

**UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA**  
**ȘCOALA DOCTORALĂ ȘTIINȚE ALE NATURII**

**Consortiu:            Universitatea Stat din Moldova, Institutul de Chimie**

Cu titlu de manuscris  
C.Z.U.: 502.175:542.943'78:634.86(043)

**VICOL CRINA**

**INTERACȚIUNI ANTIOXIDANTE DINTRE UNII  
COMPUȘI FENOLICI ȘI ACIZI ORGANICI DIN  
STRUGURI – CONTRIBUȚIE LA FORMAREA  
ECOVALEOLOGICĂ A TINERILOR SPECIALIȘTI**

**145.01 Chimie ecologică**

**Rezumatul tezei de doctor în științe chimice**

**CHIȘINĂU, 2024**

Teza a fost elaborată în cadrul Laboratorului de Chimie Fizică și Cuantică, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova, Școala Doctorală Științe ale Naturii

**Conducător științific-**

**DUCA Gheorghe** doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, academician  
Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova

**Componenta Comisiei de Doctorat:**

**GONȚA Maria** doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, Universitatea de Stat din Moldova - **președinte**

**DUCA Gheorghe** doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, academician, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova - **conducător de doctorat**

**LUPAȘCU Tudor** doctor habilitat în științe chimice, profesor cercetător, academician, Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova - **referent**

**STURZA Rodica** doctor habilitat în științe tehnice, profesor universitar, membru corespondent al AȘM, Universitatea Tehnică din Moldova - **referent**

**HARABAGIU Valeria** doctor-inginer în științe chimice, Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”, Iași, România - **referent**

Susținerea va avea loc la **4 octombrie 2024**, ora **14:00** în cadrul Ședinței Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat din cadrul Școlii Doctorale Științe ale Naturii, USM. Sediul – Universitatea de Stat din Moldova (<http://www.usm.md>), str. M. Kogălniceanu 65 A, blocul 3, sala 332, MD-2009, Chișinău, Moldova.

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la Biblioteca Națională a Republicii Moldova, Biblioteca Științifică Centrală ”Andrei Lupan”, Biblioteca Centrală a Universității de Stat din Moldova (MD 2009, mun. Chișinău, str. Alexei Mateevici 60), pe pagina web a ANACEC (<http://www.cnaa.md>), și pe pagina web a USM (<http://www.usm.md>).

Rezumatul a fost expediat la ” 20 ” august \_\_\_\_\_ 2024

**Președintele Comisiei de Doctorat**

doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar

  
**GONȚA Maria**

**Conducător științific**

doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, academician

  
**DUCA Gheorghe**

**Autor:**

  
**VICOL Crina**

## CUPRINS

<b>REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII.....</b>	<b>4</b>
<b>CONȚINUTUL TEZEI.....</b>	<b>6</b>
<b>1. MATERIALE ȘI METODE UTILIZATE ÎN STUDIUL INTERACȚIUNILOR ANTIOXIDANTE.....</b>	<b>6</b>
<b>2. CARACTERIZAREA COMPOZIȚIEI CHIMICE A STRUGURILOR AUTOHTONI LA DIFERITE PERIOADE DE MATURARE.....</b>	<b>7</b>
2.1. Indicii fizico-chimici de bază și specifici caracteristici strugurilor autohtoni.....	7
2.2. Activitatea antioxidantă a strugurilor studiate.....	10
2.3. Stabilirea concentrațiilor optime de compușilor fenolici și acizi organici pentru studiul interacțiunilor antioxidante.....	11
<b>3. INTERACȚIUNI ANTIOXIDANTE DINTRE COMPUȘII NATURALI DIN STRUGURI.....</b>	<b>12</b>
3.1. Interacțiuni antioxidante dintre compuși fenolici și acizi organici din struguri.....	12
3.2. Interacțiuni antioxidante dintre compușii fenolici din struguri și acidul dihidroxifumaric.....	15
3.3. Interacțiuni antioxidante dintre acidul ascorbic și alți compuși din struguri.....	17
3.4. Activitatea antioxidantă a preparatului ENOXIL și interacțiunile antioxidante în amestec cu acidul ascorbic.....	22
<b>4. FORMAREA CONCEPTELOR ECOVALEOLOGICE LA DISCIPLINA CHIMIE ECOLOGICĂ.....</b>	<b>26</b>
4.1. Relația dintre studiul interacțiunilor antioxidante și conceptul de valeologie.....	26
4.2. Formarea conceptelor ecovaleologice ale tinerilor – abordare sustenabilă în soluționarea problemelor ecologice.....	26
4.3. Integrarea conceptului de ecovaleologie în curriculumul disciplinei Chimie ecologică.....	27
<b>CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI.....</b>	<b>27</b>
<b>BIBLIOGRAFIE inclusiv LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI.....</b>	<b>30</b>
<b>ADNOTARE.....</b>	<b>32</b>
<b>ANNOTATION.....</b>	<b>33</b>
<b>АННОТАЦИЯ.....</b>	<b>34</b>

## REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

**Actualitatea și importanța temei abordate.** Antioxidanții sunt compuși care, datorită diversității și complexității structurale și a mecanismelor de acțiune, au capacitatea de a anihila speciile reactive. În condițiile expunerii zilnice la factorii de risc generatori de radicali liberi, aportul zilnic de compuși antioxidanți este necesar pentru echilibrarea balanței reacțiilor redox din organism, în conformitate cu necesitățile și condițiile ecologice de abitare oportune unei vieți sănătoase [1]. Consumul produselor alimentare, în special al celor de origine vegetală, este principala sursă de antioxidanți, alături de consumul de suplimente alimentare tot mai mult simpatizat de populație.

Principala diferență dintre antioxidanții din sursele naturale și cei din suplimentele alimentare constă, pe de o parte, în concentrațiile compușilor dați, care variază de la o sursă la alta, și, pe de altă parte, în faptul că, în natură, antioxidanții se află în combinație cu alți compuși antioxidanți sau non-antioxidanți – circumstanță care influențează semnificativ activitatea antioxidantă totală, prin generarea interacțiunilor antioxidante (IA) sinergice, aditive sau antagoniste [2]. Contrar faptului dat, antioxidanții aplicați individual și în concentrații mari, comparativ cu conținutul lor în natură, pot deveni prooxidanți în anumite condiții de presiune, pH, solvent, sau în prezența metalelor grele [3] etc.

Strugurii reprezintă niște sisteme complexe care cuprind un număr impunător de compuși organici și anorganici, o mare parte dintre aceștia posedând activitate antioxidantă. Deși interesul științific rămâne focusat asupra compușilor cu proprietăți antioxidante sporite, de exemplu: acidul ascorbic (AA), acidul dihidroxifumaric (DHF), catehina (Cat), quercetina (Que), rutina (Rut), acidul galic (AG), resveratrolul (Res) etc., prezența și efectul compușilor non-antioxidanți, precum acizii tartric (AT), citric (AC), malic etc., se dovedește a fi semnificativă pentru activitatea antioxidantă totală a amestecurilor.

Ecovaleologia, ca direcție științifică care studiază influența factorilor naturali și a consecințelor asupra sănătății umane a schimbărilor mediului survenite în urma acțiunilor antropice, precum și definește natura comportamentului uman în diferite condiții de mediu cu scopul menținerii sănătății [4], se dovedește a fi disciplina care se angajează să studieze impactul antioxidantilor și efectului concentrației și combinației acestora, riscul caracterului prooxidant, avantajele/dezavantajele consumului suplimentelor alimentare, beneficiul aportului zilnic de antioxidanți naturali asupra stării de sănătate a indivizilor.

**Scopul** tezei este determinarea tipului interacțiunilor antioxidante dintre unii compuși fenolici și acizi organici din struguri și a dependenței efectelor antioxidante de concentrația și

combinația substanțelor investigate, succedată de formularea unor concluzii privind consumul și utilizarea eficientă a antioxidanților.

**Obiectivele** caracteristice scopului lucrării sunt:

- studiul teoretic al mecanismelor de acțiune antioxidantă a compușilor naturali, al problemei caracterului prooxidant, al tipurilor de interacțiune antioxidantă între compușii naturali, al activității antioxidante a compușilor fenolici și non-fenolici din struguri și studiul ecovaleologiei ca direcție științifică;
- determinarea compoziției chimice și a activității antioxidante a strugurilor autohtoni la diferite perioade de maturare și utilizarea datