri, curba de distribuție normală (figura 5.13),  $\text{PDI} > 0,2$ . Prin agitarea energetică timp de câteva ore, s-a constatat că stabilitatea microcapsulelor depinde în mod apreciabil de dimensiunile lor doar în timpul acțiunii mecanice prelungite, care nu corespund intensității proceselor musculare din

sistemul digestiv uman. Modelarea parametrilor stomacului duce în mod indubitabil la concluzia privind stabilitatea ridicată a microcapsulelor în condițiile corespunzătoare. În mediul puternic acid, în prezența enzimelor corespunzătoare (preparatele comerciale „Mezim-forte” și „Triferment”), la temperatura 37°C și agitarea mecanică lentă, nu a fost observată o oarecare distrugere a microcapsulelor, indiferent de dimensiunile acestora.

Lizarea rapidă a pereților microcapsulelor se observă în condițiile corespunzătoare intestinului subțire (duodenului). Fiind plasate în condițiile intestinului subțire, doar peste cinci minute microcapsulele nu mai există, revenind la starea de emulsie instabilă U/A, care în timp foarte scurt suferă coalescența (figura 5.14).



**Figura 5.14.** Microcapsule cu ulei de nucă după simulare în „duoden”: *A* – 1 minut; *B* – 5 minute.

Ca urmare a modelării procesului de trecere a microcapsulelor prin sistemul digestiv uman s-a demonstrat că compușii biologic activi încapsulați în MC cu pereții formați din sistemele GelAlg și GelHUr ajung la intestinul subțire în forma lor intactă. Doar în intestinul subțire microcapsulele suferă distrugerea chimică a pereților și eliberează în mediu conținutul lor.

Astfel, prin utilizarea microcapsulelor cu pereții GelAlg și GelHUr, compușii biologic activi din grupa lipidelor sunt livrați în organul-țintă (intestinul subțire), realizându-se unul dintre avantajele de bază ale microîncapsulării: „targeted delivery”. Respectiv, microcapsularea lipidelor-CBA asigură efectul de prolongare a funcționalității acestor compuși biologic activi.

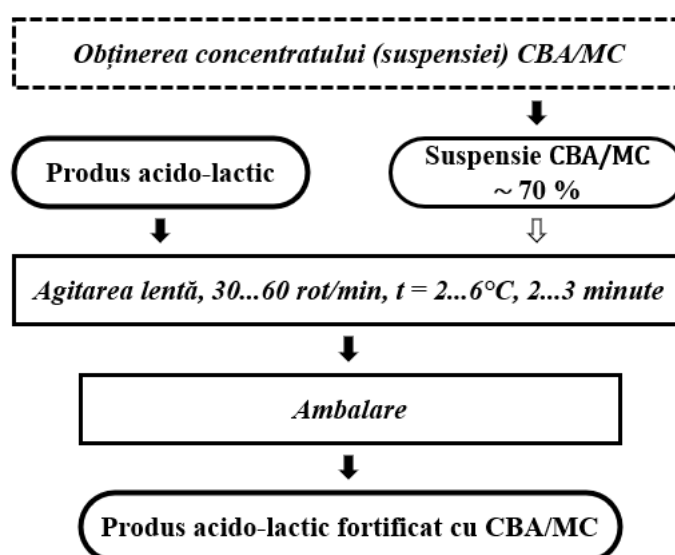
#### **5.4. Tehnologia unor produse lactate cu AGPNS și carotene microîncapsulate**

Produsele lactate, în mod absolut firesc, se caracterizează prin conținutul sezonier de compuși biologic activi, respectiv, caracterul sezonier va avea și funcționalitatea naturală a acestor produse. De exemplu, conținutul de carotene din lapte în timp de iarna este de aproximativ 4 ori mai mic decât vara, ceea ce se reflectă direct asupra conținutului carotenelor în laptele integral și

în produsele lactate fermentate (370). Îmbogățirea produselor lactate cu CBA în vederea creșterii valorii lor nutriționale și funcționale se realizează în diverse moduri (66). În mai multe cazuri, metodele tradiționale nu pot asigura păstrarea activității biologice și vitaminoase a compușilor biologic activi în sistemele alimentare.

Produsele de fermentare acidă a laptelui reprezintă un mediu alimentar potrivit pentru încorporarea microcapsulelor cu CBA, deoarece în aceste produse se creează condiții de aciditate,  $\text{pH} < 4$ , confortabile pentru menținerea stabilității agregative a microcapsulelor.

Îmbogățirea produselor lactate fermentate cu compuși biologic activi a fost studiată în exemplul suplimentării probelor de chefir și de smântână cu microcapsule, având conținut de ulei de nucă și concentrat de carotene, obținute conform procedurii (98). Concentratul de microcapsule, obținut după schema reprezentată în figura 5.8, urmează a fi introdus imediat în produsul acidolactic – chefir sau smântână consistentă. Protocolul de introducere a microcapsulelor este reprezentat schematic în figura 5.15.



**Figura 5.15. Schema administrării suspensiei microcapsulelor cu compuși biologic activi lipidici în produsele acido-lactice (smântână, chefir)**

Au fost obținute două tipuri de microcapsule,  $\text{MC}_1$  și  $\text{MC}_2$ . Pentru prepararea conținutului biologic activ al nucleului MC, bogat în carotenoide, a fost utilizat concentratul comercial de  $\beta$ -caroten („Bosko”, Krasnodar, Rusia). Conținutul experimental de  $\beta$ -caroten, determinat prin metoda spectrofotometrică, a constituit  $0,837 \pm 0,002 \%$ , depășind cu mult limita de solubilitate a carotenelor în grăsimi ( $0,02$ – $0,05 \%$ ) (371), (372), ceea ce indică o stare suprasaturată a sistemului.

Concentratul a fost diluat cu UFS rafinat până la  $0,167 \pm 0,001\%$  sau  $0,209 \pm 0,001\%$  caroten. Caracteristicile fizice ale microcapsulelor sunt prezentate în tabelul 5.8.

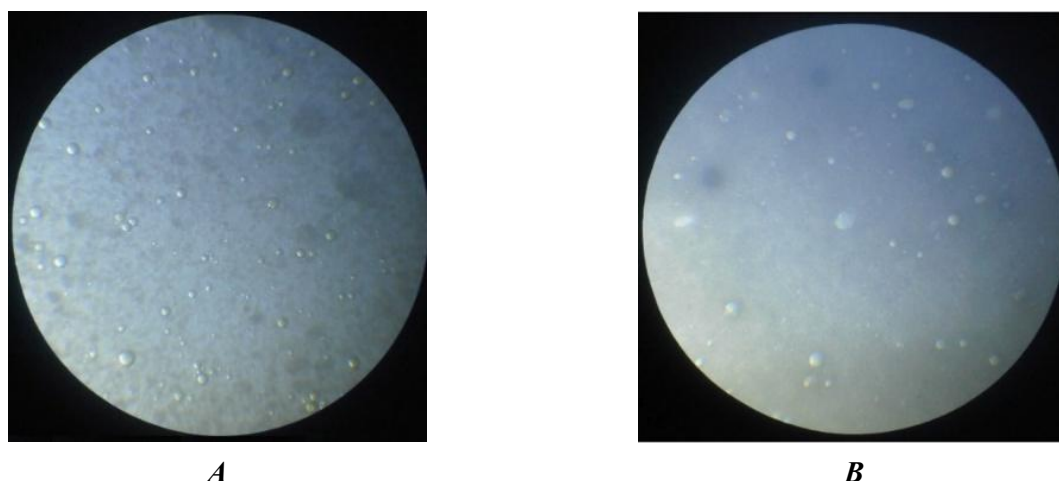
**Tabelul 5.8. Caracteristicile microcapsulelor cu ulei microîncapsulat vitaminizat**

| MC              | d, $\mu\text{m}$ | $\langle d \rangle$ , $\mu\text{m}$ | $R_U$ , $\mu\text{m}$ | $\beta\text{C}$ în UV, % | UMV/MC          | $\beta\text{C}$ în MC, $\text{mg}\cdot(100\text{g})^{-1}$ |
|-----------------|------------------|-------------------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------|---|
| MC <sub>1</sub> | 5...50           | 10                                  | $4,63 \pm 0,08$       | $0,167 \pm 0,001$        | $0,77 \pm 0,04$ | $129 \pm 7$   |
| MC <sub>2</sub> | 2...20           | 5                                   | $2,13 \pm 0,08$       | $0,209 \pm 0,001$        | $0,62 \pm 0,04$ | $130 \pm 9$   |

**Notă:** MC – microcapsule; d – intervalul de diametre;  $\langle d \rangle$  – diametrul mediu al microcapsulelor determinat prin microscopie optică ca valoare maximală a distribuției dimensionale;  $R_U = \{0,5 \cdot \langle d \rangle - L\}$  – raza sferei interne (nucleului din ulei); L – grosimea peretelui MC,  $0,37 \mu\text{m}$ ;  $\beta\text{C}$  –  $\beta$ -caroten; UMV/MC – fracția de masă a uleiului microîncapsulat vitaminizat în microcapsule.

Pentru studiu au fost utilizate mostre de produse lactate cu un conținut diferit de grăsimi: lapte integral (2,5%), frișcă (10%), K0 – chefir degresat, K2,5 – chefir cu 2,5% grăsime, S10 – smântână cu un conținut de grăsime de 10%, S20 – smântână de 20%. Microcapsulele au fost introduse în raport de 2,5 g la 100 g de produs, ceea ce corespunde cu  $(3,3 \pm 0,3)$  mg de  $\beta$ -caroten. Această cantitate este aproximativ egală cu 1/3 din doza zilnică recomandată de caroten care constituie circa 10 mg (373).

Încercarea de a încorpora microcapsulele în lapte și în frișcă a condus la distribuția neuniformă a MC în volumul produsului alimentar, uneori chiar la formarea straturilor și cheagurilor din microcapsule. Produsele lactate fermentate, chefirul și smântâna, s-au dovedit a fi medii mult mai potrivite pentru microcapsulele încorporate în ele decât laptele integral. Consistența vâscoasă a chefirului și a smântânii permite ca microcapsulele să fie distribuite uniform în volumul lor fără modificarea caracteristicilor organoleptice ale acestora (figura 5.16).



**Figura 5.16. Produsele acido-lactice cu microcapsule încorporate:**  
*A – chefir K2,5; B – smântână S20.*

Pentru determinarea influenței MC asupra duratei de păstrare a produselor reprezintă interes evaluarea stabilității cinetico-mecanice a microcapsulelor, precum și rezistența produsului

în întregime la stratificare. Produsele lactate, în care au fost încorporate microcapsulele, au fost depozitate la +4...+6°C. Studiile microscopice au arătat că microcapsulele sunt foarte stabile în produsele lactate fermentate timp de două până la patru săptămâni (165), (366).

Distrugerea vizibilă a microcapsulelor are loc doar după degradarea microbiologică a produsului alimentar, ceea ce conduce în mod evident la distrugerea enzimatică și oxidativă a învelișurilor protein-polizaharidice. Introducerea microcapsulelor în produsul lactat fermentat nu poate să reducă considerabil durata de valabilitate a acestuia. Distrugerea spontană a pereților microcapsulelor, însoțită de eliberarea CBA în mediul produsului alimentar, respectiv, destabilizarea inevitabilă a CBA, nu are loc în perioada de valabilitate a produsului lactat fermentat (366). Încorporarea microcapsulelor tip MC<sub>1</sub> cu diametrul de 5...50 microni în produsele studiate este însoțită de distribuția lor neuniformă în volumul produsului, ceea ce denotă o modificare nedorită a texturii și aspectului. O astfel de deteriorare a structurii se manifestă cel mai pronunțat pentru chefirul degresat K0 în care microcapsulele formează o fază separată ce constă din aglomerări mari vizibile. Microcapsulele mai mici, MC<sub>2</sub>, care au un diapazon de diametre 2...20 microni, se distribuie uniform în chefirul K2,5, precum și în probele de smântână S10 și S20, în timp ce în chefirul degresat K0, de asemenea, se observă stratificarea lentă a MC.

Factorii decisivi care influențează distribuția uniformă a microcapsulelor în produsul alimentar sunt textura, conținutul de grăsime și viscozitatea, precum și dimensiunea microcapsulelor. Distribuția uniformă a microcapsulelor în volumul produsului ar trebui să depindă de raportul dintre densitățile produsului alimentar și ale microcapsulelor, precum și de textura produsului. Totuși, valorile densităților produselor studiate mai degrabă vorbesc în favoarea efectului predominant al texturii (tabelul 5.9).

**Tabelul 5.9. Caracteristici fizico-chimice și valoarea nutritivă a produselor acido-lactice înainte și după introducerea microcapsulelor**

| Produsul  | $\rho, \text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ | pH          | Pr.,% | Gr.,% | HC,% | FA,% | $\text{kJ}\cdot(100\text{g})^{-1}$ |
|-----------|-------------------------------------|-------------|-------|-------|------|------|------------------------------------|
| 1         | 2                                   | 3           | 4     | 5     | 6    | 7    | 8                                  |
| K0        |                                     |             | 3,0   | 0,0   | 4,0  | 0,0  | 119                                |
| K0 + MC   | 1,02 ± 0,01                         | 4,32 ± 0,03 | 3,3   | 1,5   | 3,9  | 0,1  | 179                                |
| K2,5      |                                     |             | 2,8   | 2,5   | 4,7  | 0,0  | 220                                |
| K2,5 + MC | 1,03 ± 0,01                         | 4,49 ± 0,03 | 3,1   | 4,0   | 4,6  | 0,1  | 280                                |
| S10       |                                     |             | 3,0   | 10,0  | 2,9  | 0,0  | 470                                |
| S10 + MC  | 1,07 ± 0,01                         | 4,36 ± 0,03 | 3,3   | 11,3  | 2,8  | 0,1  | 523                                |
| S20       |                                     |             | 2,8   | 20,0  | 2,9  | 0,0  | 837                                |
| S20 + MC  | 1,04 ± 0,01                         | 4,27 ± 0,03 | 3,1   | 21,0  | 2,8  | 0,1  | 878                                |

**Notă:** K0, K2,5 - chefir 0% și 2,5% grăsime; S10, S20 - smântână 10%, 20% grăsime; MC – microcapsule.

Stratificarea microcapsulelor se manifestă anume în proba cu cea mai mică densitate (K0), deși în cazul unui efect notabil al densității asupra fenomenului stratificării MC ar fi normală o relație inversă. Parametrii fizico-chimici și valoarea nutrițională a produselor înainte și după introducerea microcapsulelor cu ulei de nucă și  $\beta$ -caroten diferă semnificativ.

Aceste date demonstrează că utilizarea  $\beta$ -carotenului microîncapsulat, pe lângă vitaminizare, contribuie la creșterea conținutului proteinelor cu 0,3%; grăsimilor cu 1,0...1,3%; creșterea fibrelor alimentare (FA) de la 0,0% până la 0,1%. Conținutul de carbohidrați liberi (HC) suferă o reducere ușoară cu 0,1%.

Matricele alimentare bifazice cu viscozitate înaltă (chefir, smântână, maioneze și sosuri) vor contribui la distribuirea uniformă și constantă a MC. Important este că în pofida așteptărilor densitatea produsului alimentar nu are un rol semnificativ pentru uniformitatea structurală a produsului acido-lactic fortificat cu compuși biologic activi în formă microîncapsulată.

Microcapsulele cu diametrele cuprinse între 2 și 20 micrometri sunt mai potrivite pentru suplimentarea produselor alimentare cu CBA decât fracțiunea cu dimensiuni mai mari, 5...50 micrometri. MC mici, de 2...20 micrometri, nu formează o fază vizibilă separată și nu reduc proprietățile senzoriale ale produsului alimentar.

Încorporarea compușilor biologic activi, inclusiv în formă microîncapsulată, duce, de fapt, la crearea produselor alimentare lactate care îmbină aspectul și gustul tradițional cu activitatea biologică ridicată pe toată durata de valabilitate a produsului (236).

## Concluzii la Capitolul 5

1. S-a demonstrat că modelul de coacervare nu reflectă în totalitate adevăratul mecanism de formare a fazei de biopolimeri pe suprafața picăturii de grăsime. Modelarea computațională a arătat că numărul de grupări hidrofobe, care pot fi efectiv adsorbite de faza lipidică este mic, cca 8,5% din masa gelatinei. Totodată, starea de poli-zwitterion  $\text{Gel}^{+>-}$  nu admite **coacervarea** în sensul direct al cuvântului. Astfel, se propune un mecanism în care la formarea peretelui de gelatină au loc fenomene de adsorbție și repulsie electrostatică moderată.
2. A fost obținută experimental diagrama de stare a sistemului gelatină–acid poliuronic, care urmărește starea complexilor gelatină–acid poliuronic în funcție de raportul maselor componentelor și de pH. Punctul singular pe diagrama sistemului gelatină–acid poliuronic este punctul izoelectric, IEP, în care are loc stabilizarea complexilor  $\text{GelAlg}^0$  și  $\text{GelHUr}^0$  în formă de suspensii. Totodată, același punct IEP este un punct de destabilizare a pereților MC tip rezervor.
3. Sarcina electrostatică moderată a pereților biopolimerici ai microcapsulelor este cauzată de formarea stratului dublu electric în rezultatul interacțiunii electrostatice dintre doi biopolimeri diferiți. Această sarcină moderată asigură microcapsulelor o stabilitate agregativă mai mare decât în cazul complexilor neutri  $\text{GelAlg}^0$ . În cazul neutralizării sau a încărcării excesive a biopolimerilor se desfășoară procese de degradare, asemănătoare cu fenomenele de LLPS, coagulare și coalescență, caracteristice sistemelor coloidale.
4. Rolul determinant al sarcinii pentru stabilitatea agregativă a compoziției din biopolimeri conduce la concluzia că în procesul de obținere a microcapsulelor în laborator și la scară industrială este rațional și informativ controlul electrochimic al procesului. Sistemul elaborat de control electrochimic face posibilă monitorizarea desfășurării etapelor-cheie ale microîncapsulării.
5. A fost elaborată tehnologia de microîncapsulare a lipidelor cu AGPNS în stare lichidă, care permite obținerea microcapsulelor de tip „rezervor” cu pereți formați secvențial din gelatină și poliuronați. Procedura este optimizată prin eliminarea etapelor intermediare și control electrochimic, ceea ce reduce consumul de resurse și mărește eficiența procesului. Stabilizarea se realizează prin formarea unui complex gelatină–poliuronat pe interfețele emulsiei, ceea ce asigură protecția CBA și compatibilitatea microcapsulelor cu produsele alimentare, în special cu lactatele.
6. Utilizarea unui model dinamic al tractului gastrointestinal uman a arătat că microcapsulele cu peretele gelatină–alginat trec practic nedeteriorate prin cavitatea bucală și prin mediul acid al stomacului. Totodată, ele își eliberează conținutul, ajungând în intestinul subțire. S-a confirmat că microcapsulele obținute prin tehnologia elaborată contribuie la prolongarea proprietăților fiziologice ale lipidelor biologic active în produsele lacto-acide.

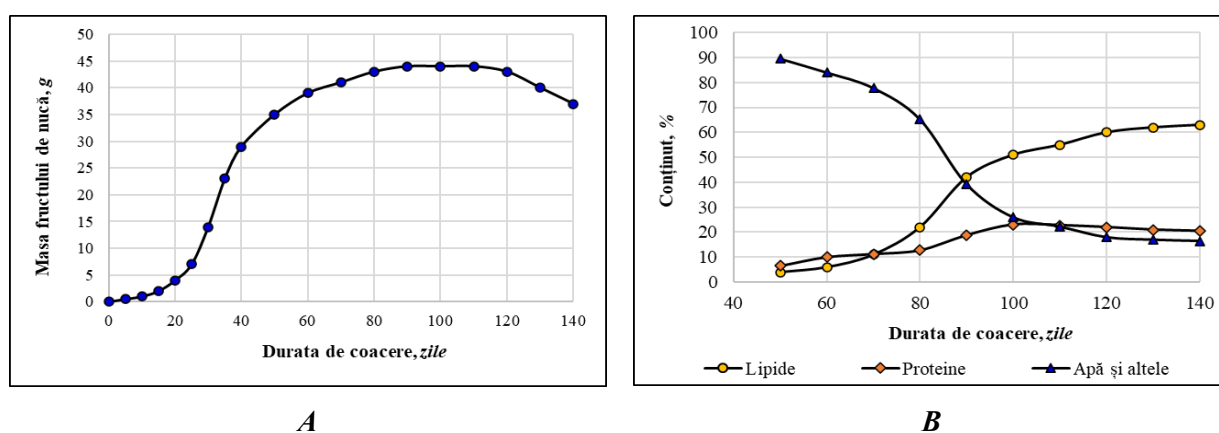


Schimbarea perpetuă a masei și compoziției sistemului biologic se datorează pătrunderii componentelor chimici ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , etc.) în sistem, precum și evacuării oxigenului molecular. În pofida faptului că reacția termochimică are loc în interiorul organismului viu (*in vivo*), componenții chimici din mediul în stare lichidă ( $\text{H}_2\text{O}$ ) și gazoasă ( $\text{CO}_2$ ), care se consumă în procesul de biosinteză, precum și oxigenul eliberat, nu fac parte din sistemul biologic.

Acceptarea non-coincidenței hotarelor sistemelor de diferite tipuri (închis/deschis, simplu/complex, model/real) – termochimice, biologice, ecosistemului – face posibilă interpretarea corectă a termodinamicii proceselor și compoziției chimice a sistemelor biologice.

Calcularea valorilor funcțiilor termodinamice pentru obiectele biologice necesită luarea în considerație a dinamicii de creștere a masei acestora în timpul coacerii. O altă problemă pentru termodinamica compușilor biologic activi în plante este faptul că procesele interdependente de creștere a masei și de modificare a compoziției chimice a diferitelor părți ale plantei au loc simultan, neliniar, deseori spasmodic, complicând interpretarea datelor referitoare la termodinamica proceselor de coacere și de maturare.

Creșterea intensă a masei fructului JRL are loc în zilele 30...60 după fecundare. În această perioadă fructul atinge o bună parte (circa 90%) a masei sale maxime (figura 6.2, A). Totodată, variația considerabilă a compoziției chimice a fructului nu coincide cu saltul de creștere a masei fructului, 30...60 zile, având loc în perioada de 70...100 zile de la fecundare (figura 6.2, B).



**Figura 6.2. Schimbarea masei (A) (375) și compoziției (B) (376) fructului de nucă (cu pericarp)**

Compararea cineticii de acumulare a masei (figura 6.2, A) și de schimbare a compoziției chimice a fructului (figura 6.2, B) demonstrează că în etapa inițială de coacere fructul își acumulează masa preponderent în forma rezervelor de apă. Este o observație importantă, deoarece apa este un mediu agresiv pentru substanțele biologice active din diferite clase, contribuind fie la hidroliza compușilor biologic activi hidrosolubili (40), (316), (317), fie participând la formarea emulsiilor ușor oxidabile (65). Prin urmare, biosinteza compușilor funcționali în etapa de

acumulare a apei este termodinamic defavorizată, devenind favorizată doar după biosinteza bunei părți de compuși nutritivi de bază, care sunt mai stabili decât CBA, și care, prin acumularea lor, contribuie la scăderea activității apei. Modelul propus găsește o confirmare parțială în literatura consultată, deoarece materialele vegetale sunt de obicei studiate mai aproape de stadiul de maturitate. În particular a fost demonstrat că în semințele de Canola conținutul unor AGNS considerați CBA (oleic, linoleic, arahidonic) crește moderat pe parcursul coacerii, în timp ce conținutul AGS pur nutritivi (stearic, palmitic) se micșorează (377). Conținutul AGNS crește în funcție de masa semințelor (adică, indirect, a gradului de coacere) și în arahide (378). Diferențe între dinamica acumulării masei și variației compoziției chimice se observă și în etapa finală a coacerii fructelor. În zilele 120...140 fructul de nucă își pierde masa datorită uscării mezocarpului. În aceeași perioadă conținutul de apă din miez rămâne constantă.

Modelul matematic, care ar descrie din punct de vedere termodinamic procesul de acumulare a compușilor biologic activi pe parcursul coacerii, prezintă mare interes pentru estimarea stabilității sistemelor alimentare.

Reieșind din entalpiile molare standard de formare a  $H_2O$ ,  $CO_2$  (379), (257) și a acidului linoleic (octadeca-9,12-dienoic) (380), entalpia molară de biosinteză a acidului linoleic,  $\Delta H_{BS}^{\theta}(C_{18}H_{32}O_2) = +11033 \text{ kJ}$ . Biosinteza acidului linoleic reprezintă un proces endotermic, deoarece pentru producerea unui mol (280,5 grame) de acid linoleic organismul vegetal asimilează **cel puțin** 11033 kJ de energie solară pentru orice valoare a randamentului cuantic de fotosinteză  $\Phi(\lambda)$ . Entalpia standard de formare a acidului linoleic din elemente,  $\Delta H_f^{\theta}(C_{18}H_{32}O_2) = -635 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , reprezintă o parte mică din mărimea sumei entalpiilor de formare a compușilor exotermici necesari pentru fotosinteză:  $\Sigma H_f^{\theta}(18CO_2, 16H_2O) = -11668 \text{ kJ}$ .

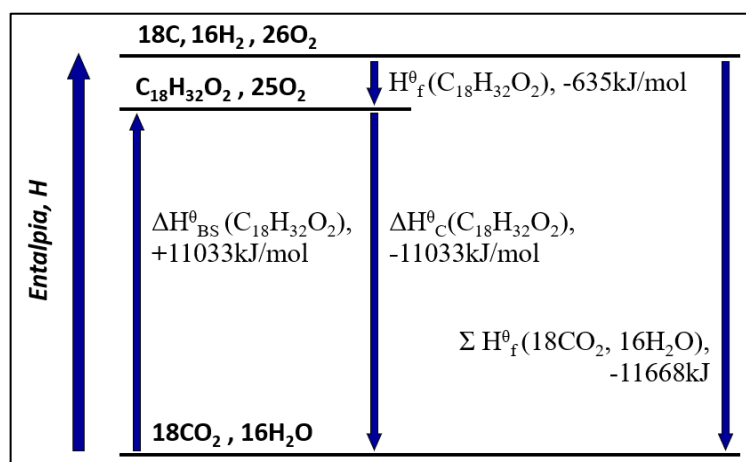


Figura 6.3. Diagrama entalpică a proceselor de formare, biosinteză și combustie a acidului linoleic (AGPNS)

Biosinteza este eficientă din punct de vedere energetic dacă compușii sintetizați sunt endotermici față de amestecul materiei prime necesare. În cadrul elaborării modelului se propune parametrul  $EE_{BS}$ , ce caracterizează eficiența energetică a biosintezei și reprezintă raportul entalpiei standard de biosinteză a compusului din  $H_2O$ ,  $CO_2$  și  $N_2$ ,  $\Delta H_{BS}^\theta$ , către inversul sumei entalpiilor standard de formare a cantităților corespunzătoare de  $CO_2$  și  $H_2O$  din substanțele simple ( $C$ ,  $H_2$ ,  $O_2$ ).  $EE_{BS}$  se exprimă prin relația valabilă pentru orice compus nutritiv sau funcțional:

$$EE_{BS} = \frac{\Delta H_{BS}^\theta}{\Delta H_{BS}^\theta - \Delta H_f^\theta} \cdot 100\%. \quad (6.1)$$

Valoarea  $EE_{BS}$  pentru acidul linoleic alcătuieste 94,6%.

Calcularea entalpiei de biosinteză,  $\Delta H_{BS}^\theta$ , este posibilă utilizând legea Lavoisier-Laplace prin inversarea valorii cunoscute a entalpiei de combustie (288):

$$\Delta H_{BS} = - \Delta H_C \quad (6.2)$$

Astfel, utilizând ecuațiile (6.1) și (6.2) pentru fenilalanina  $C_9H_{11}NO_2$  ( $\Delta H_f^\theta = -461 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,  $\Delta H_C^\theta(C_9H_{11}NO_2) = -4664 \text{ kJ}$ ), obținem  $EE_{BS}(C_9H_{11}NO_2) = 91\%$ . La prima vedere, această valoare nu este cu mult mai mică decât  $EE_{BS}$  pentru acidul gras nesaturat (circa 95%). Dar de fapt acest lagul de circa 4% între  $EE_{BS}$  (aminoacid) față de  $EE_{BS}$  (AGNS) este doar aparent nesemnificativ. Din Principiul II urmează că anume atingerea ultimelor procente din randament necesită cel mai mare efort, acumularea acestor procente având eficiență exergonică joasă („low exergic efficiency”) (381).

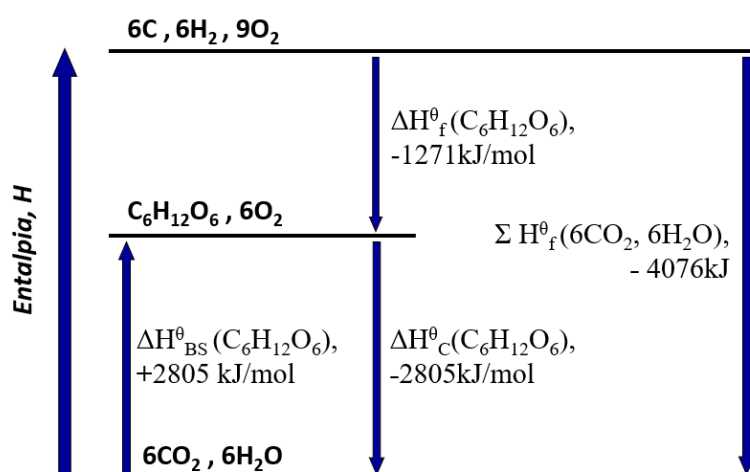


Figura 6.4. Diagrama entalpică a proceselor de biosinteză a glucozei

Calcululele similare pentru glucoză demonstrează că  $EE_{BS}(C_6H_{12}O_6) = 69\%$ , fiind foarte mică în comparație cu valorile respective pentru acizii grași și aminoacizi (tabelul 6.1).

În prezent s-a acumulat un volum semnificativ de date privind proprietățile și constantele termodinamice ale compușilor de origine naturală (382), (383), (379), Evident, aceste date au fost determinate *in vitro*, în afara sistemelor biologice reale, dar, conform figurii 6.1, pot fi aplicate pentru aceste sisteme întocmai. Tabelul 6.1, coloanele 2-4, include datele bibliografice privind valoarea  $\Delta H_f^\theta$ ,  $S_f^\theta$ ,  $\Delta H_C^\theta$ .

**Tabelul 6.1. Constantele termodinamice ale unor nutrienți și CBA (383)**

| Compus   | Formulă brută   | $M_R$    | $\Delta H_f^\theta$<br>kJ·mol <sup>-1</sup> | $S_f^\theta$<br>J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> | $\Delta H_C^\theta$<br>kJ·mol <sup>-1</sup> | $\Delta H_{BS}^\theta$<br>kJ·mol <sup>-1</sup> | $\Delta S_{BS}^\theta$<br>J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> | $\Delta G_{BS}^\theta$<br>kJ·mol <sup>-1</sup> | $\Delta H_{BS}^{SP}$<br>kJ·kg <sup>-1</sup> | $\Delta G_{BS}^{SP}$<br>kJ·kg <sup>-1</sup> |
|--|---|----------|---|--|---|--|--|--|---|---|
| <i>1</i>                                       | <i>2</i>  | <i>3</i> | <i>4</i>                                    | <i>5</i>   | <i>6</i>                                    | <i>7</i>                                       | <i>8</i>   | <i>9</i>                                       | <i>10</i>                                   | <i>11</i>                                   |
| <b>Aminoacizi</b>                              |   |          |   |  |   |  |  |  |   |   |
| Glicină  | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>                 | 75       | -528  | 103  | -975  | 975  | -135   | 1015   | 13000                                       | 13535                                       |
| Asparagină                                     | C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>   | 133      | -789  | 175  | -1929                                       | 1931   | -231   | 2000   | 14519                                       | 15035                                       |
| Phen (384)                                     | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>                | 165      | -461  | 214  | -4646                                       | 4658   | 11   | 4655   | 28230                                       | 28211                                       |
| Triptophan (385)                               | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 204      | -416  | 251  | -5628                                       | 5634   | -50  | 5649   | 27618                                       | 27691                                       |
| <b>Glucide</b>                                 |   |          |   |  |   |  |  |  |   |   |
| C <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> | C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>                  | 60       | -484  | 158  | -875  | 876  | 0  | 876  | 14600                                       | 14600                                       |
| Glucosa  | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>                 | 180      | -1271                                       | 209  | -2805                                       | 2809   | -265   | 2888   | 15606                                       | 16044                                       |
| Fructoza (386)                                 | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>                 | 180      | -1266                                       | 218  | -2810                                       | 2814   | -256   | 2890   | 15633                                       | 16057                                       |
| Zaharoza                                       | C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>               | 342      | -2222                                       | 360  | -5645                                       | 5652   | -518   | 5806   | 16526                                       | 16978                                       |
| <b>Lipide</b>                                  |   |          |   |  |   |  |  |  |   |   |
| Acid Butiric                                   | C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>                  | 88       | -584  | 225  | -2184                                       | 2186   | 114  | 2152   | 24841                                       | 24455                                       |
| Acid Miristic                                  | C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>                | 228      | -834  |  | -8676                                       |  |  |  |   |   |
| Acid Palmitic                                  | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                | 256      | -848  | 452  | -9978                                       | 10032  | 623  | 9846   | 39188                                       | 38462                                       |
| Acid Linoleic                                  | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                | 280      | -635  | dnd  | dnd   | 11033  | dnd  | ---  | ---   | ---   |
| Acid Oleic                                     | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                | 282      | -765  | dnd  | -11161                                      | 11189  | dnd  | ---  | ---   | ---   |
| Acid Stearic                                   | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>                | 284      | -937  | 436  | -11291                                      | 11303  | 654  | 11108  | 39799                                       | 39113                                       |
| <b>Nucleotide</b>                              |   |          |   |  |   |  |  |  |   |   |
| Uracil   | C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>   | 112      | -430  | dnd  | -1716                                       | 1718   | -368   | 1828   | 15339                                       | 16318                                       |
| Tiamin   | C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>   | 126      | -466  | dnd  | -2369                                       | 2362   | -345   | 2465   | 18746                                       | 19561                                       |
| Citozina                                       | C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O                | 111      | -224  | dnd  | -2063                                       | 2067   | -345   | 2170   | 18622                                       | 19549                                       |
| Adenina (382)                                  | C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub>                  | 135      | +95   | 151  | -2779                                       | 2780   | -293   | 2867   | 20593                                       | 21239                                       |
| Guanina (387)                                  | C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> O                | 151      | -189  | 160  | -2498                                       | 2496   | -386   | 2611   | 16530                                       | 17292                                       |

**Notă:** datele prezentate au fost recalulate de autor (în special, coloanele 7-11) prin utilizarea datelor bibliografice; **dnd** – datele bibliografice nu au fost disponibile.

Valorile  $EE_{BS}$  demonstrează că la biosinteza hidraților de carbon acumularea energiei are loc cu mult mai ușor decât la biosinteza grăsimilor și aminoacizilor, adică glucidele posedă eficiență exergonică ridicată (6). Prezintă interes și datele privind valoarea  $EE_{BS}$  pentru bazele azotice, acestea fiind purtătorii informației ereditare. Pentru cea mai exotermică bază azotică, tiamina  $EE_{BS} = 83,5\%$ . Adenina, unica bază azotată fără oxigen, reprezintă un compus endotermic cu  $\Delta H_f^\theta = +95 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Valoarea calculată a  $EE_{BS}$  pentru adenina C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub> constituie 103%, adică,

adenina este mai bogată în energie decât amestecul de substanțe simple C, H<sub>2</sub> și N<sub>2</sub> ce denotă caracterul estimativ al parametrului în cauză. Dezavantajul parametrului EE<sub>BS</sub> se datorează inclusiv faptului că pentru determinarea lui nu se ia în calcul factorul entropic.

Necesitatea luării în considerație a factorului entropic impune utilizarea potențialului termodinamic Gibbs, care reprezintă lucrul util necesar pentru realizarea procesului de biosinteză:

$$\Delta G_{BS}^{\theta} = \Delta H_{BS}^{\theta} - T\Delta S_{BS}^{\theta}. \quad (6.3)$$

Mărimea  $\Delta G_{BS}^{sp}$ , exprimată în  $kJ \cdot kg^{-1}$ , reprezintă valoarea potențialului Gibbs al procesului de producere pe cale de biosinteză a unui kg de compus nutritiv sau biologic activ, reieșind din CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O și N<sub>2</sub>, pe cale realizabilă din punct de vedere al consumului de energie, și mai poate fi numită „lucru specific de biosinteză” al substanței nutritive:

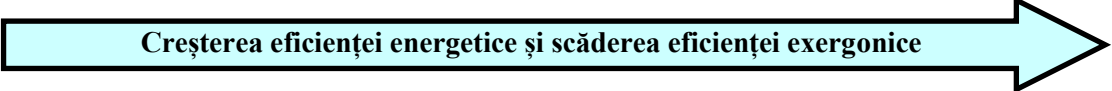
$$\Delta G_{BS}^{sp} = \frac{\Delta G_{BS}^{\theta}}{M} \cdot 1000 = \frac{\Delta H_{BS}^{\theta} - T\Delta S_{BS}^{\theta}}{M} \cdot 1000. \quad (6.4)$$

Generalizarea valorilor EE<sub>BS</sub> și  $\Delta G_{BS}^{sp}$  pentru compuși diferiți conduce la o serie impresionantă, ce caracterizează lucrul specific, adică, eficiența biosintezei (adică, **ineficiența** exergonică) a „cărămizilor vieții” (tabelul 6.2).

**Tabelul 6.2. Parametrii termodinamici de bază ai claselor compușilor nutritivi**

| Funcția TD                               | Glucide      | Nucleotide   | Aminoacizi    | Acizi grași  |
|--|--------------|--------------|---------------|--------------|
| $\Delta H_f^{\theta}, kJ \cdot mol^{-1}$ | -2200...-500 | -450...+100  | - 800...- 400 | -1000...-800 |
| EE <sub>BS</sub> , %                     | < 70%        | ~ 85%        | ~ 90%         | ~ 95%        |
| $\Delta G_{BS}^{sp}, MJ \cdot kg^{-1}$   | 16,0-17,0    | 16,6-21,2 MJ | 13,5-28,2     | 38,4-39,1    |

**Creșterea eficienței energetice și scăderea eficienței exergonice**



Șirul prezentat în tabelul 6.2 demonstrează că plantele acumulează energia sub formă de lipide și proteine doar în volum limitat. Anume semințele părăsesc organismul parental și trebuie să fie asigurate la maxim cu energie într-un volum minim. Acest set de condiții corespunde cu starea cu entropie joasă, cea mai puțin probabilă. În figura 6.5 se evidențiază corelația dintre eficiența proceselor de biosinteză a lipidelor, aminoacizilor, carbohidraților și nucleotidelor în funcție de conținutul de oxigen din acești compuși.

Vizualizarea funcției  $\Delta G_{BS}^{sp} = f \{ \omega(O) \}$  confirmă că planta sintetizează glucide mai ușor decât nutrienți din alte clase, cauza fiind starea mai saturată cu oxigen a glucidelor. Biosinteza glucidelor este facilitată termodinamic și în acord cu principiul energiei libere minime. Conform acestuia, organele de reproducere vegetativă (de exemplu, tuberculii sau mugurii), volumul cărora este mai puțin restricționat decât volumul semințelor plantelor gimnosperme și angiosperme, acumulează energia „diluată” preponderent în forma hidraților de carbon (257).

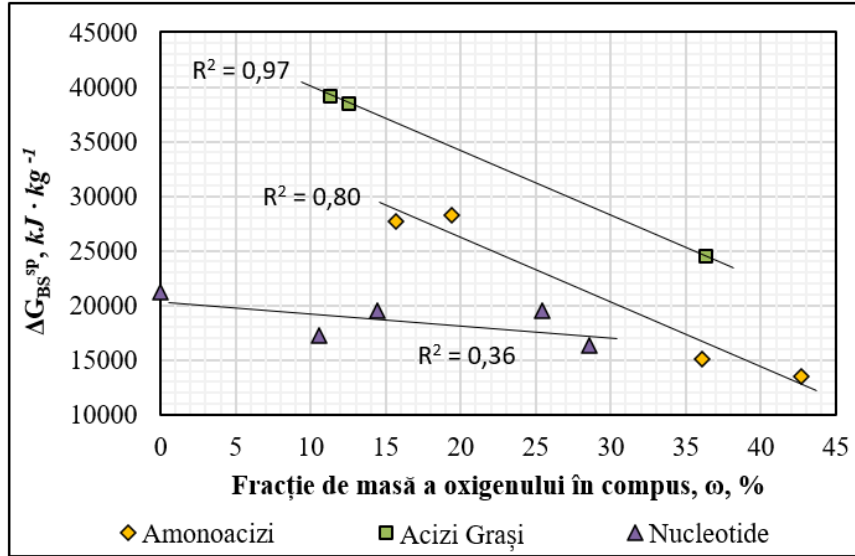


Figura 6.5. Lucrul specific de biosinteză,  $\Delta G_{BS}^{SP}$ , al compușilor în funcție de  $\omega$  (O)

Valorile credibilității  $R^2$  pentru acizii grași ( $\approx 0,97$ ) și aminoacizi ( $\approx 0,80$ ) indică o relație liniară vizibilă între  $\omega(O)$  și  $\Delta G_{BS}^{SP}$ , sugerând un control structural simplu al variației energetice. În schimb, pentru nucleotide ( $R^2 < 0,50$ ), corelația liniară de facto dispăre, ceea ce arată că  $\omega(O)$  nu constituie factorul determinant, fiind necesară o abordare multivariabilă. Din figura 6.5 se trag concluzii referitor la starea termodinamică a compușilor biologic activi și a nutrienților în general:

- ✓ Fixarea azotului atmosferic și trecerea lui în formă redusă,  $N^0 \rightarrow N^{-1} \dots N^{-3}$ , conduce la creșterea lucrului specific de biosinteză,  $\Delta G_{BS}^{SP}$ ;
- ✓ Biosinteza acizilor grași este un proces termodinamic defavorizat;
- ✓ Sistemul biologic recurge în mod programat genetic la procesul energetic non-convenabil de biosinteză a proteinelor și grăsimilor, deoarece acestea sunt critic necesare pentru reproducerea organismului, supraviețuirea speciei și a ecosistemului.

Fiind mărimi aditive, valorile  $\Delta G_{BS}^{SP}$  de asemenea pot fi exprimate prin ponderea lor în sistemele policomponente. **Lucrul specific sumar de biosinteză,  $\Sigma \Delta G_{BS}^{SP}$** , reprezintă lucrul util consumat pentru biosinteza unui kg de materie primă vegetală (modelată):

$$\Sigma \Delta G_{BS}^{SP} \approx \Delta G_{BS(Palm)}^{SP} \cdot \Omega_{(lipide)} + \Delta G_{BS(Phen)}^{SP} \cdot \Omega_{(proteine)} \quad (6.5)$$

în care:  $\Delta G_{BS(Palm)}^{SP} = +38462 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $\Delta G_{BS(Phen)}^{SP} = +28211 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $\Omega_{(lipide)}$ ,  $\Omega_{(proteine)}$  sunt fracțiile de masă ale lipidelor și ale proteinelor în obiectul biologic sau aliment exprimate în părți de unitate.

**Entropia specifică sumară de biosinteză,  $\Sigma \Delta S_{BS}^{SP}$** , reprezintă variația entropiei procesului de biosinteză a unui kg de materie primă:

$$\Sigma \Delta S_{BS}^{SP} = \Delta S_{BS(Palm)}^{SP} \cdot \Omega_{(lipide)} + \Delta S_{BS(Phen)}^{SP} \cdot \Omega_{(proteine)} \quad (6.6)$$

în care  $\Delta S_{BS(Palm)}^{SP} = +2,434 \text{ kJ}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ,  $\Delta S_{BS(Phen)}^{SP} = +0,067 \text{ kJ}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ .

Includerea în aceste modele a apei, compusului care alcătuiește partea considerabilă din compoziția obiectului biologic (75...97%), este incorectă, deoarece modelul în cauză este elaborat pentru procesul de biosinteză în care apa nu face parte din sistemul biologic, **nu este obținută prin biosinteză**, pătrunzând în celulele vegetale prin mecanisme osmotice spontane (388).

**Masa specifică de oxigen,  $m^{SP}(O_2)$ ,  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$** , este masa de oxigen care se degajă la biosinteza unui kilogram (1000 g) de materie primă vegetală:

$$m^{SP}(O_2) = \frac{n(O_2) \cdot M(O_2)}{M(CBA)} \cdot 1000 \quad (6.7)$$

în care:  $n(O_2)$  – cantitatea oxigenului molecular care se formează la biosinteza unui mol de CBA conform reacției, mol;  $1000 \cdot M(CBA)^{-1}$  – cantitatea CBA per kilogram,  $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

La formarea unui kilogram de compuși-model (acid palmitic și fenilalanină) se degajă mase specifice de oxigen  $m^{SP}(O_2)$  considerabile: 2,875 kg și 2,085 kg, respectiv, astfel eliminându-se entropia din sistemul biologic. **Entropia specifică eliminată,  $\Delta S_{elim}(O_2)$** , reprezintă cantitatea de entropie eliberată din sistemul biologic datorită eliminării oxigenului la biosinteza unui kilogram de biomasă:

$$\Delta S_{elim}(O_2) = \frac{m^{SP}(O_2) \cdot S(O_2)}{M(O_2)} \quad (6.8)$$

Acumularea rapidă a energiei de către fructul de nucă începe după ziua a 80-a de la fecundare – după sfârșitul acumulării masei în formă de apă (figura 6.6, A). După cum a fost menționat, apă nu influențează valoarea  $\Delta G_{BS}^{SP}$ . După ziua a 80-a valoarea  $\Delta G_{BS}^{SP}$  crește brusc timp de 2...3 săptămâni, după care continuă să crească lent, atingând nivelul maxim constant de cca  $30 \text{ MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$  în ultima decadă a coacerii. Așadar, în ultima etapă de coacere,  $dG/dt \approx 0$ , adică în fruct se stabilește un quasi-echilibru, sistemul având nivel quasi-staționar maximal de energie.

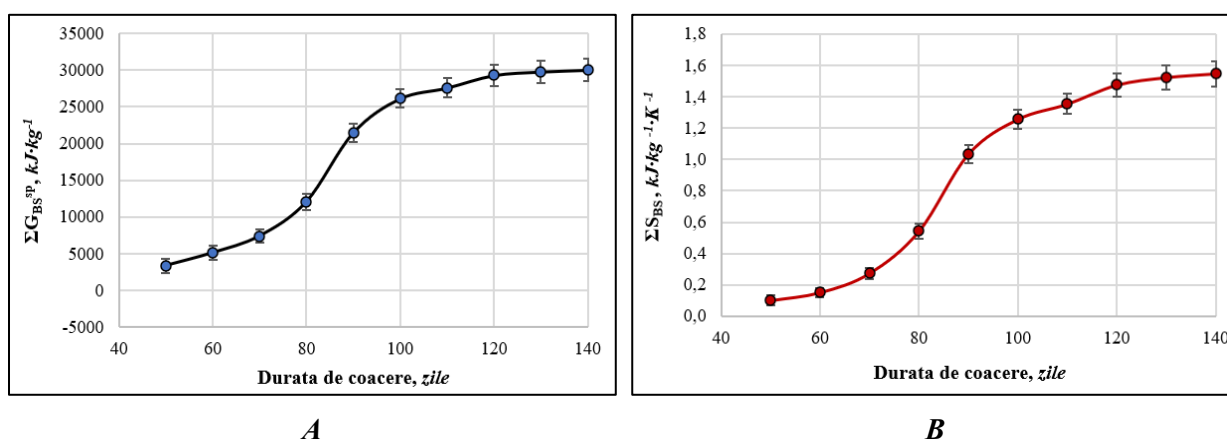


Figura 6.6. Dinamica modificării  $\Delta G_{BS}^{SP}$  (A) și a  $\Sigma S_{BS}$  (B) miezului fructului de nucă (A)

Funcția de entropie, evident, nu reflectă dezordinea sistemului în sensul de „lucruri aruncate haotic”. În procesul coacerii semințelor oleaginoase această funcție va caracteriza complexitatea și gradul de organizare a sistemului. Calculele prin ecuația (6.6) demonstrează că valoarea entropiei specifice de biosinteză,  $\Sigma S_{BS}^{SP}$ , care ține cont doar de partea pur chimică, dar nu și structurală, crește și atinge valoarea maximă constantă spre sfârșitul coacerii (figura 6.6, B).

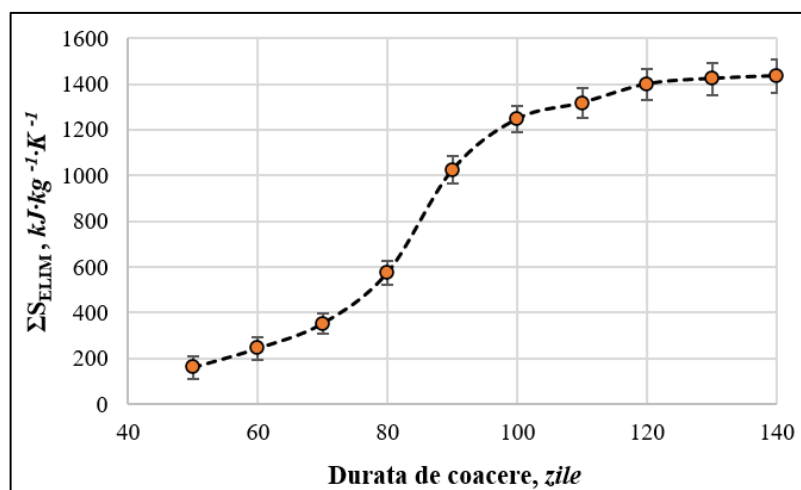


Figura 6.7. Entropia eliminată în timpul coacerii fructului de nucă

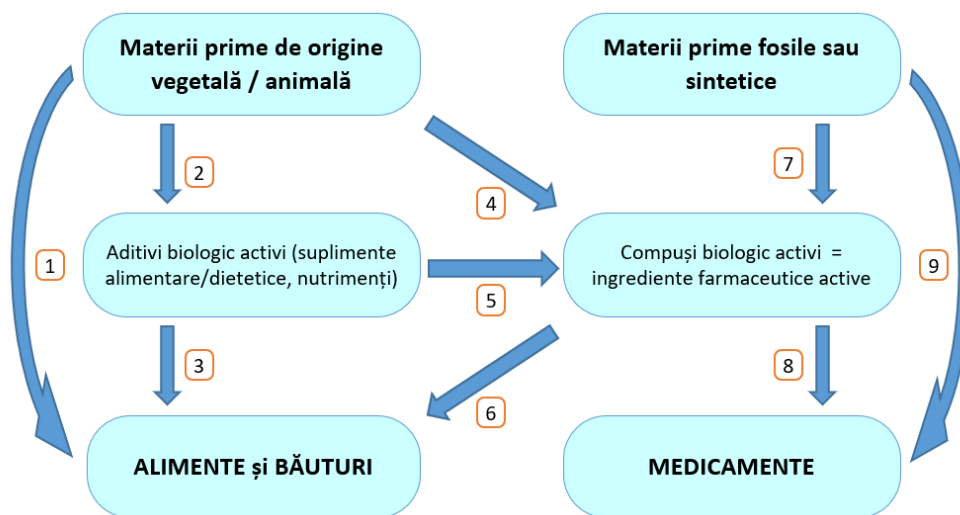
Entropia specifică eliminată  $S_{ELIM}^{SP}$  este calculată prin ecuația (6.8) și corespunde cu entropia eliminată în mediul ambiant în timpul biosintezei unui kilogram de biomasă în forma oxigenului molecular. Ca și în cazul figurii 6.6, barele de eroare estimează incertitudinea modelului în raport cu variația parametrilor de intrare. Figura 6.7 demonstrează că entropia eliminată în mediul extern în timpul creșterii unui organism vegetal este cu mult mai mare decât entropia de biosinteză a compușilor organici din organismul respectiv.

Discuția privind contradicția dintre creșterea entropiei și persistența vieții a fost alimentată de concepte precum „entropie negativă”, „ectropie” sau „anti-entropie” propuse de Schrödinger și discipolii lui (389), apoi revizuite și criticate în numeroase studii (390). Principala concluzie din utilizarea modelului, extensibilă la nivel de alimente, este că ordinea internă a sistemului se menține prin eliminarea activă a entropiei în mediul extern pe parcursul ciclului lui de viață. Această concluzie corelează cu interpretarea propusă de Kaufmann (391), care subliniază rolul reconfigurării biopolimerilor și al lucrului mecanic extern în menținerea structurii ordonate.

Modelul entropic aplicat biosintezei compușilor organici biologic activi demonstrează că entropia se produce abundant, dar și se expulzează în mediu practic în întregime. Eliminarea de entropie este esențială pentru stabilitatea compușilor biologic activi, deoarece împiedică acumularea entropiei interne, ceea ce ar echivala cu „moartea termodinamică”.

## 6.2. Organizarea structurală ca factor de stabilizare a compușilor biologic activi

Elaborarea compozițiilor și produselor alimentare cu proprietăți funcționale face parte din aria de expertiză a tehnologiei produselor alimentare și include proiectarea, obținerea și fabricarea alimentelor cu un conținut de CBA în stare stabilă și activă (305) (329) (236). Pe parcursul transferului din organismul producător primar, CBA suferă diferite etape de reorganizare structurală, care se realizează în cadrul diferitelor procese tehnologice (figura 6.8).



**Figura 6.8. Parcursul compușilor biologic activi:**

*1 – tratamente tehnologice; 2 – uscare, măcinare; 3 – structurare;  
4 – extracție, separare; 5 – concentrare; 6 – suplimentare;  
7 – separare, modificare; 8 – concentrare, formulare; 9 – sinteza chimică.*

Transferul CBA în faza de soluție poate fi interpretat ca trecere către o stare cu libertate configurațională sporită, ceea ce crește probabilitatea contactelor reactive, intensificând procesele ireversibile. Experimental, pentru cartamină, trecerea din complexul cu celuloză (CCC) în soluție conduce la majorarea vitezei de degradare de  $\alpha$  ori, care atinge valoarea  $(9,4 \pm 1,7) \cdot 10^2$  la  $70^\circ\text{C}$  (tabelul 4.5). În cadrul termodinamicii proceselor ireversibile viteza de producere a entropiei,  $\sigma$ , este proporțională cu constanta de viteză a reacției (392):

$$\frac{dS}{d\tau} = \sigma \sim \frac{k_I \cdot (-\Delta G)}{T} \quad (6.9)$$

Ecuția (6.9) este utilizată în sens operațional pentru a evidenția legătura dintre viteza reacției și ireversibilitatea proceselor interne. Conform ecuației (6.9), în condițiile unui model cinetic de ordinul I, majorarea constantei de viteză conduce la creșterea ratei de producere a entropiei. Prin urmare, destabilizarea structurală rezultă direct din creșterea valorii  $k$ , care indică amplificarea ireversibilității proceselor interne. Controlul stabilității sistemului alimentar se exprimă prin reducerea constantei ( $\downarrow k$ ), prin diminuarea vitezei de producere a entropiei ( $\downarrow \sigma$ ).

Necesitatea suplimentării produselor alimentare cu compuși biologic activi este asociată cu problema asigurării stabilității acestora în mediul chimic activ al produselor alimentare și a stabilității produsului alimentar ca un tot întreg (282) (65). Încercările de a transforma produsul alimentar în amestec de compuși, iar actul de alimentație în proces pur chimic, prezintă dubii din punct de vedere fiziologic și termodinamic (393).

Tehnologiile tradiționale, precum extracția, presarea, congelarea și măcinarea, contribuie semnificativ la destabilizarea compoziției alimentelor prin amplificarea entropiei și perturbarea ierarhiilor structurale moștenite din organismele vii. Deși aparent protectoare, congelarea generează cristalizare separată a apei și duce la distrugerea structurilor celulare, inclusiv prin fenomenul de sublimare izotermică (394). Măcinarea induce oxidarea accelerată (245).

Cele menționate impun regândirea proceselor tehnologice în sensul limitării producției de entropie în care acestea vor fi orientate spre optimizarea gradului de dispersie, minimizarea contactului dintre fazele incompatibile și asigurarea condițiilor de păstrare, care limitează interacțiunile destabilizatoare. Recunoașterea entropiei interne a sistemului drept factor destabilizator central implică intervenții corective timpurii, ideal încă din faza de materie primă neprocesată. Un exemplu relevant este defenolizarea peliculei ligninoase de pe miezul de nucă, bogată în fenoli oxidabili, care compromit stabilitatea uleiului, dar mai ales a turtei (395). Eliminarea lor preventivă îmbunătățește proprietățile senzoriale ale miezului (396). Randamentul de ulei obținut prin presare de obicei depinde direct de gradul de măcinare a materiei prime. Pentru semințele cu organizare structurală unică gradul de dispersie poate influența randamentul uleiului în mod neașteptat. Astfel, presarea semințelor de in (*Linum*) cu diferit grad de măcinare (figura 6.9) are loc conform unor cinetici diferite (192).

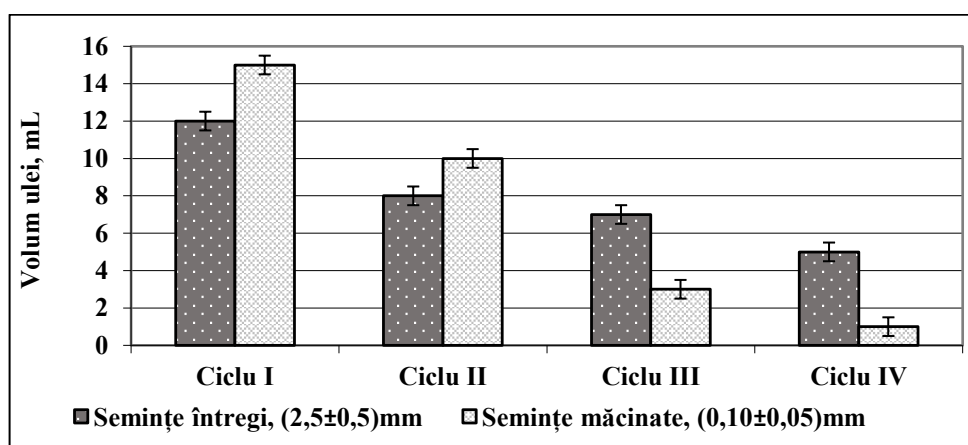


Figura 6.9. Cinetica extracției uleiului din semințele de in (*Linum*) întregi și măcinate

Volumul de ulei extras din semințele întregi scade moderat și liniar în urma fiecărei presări. Dimpotrivă, în cazul în care extracția se efectuează din semințele măcinate, se observă o scădere

bruscă a volumului de ulei, care este extras după al doilea ciclu de presare. Randamentul sumar al uleiului, care a fost obținut din semințe întregi după 4 cicluri de extracție, 32%, este mai mare decât randamentul uleiului extras din semințele măcinate, 29%. Așadar, extracția din semințele întregi sau mai exact din semințe strivite în mod „natural” în timpul primului ciclu de presare s-a dovedit a fi mai eficientă cantitativ și calitativ decât extracția din semințele măcinate.

Într-o aproximație geometrică, creșterea accesibilității de contact la măcinare poate fi estimată prin raportul ariilor specifice ale particulelor. Pentru particulele aproximativ sferice, aria și volumul se raportează ca  $A/V \approx 6/D$ . Raportul  $A/V$  reprezintă inversul dimensiunii caracteristice a particulei, exprimat în  $\text{mm}^{-1}$ . În cazul semințelor analizate de in (figura 6.9), reducerea dimensiunii de la  $d_{\text{întregi}} = (2.5 \pm 0.5)$  mm la  $d_{\text{măcinate}} = (0.10 \pm 0.05)$  mm conduce la creșterea accesibilității de contactare  $\chi_{\text{cont}}$ . Luând în considerare intervalele experimentale ale dimensiunilor particulelor presate (2.0-3.0 mm și 0.05-0.15 mm), factorul accesibilității la contactare,  $\chi \in (13...60)$ . Această amplificare a suprafeței interfazice explică potențialul de intensificare a contactelor reactive, favorizând creșterea constantei cinetice a proceselor de degradare  $k$ . În condiții comparabile de temperatură  $T$  și forță termodinamică asociată ( $-\Delta G$ ) din ecuația (6.9) toate acestea conduc la creșterea vitezei de producere a entropiei  $\sigma$ .

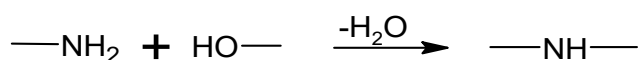
Fibrele alimentare digerabile și non-digerabile, care îmbogățesc turtele după presarea uleiului, reprezintă componente biologice active necesare în calitate de suplimente alimentare pentru o dietă sănătoasă (193). Stabilitatea CBA în turte scade în urma procesului de presare din cauza distrugerii membranelor celulare. Reacțiile dintre conținutul celulelor și compușii din spațiul intercelular conduc la oxidarea accelerată a turtei imediat după presare (397), (237).

Figura 6.9 și interpretarea rezultatelor ei argumentează necesitatea controlului ingineresc al entropiei în sistemele policomponente de tipul semințelor oleaginoase. **În particular**, folosind controlul entropic, a fost elaborat și brevetat procedeul de separare a mucopolizaharidelor (amestecului din arabinoxilan și arabinogalactan) din semințele de in (191).

Semințele s-au format pe parcursul evoluției ca organe care asigură realizarea funcției de reproducere, prezentând micro-depozite de compuși biologici activi și de compuși cu energie înaltă, care în ansamblu asigură inițierea germinării și începutul ciclului nou de viață al organismului. De exemplu, valoarea energetică a miezului de nucă cu un conținut de apă de 12,0...14,0% variază în limitele de 600...670 kCal. Atât încărcătura energetică (entalpică) înaltă, cât și activitatea biologică ridicată sunt indicatori de instabilitate termodinamică a semințelor. În contradicție cu unele afirmații para-științifice, capacitatea de germinare la majoritatea semințelor se păstrează 1...5 ani, maximum 10...20 ani (398).

Fructul *Juglans regia* L. (399) este cunoscut pentru activitatea biologică a componentelor chimici, de exemplu, a AGPNS esențiali (66), (400), (401) și a polifenolilor (402). Conform teoriei holonilor, care presupune existența unor relații ierarhice între sistemele simultan independente și interdependente (403), planta, fructul și miezul sunt sisteme independente și autosuficiente, fiecare făcând parte din ciclul de viață al plantei.

În miezul de nucă există câteva grupe de compuși din clase diferite, care, din punct de vedere chimic, sunt incompatibili. Acestea sunt aminoacizii și zaharurile libere, precum și diferite glucozide ale compușilor fenolici (404), care intră în reacția zaharo-aminică Maillard (11), formând compușii responsabili de apariția culorii brune în urma tratărilor termice (405):

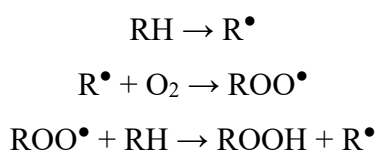


În condiții structurale intacte, aminoacizii (AMA) și zaharurile reducătoare (ZR) sunt localizați în compartimente distincte, iar probabilitatea contactului reactiv este aproape nulă. Viteza etapei inițiale a reacției Maillard,  $r_M$ , poate fi exprimată prin relația:

$$r_M = k \cdot [\text{AMA}] \cdot [\text{ZR}] \quad (6.10)$$

Într-o aproximație geometrică, creșterea gradului de măcinare sporește suprafața specifică ( $A/V \sim 1/d$ ), ceea ce mărește probabilitatea contactului dintre AMA și ZR, accelerând reacția Maillard (406). Procesul continuă în compozițiile alimentare, care conțin miezul presat (397).

Alt exemplu de compuși-antipozi sunt chinonele și acizii grași polinesaturați prezenți, respectiv, în peliculă și în partea internă a miezului. Transformările chimice ale chinonelor conduc la formarea de radicalii liberi, care atacă moleculele AGPNS (400), (66). Hidrogenii bis-alilici prezintă energii de disociere mai scăzute comparativ cu legăturile C-H saturate, ceea ce facilitează formarea radicalilor, favorizând declanșarea reacțiilor radicalice în lanț:



Creșterea suprafeței de contact și a accesibilității oxigenului, determinată de fragmentarea structurii, poate accelera etapele de propagare și a conduce la intensificarea degradării lipidice. Se presupune că organizarea structurală a sistemelor ce conțin AGPNS (65) reduce probabilitatea inițierii și propagării reacțiilor radicalice, conducând la creșterea stabilității oxidative. Ca un argument vine interpretarea entropică a modelului combinatoric al spread-ului (**Capitolul 3.3.3**).

În sistemele trifazice U/A/G poate fi utilizată o funcție a distribuției probabilistice - entropia informațională Shannon,  $\mathbf{H}$ , care nu este identică cu entropia termodinamică a sistemului

S. Valorile mici ale lui  $H$  indică o distribuție concentrată și direcționată, în timp ce valorile mai mari reflectă o dispersie mai uniformă și o eficiență funcțională diminuată. Pentru spread-ul cu trei tipuri de interfețe (U/A, U/G, A/G) entropia informațională  $H$  se definește prin relația:

$$H = - \sum_{i=1}^3 P_i \cdot \ln P_i \quad (6.11)$$

în care:  $P_i$  - reprezintă fracția relativă a agentului activ de suprafață distribuit la interfața  $i$ ;

$H$  - se exprimă în unități naturale („nat”).

Această mărime caracterizează gradul de dispersie probabilistică a distribuției AAS la interfețe. Valoarea maximă posibilă pentru trei evenimente echiprobabile,  $H_{\max} = \ln 3 = 1,099$  nat.

**Tabelul 6.3. Calculul entropiei informaționale Shannon pentru un spread trifazic U/A/G**

| Ulei / Apă / Gaz  | H (nat) | AAS inutil (%) |
|-------------------|---------|----------------|
| 72 m : 28 m : 1 v | 0.224   | 5              |
| 72 m : 28 m : 3 v | 0.476   | 14             |
| 82 m : 18 m : 1 v | 0.277   | 7              |
| 82 m : 18 m : 3 v | 0.553   | 18             |

Se observă că majorarea fracției volumetrică de aer de la 1% la 3% conduce la o creștere a entropiei informaționale, respectiv, o repartizare mai haotică a agentului tensioactiv. Există o corelație puternică,  $R^2 \approx 0.99$ , între entropia distribuției și fracția de AAS inutil. Respectiv, aerarea excesivă determină utilizarea mai puțin direcționată a AAS, o parte semnificativă fiind consumată pentru stabilizarea interfeței U/G fără contribuție directă la protecția AGPNS.

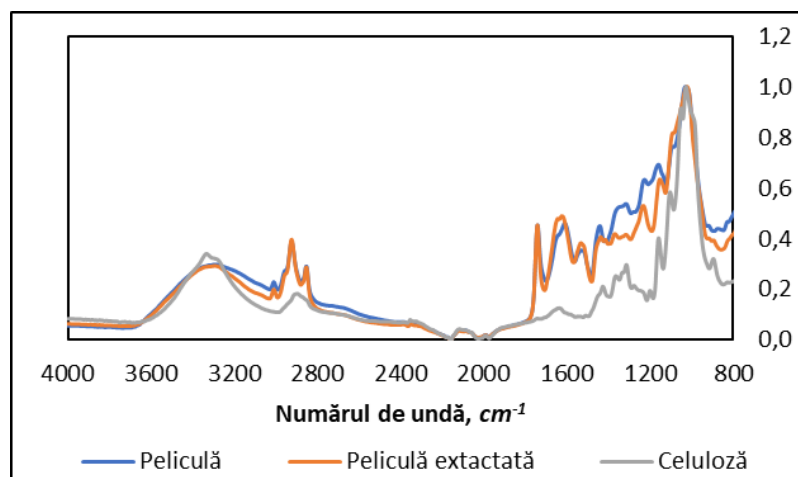
În contextul reacțiilor radicalice ale AGPNS probabilitatea inițierii procesului oxidativ este dependentă de contactul dintre faza lipidică și oxigen. În modelul combinatoric U/A/G probabilitatea contactului U/G este proporțională cu produsul fracțiilor volumetrică:

$$P_{U/G} = \Phi_U \cdot \Phi_G \quad (6.12)$$

Creșterea fracției volumetrică de aer conduce simultan la majorarea probabilității contactului U/G și la creșterea entropiei informaționale a distribuției AAS, indicând o repartizare mai dispersă a agentului tensioactiv la interfața U/A. În aceste condiții reducerea protecției locale a fazei lipidice și amplificarea contactului cu oxigenul pot favoriza inițierea reacției radicalice, contribuind la creșterea susceptibilității oxidative a AGPNS. Modelul combinatoric nu doar estimează ponderile interfețelor, ci permite cuantificarea gradului de organizare funcțională a sistemului. Reducerea  $\varphi(G)$  (ordonarea sistemului) contribuie la menținerea unei entropii informaționale scăzute a distribuției AAS, ceea ce favorizează stabilitatea oxidativă a AGPNS.

Principiile evidențiate de modelul combinatoric explică stabilitatea sistemelor biologice. Miezul de nucă reprezintă un exemplu de structură biologică multistratificată în care faza lipidică bogată în AGPNS este integrată într-o matrice biopolimerică complexă formată din polizaharide, proteine și compuși fenolici. Entropia Shannon scăzută a acestor sisteme structurate este echivalentă cu distribuția non-haotică a oxigenului și a compușilor cu rol de antioxidant, iar prolongarea funcționalității AGPNS reprezintă funcția stării de organizare a sistemului, care limitează probabilitatea declanșării reacțiilor radicalice.

Spectrele FTIR și fenomenul observat al destabilizării peliculei miezului de nucă în prezența pectinazelor (396), (395) denotă prezența a cel puțin trei tipuri de biopolimeri în peliculă, diferiți după proprietățile sale funcționale: 1 – celulozei insolubile în apă, dar cu proprietăți hidrofile; 2 – ligninei - polimerului hidrofob cu benzile la 1240, 1530, 1740  $\text{cm}^{-1}$  și benzile separate neobișnuite la 2860 și 2920  $\text{cm}^{-1}$ , care de asemenea se atribuie ligninei (407); 3 - a hemicelulozelor hidrofile relativ ușor hidrolizabile (408) (figura 6.10).



**Figura 6.10. Spectrele FTIR ale peliculelor miezului de nucă și ale celulozei microcristaline**

Analiza extractului peliculei miezului de nucă confirmă prezența glucozidelor acizilor ellagic și galic (404) foarte puțin stabili la contactul cu agenții oxidanți. Pot fi desemnate următoarele niveluri ierarhice orizontale de organizare a structurii fructului și seminței de nucă (figura 6.11):

- I** Sămânța (pe care o numim de obicei „nucă”);
- II** Părțile separate ale seminței: miez, pelicula miezului, *septum*;
- III** Țesuturi care diferă după funcție și compoziție;
- IV** Faze și componente care pot fi separate relativ ușor prin presare sau extracție;
- V** Compuși, separarea cărora necesită scindarea nivelurilor **III** și **IV**.
- VI** Produsele de prelucrare fizico-chimică profundă de pe nivelul **V**.

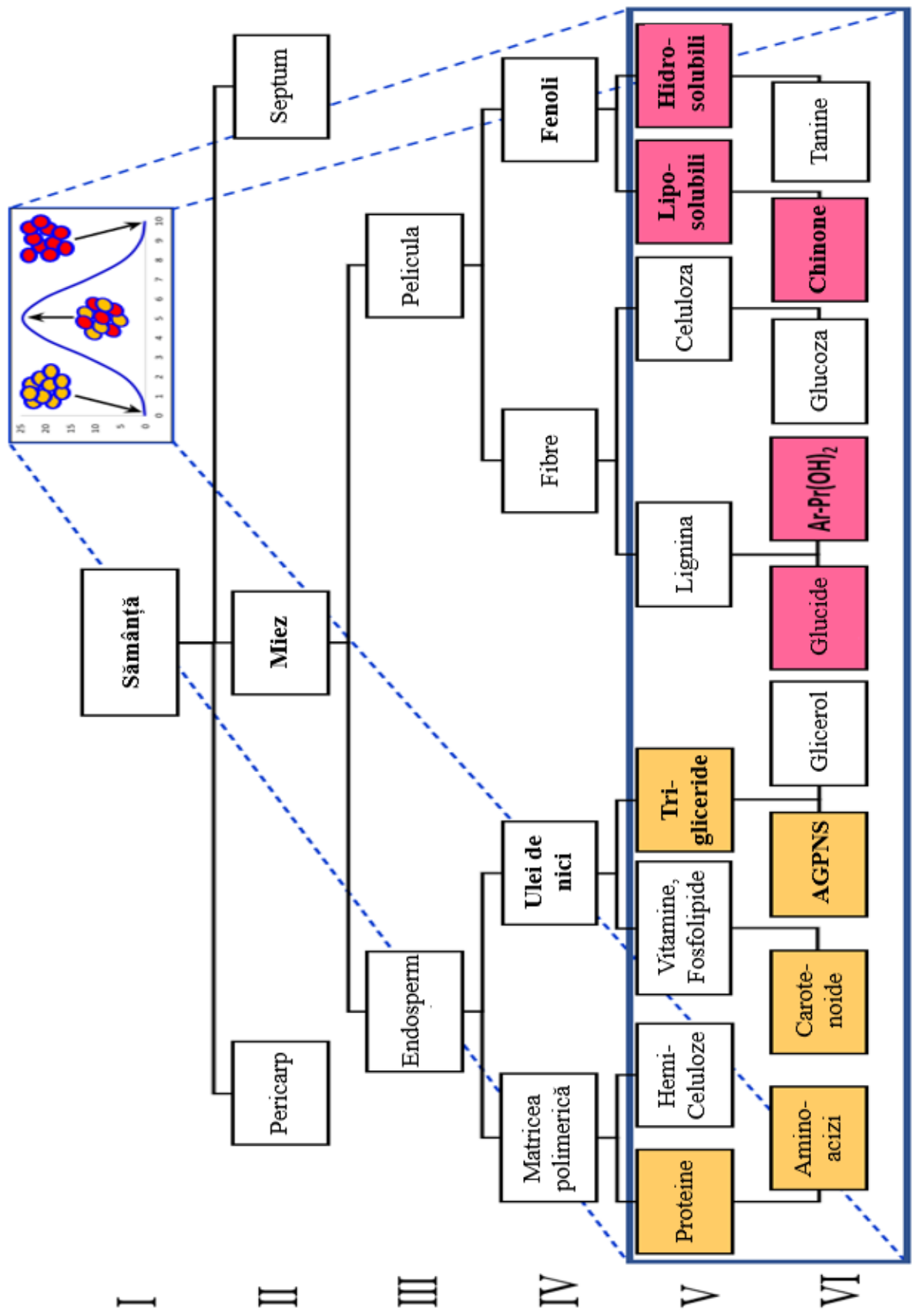


Figura 6.11. Nivelurile ierarhice de organizare a părților seminței de nucă în corelație cu modelul statistic din figura 2.8, A

Așadar, miezul de nucă reprezintă un ansamblu alcătuit din sisteme independente, care fac parte dintr-un alt sistem cu organizare superioară, așa-zisa ierarhie de holoni (403). Extinzând modelul statistic din figura 2.8 la replica organizării structurale a seminței de nucă (figura 6.11), se poate concluziona că coexistența în miez a compușilor incompatibili din punct de vedere chimic este asigurată doar de structura organizată (**H mic**), vulnerabilă în cadrul procesării miezului.

Vulnerabilitatea compoziției în cazul perturbării organizării structurale a sistemelor biologice determină stabilitatea lor termodinamică joasă și starea metastabilă a acestora. Sistemul poate să existe în stare metastabilă doar până la un eveniment spontan sau forțat, care contribuie la declanșarea proceselor ireversibile. Stabilitatea relativă a compușilor biologic activi în sistemul alimentar este asigurată de starea ordonată structural cu entropia informațională Shannon scăzută.

### 6.3. Organizarea structurală și costul entropic al sistemelor cu microcapsule

Compușii biologic activi se supun influențelor destabilizatoare și mai complexe în compozițiile de tipul emulsiilor alimentare, care, pe lângă faza lipidică apolară, U, conțin și faza apoasă polară, A. În sistemele alimentare oxidarea rapidă este favorizată în cazul în care lipidele se află în stare lichidă, fie în formă de picături mici sau mari, fie în forma straturilor polimoleculare sau a obiectelor cu dimensiuni „nano” (74).

Molecula de oxigen, O<sub>2</sub>, în care legăturile sunt covalente nepolare, nu reprezintă un dipol. Astfel, oxigenul molecular, fiind apolar, se dizolvă mai bine în lipide decât în apă. La prima vedere faza apoasă, în care oxigenul are solubilitatea joasă, protejează picăturile de grăsime din emulsiile U/A de acțiunea oxigenului. În realitate, această aparență nu corespunde Principiului Zero, conform căruia două echilibre legate reprezintă de fapt un singur echilibru. Respectiv, lipidele nu sunt protejate de oxidare în componența emulsiilor U/A. În contextul Legii de repartiție, oxigenul în emulsia U/A reprezintă componentul al treilea, iar constanta de repartiție a acestuia dintre ulei și apă este egală cu raportul concentrațiilor în fazele respective (409):

$$K_{rep.} = \frac{c_U(O_2)}{c_A(O_2)} \approx 5 \quad (6.13)$$

În același timp, aria de contact dintre fazele emulsiei este de ordinul 10<sup>4</sup>...10<sup>5</sup> m<sup>2</sup>·kg<sup>-1</sup>. Aria foarte mare de contact și solubilitatea ridicată a oxigenului în faza lipidică asigură difuzia rapidă a oxigenului din faza apoasă în faza lipidică, iar interacțiunea oxigenului cu resturile acizilor grași polinesaturați din compoziția lipidelor va avea loc în sistemele coloidale diluate mai repede decât în lipidele pure. Prin urmare, „apa” ca fază polară cu compoziție complexă și ca mediu de dispersie nu reprezintă o piedică impermeabilă pentru difuzia moleculelor de oxigen către picăturile de grăsime – faza dispersată a emulsiilor U/A (figura 6.12).

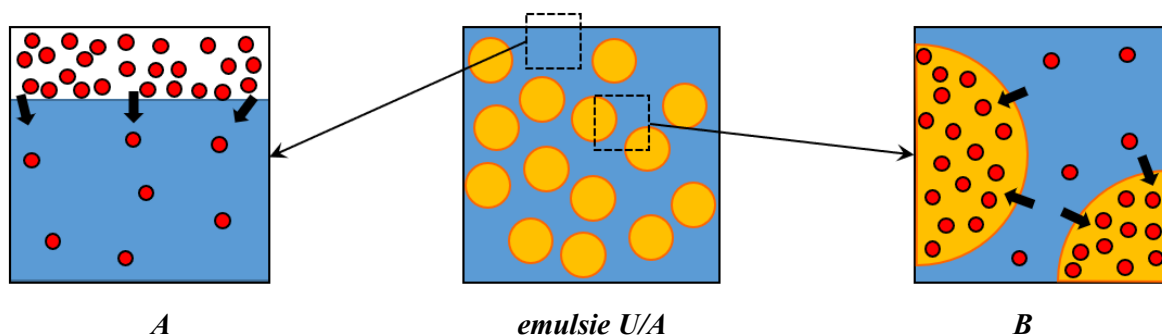
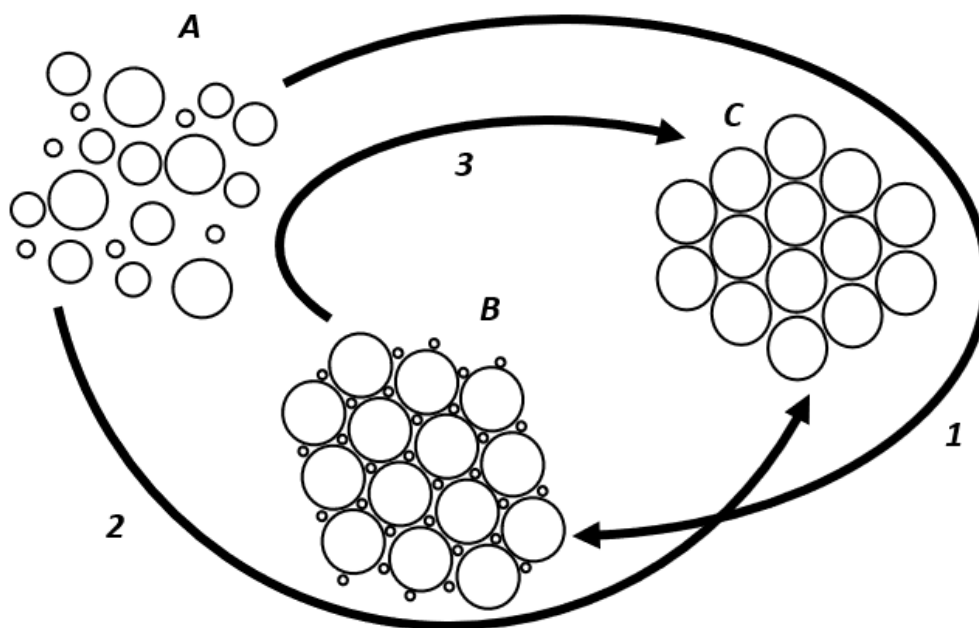


Figura 6.12. Schema de repartiție și direcția de difuzie a moleculelor de oxigen în sistemul „aer / apă / ulei”: *A* – la hotarul aer-apă; *B* – la hotarul apă-ulei.

Conform studiilor fenomenului de difuziune, viteza de difuzie a oxigenului prin geluri în baza de agar-agar este de circa 5...10 ori mai lentă decât prin lichid, *ceteris paribus* (410). Merită atenție faptul că agar-agarul, care conține în structura sa un atom de carbon terțiar și o grupă  $-CH_2$ , este mai puțin polar decât alginatul. Prin urmare, gelul în baza complexului gelatină-alginat (cu stratul superior de alginat) ar reprezenta o piedică și mai mare pentru oxigen, inclusiv datorită polarității ridicate în componența microcapsulelor.

Este bine cunoscut faptul că stabilitatea agregativă a sistemelor coloidale crește odată cu scăderea dimensiunii particulelor (257), (289). Cu toate acestea, nu mai puțin importantă pentru stabilitatea sistemului dispers este polidispersitatea picăturilor sau particulelor. Polidispersitatea este o funcție matematică ce caracterizează repartiția particulelor conform diferitor forme și dimensiuni. Microcapsulele obținute prin utilizarea metodelor care necesită emulsionare vor moșteni polidispersitatea emulsiilor respective. Influența polidispersității asupra proprietăților reologice ale emulsiilor și, respectiv, microcapsulelor, este ambiguă și contradictorie, depinzând neliniar de valorile factorilor fizici și chimici. Printre acestea, unul dintre cele mai importante este concentrația particulelor fazei dispersate. Cea mai mică stabilitate agregativă vor avea emulsiile care se formează în timpul dispersării mecanice directe și au polidispersitate înaltă (figura 6.13, *A*). Totodată, emulsiile monodisperse și microcapsulele, derivate din aceste emulsii datorită componenței omogene, vor avea entropie proprie relativ mică. Concentrația fazei dispersate reprezintă un factor important, care acționează concomitent și neliniar împreună cu factorul de polidispersitate. Astfel, geometria unui sistem **monodispers concentrat** repetă structura dodecaedrică a spumei (figura 6.13, *C*). Forțele superficiale ce acționează la suprafața bulelor de gaz și la suprafețele exterioare ale pereților microcapsulelor sunt identice. Respectiv, și procesul de distrugere a microcapsulelor în stare concentrată va fi similar cu mecanismul de distrugere a spumelor (288). Din aceleași considerente rezultă că emulsiile concentrate bidisperse, precum și microcapsulele similare (figura 6.13, *B*) sunt predispuse la coalescență și respectiv, coagulare.



**Figura 6.13. Influența polidispersității asupra stabilității emulsiilor și microcapsulelor:**  
*A – sistem polidispers diluat; B – bidispersie concentrată; C – monodispersie concentrată;*  
*1 – creșterea ponderii fazei dispersate; 2 – scăderea entropiei (creșterea organizării structurale)*  
*sistemului; 3 – rezistența la coalescență / coagulare.*

Legitățile discutate pot fi deduse din postulatele termodinamicii și din proprietățile fundamentale ale sistemelor disperse, dar ele sunt susținute și de observații experimentale privind procesele de obținere a microcapsulelor și emulsiilor polidisperse (111), (411). Rolul destabilizator al polidispersității și efectele stabilizatoare ale complexării colorant-biopolimer se reflectă în parametri măsurabili, precum modificarea constantei vitezei reacțiilor de degradare, variația ariei interfazale specifice (de ordinul  $10^4 \dots 10^5 \text{ m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ ) sau existența unui prag de percolare estimat numeric ( $\Phi_{U(PP)} \approx 0,684$ ).

În literatura biologică au fost raportate fenomene de organizare „rațională” la organismele primitive, precum plasmodiul *Physarum polycephalum* (412), (413). În perspectivă termodinamică, aceste comportamente pot fi interpretate drept manifestări ale auto-organizării în sisteme complexe biologice deschise. Evoluția către configurațiile structurale coerente nu implică un mecanism cognitiv, ci reflectă constrângeri fizico-chimice, reducerea fluxurilor interne neproductive și limitarea producției de entropie.

Prin analogie, sistemele alimentare structurate - inclusiv cele bazate pe microcapsule sau emulsii AGPNS / Apă / Aer – tind către configurații în care organizarea internă optimizează distribuția fazelor și, implicit, stabilizează funcțional compușii biologic activi. Astfel, coerența structurală nu reprezintă un concept metaforic, ci un rezultat cuantificabil al condițiilor termodinamice și cinetice care guvernează sistemele alimentare disperse.

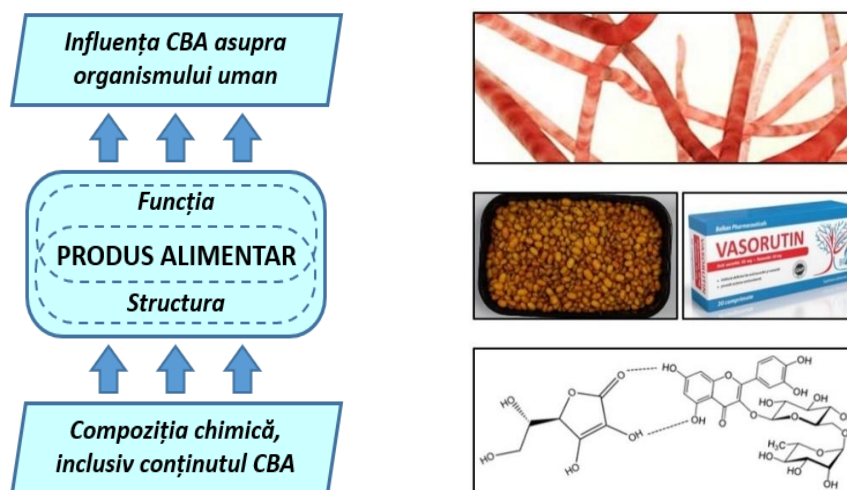


Figura 6.14. Corelația „compoziție => structură => funcție”

Figura 6.14 ilustrează corelația dintre conținutul de compuși biologic activi, organizarea structurală a produsului alimentar și funcțiile pe care acesta le poate exercita asupra organismului. Exemplul sistemului „Vitamina C – Rutină” din cătină, imitat de analogul său funcțional artificial, produsul farmaceutic *Vasorutin*, demonstrează modul în care organizarea structurală și sinergia moleculară contribuie la stabilitatea și eficiența fiziologică prolongată, subliniind faptul că stabilitatea compușilor biologic activi este condiționată de arhitectura matricei alimentare. Consumul direct de energie pentru producerea alimentelor alcătuiește cel puțin  $4...7 \text{ MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$ , iar pentru unele produse poate ajunge la  $10...17 \text{ MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$  (414). Conform tendințelor mondiale actuale privind creșterea eficienței energetice, la fabricarea oricăror produse alimentare noi, consumul de energie nu trebuie să crească semnificativ față de valorile standard (415), (416). Microîncapsularea folosind uscarea prin pulverizare sau în stratul efervescent (Fluid Bed, FB) necesită temperaturi ridicate. Pentru liofilizare și uscare prin răcire, energia se consumă pentru scăderea temperaturii.

Există posibilitatea estimării cantitative a fluxului entropic al diferitor procedee de microîncapsulare, folosind consumul energetic specific (CES):

$$CES \approx \frac{W}{m} \quad (6.14)$$

în care: **W** - energia totală consumată, (kWh);

**m** - masa materialului procesat (kg) sau masa apei eliminate (kg H<sub>2</sub>O).

Unitatea de referință depinde de natura procesului dominant:

- **pentru metodele mecanice** și cele care au loc **în faza lichidă** (coacervările, Strat-după-Strat, încorporare lipozomală, extrudare) – per 1 kg de dispersie;
- **pentru procesele de uscare** – per 1 kg de apă eliminată, deoarece energia este determinată în principal de tranziția de fază.

Astfel, comparația tehnologiilor se realizează în funcție de natura fizică a operației dominante nu doar de tipul echipamentului utilizat. Presupunând că energia consumată se disipă în final în mediul ambiant la temperatura de referință  $T^\ominus$ , entropia produsă de proces poate fi estimată prin relația:

$$\Delta S_{proces} \approx \frac{W}{T^\ominus} \quad (6.15)$$

iar în formă specifică:

$$\Delta S_{proces} \approx \frac{CES \cdot 3600}{T^\ominus} \quad (6.16)$$

Pentru  $T^\ominus = 298K$  se obține:

$$\Delta S_{proces} \approx 12,08 \text{ CES} \quad (6.17)$$

Această mărime nu reprezintă entropia termodinamică a substanței, ci o estimare inginerescă a costului entropic al tehnologiei, exprimând nivelul de disipare energetică asociat procesului. Diferențele de ordin de mărime ale consumului energetic dintre metodele de microîncapsulare sunt determinate de natura procesului fizic dominant:

- **Operațiile mecanice** (amestecare, pompare, omogenizare sub presiune) se caracterizează prin lucru mecanic de ordinul zecilor-sutelor  $\text{kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$  și cost entropic redus.
- **Procesele de răcire și cristalizare** necesită fluxuri termice moderate și generează valori intermediare ale SEC.
- **Evaporarea apei** (spray drying) - necesitatea furnizării căldurii latente de vaporizare, creșterea semnificativă a SEC și a entropiei produse.
- **Sublimarea la temperaturi extremale joase** (liofilizare) constă din tranziția de fază și din penalizarea termodinamică asociată producerii frigului. În rezultat, se obțin cele mai ridicate valori ale SEC și  $\Delta S_{proces}$

Cuantificarea SEC și a entropiei produse permite clasificarea tehnologiilor de microîncapsulare în funcție de „costul entropic”, precum și evidențierea faptului că creșterea producției de entropie este asociată operațiilor de eliminare a apei prin tranziții de fază și nu microîncapsulării propriu-zise. În acest context, metodele structurale de microîncapsulare, precum coacervarea complexă, se caracterizează printr-o producție de entropie semnificativ mai redusă comparativ cu tehnologiile bazate pe evaporare sau sublimare.

În situațiile în care literatura de specialitate nu oferă valorile directe ale consumului energetic specific (SEC), estimarea a fost realizată printr-o analiză inginerescă a operațiilor unitare dominante din fiecare tehnologie de microîncapsulare. Procesul a fost descompus în componente fundamentale: lucrul mecanic (pompare, omogenizare, amestecare), transfer termic (încălzire sau răcire) și, după caz, tranziții de fază. Valorile CES au fost estimate pe baza relațiilor:

**Pentru procesele dominate de presiunea fluidului:**

$$e \approx \frac{\Delta P}{\rho} \quad (6.18),$$

în care:  $e$  - energia specifică ( $J \cdot kg^{-1}$ );

$\Delta P$  - diferența de presiune ( $Pa = N \cdot m^{-2}$ );

$\rho$  - densitatea fluidului ( $kg \cdot m^{-3}$ ).

**Pentru operațiile de amestecare:**

$$e \approx \frac{N \cdot t}{m} \quad (6.19),$$

în care:  $N$  - puterea utilajului ( $W = J \cdot s^{-1}$ );

$t$  - timpul de funcționare (s);

$m$  - masa materialului procesat (kg)

**Pentru procesele termice:**

$$q \approx C_p \Delta T \quad (6.20).$$

Estimările, deși au caracter orientativ (ordin de mărime), permit ierarhizarea comparativă a metodelor din punct de vedere energetic și entropic (tabelul 6.4).

**Tabelul 6.4. Estimarea valorii  $\Delta S_{\text{proces}}$  la obținerea microcapsulelor prin diferite metode**

| Metoda                | Operațiuni        | Tip | SEC, kWh·kg <sup>-1</sup> | $\Delta S_{\text{pr}}$ , kJ·K <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup> | Estimat         |
|-----------------------|-------------------|-----|---------------------------|---|-----------------|
| Coacervarea simplă    | Mix + pH          | D   | 0.005...0.050             | 0.06...0.60   | Ec. 6.19        |
| Coacervarea complexă  | Mix + pH + Cnd    | D   | 0.01...0.10               | 0.12...1.21   | Ec. 6.19        |
| Strat-după-Strat      | Mix + Ads + Spl   | D   | 0.01...0.20               | 0.12...2.42   | Ec. 6.19        |
| Extruziunea           | Pres + Form + Str | D   | 0.03...0.30               | 0.36...3.62   | (417), Ec. 6.18 |
| Pulverizarea la rece  | Disp + Răc + Cri  | D   | 0.05...0.40               | 0.60...4.83   | Ec. 6.20        |
| Înglobarea lipozomală | Flu + Răc         | D   | 0.08...0.40               | 0.97...4.83   | Ec. 6.18        |
| Stratul fluidizat     | Flu + Disp + Usc  | PU  | 0.33...0.74               | 4.0...8.9   | (418)           |
| Pulverizarea la cald  | Disp + Înc + Vap  | PU  | 1.35...1.85               | 16.3...22.3   | (419), (420)    |
| Liofilizarea          | Con + Vac + Subl  | PU  | 16.9...25.3               | 204...306   | (421)           |

**Notă:** Mix – mixare; Cnd – condensare; Ads – adsorbție; Spl – spălare, Pres – presarea fluidului; Form – formare; Str – structurizare; Disp – dispersare; Răc – răcire Cri – cristalizare; Flu – fluidizare; Usc – uscare; Înc - încălzire, Vap – vaporizare; Con – congelare, Vac – vacuumare; Subl – sublimare; D – dispersie; PU – pudră uscată.

Metoda de extruziune se referă la categoria metodelor de microîncapsulare, care necesită consum de energie scăzut. În pofida faptului că procesul de extruziune a capsulelor mari ( $d = 1 \text{ mm} \dots 3 \text{ cm}$ ) este relativ ușor și rapid, producerea industrială a MC cu  $d = 2 \dots 100 \text{ mkm}$  prin extruziune devine foarte problematică Metoda de extruziune se realizează cu succes în condiții industriale pentru producerea capsulelor gelatinoase de medicamente și de suplimente alimentare.

Totodată, reducerea dimensiunilor capsulelor de la 1 cm până la 10 μm necesită  $\approx 2 \cdot 10^6$  operații unice de extrudare. Matricea de extrudare cu mai multe duze, fiind foarte costisitoare, practic determină prețul întregii instalații de extrudare. Dezvoltarea tehnologiilor de imprimare 3D permite obținerea matricelor-monolit, care conțin până la 1000 duze de extrudare. Cu toate acestea, astfel de soluții ingineresti cu adevărat elegante rămân valabile doar pentru volume mici de laborator: pentru a obține  $2 \cdot 10^6$  de microcapsule cu diametrul de 10 μm pe unitate de timp (doar 1 cm<sup>3</sup>), este nevoie de **2000 matrici** 3D-imprimare a câte **1000 de duze** de extruziune fiecare.

Procesele intensive de structurare, precum extruziunea sau omogenizarea sub presiune, presupun un număr foarte mare de evenimente locale de deformare și rearanjare, estimat la ordinul a  $10^6$ - $10^7$  operații elementare pentru un volum reprezentativ de material. Chiar dacă fiecare eveniment individual este microscopic, cumularea lor conferă procesului caracter ireversibil. Astfel, disiparea energetică asociată nu rezultă doar din consumul total de energie, ci și din multiplicarea transformărilor structurale la scară mică.

Recent s-au realizat progrese semnificative în dezvoltarea tehnologiilor de obținere a emulsiilor monodisperse (422). Aceste procedee avansate pot în perspectiva apropiată favoriza dezvoltarea tehnologiilor de microîncapsulare, îndeosebi a celor care includ etapa de emulsionare.

Introducerea microcapsulelor în formularea produselor alimentare determină o creștere proporțională a costului de producție, dependentă de fracția masică utilizată și de prețul specific al ingredientului microîncapsulat. Pentru un adaos al microcapsulelor, care va corespunde în produs cu fracția masică  $\omega$ , majorarea directă a costului materiei prime,  $\Delta C_{\%}$ , se estimează prin relația:

$$\Delta C_{\%} = \frac{\omega \cdot C_{MC}}{C_{PR}} \cdot 100\% \quad (6.21)$$

în care:  $C_{MC}$  – costul microcapsulelor, € · kg<sup>-1</sup>;

$C_{PR}$  – costul produsului, € · kg<sup>-1</sup>

Ecuția (6.21) arată că efectul relativ asupra prețului final depinde de costul microcapsulelor și de poziționarea valorică inițială a produsului alimentar, iar optimizarea tehnologiilor de microîncapsulare prin limitarea producției de entropie are semnificație economică. Reducerea disipării energetice a procesului conduce implicit la scăderea consumului energetic specific și la diminuarea costului tehnologic al ingredientului microîncapsulat. Controlul entropic al proceselor devine un criteriu integrator, cu relevanță simultană structurală, energetică și economică (423), (424), (3). Astfel, la momentul actual, dintre toate metodele de microîncapsulare existente, ambele tipuri de „coacervare”, simplă (C) și complexă (CC), au o perspectivă reală de utilizare în scopul fabricării microcapsulelor de calitate alimentară, care vor fi totodată și fezabile din punct de vedere economic.

## Concluzii la Capitolul 6

1. Înțelegerea termodinamicii procesului de biosinteză a compușilor biologic activi în plante permite optimizarea momentului recoltării materiilor prime vegetale, astfel încât să fie maximizat conținutul de compuși cu activitate funcțională în stare relativ stabilă, care sunt utile din punct de vedere nutrițional. În special, este indicat ca recoltarea să fie concordată cu stabilizarea conținutului de apă, când acumularea CBA devine favorizată termodinamic.
2. Evaluarea eficienței energetice și exergonice a biosintezei diferitor clase de compuși bioactivi oferă un instrument valoros pentru selecția materiilor prime și proiectarea alimentelor funcționale. Din perspectiva organismului viu, biosinteza lipidelor și aminoacizilor, deși termodinamic defavorizată comparativ cu cea a glucidelor, este activată doar în cazurile când este necesară stocarea unei cantități mari de energie și de compuși biologic activi într-un volum redus – așa cum se întâmplă în semințe. În absența acestei constrângeri spațiale plantele „preferă”, în mod condiționat termodinamic, acumularea de glucide mai eficiente exergic.
3. Stabilitatea compușilor bioactivi poate fi prolongată prin păstrarea organizării structurale a materiei prime vegetale pe parcursul procesării. Astfel, metodele clasice (măcinare, presare, congelare) trebuie să fie însoțite cu măsuri de reducere a entropiei informaționale Shanon, ce presupune diminuarea contactului direct dintre componentele chimic incompatibile, prevenirea proceselor de degradare a interfețelor, care separă în mod natural aceste componente.
4. Implementarea tehnologiilor moderne de microîncapsulare cu eficiență exergică, cum ar fi **coacervarea** complexă sau înglobarea lipozomală, reprezintă soluții eficiente și lucrative pentru protejarea CBA în produsele alimentare. Utilizarea emulsiilor monodisperse și controlul entropiei interne sunt critice pentru obținerea microcapsulelor stabile și utile din punct de vedere funcțional.
5. **Formularea** de produse alimentare îmbogățite cu CBA trebuie să țină cont de compatibilitatea chimică și structurală a componentelor. O abordare etapizată a extracției, separării și valorificării fracțiilor bioactive, începând de la materia primă proaspătă, poate duce la obținerea unor alimente funcționale cu stabilitate și valoare nutritivă ridicată, evitând compromiterea integrității funcționale a ingredientelor cu activitate fiziologică.

## CONCLUZII GENERALE

*Cercetările realizate în cadrul tezei au condus la formularea următoarelor concluzii:*

1. Folosind modele de regresie, combinatorice și termodinamice, s-a demonstrat că stabilitatea coloranților naturali din diferite clase – antocieni (242), (188), (186), betalaine, chinocalconi (41), acizi grași  $\omega_3$  și  $\omega_6$  (65) – este compromisă datorită contactului lor cu mediul alimentar neutru sau ușor bazic. Efectul de destabilizare se amplifică datorită prezenței apei (emulsii A/U, spread-uri, soluții de coloranți). Analiza bibliografică și datele experimentale au demonstrat că soluțiile tehnologice clasice utilizate pentru prolongarea activității CBA în sistemele alimentare, în special, utilizarea antioxidanților sintetici, au ajuns la limita eficienței (282). Pentru a depăși limitările caracteristice procedeelor clasice de protecție au fost propuse strategii de prolongare a activității CBA prin crearea structurilor multifazice de tipul microcapsulelor (74) etc. și utilizarea biopolimerilor pentru stabilizarea fizico-chimică a coloranților prin complexarea reciprocă (40).
2. Au fost elaborate și aprobate proceduri experimentale cu valoare științifică înaltă, inclusiv modificările metodologice care prevăd utilizarea sinergică a spectroscopiei UV-Vis (260) și HPLC cu detecție PDA (247), (242), metode electrochimice originale de monitorizare a procesului de microîncapsulare (158), o metodă de determinare a polidispersității emulsiilor și microcapsulelor (111), (411), o metodă accesibilă de analiză a profilului cromatic RGB al coloranților naturali în sistemele-model și în alimente (41), modalitatea de determinare impactului biopolimerilor în stare coloidală asupra proprietăților optice, aplicabilă pentru complexul celuloză–cartamină în stare îmbibată (262). Metodele elaborate și elementele lor esențiale permit monitorizarea în timp real a integrității compușilor biologic activi, îndeosebi a coloranților în sistemele-model și în alimente.
3. Au fost stabilite metode tehnologice integrate de extracție și purificare, care asigură păstrarea structurii și activității funcționale a compușilor biologic activi din diferite clase aflate în stare concentrată – alge brune, *Saccharina japonica L.*, semințe oleaginoase de in, *Linum usitatissimum L.* (39) (192), rădăcini de sfeclă roșie, *Beta vulgaris L.* (197), petale roșii de șofrănel, *Carthamus tinctorius L.*, pelicula miezului de nucă, *Juglans regia L.* (396). Au fost extrase fracțiuni lichide și pulberi bogate în fibre alimentare – algi și arabinosilan, ulei cu un conținut ridicat de vitamine liposolubile (281) și de acizi grași polinesaturați – linolic și linolenic (191), coloranți – betanină (196), antocieni-agliconi în stare pură (233) și cartamină (237). Au fost brevetate procedee de obținere a biopolimerilor funcționali (inulina (304), alginatul (309),

arabinoxilanul (193)) în stare nativă cu masa moleculară ridicată, care reprezintă ingrediente pentru fabricarea alimentelor cu efecte funcționale adăugate.

4. A fost elaborat un model combinatoric care, în corelație cu principiile termodinamicii statistice, explică structura sistemelor Apă/Ulei/Aer, determinând limita de jos a stabilității lor (~63% ulei) și imposibilitatea existenței a două faze continue în aceste sisteme. A fost elaborat și brevetat un procedeu tehnologic de obținere a spread-ului – produs tartinabil cu compoziția fazică Apă/Ulei/Aer, structural similar cu untul din lapte de vaci, având un conținut ridicat, de 30...40% (m) AGPNS de origine vegetală (64).

5. A fost demonstrat că biopolimerii de origine variată – alginat, arabinoxilan, acid hialuronic, alcool polivinilic, celuloză microcristalină – sunt agenți activi de structurizare (38) și de stabilizare a compușilor biologic activi (408). Interacțiunile lor specifice cu coloranții naturali (antocieni, betalaine, chinocalconi) asigură un efect de protecție, excepție făcând sistemul acid hialuronic–antocieni, în care acidul hialuronic are rol destabilizator. Rezultatele obținute confirmă necesitatea asigurării compatibilității colorantului alimentar natural cu matricea biopolimerică a alimentului, ceea ce contribuie la prolongarea activității și stabilitatea colorantului până la momentul consumului (3), (316), (329).

6. Au fost examinate amply proprietățile și testarea condițiilor de utilizare a amestecului de chinocalconi galbeni (235) și ale complexului cartamină-celuloză: coloranți alimentari noi, comestibili, galbeni și roșii, stabili respectiv în soluție și în stare solidă îmbibată, la pH 1...6, care au potențial de integrare în produsele acido-lactice și în alte produse structurate cu un conținut ridicat de apă. Conform datelor FTIR, analizei activității apei și a profilului cromatic RGB, mecanismul de stabilizare a chinocalconilor roșii în complex cu celuloza include reducerea activității apei de către macromoleculele de celuloză, care induce protecția cromoforului împotriva hidrolizei, respectiv stabilizarea chinocalconilor împotriva degradării termice sau oxidative. Complexul cartamină–celuloză reprezintă o fibră alimentară comestibilă, un argument în plus pentru utilizarea lui în alimente cu valoare fiziologică sporită. Procedeele de obținere a coloranților chinocalconici au fost brevetate (238).

7. A fost brevetat un procedeu de obținere a iaurtului în care azocolorantul tartrazina se substituie cu amestecul de chinocalconi galbeni (335). Mostrele de iaurt cu ACCG au demonstrat stabilitatea senzorială, inclusiv cromatică, și compatibilitatea senzorială a colorantului și iaurtului, potențial funcțional ridicat al produsului caracterizat prin valoarea biologică înaltă a chinocalconilor din *Cartamus tinctorius L.* (236), (317), (334).

8. A fost propusă revizuirea critică a modelului clasic de **coacervare** simplă utilizat pe larg în procedeele de microîncapsulare (3), (74). Folosind simulările matematice și măsurările experimentale electrochimice, au fost aduse argumente privind fenomenele fizico-chimice, care stau la bază microîncapsulării și reprezintă un ansamblu mai complex decât doar **coacervarea**, incluzând adsorbția clasică *sicut attrahit sicut*, repulsie electrostatică și reorganizare moleculară (256). A fost elaborată diagrama de stare a sistemului gelatina–poliuronat în funcție de raportul de biopolimeri și pH. Monitorizarea electrochimică și utilizarea diagramei permite un control mai eficient al morfologiei microcapsulelor în formare și oferă soluții viabile pentru menținerea activității CBA în formă microîncapsulată în timpul depozitării alimentului, asigurând livrarea țintită și activarea în timpul actului de consum.

9. A fost elaborată și brevetată o tehnologie eficientă de microîncapsulare a lipidelor cu AGPNS în fază lichidă prin formarea pereților bistratificați gelatină–poliuronat pe suprafața picăturilor lipidice (98). Microcapsulele obținute reprezintă sfere cu diametrul 2...200 micrometri, nucleul cărora include faza lipidică biologic activă. Grosimea peretelui bistratificat al microcapsulei nu depinde de dimensiunea ei și constituie circa 370 nm. Procesul de microîncapsulare este optimizat față de procedeele cunoscute, excluzând etapele de separare și/sau uscare intermediară, ceea ce asigură consumul redus de resurse și compatibilitatea microcapsulelor cu alimentele polifazice – chefir și smântână.

10. S-a demonstrat experimental că în produsele alimentare acido-lactice microcapsulele au un comportament favorabil pentru livrarea țintită a compușilor biologic activi (366). Acestea rămân intacte la acțiunea mecanică și la pH slab bazic în cavitatea bucală, rezistă la pH al acidului caracteristic sucului gastric și eliberează conținutul lipidic bioactiv doar în intestinul subțire, la  $\text{pH} > 8$  (99). Acest rezultat validează utilizarea tehnologiei propuse pentru prolongarea funcționalității CBA, AGPNS și carotenoidelor în produsele lactate fermentate.

11. Rezultatele experimentale (41), (111), (395), (404), (423) etc. analizate în contextul modelelor matematice dezvoltate au sugerat interpretarea termodinamică a proceselor de biosinteză a compușilor biologic activi în plante. Ipoteza privind necesitatea controlului entropic a fost susținută de indicatorii cantitativi ai structurii și stabilității sistemelor studiate. Astfel, în diferite sisteme-model și produse alimentare reale s-a observat că stabilizarea CBA corelează cu parametrii structurali măsurabili: reducerea polidispersității fazelor dispersate ( $\text{PDI} < 0,2$ ), creșterea stabilității oxidative a fazei lipidice (scăderea ratei de degradare a AGPNS cu aproximativ 20...40% în prezența sistemelor antioxidante sinergice), precum și stabilizarea parametrilor cromatici ai pigmentilor naturali ( $\Delta E^* < 10\%$ ) în timpul depozitării. Aceste rezultate

denotă că organizarea ierarhică a sistemelor alimentare – prin formarea microstructurilor, complexarea cu biopolimeri și sinergia antioxidanților – conduce la reducerea entropiei structurale a sistemului dispers și, implicit, la prelungirea funcționalității compușilor biologic activi.

## RECOMANDĂRI

Se recomandă continuarea cercetărilor privind mecanismele de stabilizare a compușilor biologic activi (CBA) în sistemele alimentare prin extinderea modelărilor termodinamice și combinatorice, prin aplicarea simulărilor moleculare și prin elucidarea mecanismelor proceselor de microîncapsulare și a interacțiunilor biopolimer-colorant. Este oportună consolidarea cercetărilor privind rolul apei în destabilizarea CBA și asupra modalităților de limitare a producerii entropiei în sistemele alimentare. Se recomandă aplicarea metodelor instrumentale complementare (UV-Vis, HPLC-PDA, FTIR, control electrochimic, analiza RGB) pentru monitorizarea integrității și activității funcționale a CBA în timp real.

În industrie se propune valorificarea rezultatelor științifice și a brevetelor privind microîncapsularea lipidică, utilizarea biopolimerilor naturali (alginat, arabinoxilan, celuloză) și elaborarea produselor funcționale cu livrare țintită a CBA. Se recomandă dezvoltarea unor linii tehnologice pentru integrarea coloranților naturali de tip chinocalconic și a complexului cartamină–celuloză, capabile să înlocuiască aditivii sintetici în produsele lactate fermentate. Se încurajează proiecte-pilot de cultivare și valorificare industrială a speciilor - surselor de CBA, inclusiv coloranților și AGPNS, precum *Carthamus tinctorius* și *Linum usitatissimum*.

La nivel instituțional și național se consideră necesară susținerea cercetării aplicative și a transferului tehnologic în domeniul alimentelor funcționale, inclusiv prin programe de finanțare orientate spre substituirea aditivilor sintetici cu compuși naturali și optimizarea proceselor de microîncapsulare. Se recomandă armonizarea cadrului normativ național cu politicile UE privind reducerea utilizării coloranților artificiali și stimularea producției de ingrediente bioactive autohtone. Este oportună promovarea parteneriatelor dintre universități, institute de cercetare și industrie pentru implementarea rezultatelor științifice în produsele comerciale sigure și sustenabile, contribuind la creșterea competitivității sectorului agroalimentar din Republica Moldova.

În ansamblu, aceste recomandări conturează direcțiile de dezvoltare a tehnologiilor alimentare bazate pe controlul entropic al sistemelor alimentare și pe prolongarea funcționalității compușilor biologic activi.

## Bibliografie

1. ORTEGA A.M.M., CAMPOS M.R.S. Bioactive Compounds as Therapeutic Alternatives. In: CAMPOS M.R.S., ed. Bioactive Compounds. Cambridge, Woodhead Publishing, 2019, pp. 247-264.
2. FAO: Draft Vision and Strategy for FAO's work in Nutrition. [online, accessed 31.01.2022] - <http://www.fao.org/3/ne699en/ne699en.pdf>.
3. BAERLE A. Prolongarea funcționalității compușilor biologic activi în compozițiile alimentare. Chișinău, Tehnica UTM, 2023. 177 p. ISBN 978-9975-45-950-1.
4. SINGH V.P. Recent approaches in food bio-preservation - a review. Open Vet. J., 2018; 8(1), pp. 104-111.
5. DOBROTĂ N. VIERIȚĂ A. The Law of Entropy – the Most Economical of All Natural Laws. Current Manifestations of World Economics. AGER: Theoretical and Applied Economics, 2010, vol 5, nr. 546, pp. 81-98. ISSN 1841-8678.
6. DINCER I., ROSEN M.A. Exergy: Energy, Environment and Sustainable Development. Elsevier, 2012, 576 p. ISBN 9780080970905.
7. EUROPEAN COMMISSION. From Farm to Fork Strategy: For a fair, healthy and environmentally-friendly food system. Brussels, 2020. [https://food.ec.europa.eu/horizontal-topics/farm-fork-strategy\\_en](https://food.ec.europa.eu/horizontal-topics/farm-fork-strategy_en). Accesat 26.12.2025.
8. GUVERNUL RM. Hotărârea pentru aprobarea Regulamentului sanitar privind aditivii alimentari: nr. 229 din 29.03.2013. În: Monitorul Oficial al RM. 2013, nr. 69-74, art. 283.
9. Parlamentul RM. Lege pentru aprobarea Strategiei Naționale de Dezvoltare „Moldova Europeană 2030” din 17.11.2022. Monitorul Oficial al R. Moldova, nr. 409-410, 21.12.2022.
10. STURZA R., GHENDOV-MOȘANU A. (editori): Ameliorarea calității alimentelor prin biotehnologie și inginerie alimentară. Chișinău, Tehnica-UTM, 2023, 267 p. ISBN 978-9975-45-988-4.
11. TATAROV P.G. Chimia produselor alimentare. Chișinău, „MS-Logo”, 2017, 450p. ISBN 978-9975-4264-2-8.
12. KUZNETSOVA O.A. Naučnâ problema i nazvaniâ civilističeskikh issledovanij. Vestnik Permskogo universiteta, 2013, no. 4 (22), pp. 316-324. ISSN 2219-3111.
13. WALLACE R. Designing Experiments Self-Guide: Scientific Problem. 2004, NC State University. [https://labwrite.ncsu.edu/Experimental%20Design/exp\\_PL\\_sciproblem.htm](https://labwrite.ncsu.edu/Experimental%20Design/exp_PL_sciproblem.htm); accesat 21.01.2024.
14. MANACH C., SCALBERT A., MORAND C., RÉMÉSY C., JIMÉNEZ L. Polyphenols: food sources and bioavailability. The American Journal of Clinical Nutrition, 2004, vol. 79, no. 5, pp. 727-747. ISSN 0002-9165.
15. SHAHIDI F., AMBIGAIPALAN P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. Journal of Functional Foods, 2015, vol. 18, pp. 820-897. ISSN 1756-4646.
16. DILLARD C.J., GERMAN J.B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, vol. 80, no 12, pp. 1744-1756. DOI 10.1002/1097-0010(20000915)80:12<1744::AID-JSFA725>3.0.CO;2-W.
17. GALKINA I.V. Osnovy himii biologičeski aktivnyh vešestv. Kazan': Kazanskij gosudarstvennyj universitet, 2009, 151 p. ISBN 978-5-98180-761-9.
18. HALSTEAD B.W. Plant poisons (phytotoxins). In: Poison. Encyclopaedia Britannica online. Available at: <https://www.britannica.com/science/poison-biochemistry/Plant-poisons-phytotoxins>. Accessed 29.12.2025.
19. LIU R.H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. The American Journal of Clinical Nutrition, 2003, vol. 78, no. 3, pp. 517-520. DOI 10.1093/ajcn/78.3.517S.
20. GRANATO D., BARBA F. J., KOVAČEVIĆ D. B., LORENZO J. M., CRUZ A. G. PUTNIK, P. (Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. Annual Review of Food Science and Technology, . s.l. : 2020, vol. 11, pp. 93-118. ISSN 1941-1413.
21. GHENDOV-MOȘANU A. Compuși biologic activi de origine horticola pentru alimente funcționale. Chișinău, Tehnica-UTM, 2018. 236 p. ISBN 978-9975-45-531-2. <https://repository.utm.md/handle/5014/15286>.
22. Sănătate Non Stop. (n.d.). Alimente funcționale: Ce sunt și pentru ce sunt. <https://www.sanatatennonstop.ro/alimente-functionale/>. Accesat 29.12.2025.
23. BETORET E., BETORET N., VIDAL D., FITO P. Functional foods development: Trends and technologies. Trends in Food Science & Technology, 2021, 111. p. 642-655. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.035>.
24. MOSILHEY S.H., RASHWAN A.K., RAYAN, A.M. Sensory and technological considerations in the development of fiber-enriched bakery products. Foods, 2023, vol. 12, no. 20, article 3330. <https://doi.org/10.3390/foods12203330>.
25. KRAUS A., JONES A.M., NEUHOUSER M.L. Consumer attitudes toward functional foods and their health claims: A systematic review. Nutrition Reviews, 2022, vol. 80, no. 10, pp. 873-884. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab093>.

26. MARTIROSYAN D.M., SINGH J. A new definition of functional food by FFC: What makes a new definition necessary? *Functional Foods in Health and Disease*, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 175-190. DOI 10.31989/ffhd.v12i4.902.
27. RANI V., SHUKLA R., KAUR B. Economic barriers to functional food market expansion: A global perspective. *International Journal of Food Science*, 2024, article 6650031. DOI 10.1155/2024/6650031.
28. MLCEK J., BORKOVCOVA M., BEDNAROVA M. Biologically active substances of edible insects and their use in agriculture, veterinary and human medicine - a review. *Journal of Central European Agriculture*, 2014, vol. 15, no. 4, pp. 225-237. . s.l. : DOI 10.5513/JCEA01/15.4.1533.
29. SINKO J., RAJCHARD J., BALOUNOVA Z., FIKOTOVA L. Biologically active substances from water invertebrates - a review. *Veterinarni Medicina*, 2012, vol. 57, no. 4, p. 177–184. DOI 10.17221/5914-VETMED.
30. Institutul de Chimie AȘ RM. Noi substanțe cu potențial preventiv și terapeutic în baza compușilor naturali de origine vegetală. Chișinău, Institutul de Chimie. s.l. : <https://ichem.md/noi-substante-cu-potential-preventiv-si-terapeutic-baza-compusilor-naturali-de-origine-vegetala-si>, accesat 29.12.2025.
31. LUPOAE D.-S. Caracterizarea în compuși bioactivi a unor plante în vederea utilizării în alimente funcționale. Rezumat teză de doctorat. Universitatea „Dunărea de Jos”, 2020. [www.dspace.ugal.ro/handle/20.500.14043/28608?show=full](http://www.dspace.ugal.ro/handle/20.500.14043/28608?show=full). Accesat 29.12.2025.
32. General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed (CXS 193-1995). 2023. FAO-WHO Codex Alimentarius Commission. . s.l. : [https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/fr/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS\\_193e.pdf](https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/fr/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193e.pdf).
33. RATHER I.A., KOH W.Y., PAEK W.K., LIM J. The sources of chemical contaminants in food and their health implications. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, vol. 8, article 830. DOI 10.3389/fphar.2017.00830.
34. REILLY C. *Metal Contamination of Food: Its Significance for Food Quality and Human Health*. Blackwell Science, 2002. 266 p. ISBN 0-632-05927-3.
35. KUKK M., TORRES D. Risk assessment related to food additives and food processing-derived chemical contaminants exposure for the Portuguese population. *EFSA Journal*. 2020, vol. 18 (suppl. 1), article e181110. DOI 10.2903/j.efsa.2020.e181110.
36. LAVRIC V., COREȚCHI, I. Disponibilitatea preparatelor probiotice, prebiotice și sinbiotice în Republica Moldova. *Moldovan Journal of Health Science*, 2024, vol. 11, no. 3, p. 91. . s.l. : [https://repository.usmf.md/bitstream/20.500.12710/29134/1/MJHS\\_3\\_2024\\_A2\\_091.pdf](https://repository.usmf.md/bitstream/20.500.12710/29134/1/MJHS_3_2024_A2_091.pdf). Accesat 29.12.2025.
37. DAVANI-DAVARI D., NEGAHDARIPOUR M., KARIMZADEH I., SEIFAN M., MOHKAM M., MASOUMI S.J., BERENJIAN A., GHASEMI Y. Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. . s.l. : *Foods*, 2019, vol. 8, no. 3, article 92. DOI 10.3390/foods8030092.
38. MACARI A., ILI V., BAERLE A., MARDAR M. Raw-dried salami: influence of initial composition for acceleration of drying. *Proceedings of 3-rd International Conf. “Modern Technologies In The Food Industry”*. Chișinău, UTM, 2016. – p. 225-228. s.l. : <http://repository.utm.md/handle/5014/6979>. Accesat 02.01.26.
39. POIANȘCHII V., OLARI S., BAERLE A. Arabinoxylan – basic polysaccharide of flax seeds. In: 83rd International Scientific Conference “Youth Scientific Achievements to the 21st Century Nutrition Problem Solution”, Kiyv, 5–6 April 2017. s.l. : Abstracts, Part 1, p. 32. <https://dspace.nuft.edu.ua/server/api/core/bitstreams/e5357a68-c9c6-4f29-85b6-cc32bf8a348a/content?trackerId=9cae8dd3232a831b>. Accesat 02.01.26.
40. ZADOROJNĂI L., VEREJAN A., BAERLE A., GHEȚIU M., ZADOROJNĂI A. Influența acidului hialuronic asupra stabilității unor coloranți roșii naturali. Conferința Științifică a Colaboratorilor, Doctoranzilor și Studenților UTM, 17–19 November 2010, pp. 126–128. . s.l. : <https://repository.utm.md/handle/5014/3892>. Accesat 02.01.26.
41. BAERLE A., SAVCENCO A., TATAROV P., FETEA F., IVANOVA R., RADU O. Stability limits of a red Carthamin–cellulose complex as a potential food colourant. *Food & Functions*, 2021 (2), pp. 8037-8043. s.l. : DOI 10.1039/D1FO01376A.
42. Alimentaria.ro. Ingrediente funcționale: Ce sunt, clasificare și beneficii. <https://www.alimentaria.ro/blog-ro/ingrediente-alimentare/ingrediente-funcionale/>. Accesat 02.01.26.
43. Med.ro. Lista alimente diabet: Alegeri potrivite pentru gestionarea glucozei. <https://med.ro/nutritie/lista-alimente-diabet/>. Accesat 02.01.26.
44. Institutul de Biologie și Nutriție Animală. Rolul alimentelor funcționale în prevenirea apariției bolilor cronice. 2018. [https://www.ibna.ro/pdf/brosuri/BROSURA-INDAGRA\\_rolul-alimentelor-nutritionale\\_2018.pdf](https://www.ibna.ro/pdf/brosuri/BROSURA-INDAGRA_rolul-alimentelor-nutritionale_2018.pdf). s.l. : Accesat 02.01.26.
45. AMRAN M., ZULFAKAR M.H., DANIK M.F., ABDULLAH M., SHAMSUDDIN A.F. A new alternative for intravenous lipid emulsion 20% w/w from superolein oil and its effect on lipid and liver profiles in an animal model.

- s.l. : Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sci., 2019, vol. 27, no. 1, pp. 191–201. DOI 10.1007/s40199-019-00262-7.
46. TOKAEV È.S., BLOHINA N.P. NEKRASOV E.A. Biologičeski aktivnye vešestva, ulučšaûšie funkcional'noe sostoânie pečeni. *Voprosy pitaniâ*, 2007, vol. 76, no. 4, pp. 4–9. ISSN 0042-8833.
47. RASHIDINEJAD A. The road ahead for functional foods: Promising opportunities amidst industry challenges. *Future Postharvest and Food*, 2024, 1(2), p. 266–273. . s.l. : DOI 10.1002/fpf2.12022.
48. EUROPEAN COMMISSION. Nutrition and health claims [online]. [https://food.ec.europa.eu/food-safety/labelling-and-nutrition/nutrition-and-health-claims\\_en](https://food.ec.europa.eu/food-safety/labelling-and-nutrition/nutrition-and-health-claims_en). Accesat 11.05.2025.
49. HOLM L. Food Health Policies and Ethics: Lay Perspectives on Functional Foods. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 2003, vol. 16, p. 531–544. s.l. : ISSN 1187-7863.
50. DONOVAN S.M., ABRAHAMS M., ANTHONY J.C., BAO Y., BARRAGAN M., BERMINGHAM K.M. et al. Personalized nutrition: perspectives on challenges, opportunities, and guiding principles for data use and fusion. *Critical reviews in food science and nutrition*. s.l. : 2025. p. 1–18. DOI 10.1080/10408398.2025.2461237.
51. DOMÍNGUEZ R., PATEIRO M., GAGAOUA M., BARBA F.J., ZHANG W, LORENZO J.M. A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. s.l. : *Antioxidants*, 2019, vol. 8, no. 10, article 429. DOI 10.3390/antiox8100429.
52. TATAROV P. Physicochemical changes of walnut oil. In: *Modern Technologies in the Food Industry. Abstracts. Chişinău*, 1-3 nov., 2012, vol II, pp. 192-197. ISBN 978-9975-87-428-1.
53. CIOBANU D. *Chimia produselor alimentare*. Chişinău, Tehnica-Info, 2002. 357 p. ISBN 9975-63-155-X.
54. GHENDOV-MOŞANU A. Obţinerea şi stabilizarea unor coloranţi, antioxidanţi şi conservanţi de origine vegetală pentru alimente funcţionale. Teza de Doctor habilitat. Chişinău, 2021. 287 p. <http://www.cnaa.md/thesis/56994/>. s.l. : Accesat 02.01.26.
55. BREDA J., WIJNHOFEN T., GABRIJELČIČ M., SIGFRID L. Food security and healthier food choices. Chapter 7 (pp.113-135) in: RECHEL B., MCKEE M. (eds.) - *Facets of Public Health in Europe*. Open University Press, 2014, 374p. s.l. : ISBN 978-0-33-526420-9.
56. GREITHER T. Nutritional food oil compositions and methods of making same. European patent EP2094098A1, 2007. <https://patents.google.com/patent/EP2094098A4/en>. Accesat 02.01.26.
57. CHIRSANOVA A., CAPCANARI T., BOISTEAN A., COVALIOV E., RESITCA V., STURZA R. Behavior of Consumers in the Republic of Moldova Related to the Consumption of Trans Fat. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, . s.l. : 2020, vol. 9, no. 8, pp. 493-498. ISSN 2326-3350.
58. KHUBBER S., CHATURVEDI K., THAKUR N., SHARMA N., YADAV S.K. Low-methoxyl pectin stabilizes low-fat set yoghurt and improves their physicochemical properties, rheology, microstructure and sensory liking. *Food Hydrocolloids*, . s.l. : 2021, vol. 111, article 106240. DOI 10.1016/j.foodhyd.2020.106240.
59. VELDERRAIN-RODRÍGUEZ G.R., SALVIA-TRUJILLO L., MARTÍN-BELLOSO O. Lipid digestibility and polyphenols bioaccessibility of oil-in-water emulsions containing avocado peel and seed extracts as affected by the presence of low methoxyl pectin. *Foods*. s.l. : 2021, vol. 10, no. 9, article 2011. DOI 10.3390/foods10092011.
60. RYL'SKAÂ L.A., ŠČERBAKOVA E.V., FRAMPOL'SKAÂ T.B. Kombinirovanoe maslo. Russian patent RU 2224441 C2, 2004. <https://elibrary.ru/item.asp?id=37936372>. Accesat 02.01.26.
61. MA X., CHENG X., DU Y., TANG P., CHEN L., CHEN W., ZHENG Z. Pectins Rich in RG-I Extracted from Watermelon Peel: Physicochemical, Structural, Emulsifying, and Antioxidant Properties. . s.l. : 2024, vol. 13, no. 15, article 2338. DOI 10.3390/foods13152338.
62. TEREŠČUK L.V., MAMONTOV A.S., KRAEVA K.V., SUBBOTINA M.A. Optimizaciâ sostava žirovyh kompozicij dlâ spreadov. *Tehnika i tehnologiâ piševyh proizvodstv*, 2014, no. 4, pp. 63-71. ISSN 2074-9414.
63. RADU O. Lecithin impact on the texture of emulsions based on walnut oil. *Materials of II-nd Int. Sci. and Practical Internet-Conference „Biotechnology: Experience, Traditions and Innovations”*, Kiyv, NUFT, 2018, p. 74. . s.l. : <https://dspace.nuft.edu.ua/items/1fa1b825-8a4b-4284-a7a1-ec62019b3ac3>. Accesat 02.01.26.
64. RADU O., POPESCU L., TATAROV P., BAERLE A. Universitatea Tehnică a Moldovei, MD (titular). Procedeu de obţinere a amestecului de grăsimi tartinabile pe bază de smântână dulce. Brevet de invenţie MD-1281. BOPI 2018-09-30.
65. RADU O., BAERLE A., TATAROV P., POPESCU L. Factors, that determine the shelf life of a butter-like spread, based on walnut oil. *Journal of Engineering Science*, 2019, vol. XXVI, no. 3, pp. 119-124. . s.l. : ISSN 2587-3474.
66. RADU O. Compoziţii alimentare pe baza uleiului de nucă (*Juglans regia* L.) rezistente la degradări oxidative. Teza de doctor în tehnică. Chişinău, UTM, 2020. – 150p. <http://www.cnaa.md/thesis/56546/>. Accesat 02.01.26.

67. BERRY S.E., BRUCE J.H. STEENSON S., STANNER S., BUTTRISS J.L., SPIRO A. et al. Interesterified fats: What are they and why are they used? A briefing report from the Roundtable on Interesterified Fats in Foods. s.l. : Nutrition Bulletin, 2017, vol. 44, no. 4, pp. 363-380. DOI 10.1111/nbu.12397.
68. PUROHIT R., PALOTH V. Polymorphism: An Overview. Resonance, 2009, vol. 14, pp. 882-893. DOI 10.1007/s12045-009-0084-7.
69. SANDULACHI E. Water activity concept and its role in food preservation. Meridian Ingineresc, 2012, no. 4, pp. 40-48. ISSN 1683-853X.
70. WARAHO T., MCCLEMENTS D.J., DECKER, E.A. Mechanisms of lipid oxidation in food emulsions. Trends in Food Science and Technology, 2011, vol. 22, no. 1, pp. 3–13. DOI 10.1016/J.TIFS.2010.11.003.
71. JACOBSEN C., LET M.B., NIELSEN N.S., MEYER A.S. Antioxidant strategies for preventing oxidative flavour deterioration of foods enriched with n-3 polyunsaturated lipids: A comparative evaluation. Trends in Food Science and Technology, s.l. : 2008, vol. 19, no. 2, p. 76–93. DOI 10.1016/j.tifs.2007.08.001.
72. POKORNÝ J. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? European Journal of Lipid Science and Technology, 2007, vol. 109, no. 6, pp. 629–642. DOI 10.1002/ejlt.200700064.
73. GREEN B.K., SCHLEICHER L. Oil-containing microscopic capsules and method of making them. US Patent 2,800,457. Issued July 23, 1957. <https://patents.google.com/patent/US2800457A/en>. Accesat 02.01.26.
74. BAERLE A. Microencapsulation of functional components in the food technology: partially optimistic view. Journal of Engeneering Science, 2021, vol. XXVIII, no. 3, pp. 139-157. ISSN 2587-3474.
75. U.S. FOOD AND DRUG AUTHORITY. Think It Through: Managing the Benefits and Risks of Medicines. <https://www.fda.gov/drugs/information-consumers-and-patients-drugs/think-it-through-managing-benefits-and-risks-medicines>. Accesat 02.01.26.
76. MAHATO R. Multifunctional Micro- and Nanoparticles. In: MITRA A.K., CHOLKAR K., MANDAL A (editors): Micro and Nano Technologies Emerging Nanotechnologies for Diagnostics, Drug Delivery and Medical Devices. Elsevier, 2017, pp. 21-43. . s.l. : ISBN 978-0-323-42978-8.
77. CIUCĂ A.G., GRECU C.I., ROTĂRESCU P., GHEORGHE I., BOLOCAN A., GRUMEZESCU A.M., HOLBAN A.M., ANDRONESCU E. Chapter 30: Nanostructures for drug delivery: pharmacokinetic and toxicological aspects. IN: ANDRONESCU E., GRUMEZESCU A.M. s.l. : (eds): Micro and Nano Technologies, Nanostructures for Drug Delivery. Elsevier, 2017, pp. 941-957. ISBN 978-0-323-46143-6.
78. VASILE C., PAMFIL D., STOLERU E., BAICAN M. New Developments in Medical Applications of Hybrid Hydrogels Containing Natural Polymers. Molecules, 2020, vol. 25, no. 7, article 1539. s.l. : DOI 10.3390/molecules25071539.
79. FAO–WHO CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex general standard for contaminants and toxins in food and feed. [www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/livestockgov/documents/1\\_CXS\\_193e.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/livestockgov/documents/1_CXS_193e.pdf). Accesat 31.01.22.
80. VALLEJO R., GONZALES-VALDIVIESO J., SANTOS M., RODRIGUEZ-ROJO S., ARIAS F.J. Production of elastin-like recombinamer-based nanoparticles for docetaxel encapsulation and use as smart drug-delivery systems using a supercritical anti-solvent process. s.l. : Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2021, vol. 93, pp. 361–374. DOI 10.1016/j.jiec.2020.10.013.
81. YEOM J., KANG M., GOH A., JEON J., SHIM W.S., KANG N.G. Timed-Release Silica Microcapsules for Consistent Fragrance Release in Topical Formulations. Applied Sciences. 2024, vol. 14, no. 23, article 11308. DOI 10.3390/app142311308.
82. PATRAVALE V.B., MANDAWGADE S.D.. Novel cosmetic delivery systems: an application update. International Journal of Cosmetology Science, 2008, vol. 30, no. 1, p. 19-33. DOI 10.1111/j.1468-2494.2008.00416.x.
83. AMARAL P.H.R., ANDRADE P.L., DE CONTO L.C. Microencapsulation and Its Uses in Food Sci. and Technol.: A Review. In: SALAÛN, F., ed. Microencapsulation – Processes, Technologies and Ind. Appl. IntechOpen, [www.intechopen.com/chapters/67432](http://www.intechopen.com/chapters/67432). . s.l. : Accesat 31.01.22.
84. NUNES K. Consumers continue to mistrust food and beverage manufacturers. <https://www.foodbusinessnews.net/articles/12058>. Accesat 31.01.22.
85. SHULMAN H.C., DIXON G.N., BULLOCK O.M., COLÓN AMILL D. The effects of jargon on processing fluency, self-perceptions, and scientific engagement. Journal of Language and Social Psychology, 2020, vol. 39, no. 5-6, p. 579–597. . s.l. : DOI 10.1177/0261927X20902177.
86. BAKRY A.M., ABBAS S.H., ALI B., MAJEED H., ABOUELWAFI M.Y., MOUSA A.H., LIANG L. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. s.l. : Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2015, vol. 15, no. 1, pp. 143-182. DOI 10.1111/1541-4337.12179.

87. UMER H., NIGAM H., TAMBOLI A.M. Microencapsulation: Process, Techniques and Applications. *International journal of research in pharmaceutical and biomedical sciences*, 2011, vol. 2 no. 2, p. 474-481. ISSN 2229-3701.
88. XUYAN ZONG, HUIRONG YANG, XIAOFAN JIN, BRENNAN C.S., COLDEA T.E., LINFEI CAI, HAIFENG ZHAO. Effect of dissolved oxygen on the oxidative and structural characteristics of protein in beer during forced ageing. *s.l. : International Journal of Food Science and Technology*, 2021, vol. 56, no. 5, pp. 2548–2556. DOI 10.1111/ijfs.14894.
89. MOHYLYUK V., PATEL K., SCOTT N. RICHARDSON C., MURNANE D., LIU F. Wurster Fluidized Bed Coating of Microparticles: Towards Scalable Production of Oral Sustained-Release Liquid Medicines for Patients with Swallowing Difficulties. *s.l. : AAPS PharmSciTech*, 2019, vol. 21, no. 1, article 3. DOI 10.1208/s12249-019-1534-5.
90. CORRÊA-FILHO L.C., LOURENÇO M.M., MOLDÃO-MARTINS M., ALVES V.D. Microencapsulation of  $\beta$ -Carotene by Spray Drying: Effect of Wall Material Concentration and Drying Inlet Temperature. *International Journal of Food Science*, 2019, article 8914852. . *s.l. : DOI 10.1155/2019/8914852*.
91. SILVA K.C.G., BOURBON A.I., PASTRANA L., SATO A.C.K. Emulsion-filled hydrogels for food applications: influence of pH on emulsion stability and a coating on microgel protection. *Food & Function*, 2020 vol. 11, no. 9, pp. 8331–8341. DOI 10.1039/d0fo01198c.
92. LATYŠEV V.N., NAUMOV A.G., ČIRKIN S.A., ONOŠIN N.M., PRIBYLOV A.N. Sposob polučeniâ mikrokapsul. Russian Federation patent RU 2147923, 27 April 2000.
93. TIMCHENKO L.D., RZHEPAKOVSKIJ I.V., AVANESYAN S.S., LIONOVA S.S., BONDAREVA N.I. et al. Method for polyelectrolite microcapsules preparation. Patent RU 2641034 C1, 27.01.2017.
94. ANG L.F., DARWIS Y., POR L.Y., YAM M.F. Microencapsulation Curcuminoids for Effective Delivery in Pharmaceutical Application. *Pharmaceutics*, 2019, vol. 11, no. 9, article 451. *s.l. : DOI 10.3390/pharmaceutics11090451*.
95. LOMBARDO S., VILLARES A. Engineered Multilayer Microcapsules Based on Polysaccharides Nanomaterials. *Molecules*, 2020, vol. 25, article 4420. DOI 10.3390/molecules25204420.
96. PPACHECO C., GONZÁLEZ E., PAZ R., PARADA J. Retention and pre-colon bioaccessibility of oleuropein in starchy food matrices, and the effect of microencapsulation by using inulin. *Journal of Functional Foods*, 2018, vol. 41, pp. 112–117. *s.l. : DOI 10.1016/j.jff.2017.12.037*.
97. AAVSTRIEVSKIH A.N., CIBIZOV Ū.N. Sposob mikrokapsulirovaniâ vkusoaromatičeskijh vešestv i vkusoaromatičeskijh produkt, polučennyj ètim sposobom. Russian patent RU 2305473, 10 September 2007.
98. BAERLE A., TATAROV P., DIMOVA O., COJOHARI C. Process for microencapsulation of food and cosmetic oil compositions. Patent MD-557, BOPI 2012-11-30, pp. 32-33.
99. BAERLE A., DIMOVA O., URUMOGLOVA I., TATAROV P., ZADOROJNAI L. Phase Diagram of Gelatine-Polyuronate Colloids: its Application for Microencapsulation and Not Only. *Chemistry Journal of Moldova*, 2016, vol. 16, no. 1, pp. 97-105. . *s.l. : ISSN 1857-1727*.
100. KALAYCIOGLU G.D., AYDOGAN N. Layer-by-layer coated microcapsules with lipid nanodomains for dual-drug delivery. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2020, vol. 584, article 124037. *s.l. : DOI 10.1016/j.colsurfa.2019.124037*.
101. CORREA R., COLUCCI G., NOUREDDINE H., PINTO J., SANTAMARIA-ECHART A., MONTE BLANCO S., FERNANDES I, BARREIRO M. Development of Chitosan Microspheres through a Green Dual Crosslinking Strategy Based on Tripolyphosphate and Vanillin. . *s.l. : Molecules*, 2021, vol. 26, article 2325. DOI 10.3390/molecules26082325.
102. GHARIBZAHEDI S.M.T., GEORGE S., GREINER R., ESTEVINHO B.N., FRUTOS FERNÁNDEZ M.J., MCCLEMENTS D.J., ROOHINEJAD S. New Trends in the Microencapsulation of Functional Fatty Acid-Rich Oils Using Transglutaminase Catalyzed Crosslinking. *s.l. : Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2018, vol. 17, no. 2, pp. 274-289. DOI 10.1111/1541-4337.12324.
103. LERNER A., BENZVI C. Microbial transglutaminase is a very frequently used food additive and is a potential inducer of autoimmune/neurodegenerative diseases. *Toxics*, 2021, vol. 9, no. 10, article 233. DOI 10.3390/toxics9100233.
104. PETKOVA D., MIHAYLOVA D., DESSEVA I. Microencapsulation in food industry - an overview. *BIO Web of Conferences*, 2022, vol. 45, article 02005. DOI 10.1051/bioconf/20224502005.
105. PPARVATHY U., JEYAKUMARI A. Microencapsulation and spray drying technology. In: BINDU J., SREEJITH S., SARIKA K. (eds.). *Protocols for the Production of High Value Secondary Products from Industrial Fish and Shellfish Processing*. *s.l. : Cochin: Central Institute of Fisheries Technology*, 2018, pp. 140–147. [https://cift.res.in/uploads/AnnualReport/Annual%20Report%202021%20Final%20for%20Web\\_20220811103358.pdf](https://cift.res.in/uploads/AnnualReport/Annual%20Report%202021%20Final%20for%20Web_20220811103358.pdf). Accesat 12.01.2026. .

106. DA SILVA P.T., FRIES L.L.M., DE MENEZES C.R., HOLKEM A.T., SCHWAN C.L., WIGMANN É.F., DE OLIVEIRA BASTOS J., DE BONA DA SILVA C. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. . s.l. : Ciência Rural, 2014, vol. 44, no. 7, pp. 1304–1311. DOI 10.1590/0103-8478cr20130902.
107. GUPTA S., KHAN S., MUZAFAR M., KUSHWAHA M., YADAV A.K., GUPTA A.P. Encapsulation: entrapping essential oil/flavors/aromas in food. In: GRUMEZESCU A.M. (ed.). Nanotechnology in the Agri-Food Industry: Encapsulations. Academic Press, 2016, pp. 229-268. s.l. : DOI 10.1016/B978-0-12-804307-3.00006-5.
108. VILGIS T.A. Texture, taste and aroma: multi-scale materials and the gastrophysics of food. *Flavour*, 2013, vol. 2, article 12. DOI 10.1186/2044-7248-2-12.
109. LUCKETT C.R. The influences of texture and mastication pattern on flavor perception across the lifespan. PhD thesis. Fayetteville: University of Arkansas, 2016. 164 p. . s.l. : <https://scispace.com/pdf/the-influences-of-texture-and-mastication-pattern-on-flavor-2rk3ffos1y.pdf>. Accesat 12.01.2026.
110. RADULOVA G.M., SLAVOVA T.G., KRALCHEVSKY P.A., BASHEVA E.S., MARINOVA K.G., DANOV K.D. Encapsulation of oils and fragrances by core-in-shell structures from silica particles, polymers and surfactants: The brick-and-mortar concept. . s.l. : *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2018, vol. 559, pp. 351–364. DOI 10.1016/j.colsurfa.2018.09.041.
111. BAERLE A., DIMOVA O., ZADOROJNAI L., TATAROV P., ZENKOVICH A. Electrophoresis of oil-containing edible microcapsules with protein–polyuronic shells. *Ukrainian Food Journal*, 2014, vol. 3, no. 2, pp. 211-217. . s.l. : ISSN 2304-974X.
112. FAVARO-TRINDADE, C., OKURO, P.K. Encapsulation via Spray Chilling / Cooling / Congealing. In: MISHRA, M. ed. *Handbook of Encapsulation and Controlled Release*. CRC Press, 2015, pp. 71-86. ISBN 9781482232325.
113. DABIJA A., NECHIFOR I. Study regarding the microencapsulation of food ingredients in alginates. *Annals. Food Science and Technology*, 2015, vol. 16, no. 1, pp. 20–26. . s.l. : [www.researchgate.net/publication/326560630\\_Study\\_regarding\\_the\\_microencapsulation\\_of\\_food\\_ingredients\\_in\\_alginates](http://www.researchgate.net/publication/326560630_Study_regarding_the_microencapsulation_of_food_ingredients_in_alginates). Accesat 12.01.2026.
114. TSAI W.CH., RIZVI S.S.H. Liposomal microencapsulation using conventional methods and novel supercritical fluid processes. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, vol. 55, pp. 61-71. DOI 10.1016/j.tifs.2016.06.007.
115. BABAZADEH A., JAFARI S.M., SHI B. Encapsulation of food ingredients by nanophytosomes. In: Jafari S.M. ed. *Nanoencapsulation in the Food Industry. Lipid-Based Nanostructures for Food Encapsulation Purposes*. Academic Press, 2019, pp. 405-443. . s.l. : DOI 10.1016/B978-0-12-815673-5.00010-6.
116. AWASTHI R., KULKARNI G., PAWAR V. Phytosomes: an approach to increase the bioavailability of plant extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2011, vol. 3, pp. 1–3. ISSN 2656-0097.
117. RASHIDINEJAD A., BOOSTANI S., BABAZADEH A., REHMAN A., REZAEI A., AKBARI-ALAVIJEH S., SHADDEL R., JAFARI S.M. Opportunities and challenges for the nano-delivery of green tea catechins in functional foods. . s.l. : *Food Research International*, 2021, vol. 142, article 110186. DOI 10.1016/j.foodres.2021.110186.
118. LENGYEL M., KÁLLAI-SZABÓ N., ANTAL V., LAKI A.J., ANTAL I. Microparticles, microspheres, and microcapsules for advanced drug delivery. *Scientia Pharmaceutica*, 2019, vol. 87, no. 3, article 20. DOI 10.3390/scipharm87030020.
119. PPURKAYASTHA M., MANHAR A., MANDAL M., MAHANTA C.H. Industrial waste-derived nanoparticles and microspheres as potent antimicrobial and functional ingredients. *Journal of Applied Chemistry*, 2014, article ID 1–12. DOI 10.1155/2014/123456.
120. KYRIAKOUDI A., SPANIDI E., MOURTZINOS I., GARDIKIS K. Innovative delivery systems loaded with plant bioactive ingredients: formulation approaches and applications. *Plants*, 2021, vol. 10, article 1238. DOI 10.3390/plants10061238.
121. MOHAMMADALINEJHAD S., KUREK M.A. Microencapsulation of anthocyanins: critical review of techniques and wall materials. *Applied Sciences*, 2021, vol. 11, no. 9, article 3936. DOI 10.3390/app11093936.
122. LOBEL B.T., BAIOTTO D., AL-SHARABI M., ROUTH A.F., ZHANG Z., CAYRE O.J. Current challenges in microcapsule designs and microencapsulation processes: a review. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2024, vol. 16, no. 31, pp. 40326–40355. s.l. : ISSN 1944-8244.
123. ABBASI E., AVAL S.F., AKBARZADEH A., MILANI M., NASRABADI H.T., JOO S.W., HANIFEHPOUR Y., NEJATI-KOSHKI K., PASHAEI-ASL R. Dendrimers: synthesis, applications, and properties. *Nanoscale Research Letters*, 2014, vol. 9, article 247. s.l. : DOI 10.1186/1556-276X-9-247.
124. MOHAMMED N.K., TAN C.P., MANAP Y.A., MUHIALDIN B.J., HUSSIN A.S.M. Spray drying for the encapsulation of oils – a review. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 17, article 3873. DOI 10.3390/molecules25173873.

125. MIS-SOLVAL K.E., JIANG N., YUAN M., JOO K.H., CAVENDER G.A. Effect of ultra-high-pressure homogenization of protein encapsulants on survivability of probiotic cultures after spray drying. *Foods*, 2019, vol. 8, no. 12, article 689. DOI 10.3390/foods8120689.
126. ZHANG R., HOFFMANN T., TSOTSAS E. Novel technique for coating of fine particles using fluidized bed and aerosol atomizer. *Processes*, 2020, vol. 8, article 1525. DOI 10.3390/pr8121525.
127. COLUCCI G., SANTAMARIA-ECHART A., SILVA S.C., FERNANDES I., SIPOLI C.C., BARREIRO M.F. Development of water-in-oil emulsions as delivery vehicles and testing with a natural antimicrobial extract. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 9, p. 2105. s.l. : DOI 10.3390/molecules25092105.
128. FERREIRA S., NICOLETTI V.R. Complex coacervation assisted by a two-fluid nozzle for microencapsulation of ginger oil: effect of atomization parameters. *Food Research International*, 2020, vol. 138, Pt B, p. 109828. DOI 10.1016/j.foodres.2020.109828.
129. VIDAL R.R.L., DESBRIÈRES J., BORSALI R., GUIBAL E. Oil removal from crude oil-in-saline water emulsions using chitosan as biosorbent. *Separation Science and Technology*, 2020, vol. 55, no. 5, pp. 835–847. s.l. : DOI 10.1080/01496395.2019.1575879.
130. HARRINGTON J., SCHAEFER M. Extrusion-based microencapsulation for the food industry. In: GAONKAR A.G., VASISHT N., KHARE A.R., SOBEL R. (eds.). *Microencapsulation in the Food Industry*. Academic Press, 2014, pp. 81-84. ISBN 978-0-12-404568-2.
131. 130. SETH D., MISHRA H.N., DEKA S.C. Effect of microencapsulation using extrusion technique on viability of bacterial cells during spray drying of sweetened yoghurt. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, vol. 103, pp. 802-807. s.l. : DOI 10.1016/j.ijbiomac.2017.05.099.
132. BAMPI G.B., BACKES G.T., CANSIAN R.L., MATOS F.E., ARALDI-ANSOLIN I.M., POLETO B.C., COREZZOLLA L.R., FAVARO-TRINDADE C.S. Spray chilling microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. s.l. : and its use in the preparation of savory probiotic cereal bars. *Food and Bioprocess Technology*, 2016, vol. 9, pp. 1422–1428. DOI 10.1007/s11947-016-1724-z.
133. MATOS F.E., THOMAZINI M., TRINDADE M.A., FAVARO-TRINDADE C. Application of free or encapsulated Vitamin C to chicken frankfurter sausage by spray chilling: Physicochemical characteristics, stability and sensory acceptance. . s.l. : *Brazilian Journal of Food Technology*, 2015, vol. 18, no. 4, pp. 322–331. DOI: 10.1590/1981-6723.5615., *Braz J. of Food Technology*, 2015, 18(4), pp. 322-331.
134. NOGUEIRA M., PRESTES C.F., BURKERT J.F. Microencapsulation by lyophilization of carotenoids produced by *Phaffia rhodozyma* with soy protein as the encapsulating agent. s.l. : *Food Science and Technology International*, 2017, vol. 23, no. 7, pp. 593-601. DOI 10.1590/1678-457x.05417.
135. PICCININO D., CAPECCHI E., BOTTA L., BIZZARRI B.M., BOLLELLA P., ANTIOCHIA R., SALADINO R. Layer-by-Layer Preparation of Microcapsules and Nanocapsules of Mixed Polyphenols with High Antioxidant and UV-Shielding Properties. s.l. : *Biomacromolecules*, 2018, vol. 19, no. 9, pp. 3883–3893. DOI 10.1021/acs.biomac.8b01006.
136. LU T., SPRUIJT E. Multiphase complex coacervate droplets. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, vol. 142, no. 6, pp. 2905–2914. DOI 10.1021/jacs.9b11468.
137. JUSTI P.N., SANJINEZ-ARGANDOÑA E.J., MACEDO M.L.R. Microencapsulation of pequi pulp oil by complex coacervation. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 2018, vol. 40, no. 2, e-874. DOI 10.1590/0100-29452018874.
138. SHU G., HE Y., CHEN L., SONG Y., MENG J., CHEN H. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* by xanthan–chitosan and its stability in yoghurt. *Polymers*, 2017, vol. 9, no. 12, p. 733. DOI 10.3390/polym9120733.
139. GASPERINI L., MANO J.F., REIS R.L. Natural polymers for the microencapsulation of cells. *Journal of the Royal Society Interface*, 2014, vol. 11, p. 20140817. DOI 10.1098/rsif.2014.0817.
140. COGHETTO C.C., BRINQUES G.B., SIQUEIRA N.M., PLETSCH J., DUARTE SOARES R.M., ZÁCHIA AYUB M.A. Electro-spraying microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* enhances cell viability under refrigeration storage and simulated gastric and intestinal fluids. . s.l. : *Journal of Functional Foods*, 2016, vol. 24, pp. 316–326. DOI 10.1016/J.JFF.2016.03.036.
141. GOUIN S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 2004, vol. 15, no. 7–8, pp. 330–347. DOI 10.1016/j.tifs.2003.10.005.
142. GHARSALLAOUI A., ROUDAUT G., CHAMBIN O., VOILLEY A., SAUREL R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. . s.l. : *Food Research International*, 2007, vol. 40, no. 9, pp. 1107–1121. DOI 10.1016/j.foodres.2007.07.004.
143. AUGUSTIN M.A., HEMAR Y. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 2009, vol. 38, no. 4, pp. 902-912. ISSN 1460 4744.

144. DUAN CH., MENG X., MENG J., KHAN M.I.H., DAI L., KHAN A., AN X., ZHANG J., HUQ T., NI Y. Chitosan as A Preservative for Fruits and Vegetables: A Review on Chemistry and Antimicrobial Properties. . s.l. : Journal of Bioresources and Bioproducts, 2019, vol. 4, no. 1, pp. 11–21. DOI 10.21967/jbb.v4i1.189.
145. DE SOUZA I.A., ORSI D.C., GOMES A.J., LUNARDI C.N. Enzymatic hydrolysis of starch into sugars is influenced by microgel assembly. *Biotechnology Reports*, 2019, vol. 22, e00342. DOI 10.1016/j.btre.2019.e00342.
146. GAMBOA-CARBALLO J.J., RANA V.K., LEVALOIS-GRÜTZMACHER J., GASPARD S., JÁUREGUI-HAZA U. Structures and stabilities of naturally occurring cyclodextrins: a theoretical study of symmetrical conformers. . s.l. : Journal of Molecular Modeling, 2017, vol. 23, no. 11, p. 318. DOI 10.1007/s00894-017-3488-4.
147. BENETTI J.V.M., NICOLETTI V.R. Carotenoid stability in spray dried microspheres based on soybean protein isolate microgels. . s.l. : Proceedings of the VIII International Conference on Food Proteins and Colloids (CIPCA 2020), Campinas, Brazil, 2020. [www.researchgate.net/publication/340634137](http://www.researchgate.net/publication/340634137). Accesat 13.01.2026.
148. DEWI E.N., KURNIASIH R.A., PURNAMAYANTI L. Physical properties of Spirulina phycocyanin microencapsulated with maltodextrin and carrageenan. *Philippine Journal of Science*, 2018, vol. 147, no. 2, pp. 201–207. ISSN 0031-7683.
149. BATISTA DE OLIVEIRA T.T. Microencapsulation of Spirulina platensis by spray drying method as a promising alternative for the development of new products. *Brazilian Journal of Development*, 2020, vol. 6, no. 4, pp. 20177–20186. DOI 10.34117/bjdv6n4-262.
150. PRAKASH A., SONI H., MISHRA A., SARMA P. Are your capsules vegetarian or nonvegetarian? An ethical and scientific justification. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, vol. 49, no. 5, pp. 401–404. DOI 10.4103/ijp.IJP\_409\_17.
151. PERINELLI D.R., PALMIERI G.F., CESPI M., BONACUCINA G. Encapsulation of flavours and fragrances into polymeric capsules and cyclodextrin inclusion complexes: an update. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 24, p. 5878. DOI 10.3390/molecules25245878.
152. MARFIL P.H.M., PAULO B.B., ALVIM I.D., NICOLETTI V.R. Production and characterization of palm oil microcapsules obtained by complex coacervation in gelatin/gum Arabic. *Journal of Food Processing Engineering*, 2018, vol. 41, no. 4, e12673. s.l. : DOI 10.1111/jfpe.12673.
153. ATGIE M. Composition and structure of gum Arabic in solution and at oil-water interfaces. PhD Thesis, 2018, 161p. - [https://oatao.univ-toulouse.fr/20871/1/ATGIE\\_Marina.pdf](https://oatao.univ-toulouse.fr/20871/1/ATGIE_Marina.pdf). Accessed 01.02.2022.
154. HERNANDEZ-NAVA R., LOPEZ-MALO A., PALOU E., RAMÍREZ-CORONA N., JIMENEZ-MUNGUÍA M.T. Encapsulation of Origanum vulgare essential oil by complex coacervation between gelatin and chia mucilage and its properties after spray drying. s.l. : *Food Hydrocolloids*, 2020, vol. 109, article 106077. DOI 10.1016/j.foodhyd.2020.106077.
155. BOUDOUKHANI M., YAHOU M.M., LEFNAOUI S., MOULAI-MOSTEFA N., BANHOBRE M. Synthesis, characterization and evaluation of deacetylated xanthan derivatives as new excipients in the formulation of chitosan-based polyelectrolytes for the sustained release. s.l. : of tramadol. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2019, vol. 27, no. 8, pp. 1127–1137. DOI 10.1016/j.jsps.2019.09.009.
156. ENACHE I.M., VASILE A.M., ENACHI E., BARBU V., STĂNCIUC N., VIZIREANU C. Co-Microencapsulation of Anthocyanins from Black Currant Extract and Lactic Acid Bacteria in Biopolymeric Matrices. s.l. : *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 7, article 1700. DOI 10.3390/molecules25071700.
157. HERNÁNDEZ-NAVA R., LÓPEZ-MALO A., PALOU E., RAMÍREZ-CORONA N., JIMÉNEZ-MUNGUÍA M.T. Complex Coacervation Between Gelatin and Chia Mucilage as an Alternative of Encapsulating Agents. . s.l. : *Journal of Food Science*, 2019, vol. 84, no. 6, pp. 1281–1287. DOI 10.1111/1750-3841.14605.
158. DIMOVA O., BAERLE A. Formation of Microcapsule's Biopolymeric Shells: Electrochemical Aspects. *Journal of Engineering Science*, 2018, vol. 2, no. 1, pp. 90–94. ISSN 2587-3474.
159. MITCHELL G.R., HIREMATH CH., HEGGANAVAR G. Biopolymers in Drug Delivery. Applications. In: *Green Polymer Composites Technology: Properties & Applications*, Taylor & Francis, 2015, pp. 551–525. ISBN 9780367872557.
160. MUJICA-ÁLVAREZ J., GIL-CASTELL O., BARRA P.A., RIBES-GREUS A., BUSTOS R., FACCINI M., MATIACEVICH S. Encapsulation of Vitamins A and E as Spray-Dried Additives for the Feed Industry. . s.l. : *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 6, article 1357. DOI 10.3390/molecules25061357.
161. MALACRIDA C.A., FERREIRA S, CIRELI ZUANON L.A., NICOLETTI V.R. Freeze-drying for microencapsulation of turmeric oleoresin using modified starch and gelatin. . s.l. : *Journal of Food Processing and Preservation*, 2014, vol. 39, no. 6. DOI 10.1111/jfpp.12402.
162. LI J. The use of starch-based materials for microencapsulation. In: GAONKAR A.G., VASISHT N., KHARE A.R., SOBEL R. (eds.). *Microencapsulation in the Food Industry*. Academic Press, 2014, pp. 195–210. ISBN 978-0-12-404568-2.

163. SHARMA P., SEGAT A., KELLY A.L., SHEEHAN J.J. Colorants in cheese manufacture: production, chemistry, interactions and regulation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020, vol. 19, pp. 1220-1242. DOI 10.1111/1541-4337.12519.
164. GHAFFARIAN R., HERRERO E.P., OH H., RAGHAVAN S.R., MURO S. Chitosan-Alginate Microcapsules Provide Gastric Protection and Intestinal Release of ICAM-1-Targeting Nanocarriers, Enabling GI Targeting In Vivo. *s.l. : Advanced Functional Materials*, 2016, vol. 26, no. 20, pp. 3382–3393. DOI 10.1002/adfm.201600084.
165. DIMOVA O. Behavior of microcapsules containing  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 polyunsaturated acids from walnut oil in the model of digestive tract environment. *Journal of Food and Packaging Science, Technique and Technologies*, 2016, vol. 9, pp. 44-48. ISSN 1314-7420.
166. JEYAKUMARI A., ZYNUDHEEN A.A., PARVATHY U. Microencapsulation of bioactive food ingredients and controlled release: a review. *MOJ Food Processing & Technology*, 2016, vol. 2, no. 6, pp. 214–224. DOI 10.15406/mojfpt.2016.02.00059.
167. LI Y.O., GONZÁLEZ D.V.P., DIOSADY L.L. Microencapsulation of Vitamins, Minerals, and Nutraceuticals for Food Applications. *s.l. : In: GAONKAR A.G., VASISHT N., KHARE A.R., SOBEL R. (eds.). Microencapsulation in the Food Industry. Academic Press, 2014, pp. 501-522. ISBN: 978-0-12-404568-2.*
168. CALLEGARI M.A., NOVAIS A.K., OLIVEIRA E.R., DIAS C.P., SCHMOLLER D.L., PEREIRA J.M., NAGI J.G., ALVES J.B., SILVA C.A. Microencapsulated acids associated with essential oils and acid salts for piglets in the nursery phase. *s.l. : Semina: Ciências Agrárias*, 2016, vol. 37, no. 4, pp. 2193–2208. DOI 10.5433/1679-0359.2016v37n4p2193.
169. FERREIRA S., PIOVANNI G.M., MALACRIDA C.R.O., NICOLETTI V.R. Influence of emulsification methods and spray drying parameters on the microencapsulation of turmeric oleoresin. *s.l. : Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2019, vol. 31, no. 7, pp. 491–500. DOI 10.9755/ejfa.2019.v31.i7.1968.
170. ZORZENON M., HODAS F., MILANI P., FORMIGONI M., DACOME A., MONTEIRO A., COSTA C., COSTA S. Microencapsulation by Spray-drying of Stevia Fraction with Antidiabetic Effects. *s.l. : Chemical Engineering Transactions*, 2019, vol. 75, pp. 307-312. DOI 10.3303/CET1975052.
171. FAVARO-TRINDADE C.S., ROCHA-SELMI G.A., DOS SANTOS M.G. Microencapsulation of Sweeteners. *s.l. : In: SAGIS L.M.C. (ed.). Microencapsulation and Microspheres for Food Applications. Academic Press, 2015, pp. 333–349. DOI: 10.1016/B978-0-12-800350-3.00022-4.*
172. SANJAY C., JASJEET K., SANDEEP K. Liposome entrapment of bacteriophages improves wound healing in a diabetic mouse MRSA infection. *Frontiers in Microbiology*, 2018, vol. 9, p. 561. DOI 10.3389/fmicb.2018.00561.
173. BORTOLOTTI FERNANDES T.A., EMERSON J.V., SAKANAKA L.S., UENO C.T. Desenvolvimento de processo de encapsulamento de anticorpos IgY visando manutenção da viabilidade. *s.l. : In: OLIVEIRA A.F., SHIRAI M.A. (eds.). Tópicos em Ciências e Tecnologia de Alimentos: Resultados de Pesquisas Acadêmicas*, 2020, vol. 5, pp. 115-134. DOI 10.5151/9786555500240-06.
174. GIRI P., PAL C. An overview on the thermodynamic techniques used in food chemistry. *Modern Chemistry Applications*, 2014, vol. 2, p. 142. DOI 10.4172/2329-6798.1000142.
175. HERNALSTEENS S., PEREIRA C.G. Thermodynamics of reactions in food systems. *In: PEREIRA C.G. (ed.). Thermodynamics of Phase Equilibria in Food Engineering. Academic Press, 2019, pp. 593-631. DOI 10.1016/B978-0-12-811556-5.00015-6.*
176. JACKSON C.R., RAJA P.M.V., PRAKASH S.A. Novel electrophoretic deposition device: Effects of alginate viscosity grade on deposition kinetics. *Journal of Biotechnology & Biomaterials*, 2012, suppl. 6, article S6 002. DOI 10.4172/2155 952X.S6 002.
177. TRAVIN S., DUCA G., VASEASHTA A., COVALIOVA O., ROMANCIUC L. Dielectric Barrier Discharge: Generation and Enhancement of Hydrogen Peroxide Action. *In: VASEASHTA A., ACHOUR M.E., MABROUKI M., TACHAFINE A., AITALI M. (eds) . s.l. : Proceedings of the 8th International Symposium on Dielectric Materials and Applications (ISyDMA'8). Springer, 2024, pp. 19-43. DOI 10.1007/978-3-031-84809-4\_3.*
178. XIAN, B., WANG, R., JIANG, H., ZHOU, Y., YAN, J., HUANG, X., CHEN, J., WU, Q., CHEN, C., XI, Z., REN, C., PEI, J. Comprehensive review of two groups of flavonoids in *Carthamus tinctorius* L. *s.l. : Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022, vol. 153, article 113328. DOI 10.1016/j.biopha.2022.113462.
179. YOON H.-R., PARK Y.-S. Isolation of two quinochalcones from *Carthamus tinctorius*. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 2008, vol. 51, no. 4, pp. 169–171. DOI 10.3839/jabc.2008.025.
180. ROZMER Z., PERJÉSI P. Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry Reviews*, 2016, vol. 15, no. 1, pp. 87–120. DOI 10.1007/s11101-014-9387-8.
181. FANGMA Y., ZHOU H., SHAO C., YU L., YANG J., WAN H., HE Y. Hydroxysafflor yellow A and anhydrosafflor yellow B protect against cerebral ischemia/reperfusion injury by attenuating oxidative stress and apoptosis via the SIRT1 signaling pathway. *s.l. : Frontiers in Pharmacology*, 2021, vol. 12, article 739864. DOI 10.3389/fphar.2021.739864.

182. DELSHAD E., YOUSEFI M., SASANNEZHAD P., RAKHSHANDEH H., AYATI Z. Medical uses of *Carthamus tinctorius*: a comprehensive review from traditional medicine to modern medicine. *Electronic Physician*, 2018, vol. 10, no. 4, pp. 6672–6681. DOI 10.19082/6672.
183. SAVCENCO (BUZESCU) A. Obținerea și utilizarea coloranților naturali din petale de sofrânel (*Carthamus tinctorius* L.) în tehnologia produselor alimentare. Teza de doctor în tehnică. Chișinău: UTM, 2024, 179 p.
184. CHO M.H., PAIK Y.S., HAHN T.R. Enzymatic conversion of precarthamin to carthamin by a purified enzyme from the yellow petals of safflower. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, vol. 48, no. 9, pp. 3917–3921. DOI 10.1021/jf9911038.
185. LOYPIMAI P., MOONGNGARM A., CHOTTANOM P. Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran. *Journal of Food Science and Technology*, 2016, vol. 53, no. 1, pp. 461–470. DOI 10.1007/s13197-015-2002-1.
186. BAERLE A., GUȚANU V. - Procedeu de obținere a colorantului roșu din materie primă vegetală. - Brevet de invenție MD-2796 / BOPI, 2005, No. 6. – p.37.
187. HOUGHTON A., APPELHAGEN I., MARTIN C. Natural blues: structure meets function in anthocyanins. *Plants*, 2021, vol. 10, no. 4, article 726. DOI 10.3390/plants10040726.
188. BAERLE A. Studiu privind separarea și stabilizarea coloranților antocianici din *Aronia Melanocarpa*. Teza de doctor în chimie. Chișinău, UTM-USM, 2006. - 118p.
189. JIANG T., MAO Y., SUI L., YANG N., LI S., ZHU Z., WANG C., YIN S., HE J., HE Y. Degradation of anthocyanins and polymeric color formation during heat treatment of purple sweet potato extract at different pH. *Food Chemistry*, 2019, vol. 274, pp. 460-470. . s.l. : DOI 10.1016/j.foodchem.2018.07.141.
190. BAERLE A.V., GUTSANU V.L., MAKAR A.V., ROSHKA I.G. Vliyanie razlichnykh faktorov na kislotno-spirtovoi sinergizm desorbtsii antotsianov iz sul'fokationita. *Zhurnal Fizicheskoi Khimii*, 2005, vol. 79, no. 7, pp. 1300–1304. ISSN 0044-4537.
191. BAERLE A., SANDU Iu., MACARI A., RADU O. Three-step strategy for obtaining biologically active substances and functional biopolymers from oilseed pomaces. *OPROTEH 2021*, Bacău, Romania, 25–27 May 2021, Book of abstracts, p. 72. . s.l. : ISSN 2457 3388.
192. BAERLE A., TATAROV P., SANDU Iu., STURZA R., MACARI A. Process for obtaining dietary fiber from flaxseed pomace. In: *European Exhibition of Creativity and Innovation: Proceedings of the 13th ed.* EUROINVENT, Iasi, 2021, pp. 169-170. ISSN 2601-4564.
193. BAERLE A., TATAROV P., SANDU Iu., STURZA R., MACARI A. Procedeu de obținere a fibrelor alimentare din șrotul de semințe de in. Brevet de Invenție MD-1509. BOPI, 2021, No. 3, p. 55.
194. JOSHI D.R., ADHIKARI N. An overview on common organic solvents and their toxicity. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 2019, vol. 28, no. 3, pp. 1-18. DOI 10.9734/jpri/2019/v28i330203.
195. INTELWASTES. Ghid de bune practici «Utilizarea complexă a tescovinei de struguri, mere și alte deșeuri agroindustriale». Chișinău: UTM; Iași: UȘV, 2021, 61 p. . s.l. : <https://intelwastes.utm.md/wp-content/uploads/2022/02/Ghid-de-bune-practici-Intelwastes.pdf>. Accesat 28.04.25.
196. BAERLE A., GUTANU V., DIMOVA O., DRAGANCEA V. et al. Noile utilizări ale betaninei – colorantului principal din sfecla roșie (*Beta vulgaris* L.). Conferința Științifică Colaboratori, Doctoranzi și Studenți UTM, 2012, pp. 8–9. ISBN 978-9975-45-208-3.
197. BAERLE A., DIMOVA O., ZADOROZHNYAYA L., DRUTSE R. Matematicheskie modeli ustoychivosti betanina v rastvorakh VMS. Tezisy VIII Mezhdunarodnoi Konferentsii «Tekhnika i Tekhnologii Pishchevykh Proizvodstv», Mogilev, 2011, vol. 2, p. 7. ISBN 978-985-6979-16-9.
198. SAVCENCO A. Spectral and chromatographic characterisation of the yellow food dye from safflower. *Journal of Engineering Science*, 2022, vol. XXIX, no. 3, pp. 189–195. ISSN 2587-3474.
199. ALEKSEEV S.G., PISHCHAL'NIKOV A.V., LEVKOVETS I.A., BARBIN N.M. O pozharoopasnosti vodnykh rastvorov etanola. *Pozharovzryvobezopasnost'*, 2010, vol. 19, no. 5, pp. 31-33. ISSN 0869-7493.
200. BRAGA M.E.M., GASPAR M., DE SOUSA H.C. Supercritical fluid technology for agrifood materials processing. *Current Opinion in Food Science*, 2023, vol. 50, p. 100983. DOI 10.1016/j.cofs.2022.100983.
201. POPOVICI C., MIGALATIEV O., GACEU L., GOLUBI R., CARAGIA V. Supercritical carbon dioxide extraction of lycopene from industrial tomato waste. In: *Proceedings of „Modern technologies in the food industry”*, 2018. p. 43-50. s.l. : ISBN 978-9975-87-428-1.
202. MELENCIUC M. Uscarea perelor în atmosferă modificată de CO<sub>2</sub>. Teza de doctor în științe inginerești. Chișinău: UTM, 2023. - 146 p. <https://repository.utm.md/handle/5014/22877>. Accesat 17.01.26.
203. HOLZWARTH M., KORHUMMEL S., KRAMMERER D.R. et al. Thermal inactivation of strawberry polyphenoloxidase and its impact on anthocyanin and color retention in strawberry purées. *European Food Research and Technology*, 2012, vol. 235, no. 6, pp. 1171–1180. s.l. : ISSN 1438-2377.

204. DAMODARAN S., PARKIN K.L., FENNEMA O.R. *Fennema's Food Chemistry*. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2008, 1144 p. ISBN 9780849392726.
205. CEMEROGLU B., VELIOGLU S., ISIK S. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 1994, vol. 59, no. 6, pp. 1216–1218. DOI 10.1111/j.1365-2621.1994.tb14680.x.
206. MACARI, A. Influența proprietăților oxido-reducătoare a sucului și pulpei de fructe, pomușoare, asupra evoluției bioantioxidanților. // Teza de doctor în științe tehnice. – Chișinău, 2003. – 150 p.
207. SANDULACHI E. Activitatea apei în produsele alimentare. Chișinău: Tehnica-UTM, 2020, 208 p. ISBN 978-9975-45-622-7.
208. SAITO K., FUKUSHIMA A. On the mechanism of the stable red color expression of cellulose-bound carthamin. *Food Chemistry*, 1988, vol. 29, no. 3, pp. 161-175. DOI 10.1016/0308-8146(88)90130-6.
209. GIUSTI M.M., WROLSTAD R.E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 2003, vol. 14, no. 3, pp. 217-225. DOI 10.1016/S1369-703X(02)00221-8.
210. INFOCONS. Congelarea rapidă vs. congelarea lentă. <https://infocons.ro/congelarea-rapida-vs-congelarea-lenta/>. Accesat 12.05.2025.
211. BRÜCKNER R. *Reaktionsmechanismen: Organische Reaktionen, Stereochemie, moderne Synthesemethoden*. Berlin; Heidelberg: Springer Spektrum, 2014, 887 p. ISBN 978-3-662-45684-2.
212. LUKYANOV S.M., KOBLIK A.V. Tautomeric equilibria and rearrangements involving phenols. In: RAPPOPORT Z. (ed.). *The Chemistry of Phenols*. Chichester: John Wiley & Sons, 2003, pp. 713–838. ISBN 978-0471497370.
213. GUREV A., DRAGANCEA V. *Chimie organică*. Chișinău: Tehnica-UTM, 2023, 160 p. ISBN 978-9975-64-359-7.
214. HUANG D., OU B., HAMPSCH-WOODILL M., FLANAGAN J.A., DEEMER E.K. Development and Validation of Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay for Lipophilic Antioxidants Using Randomly Methylated  $\beta$ -Cyclodextrin as the Solubility Enhancer. . s.l. : *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, vol. 50, no. 7, pp. 1815–1821. DOI 10.1021/jf0113732.
215. SANDULACHI E., TATAROV P. Water activity concept and its role in strawberries. *Chemistry Journal of Moldova*, 2012, vol. 7, no. 2, pp. 103-115. ISSN 1857-1727.
216. HALLSWORTH J.E., KOOP T., DALLAS T.D. et al. Water activity in Venus's uninhabitable clouds and other planetary atmospheres. *Nature Astronomy*, 2021, vol. 5, no. 7, pp. 665-675. DOI 10.1038/s41550-021-01391-3.
217. JANGA K.Y., KING T., JI N. et al. Photostability issues in pharmaceutical dosage forms and photostabilization. *AAPS PharmSciTech*, 2018, vol. 19, no. 1, pp. 48-59. DOI 10.1208/s12249-017-0869-z.
218. MMIRMIRAN P., HOUSHIALSADAT Z., GAEINI Z., BAHADORAN Z., AZIZI F. Functional properties of beetroot (*Beta vulgaris*) in management of cardiometabolic diseases. *Nutrition & Metabolism*, 2020, vol. 17, article 3. DOI 10.1186/s12986-019-0421-0.
219. CHEN L., ZHU Y., HU Z., WU S., JIN C. Beetroot as a functional food with health benefits. *Food Science & Nutrition*, 2021, vol. 9, no. 11, pp. 6406–6420. DOI 10.1002/fsn3.2577.
220. HWANG J.K., KIM N.G., WOO H.C. et al. Variation in chemical composition of *Saccharina japonica*. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 2014, vol. 5, article 212. DOI 10.4172/2155-9546.1000286.
221. JAROŠOVÁ M., LORENC F., BEDRNÍČEK J. et al. Comparison of yield characteristics and antioxidant potential of linseed cultivars. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2024, vol. 79, pp. 159–165. DOI 10.1007/s11130-023-01136-9.
222. TTROSHCHYNSKA Y., BLEHA R., SYNITSYA A., ŠTĚTINA J. Chemical composition and rheological properties of flax seed mucilages. *Polymers*, 2022, vol. 14, no. 10, article 2040. DOI 10.3390/polym14102040.
223. ERTÜRK U., ŞIŞMAN T., YERLIKAYA C. et al. Chemical composition and nutritive value of walnuts from Turkey. *Acta Horticulturae*, 2014, no. 1050, pp. 231-234. DOI 10.17660/ActaHortic.2014.1050.30.
224. AL-SNAFI A.E. The chemical constituents and pharmacological importance of *Carthamus tinctorius*. *Journal of Pharmaceutical Biology*, 2015, vol. 5, no. 3, pp. 143-166. ISSN 2249-7579.
225. SIGMA-ALDRICH. Product information: 363146. <https://www.sigmaaldrich.com/MD/en/product/aldrich/363146>. Accesat 01.10.2024.
226. ZADOROJNĂI L., ZADOROJNĂI A. Hyaluronic acid: obtaining, properties and application. *Chemistry Journal of Moldova*, 2012, vol. 7, no. 2, pp. 57–66. ISSN 1857-1727.
227. LEE B.M., PARK S.J., NOH I., KIM C.H. Effects of molecular weight of hyaluronic acid on immune responses. *Biomaterials Research*, 2021, vol. 25, article 27. DOI 10.1186/s40824-021-00228-4.

228. GELATIN MANUFACTURERS INSTITUTE OF AMERICA. Gelatin Handbook. [https://nitta-gelatin.com/wp-content/uploads/2018/02/GMIA\\_Gelatin-Handbook.pdf](https://nitta-gelatin.com/wp-content/uploads/2018/02/GMIA_Gelatin-Handbook.pdf). Accesat 05.02.2023.
229. MIKHAILOV O.V. Gelatin as It Is: History and Modernity. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, vol. 24, no. 4, article 3583. DOI 10.3390/ijms24043583.
230. HOSPODAROVA V., SINGOVSKA E., STEVULOVA N. Characterization of cellulosic fibers by FTIR spectroscopy for their further implementation to building materials. *American Journal of Analytical Chemistry*, 2018, vol. 9, pp. 303–310. DOI 10.4236/ajac.2018.96023. s.l. : .
231. GHEȚIU M., TOPOREȚ V. *Chimia lemnului*. Chișinău: Tehnica INFO, 2010. 404 p. ISBN 978-9975-63-310-9.
232. ZADOROJNĂ L., ZADOROJNĂ A. Procedeu de obținere a hialuronatului de sodiu, acidului hialuronic și complexului acid hialuronic proteină. Patent MD 3099, C08B 37/08, 2006.01. BOPI, 2006, no. 1.
233. BAERLE A., GUȚANU V. Procedeu de obținere a colorantului glucozidă de cianidină. Patent MD 2774. BOPI, 2005, no. 5, p. 37.
234. BAERLE A. Două metode noi de analiza separată a cianidinei și 3,5 diglucozid cianidinei din Aronia melanocarpa. *Analele Științifice ale Universității de Stat din Moldova. Seria Științe chimico biologice*, Chișinău, 2003, pp. 339–342. ISBN 9975 70 263 5.
235. SAVCENCO A., BAERLE A., TATAROV P., MACARI A., RUGINA D., RANGA F. Chalchonic profile of yellow food powder-form pigment, obtained from safflower petals. s.l. : In: Food connects people and shares science in a resilient world: proc. of the 10-th International Symposium Euro-Aliment 2021, 7-8 Oct. 2021, Galați, Romania: Book of Abstracts, 2021, p. 54. ISSN 1843-5114.
236. POPESCU L., GHENDOV MOȘANU A., BAERLE A., SAVCENCO A., TATAROV P. Color stability of yogurt with natural yellow food dye from *Carthamus tinctorius* L.. *Journal of Engineering Science*, 2022, vol. XXIX, no. 1, pp. 142–150. DOI 10.52326/jes.utm.2022.29(1).13.
237. SAVCENCO A., BAERLE A., TATAROV P., IVANOVA R. Procedeu de obținere a coloranților din petale de Șofrănel. Patent MD 1453. BOPI, 2020, no. 8. ISSN 1810-7095.
238. SAVCENCO A., BAERLE A., TATAROV P., IVANOVA R. Procedeu de obținere a colorantului roșu în formă de pulbere din petale de șofrănel. Patent MD 1609. BOPI, 2022, no. 3. ISSN 1810-7095.
239. FUKUSHIMA M., TATSUMI K., WADA S. Evaluation of the intrinsic acid dissociation constant of alginic acid by considering the electrostatic effect. *Analytical Sciences*, 1999, vol. 15, pp. 1153–1155. DOI 10.2116/analsci.15.1153.
240. VOLD I.M.N., KRISTIANSEN K.A., CHRISTENSEN B.E. A study of the chain stiffness and extension of alginates, in vitro epimerized alginates, and periodate-oxidized alginates using size-exclusion chromatography combined with light scattering and. s.l. : and viscosity detectors. *Biomacromolecules*, 2006, vol. 7, no. 7, pp. 2136–2146. DOI 10.1021/bm060099n.
241. MASUELLI M.A., ILLANES C.O. Review of the characterization of sodium alginate by intrinsic viscosity measurements. Comparative analysis between conventional and single point methods. s.l. : *International Journal of Biomaterials Science and Engineering*, 2014, vol. 1, no. 1, pp. 1-11. <https://www.researchgate.net/publication/272785338>. Accesat 20.01.26.
242. BULGARU V., GUREV A., BAERLE A., DRAGANCEA V., BALAN G., COJOCARI D., STURZA R., SORAN M. L., GHENDOV MOȘANU A. . s.l. : Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activity of different extracts from frozen, freeze dried, and oven dried jostaberries grown in Moldova. *Antioxidants*, 2024, vol. 13, no. 8, article 890. DOI 10.3390/antiox13080890.
243. BADALICA PETRESCU M., DRAGAN S., RANGA F., FETEA F., SOCACIU C. Comparative HPLC DAD ESI(+)MS fingerprint and quantification of phenolic and flavonoid composition of aqueous leaf extracts of *Cornus mas* and *Crataegus monogyna*. s.l. : in relation to their cardiogenic potential. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj Napoca*, 2014, vol. 42, no. 1, pp. 9-18. DOI 10.15835/nbha4219270.
244. BOX G.E.P., HUNTER J.S., HUNTER W.G. *Statistics for Experimenters: Design, Innovation, and Discovery*. 2nd Edition. Hoboken: Wiley, 2005. 655 p. ISBN 978 0471718130.
245. GORNEȚ V., BAERLE A., TATAROV P., SUBOTIN Iu. Influence of composition and heat treatment on technological parameters of liver pate. *Modern Technologies in the Food Industry, MTFI 2016*, Chișinău: UTM, 2016, pp. 190-193. ISBN 978-9975-87-138-9.
246. McCLEMENTS D.J. *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques*. 3rd edition Boca Raton: CRC Press, 2015, 714 p. DOI 10.1201/b18868.
247. GUREV A., DRAGANCEA V. , BAERLE A. , NETREBA N., BOESTEAN O., HARITONOV S., GAINA B. Properties of Winemaking by-Products of Feteasca Neagra Grape Seeds. *Chemistry Journal of Moldova*. 2022, vol. 17, nr. 2. - p. 50-61. s.l. : DOI 10.19261/cjm.2022.946.

248. LI J., SHI C., SHEN D., HAN T., WU W., LYU L., LI W. Composition and antioxidant activity of anthocyanins and non anthocyanin flavonoids in blackberry from different growth stages. *Foods*, 2022, vol. 11, no. 18, article 2902. DOI 10.3390/foods11182902.
249. INCOSE Systems Engineering Handbook: A Guide for Systems Life Cycle Processes and Activities. 4th Edition. Hoboken: Wiley, 2015. 305 p. ISBN 978 1118999400.
250. KHAIR A.S., SQUIRES T.M. The influence of hydrodynamic slip on the mobility of a spherical colloidal particle. *Physics of Fluids*, 2009, vol. 21, no. 4, article 042001. DOI 10.1063/1.3116664.
251. GHENDOV MOȘANU A., CRISTEA E., STURZA R., NICULAUA M., PATRAȘ A. Synthetic dye's substitution with chokeberry extract in jelly candies. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, vol. 57, no. 12, pp. 4383–4394. DOI 10.1007/s13197-020-04475-6.
252. ZELAZKO A. RGB colour model. *Encyclopedia Britannica*, 21 Oct. 2022. <https://www.britannica.com/science/RGB-colour-model>. Accesat 01.04.2023.
253. COLORIZER.ORG. Online tool for color conversion and visualization. <http://colorizer.org/>. Accesat 25.04.2021.
254. SOVETOV B.Ya., YAKOVLEV S.A. Modelirovanie sistem: Uchebnik dlya vuzov. Moscow: Vysshaya shkola, 2001. 343 p. ISBN 978-5-9916-1580-8.
255. ZHURAKOVSKAYA G.P., PETIN V.G. Printsipy matematicheskogo modelirovaniya kombinirovannykh vozdeystviy v biologii i meditsine. *Radiatsiya i risk*, 2015, vol. 24, no. 1, pp. 61–73. ISSN 0131-3878.
256. YUKAL'CHUK Yu., BAERLE A., DIMOVA O., FULGER D. Optimizatsiya sostava zhidkikh sred dlya polucheniya zhirosoderzhashchikh mikrokapsul. Conferința UTM, Chișinău, 2011, vol. 2, pp. 97–99. ISBN 978-9975-45-208-3.
257. ATKINS P., DE PAULA J. *Physical Chemistry*. 8th Edition. Oxford: Oxford University Press, 2006. 1053 p. ISBN 978 0198700722.
258. ZISOPOULOS F.K. *Exergy Analysis in Industrial Food Processing*. Wageningen: Wageningen University, 2016. 229 p. ISBN 978-94-6257-832-6. DOI 10.18174/383689.
259. XINBING W., HUIQING L., XIA S., FENGUA F., XIUMEI Z. Hydroxysafflor yellow A protects rat brains against ischemia reperfusion injury by antioxidant action. *Neuroscience Letters*, 2005, vol. 386, no. 1, pp. 58–62. DOI 10.1016/j.neulet.2005.05.069.
260. BAERLE A., MEREUȚA O., MACARI A., STURZA R. et al. Planirovanie i tehnika spektral'nogo eksperimenta UV VIS dlya polikomponentnykh i difaznykh model'nykh sistem. Conferința Științifică Colaboratori, Doctoranzi și Studenți UTM, 2007, pp. 126–127. s.l. : ISBN 978-9975-45-208-3.
261. QIN Z., ZHANG J., LIU Y., WU J., LI G., LIU J., HE Q. A Simple but Efficient Voltammetric Sensor for Simultaneous Detection of Tartrazine and Ponceau 4R Based on TiO<sub>2</sub>/Electro-Reduced Graphene Oxide Nanocomposite. s.l. : *Chemosensors*, 2020, vol. 8, no. 3, article 70. DOI 10.3390/chemosensors8030070.
262. STARODUBTSEV S.I., BAERLE A.V., BRESTECHKO A.L., MAKARI A.V. s.l. : Spectrophotometric modelling of greenhouse films properties. *Meridian Ingineresc*, 2010, vol. 2, pp. 29–31. ISSN 1683-853X.
263. FILIP M., MIHAELA V., COPACIU F., COMAN V. Identification of Anthocyanins and Anthocyanidins from Berry Fruits by Chromatographic and Spectroscopic Techniques to Establish the Juice Authenticity from Market. s.l. : *Journal of Planar Chromatography – Modern TLC*, 2012, vol. 25, pp. 534–541. DOI 10.1556/JPC.25.2012.6.8.
264. HAWACH. C18 alkaline HPLC columns. <https://www.hawachhplccolumn.com/product/c18-alkaline-hplc-columns/>. Accessed 23.05.2024.
265. YUE S., TANG Y., LI S., DUAN J. Chemical and biological properties of quinochalcone C glycosides from the florets of *Carthamus tinctorius*. *Molecules*, 2013, vol. 18, pp. 15220–15254. DOI 10.3390/molecules181215220.
266. OpenStax. *College Physics 2e*. Section 29.1 OPENSTAX. Quantization of Energy. <https://openstax.org/books/college-physics-2e/pages/29-1-quantization-of-energy>. Accessed 18.05.2025.
267. PRECH E., BÜHLMANN F., AFFOLTER K. Opredelenie stroeniya organicheskikh soedineniy. Tablitsy spektral'nykh dannykh. Moscow: Mir, 2006. 438 p. ISBN 5-94774-572-0.
268. DE CARO C., HALLER C. *UV/Vis Spectrophotometry – Fundamentals and Applications*. Mettler Toledo Publication No. ME 30256131, 2025. 54 p. Accessed 18.05.2025.
269. GUHA A., SAHOO M., ALAM K., RAO D.K., SEN P., NARAYANAN T.N. Role of water structure in alkaline water electrolysis. *iScience*, 2022, vol. 25, no. 8, article 104835. DOI 10.1016/j.isci.2022.104835.
270. BENEUCI A., FURIA E., RUSSO N., MARINO, T. Complexation behaviour of caffeic, ferulic and p-coumaric acids towards aluminium cations: a combined experimental and theoretical approach. s.l. : *New Journal of Chemistry*, 2017, vol. 41, pp. 5182–5190. DOI 10.1039/C7NJ00661F.

271. SASAKI M., TAKAHASHI K. Complete assignment of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of carthamin potassium salt isolated from *Carthamus tinctorius* L. *Molecules*, 2021, vol. 26, no. 16, article 4953. DOI 10.3390/molecules26164953.
272. GHEȚIU M.M. *Chimie organică*. Chișinău: Tehnica Info, 1999. 500 p. ISBN 978-9975-64-123-1.
273. BEROVA N., BARI L., PESCIPELLI G. Application of electronic circular dichroism in configurational and conformational analysis of organic compounds. *Chemical Society Reviews*, 2007, vol. 36, pp. 914–931. DOI 10.1039/B515476F.
274. YOUNSOOK S., DONG IL Y. Storage stability and reproducibility of yellow and red dyes extracted from *Carthamus tinctorius* L. *Textile Coloration and Finishing*, 2012, vol. 24, no. 3, pp. 165-172. ISSN 1229-0033.
275. ERBAŞ S., MUTLUCAN M. Investigation of flower yield and quality in different color safflower genotypes. *Agronomy*, 2023, vol. 13, no. 4, article 956. DOI 10.3390/agronomy13040956.
276. ENGEL T., REID P. *Physical Chemistry*. 4th ed. Boston: Pearson, 2014. 896 p. ISBN 9780321812000.
277. TATAROV P. *Principii conceptuale ale calității alimentelor și capabilității proceselor tehnologice*. Chișinău: Editura „Tehnica-UTM”, 2019. - 160 p. ISBN 978-9975-45-572-5.
278. POPOVICI C. *Metode moderne de analiză a uleiurilor vegetale. Îndrumar metodic*. Chișinău: Tehnica-UTM, 2016. 59 p. ISBN: 978-9975-45-460-5.
279. DORONIN A.F., IPATOVA L.G., KOCHETKOVA A.A., NECHAEV A.P., SHUBINA O.G., KHURSHUDYAN S.A. *Funktsional'nye pishchevye produkty. Vvedenie v tekhnologiyu*. Moscow: DeLi print, 2009. 288 p. ISBN 978-5-94343-178-4.
280. RADU O. Peculiarities of walnut oil state in some food emulsions. *Journal of Engineering Science*. 2020, Vol. XXVII, no. 1, pp. 69-74. ISSN: 2587-3474.
281. RADU O., BAERLE A., MIJA N., ROȘCA I. Particularitățile spectrale ale uleiurilor vegetale fortificate cu substanțe biologice active naturale. s.l. : Conferința Tehnico Științifică a Colaboratorilor, Doctoranzilor și Studenților UTM, Chișinău: Tehnica UTM, 2014, vol. 2, pp. 73–76. ISBN 978-9975-45-208-3.
282. BAERLE A., POPOVICI C., RADU O., TATAROV P. Effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of cold pressed walnut oil. *Journal of Food and Packaging Science, Techniques and Technologies*, 2016, no. 9, pp. 19–24. ISSN 1314-7420.
283. WILLIAMS C.A., CARLUCCI S.A. High dose DL  $\alpha$  tocopherol acetate is detrimental to beta carotene levels and does not reduce oxidative stress in exercised horses. *Equine Veterinary Journal Supplement*, 2006, vol. 36, pp. 617–621. . s.l. : DOI 10.1111/j.2042-3306.2006.tb05614.x.
284. YANG H., MAHAN D.C., HILL D.A. DL  $\alpha$  tocopherol acetate is less effective and less bioavailable than the natural form of vitamin E. *Journal of Animal Science*, 2009, vol. 87, no. 12, pp. 4057–4063. DOI 10.2527/jas.2008-1570.
285. WANG X., CHEN Y., McCLEMENTS D.J., PENG D., CHEN H., XU S., DENG Q., GENG F. Regulation of Microlocalization of Antioxidants by Surfactant Micelles in O/W Emulsions. . s.l. : *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, vol. 72, no. 45, pp. 25306–25318. DOI 10.1021/acs.jafc.4c08855.
286. STEPANOVA L. *Spravochnik tekhnologa molochnogo proizvodstva. Tekhnologiya i retseptury. Tom 2: Maslo korov'e i kombinirovannoe*. St. Petersburg: GIORD, 2003. 336 p. ISBN 5-901065-19-0.
287. RADU O. The study of walnut oil (*Juglans regia* L.) oxidative stabilization by saturated fatty acids. Conference of Modern Technologies in the Food Industry, Chișinău, October 18–20, 2018, pp. 272–275. ISBN 978-9975-87-428-1.
288. STURZA R., VEREJAN A., HARITONOV S., MUNTEANU D., COVACI E., SCUTARU I.U., DRUȚĂ R., SUBOTIN I.U., GUREV A., DRAGANCEA V., DRUȚĂ V., BAERLE A. *Chimia aplicată pentru ingineri*. Chișinău: Tehnica UTM, 2021. 356 p. ISBN 978-9975-45-698-2.
289. BIRDI K.S. (ed.). *Handbook of Surface and Colloid Chemistry*. 4th edition. CRC Press, 2020, 708 p. ISBN 978-0-367-57566-3.
290. RETO M., FIGUEIRA M.E., FILIPE H.M., ALMEIDA C.M.M. Chemical composition of green tea (*Camellia sinensis*) infusions commercialized in Portugal. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2007, vol. 62, no. 4, pp. 139–144. DOI 10.1007/s11130-007-0054-8.
291. GUVERNUL RM. Hotărârea nr. 16 din 19.01.2009 – Cu privire la aprobarea Reglementării tehnice „Produse pe bază de grăsimi vegetale”. *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 30.01.2009, nr. 16–18, art. 51. ISSN 2587-3903.
292. FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND. Trans fatty acids and hydrogenated vegetable oils. [https://www.fsai.ie/faq/trans\\_fatty\\_acids.html](https://www.fsai.ie/faq/trans_fatty_acids.html). Accesat 15.08.2022.

293. YANG G., CHAI D., FAN Z., LI X. Capillary condensation of single and multicomponent fluids in nanopores. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2019, vol. 58, no. 41, pp. 19302–19315. DOI 10.1021/acs.iecr.9b04116.
294. VYSHEMIRSKIY F.A. Fizicheskaya struktura i konsistentsiya slivochnogo masla. Syrodellie i maslodellie. Moscow: ANO “Molochnaya promyshlennost’”, 2013, pp. 53–56. ISSN 2073-4018.
295. ARELLANO M., NORTON I.T., SMITH P. In: TALBOT G. Chapter 10. Specialty Oils and Fats in Margarines and Low-Fat Spreads, pp 241-270. In: Talbot, G., Ed., *Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition*, Elsevier, 2015. DOI 10.1016/B978-1-78242-376-8.00010-7.
296. WILLIAMS C., BUTTRISS J. *Improving the Fat Content of Foods*. Woodhead Publishing, 2006, pp. 560. ISBN: 1-85573-965-8.
297. HARRIS J.M., HIRST J.L., MOSSINGHOFF M.J. *Combinatorics and Graph Theory*. 2nd Edition. Springer, 2008. 381 p. ISBN 978-0-387-79711-3.
298. VARGAS-BELLO-PÉREZ E., CANCINO-PADILLA N., GELDSETZER-MENDOZA C., VYHMEISTER S., MORALES M.S., LESKINEN H., ROMERO J., GARNSWORTHY P.C., IBÁÑEZ R.A. s.l. : Effect of feeding cows with unsaturated fatty acid sources on milk production, milk composition, milk fatty acid profile, and physicochemical and sensory characteristics of ice cream. *Animals*, 2019, vol. 9, no. 8, article 568. DOI 10.3390/ani9080568.
299. GVERNUL RM. [https://cancelaria.gov.md/sites/default/files/anexa-tabel\\_concordanta\\_regulamentul\\_ii\\_avizare\\_1308\\_2013\\_docx20.10.2023\\_fin.pdf](https://cancelaria.gov.md/sites/default/files/anexa-tabel_concordanta_regulamentul_ii_avizare_1308_2013_docx20.10.2023_fin.pdf). Accesat 11.06.2024.
300. GOST 32261–2013. Maslo slivochnoe. Tekhnicheskie usloviya. Moscow: Standartinform, 2015. (Standard interstatal).
301. TERESHCHUK L.V., MAMONTOV A.S., KRAEVA K.V., SUBBOTINA M.A. Optimizatsiya sostava zhirovykh kompozitsiy dlya spredov. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv*, 2014, no. 4, pp. 63–71. ISSN 2074-9414.
302. KOBAYASHI T., CHANMEE T., ITANO N. Hyaluronan: metabolism and function. *Biomolecules*, 2020, vol. 10, article 1525. DOI 10.3390/biom10111525.
303. RADAeva I.F., KOSTINA G.A., MASYTcheva V.I. et al. Farmakologicheskoe sredstvo na osnove gialuronovoy kisloty. Patent RU2195262C2. Published 27.12.2002. <https://patents.google.com/patent/RU2178693C2/ru>. Accesat 25.01.26.
304. BANTEA-ZAGAREANU V., BAERLE A., LUPASCO A. Procedeu de obținere a inulinei din rădăcini de plante din familia Asteraceae. Brevet de invenție de scurtă durată MD 456. BOPI, 2011, nr. 12, pp. 34-35.
305. BANTEA-ZAGAREANU V., POPESCU L., CANJA A. Iaurtul îmbogățit cu inulină: studiul proprietăților senzoriale, fizico-chimice și reologice. *Meridian Ingineresc*, 2015, nr. 1, pp. 30-33. ISSN 1683-853X.
306. CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. General Standard for Food Additives (CXS 192-1995). FAO/WHO, 1995 (amended 2021). <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/gafa/ru/>. Accesat 07.04.2023.
307. SAJI S., HEBDEN A., GOSWAMI P., DU C. A Brief Review on the Development of Alginate Extraction Process and its Sustainability. *Sustainability*, 2022, vol. 14, no. 9, article 5181. DOI 10.3390/su14095181.
308. DRAGET K., SMIDSRØD O., SKJÅK-BRÆK G. In: STEINBÜCHEL A., RHEE S.K. (eds.). *Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry: Properties, Production, and Patents*. . s.l. : Wiley-VCH, 2005, pp. 1-30. ISBN 978-3-527-31345-7. [https://application.wiley-vch.de/books/sample/3527313451\\_c01.pdf](https://application.wiley-vch.de/books/sample/3527313451_c01.pdf). Accesat 01.02.26.
309. DIMOVA O., BAERLE A., TATAROV P., VEREJAN A. Procedeu de obținere a algițiilor din alge brune. Brevet de invenție de scurtă durată MD-669. Nr. depozit S 2013-0048. Hotărâre de acordare: BOPI, 2013, nr. 8, pp. 29-30.
310. SINHA A.K., KUMAR V., MAKKAR H.P.S., DE BOECK G., BECKER K. Non starch polysaccharides and their role in fish nutrition – a review. *Food Chemistry*, 2011, vol. 127, no. 4, pp. 1409-1426. DOI 10.1016/j.foodchem.2011.02.042..
311. LLI Q., WANG S., JIN X., HUANG C., XIANG Z. The application of polysaccharides and their derivatives in pigment, barrier, and functional paper coatings. *Polymers*, 2020, vol. 12, no. 8, article 1837. DOI 10.3390/polym12081837.
312. POLTURAK G., GROSSMAN N., VELA-CORCIA D., DONG Y., NUDEL A., PLINER M., LEVY M., ROGACHEV I., AHARONI A. Engineered gray mold resistance, antioxidant capacity, and pigmentation in betalain-producing crops and ornamentals. s.l. : *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2017, vol. 114, no. 34, pp. 9062-9067. DOI 10.1073/pnas.1707176114.

313. MONICA J., NEELAKANTAN V., SEENAPPA D. A novel method of stabilization of anthocyanins using beetroot peel and red cabbage. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 2018, vol. 8, no. 5, pp. 558–562. DOI 10.29322/IJSRP.8.5.2018.p7771.
314. TANABTABZADEH M.S., JAVANBAKHT V., GOLSHIRAZI A.H. Extraction of betacyanin and betaxanthin pigments from red beetroots by chitosan extracted from shrimp wastes. *Waste and Biomass Valorization*, 2019, vol. 10, pp. 641-653. DOI 10.1007/s12649-017-0086-8.
315. VERHECKEN A., STORME P., SCHALM O. UV VIS reflectance spectrometry study of the dyed silks in a relic shrine found in Antwerp, Belgium. *e Preservation Science*, 2014, vol. 11, pp. 99-104. ISSN 1854-3928.
316. SANDU Iu., SAVCENCO A., BAERLE A., TATAROV P., MACARI A. Capitolul II: „Stabilizarea proprietăților senzoriale și activității biologice a substanțelor biologice active din compoziții alimentare”, pp. 34-57; s.l. : In: STURZA R., GHENDOV-MOȘANU A. (eds.). *Ameliorarea calității alimentelor prin biotehnologie și inginerie alimentară*. Chișinău: Tehnica UTM, 2023, 267 p. ISBN 978-9975-45-988-4.
317. BULGARU V., CUȘMENCO P., POPESCU L., CEȘKO T., SAVCENCO A., BAERLE A., ȚĂRNA R., MACARI A., STURZA R., GHENDOV-MOȘANU A., SANDULACHI A., GUREV A., TATAROV. P. Capitolul VI: „Tehnologii de fabricare a produselor lactate fermentate cu adaosuri vegetale”. s.l. : pp. 136-172. In: STURZA R., GHENDOV-MOȘANU A. (eds.). *Ameliorarea calității alimentelor prin biotehnologie și inginerie alimentară*. Chișinău: Tehnica UTM, 2023, 267 p. ISBN 978-9975-45-988-4.
318. WOHLERT M., BENSELFELT T., WÄGGERBERG L., FURO I., BERGLUND L.A., WOHLERT J. Cellulose and the role of hydrogen bonds: not in charge of everything. *Cellulose*, 2022, vol. 29, pp. 1-23. DOI 10.1007/s10570-021-04325-4.
319. BUSZEWSKI B., NOGA S. Hydrophobicity scales and retention behavior in reversed-phase liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, 2012, vol. 84, no. 2, pp. 1099–1106. DOI 10.1021/ac202573a.
320. CONSTANTINI R., BERGHE I., IZZO F. New insights into the fading problems of safflower red dyes textiles through a HPLC PDA and colorimetric study. *Journal of Cultural Heritage*, 2019, vol. 38, pp. 37-45. DOI 10.1016/j.culher.2018.12.002.
321. NECHAEV A.P. et al. *Pishchevaya khimiya*. St. Petersburg: GIORD, 2007. 640 p. ISBN 5-98879-011-9.
322. PHUANGSAIJAI N., JAKMUNEE J., KITTIWACHANA S. Investigation into the predictive performance of colorimetric sensor strips using RGB, CMYK, HSV, and CIELAB coupled with various data preprocessing methods: s.l. : a case study on analysis of water quality parameters. *Journal of Analytical Science and Technology*, 2021, vol. 12, article 19. DOI 10.1186/s40543-021-00271-9.
323. HAYNES W.M. (ed.). *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 97th ed. Boca Raton: CRC Press, 2016. ISBN 978-1-4987-5429-3.
324. LAURSEN R., MOURI C. Decomposition and analysis of carthamin in safflower dyed textiles. *e Preservation Science*, 2013, vol. 10, pp. 35-37. eISSN 1581-9280.
325. MITANI E., OZAKI Y., SATO H. Two types of CO···HO H bonds and OH···OH H bonds in PVA/PMMA blends studied by IR spectroscopy. *Polymer*, 2022, vol. 246, article 124725. DOI 10.1016/j.polymer.2022.124725.
326. DAI Y., VERPOORTE R., CHOI Y. Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower. *Food Chemistry*, 2014, vol. 159, pp. 116-121. DOI 10.1016/j.foodchem.2014.02.155.
327. VOICA D.V. Mijloace și metode de reducere a risipei alimentare la fabricarea produselor făinoase. Timișoara: Eurobit, 2023. 177 p. ISBN 978-606-070-123-4.  
www.rompan.ro/files/Manual%20RO%20STOP%20WASTE%20TO%20VET.pdf. Accesat 01.06.2025.
328. SCHIFFERSTEIN H.N., WEHRLE T., CARBON C. Consumer expectations for vegetables with typical and atypical colors: the case of carrots. *Food Quality and Preference*, 2019, vol. 72, pp. 98-108. DOI 10.1016/j.foodqual.2018.10.002.
329. BANTEA-ZAGAREANU V., SANDU Iu., BAERLE A., TATAROV P. Quality assessment of the toffee with sweeteners and dye from walnut septum or kernel's pellicle. *Journal of Engineering Science*, 2023, vol. 30, no. 2, pp. 144-157. ISSN 2587-3474.
330. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive. *EFSA Journal*, 2021, vol. 19, no. 5, article e06585. DOI 10.2903/j.efsa.2021.6585.
331. BURDOCK G.A. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*. Boca Raton: CRC Press, 2009, 2135 p. ISBN 978-1-4200-9077-2.
332. KRAMMERER D., SCHILLMOLLER S., MAIER O., SCHIEBER A., REINHOLD C. Colour stability of canned strawberries using black carrot and elderberry juice concentrates as natural colorants. s.l. : *European Food Research and Technology*, 2006, vol. 224, no. 6, pp. 667-669. DOI 10.1007/s00217-006-0356-3.
333. KHALDI S. How Color Influences Food and Health Experience. <https://www.lycored.com/how-color-influences-food-and-health-experience/>. Accesat 29.05.2024.

334. GHENDOV-MOȘANU A., SANDU I., MAZUR M., BANTEA-ZAGAREANU V., BAERLE A., CRISTEA E., STURZA R. CAPITOLUL VIII. Substituirea coloranților sintetici în produse de cofetărie cu extracte și pulberi vegetale. pp. 203-229 în: . s.l. : STURZA R., GHENDOV-MOȘANU A. (editori): Ameliorarea calității alimentelor prin biotehnologie și inginerie alimentară. Chișinău, Tehnica-UTM, 2023, 267 p. ISBN 978-9975-45-988-4.
335. POPESCU L., SAVCENCO A., BAERLE A., TATAROV P., GHENDOV-MOȘANU A., STURZA R., PATRAȘ A. Procedeu de fabricare a iaurtului. Brevet de invenție MD-1625, BOPI 31.01.2023.
336. MOKRZYCKI W., TATOL M. Colour difference  $\Delta E$  - a survey. *Machine Graphics and Vision*, 2011, vol. 20, no. 4, pp. 383-411. ISSN 1230-0535.
337. SONAR C.R., RASCO B., TANG J., SABLANI S.S. Natural color pigments: oxidative stability and degradation kinetics during storage in thermally pasteurized vegetable purees. . s.l. : *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, vol. 99, no. 13, pp. 5934-5945. DOI 10.1002/jsfa.9868.
338. NOVAIS C., MOLINA A.K., ABREU R.M.V., SANTO-BUELGA C., FERREIRA I.C.F.R., PEREIRA C., BARROS L. Natural Food Colorants and Preservatives: A Review, a Demand, and a Challenge. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70 (9), pp. 2789–2805. s.l. : *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, vol. 70, no. 9, pp. 2789-2805. DOI 10.1021/acs.jafc.1c07533.
339. SCOVILLE H. Early life theories: primordial soup. ThoughtCo. <https://www.thoughtco.com/early-life-theory-of-primordial-soup-1224531>. Accesat 08.08.2024.
340. XI E., VENKATESHWARAN V, LI L., REGO N. , PATEL A.J. , GARDE S. . s.l. : Hydrophobicity of proteins and nanostructured solutes is governed by topographical and chemical context. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2017, vol. 114, no. 51, pp. 13345-13350. DOI 10.1073/pnas.1700092114.
341. BASTOS B.M., FARIAS B.S., CASATI M.O. Gelatin films from carp skin crosslinked by gallic acid and incorporated with chitosan/tuna lipid fractions. *Journal of Polymers and the Environment*, 2021, vol. 29, pp. 2096-2110. DOI 10.1007/s10924-020-01995-2.
342. PUBCHEM. Proline. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Proline>. Accesat 03.02.2026.
343. PUBCHEM. Hydroxyproline. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydroxyproline>. Accesat 03.02.2026.
344. CAMILLONI C., BONETTI D., MORRONE A., GIRI R. et al. Towards a structural biology of the hydrophobic effect in protein folding. *Scientific Reports*, 2016, vol. 6, article 28285. DOI 10.1038/srep28285.
345. AMINI H., HASHEMZADEH S., HEIDARZADEH M., MAMIPOUR M., YOUSEFI M., SABERIANPOUR S., RAHBARGHAZI R., NOURI M., SOKULLU E. s.l. : Cytoprotective and cyto-functional effect of polyanionic polysaccharide alginate and gelatin microspheres on rat cardiac cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, vol. 161, pp. 969-976. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.018.
346. RUBINSTEIN M., COLBY R.H. *Polymer Physics*. Oxford: Oxford University Press, 2003, 454 p. ISBN 978-0-19-852059-7.
347. MASUELLI M.A. Mark–Houwink parameters for aqueous-soluble polymers and biopolymers at various temperatures. *Journal of Polymer and Biopolymer Physical Chemistry*, 2014, vol. 2, no. 2, pp. 37-43. DOI 10.12691/jpbpc-2-2-2.
348. HARNASILAWAT T., PONGSAWATMANIT R., McCLEMENTS D.J. Stabilization of Model Beverage Cloud Emulsions Using Protein–Polysaccharide Electrostatic Complexes Formed at the Oil–Water Interface. s.l. : *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, vol. 54, no. 15, pp. 5540-5547. DOI 10.1021/jf052860a.
349. ROY A., BAJPAI J., BAJPAI A.K. Development of calcium alginate - gelatine based microspheres for controlled release of endosulfan as a model pesticide. *Indian Journal of Chemical Technology*, 2009, vol. 16, pp. 388-395. ISSN 0971-457X.
350. GÓMEZ-GUILLÉN M.C., GIMÉNEZ B., LÓPEZ-CABALLERO M.E., MONTERO M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatine from alternative sources. *Food Hydrocolloids*, 2011, vol. 25, no. 8, pp. 1813-1827. DOI 10.1016/j.foodhyd.2011.02.007.
351. STEINBÜCHEL A., RHEE S.K. *Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry*. Weinheim: Wiley-VCH, 2005, 771 p. ISBN 978-3-527-31345-7.
352. LENORMAND H., TRANCHEPAIN F., DESCHREVEL B., VINCENT J.-C. The hyaluronan-protein complexes at low ionic strength: How the hyaluronidase activity is controlled by the bovine serum albumin. . s.l. : *Matrix Biology*, 2009, vol. 28, no. 6, pp. 365-372. DOI 10.1016/j.matbio.2009.04.008.
353. PYEVICH C. Why is wine so fined? *Vegetarian Journal*, 1997, vol. XVI, no. 1. <https://www.vrg.org/journal/vj97jan/971wine.htm>. Accesat 03.02.2026.
354. RINN J.-C., ROBILLARD B. Alginate or pectate gel deficient in gelling ions for use in binding metal ions. United States Patent US-5567451, 1996. <https://patents.google.com/patent/US5567451A/en>. Accesat 03.02.2026.

355. SCHRIEBER R., GAREIS H. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Weinheim: Wiley-VCH, 2007, 334 p. ISBN 978-3-527-31548-2.
356. SANCHEZ-BALLESTER N.M., BATAILLE B., SOULAIROL I. Sodium alginate and alginic acid as pharmaceutical excipients for tablet formulation: Structure-function relationship. *Carbohydrate polymers*, 2021, vol. 270, article 118399. . s.l. : DOI 10.1016/j.carbpol.2021.118399.
357. ZHANG W., SHI L., LIU Y., MENG X., XU H., XU Y., LIU B., FANG X., LI H.B., DIN T. Supramolecular interactions via H-bonding contributing to citric-acid-derived carbon dots with high quantum yield and sensitive photoluminescence. . s.l. : RSC Advances, 2017, vol. 7, pp. 20345-20353. DOI 10.1039/C7RA02160G.
358. HYTTINEN N., PRISLE N.L. Improving solubility and activity estimates of multifunctional atmospheric organics by selecting conformers in COSMOtherm. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2020, vol. 124, no. 23, pp. 4801-4812. DOI 10.1021/acs.jpca.0c04285.
359. CRIADO-GONZALEZ M., REBOLLAR E., NOGALES A., EZQUERRA T.A., BOULMEDAIS F., MIJANGOS C., HERNÁNDEZ R. Polyelectrolyte multilayer films based on natural polymers: fundamentals and biomedical applications. s.l. : *Polymers*, 2021, vol. 13, no. 9, article 1520. DOI 10.3390/polym13091520.
360. GORGIEVA S., KOKOL V. Collagen- vs. gelatine-based biomaterials and their biocompatibility. In: PIGNATELLO R. (ed.) *Biomaterials Applications for Nanomedicine*. Rijeka: Intech, 2011, pp. 17-44. ISBN 978-953-307-661-4.
361. DOUBLIER J.-L., GARNIER C., RENARD D., SANCHEZ C. Protein-polysaccharide interactions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2000, vol. 5, no. 3-4, pp. 202-214. DOI 10.1016/S1359-0294(00)00054-6.
362. SATO A.C.K., ZAGATTO POLASTRO M., DE FIGUEIREDO FURTADO G., LOPES CUNHA R. Gelled double-layered emulsions for protection of flaxseed oil. *Food Biophysics*, 2018, vol. 13, pp. 316-323. DOI 10.1007/s11483-018-9537-4.
363. BENITA S. *Microencapsulation: Methods and Industrial Applications*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006, 781 p. DOI 10.1201/9781420027990.
364. OBEROI K., TOLUN A., ALTINTAS Z., SHARMA S. Effect of Alginate-Microencapsulated Hydrogels on the Survival of *Lactobacillus rhamnosus* under Simulated Gastrointestinal Conditions. *Foods*, 2021, vol. 10, no. 9, article 1999. DOI 10.3390/foods10091999.
365. SHINDE U.A., NAGARSENKER M.S. Characterization of gelatin-sodium alginate complex coacervation system. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2009, vol. 71, no. 3, pp. 313-317. DOI 10.4103/0250-474X.56033.
366. DIMOVA O.V., BAERLE A.V., TATAROV P.G., KIRITSA E.N. Fortification of fermented milk products with microencapsulated beta-carotene. *Dairy Industry*, 2013, no. 9, pp. 42-43. ISSN 1019-8946.
367. STEFANET M. *Anatomia omului*. Vol. 2. Chişinău, USMF, CEP Medicină, 2008, 524 p. ISBN 978-9975-915-72-4.
368. BELITZ H.-D., GROSCH W., SCHIEBERLE P. *Food Chemistry*. 4-th edition. Springer-Verlag, 2009, 1070 p. DOI 10.1007/978-3-540-69934-7.
369. PEYRON M.A., MISHELLANY A., WODA A. Particle size distribution of food boluses after mastication of six natural foods. *Archives of Oral Biology*, 2004, vol. 49, no. 5, pp. 425-435. DOI 10.1177/154405910408300713.
370. GORBATOVA K.K. *Khimiya i fizika moloka i molochnykh produktov*. Saint Petersburg: GIORD, 2012, 336 p. ISBN 978-5-98879-144-7.
371. BIEHLER E., MAYER F. et al. Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination. . s.l. : *Journal of Food Science*, 2010, vol. 75, no. 1, pp. C55-C61. DOI 10.1111/j.1750-3841.2009.01417.x.
372. RODRIGUEZ-AMAYA D.B. Natural Food Pigments and Colorants. In: MÉRILLON J.M., RAMAWAT K.G. (eds): *Bioactive Molecules in Food*. Reference Series in Phytochemistry. Springer, 2019, pp. 867-901. DOI 10.1007/978-3-319-78030-6\_12.
373. MÜLLER H. Die tägliche Aufnahme von Carotinoiden aus Gesamtnahrungsproben und die Carotinoidgehalte ausgewählter Gemüse- und Obstarten. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, 1996, vol. 35, no. 1, pp. 45-50. DOI 10.1007/BF01612027.
374. ISO/IEC/IEEE 15288:2023. *Systems and software engineering — System life cycle processes*. <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:iso-iec-ieee:15288:ed-2:v1:en>. Accesat 29.01.2024.
375. TRUSHEVA N.A. Otsenka i perspektivy ispol'zovaniya kolleksiionnogo genofonda orekha gretskogo na Severo-Zapadnom Kavkaze. Referatul tezei de doctor. Universitatea Tehnologică de Stat din Maicop, 2007. 22 p.
376. LI Y., MA S., WANG Y., XU X., HOU L., SUN Q., YANG K. The dynamics of fat, protein and sugar metabolism during walnut (*Juglans regia*) fruit development. *African Journal of Biotechnology*, 2012, vol. 11, no. 5, pp. 1267-1276. DOI 10.5897/AJB11.2852.

377. ONEMLI F. Fatty acid content of seed at different development stages in canola on different soil types with low organic matter. *Plant Production Science*, 2014, vol. 17, no. 3, pp. 253-259. DOI 10.1626/pp.17.253.
378. LI W., YOO E., LEE S., SUNG J., NOH H.J., HWANG S.J., DESTA K.T., LEE G.-A. Seed weight and genotype influence the total oil content and fatty acid composition of peanut seeds. *Foods*, 2022, vol. 11, no. 21, article 3463. DOI 10.3390/foods11213463.
379. THOUGHTCO. Common compound heat of formation table. <https://www.thoughtco.com/common-compound-heat-of-formation-table-609253>. Accesat 04.02.26.
380. NIST CHEMISTRY WEBBOOK. Thermochemical data for 9,12-Octadecadienoic acid. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C60333&Mask=2#Thermo-Condensed>. Accesat 05.02.26.
381. BEJAN A. *Advanced Engineering Thermodynamics*. 4-th edition. Wiley, 2016, 800 p. ISBN 978-1-119-05209-8.
382. GANYECZ Á., KÁLLAY M., CSONTOS J. Thermochemistry of uracil, thymine, cytosine, and adenine. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2019, vol. 123, no. 18, pp. 4057-4067. DOI 10.1021/acs.jpca.9b02061.
383. NIST CHEMISTRY WEBBOOK. Chemical thermophysical data. <https://webbook.nist.gov/chemistry/>. Accesat 29.01.2024.
384. CHEMEO. DL-Phenylalanine. URL <https://www.chemeo.com/cid/35-107-4/DL-Phenylalanine>. Accesat 29.01.2024.
385. KOCHERGINA L.A., KRUTOVA O.N., DAMRINA K.V. Standard enthalpies of formation for L-tyrosine, DL-norleucine, DL-tryptophan, DL- $\alpha$ -alanyl-DL-norleucine, and products of their dissociation in an aqueous solution. . s.l. : *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2015, vol. 89, no. 5, pp. 755-758. DOI 10.1134/S0036024415050192.
386. XUE P., TAN F., LIU H. Low-temperature heat capacity of D-glucose and D-fructose. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2021, vol. 145, pp. 3235-3242. DOI 10.1007/s10973-020-09849-8.
387. NIST CHEMISTRY WEBBOOK. Thermochemical data for Guanine. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C73405&Units=SI&Mask=2#Thermo-Condensed>. Accesat 29.01.2024.
388. RONCO C., BELLOMO R., KELLUM J.A., RICCI Z. *Critical Care Nephrology*. 3rd edition. Amsterdam: Elsevier, 2019. 1411 p. ISBN 978-0-323-44942-7.
389. SCHRÖDINGER E. *What Is Life? The Physical Aspect of the Living Cell*. Cambridge University Press, 1944, 191 p.
390. HENRY M. Thermodynamics of life. *Substantia*, 2021, vol. 5, no. 1, pp. 43-71. DOI 10.36253/Substantia-959.
391. KAUFFMAN S. Answering Schrödinger's "What Is Life?". *Entropy (Basel)*, 2020, vol. 22, no. 8, article 815. DOI 10.3390/e22080815.
392. LUCIA U. Entropy generation and cell growth with comments for a thermodynamic anticancer approach. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*. 2014, vol. 406, pp. 107-118. DOI 10.1016/j.physa.2014.03.053.
393. CUMBERS J. Food from thin air: the forgotten space tech that could feed planet Earth. *Forbes*, 6 March 2020. <https://www.forbes.com/sites/johncumbers/2020/03/06/food-from-thin-air-the-forgotten-space-tech-that-could-feed-planet-earth/>. Accesat 05.02.26.
394. LV Y., CHU Y., ZHOU P., MEI J., XIE J. Effects of different freezing methods on water distribution, microstructure and protein properties of cuttlefish during frozen storage. *Applied Sciences*, 2021, vol. 11, no. 15, article 6866. DOI 10.3390/app11156866.
395. BAERLE A., TATAROV P., SANDU Iu. Procedeu de eliminare a compușilor fenolici și naftochinonelor din piețița miezului de nuci. Brevet de invenție MD-1566. BOPI, 30.10.2021.
396. BAERLE A., TATAROV P., SANDU Iu. Polyphenols and naphthoquinones extraction from walnut pellicula: the impact on kernels quality. *Journal of Engineering Science*, 2020, vol. XXVII, no. 2, pp. 145-153. ISSN 2587-3474.
397. GROSU C. Valorificarea șrotului de nuci și obținerea produselor de cofetărie. Teza de doctor în tehnică. Chișinău: UTM, 2016. 173 p.
398. MATTHEWS S., NOLI E., DEMIR I., KHAJEH-HOSSEINI M., WAGNER M. Evaluation of seed quality: from physiology to international standardization. *Seed Science Research*, 2012, vol. 22(S1), pp. S69-S73. DOI 10.1017/S0960258511000365.
399. ROSE C. Walnuts are fruits, not nuts - but does it matter? <https://sciencenorway.no/biology-forskning/norway/walnuts-are-fruits-not-nuts---but-does-it-matter/1438824>. Accesat 05.02.26.
400. BOAGHI E. Modificările biochimice și tehnologice ale nucilor pe parcursul prelucrării și păstrării. Teza de doctor în tehnică. Chișinău: UTM, 2018, 153 p.

401. KHIR R., PAN Z. Walnuts. In: PAN Z., ZHANG R., ZICARI S. (eds.). *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*. Academic Press, 2019, pp. 391-411. ISBN 978-0-12-814138-0.
402. JAHANBAN-ESFAHLAN A., OSTADRAHIMI A., TABIBIAZAR M., AMAROWICZ R. A Comprehensive Review on the Chemical Constituents and Functional Uses of Walnut Husk. . s.l. : *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol. 20, article 3920. DOI 10.3390/ijms20163920.
403. VELIKOVSKY J.T. The holon/parton structure of the meme, or, the unit of culture. In: KHOSROW-POUR M. (ed.). *The Encyclopedia of Information Science and Technology*. 4th ed. Hershey: IGI Global, 2017, Chapter 405. DOI 10.4018/978-1-5225-2255-3.ch405.
404. SANDU I.U., BAERLE A., RANGA F., RUGINA D., PINTEA A., PATRAȘ A. Some identified biologically active compounds from the walnut kernel's pellicle: wastes? . s.l. : *Proceedings of the 10th International Symposium Euro-Aliment 2021*, 7-8 Oct. 2021, Galați: Book of Abstracts, p. 56. ISSN 1843-5114.
405. ÇELİK E.E., GÖKMEN V. Formation of Maillard reaction products in bread crust-like model system made of different whole cereal flours. *European Food Research and Technology*, 2020, vol. 246, pp. 1207-1218. DOI 10.1007/s00217-020-03481-4.
406. EL HOSRY L., ELIAS V., CHAMOUN V, HALAWI M, CAYOT P, NEHME A, BOU-MAROUN E. Maillard Reaction: Mechanism, Influencing Parameters, Advantages, Disadvantages, and Food Industrial Applications: A Review. . s.l. : *Foods*, 2025, vol. 26, is. 14, no. 11, article 1881. DOI 10.3390/foods14111881.
407. LARGO-GOSENS A., HERNÁNDEZ-ALTAMIRANO M., GARCÍA-CALVO L., ALONSO-SIMÓN A. et al. Fourier transform mid IR spectroscopy applications for monitoring the structural plasticity of plant cell walls. . s.l. : *Frontiers in Plant Science*, 2014, vol. 5, 303. DOI 10.3389/fpls.2014.00303.
408. SANDU I.U., BAERLE A., FETEA F., STURZA R. Biopolymeric composition of the walnut kernels' pellicle. *ModTech International Conference: Modern Technologies in Industrial Engineering*, 2021, 23-26 June, Online edition. Iași. Book of abstracts, p. 107. . s.l. : ISSN 2286-4369.
409. CUVELIER M.E., SOTO P., COURTOIS F., BROYART B., BONAZZI C. Oxygen solubility measured in aqueous or oily media by a method using a non-invasive sensor. *Food Control*, 2017, vol. 73, Part B, pp. 1466-1473. DOI 10.1016/j.foodcont.2016.11.008.
410. BHUNIA K., SABLANI S.S., TANG J., RASCO B. Non-invasive measurement of oxygen diffusion in model foods. *Food Research International*, 2016, vol. 89, no. 1, pp. 161-168. DOI 10.1016/j.foodres.2016.07.015.
411. POPOVICI C., BAERLE A., TATAROV P. Biochemical aspects of walnut dairy-free milk. *Proceedings of University of Ruse*, 2017, vol. 56, book 10.2, pp. 28-33. ISSN 1311-3321.
412. NAKAGAKI T., YAMADA H., TÓTH Á. Maze-solving by an amoeboid organism. *Nature*, 2000, vol. 407, no. 6803, p. 470. DOI 10.1038/35035159.
413. TERO A., TAKAGI S., SAIGUSA T., ITO K., BEBBER D.P., FRICKER M.D., YUMIKI K., KOBAYASHI R., NAKAGAKI T. Rules for biologically inspired adaptive network design. *Science*, 2010, vol. 327, no. 5964, pp. 439-442. DOI 10.1126/science.1177894.
414. LADHA-SABUR A., BAKALIS S., FRYER P.J., LOPEZ-QUIROGA E. Mapping energy consumption in food manufacturing. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, vol. 86, pp. 270-280. DOI 10.1016/j.tifs.2019.02.034.
415. MONFORTI-FERRARIO F., DALLEMAND J., PINEDO PASCUA I., MOTOLA V., BANJA M. et al. Energy use in the EU food sector. State of play and opportunities for improvement. *Publications Office of the EU*, 2015, 172 p. DOI 10.2790/158316.
416. FERREIRA S., NICOLETTI V.R. Use of a tubular heat exchanger to achieve complex coacervation in a semi-continuous process: Effects of capsules curing temperature and shear rate. . s.l. : *Journal of Food Engineering*, 2021, vol. 310, article 110698. DOI 10.1016/j.jfoodeng.2021.110698.
417. BOUVIER J.M., CAMPANELLA O.H. *Extrusion Processing Technology: Food and Non-Food Biomaterials*. Wiley-Blackwell, 2014. 544 p. ISBN 978-1-118-54172-2.
418. MUJUMDAR A.S. *Handbook of Industrial Drying*. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2014. 1348 p. DOI 10.1201/b17208.
419. KUDRA T., MUJUMDAR A.S. *Advanced Drying Technologies*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2009. 438 p. DOI 10.1201/9781420073898.
420. RATTI C. Chapter 3: Freeze drying for food powder production. In: (Es.) BHANDARI B., BANSAL N., ZHANG M., SCHUCK P. *Handbook of Food Powders*. Woodhead Publishing, 2013. pp. 57-84. DOI 10.1533/9780857098672.1.57.
421. PISANO R., FISSORE D., BARRESI A.A. Quality by Design in the Secondary Drying Step of a Freeze-Drying Process. *Drying Technology*. 2012, vol. 30, no. 11-12, pp. 1307-1316. DOI 10.1080/07373937.2012.704466.

422. SCHROEN K., BERTON-CARABIN C., RENARD D., MARQUIS M., BOIRE A., COCHEREAU R., AMINE C., MARZE S. Droplet microfluidics for food and nutrition applications. *Micromachines*, 2021, vol. 12, no. 8, article 863. DOI 10.3390/mi12080863.
423. GUREV A., CEȘKO T., BAERLE A., DRAGANCEA V., GHENDOV-MOȘANU A., STURZA R., NETREBA N., BOEȘTEAN O., HARITONOV S. CAPITOLUL III. Valorificarea substanțelor biologice active și a biopolimerilor din deșeuri agroindustriale. pp. 58-88 în: . s.l. : STURZA R., GHENDOV-MOȘANU A. (editori): *Ameliorarea calității alimentelor prin biotehnologie și inginerie alimentară*. Chișinău, Tehnica-UTM, 2023, 267 p. ISBN 978-9975-45-988-4.
424. BAERLE A., TATAROV P., STURZA R. Entropy (negentropy) control as the condition for intelligent valorisation of food raw materials. International Conference „Intelligent Valorisation of Agro-Food Industrial Wastes”. . s.l. : 7-8 october 2021, Chișinău, „MS Logo”, p. 18. ISBN 978-9975-3464-2-9.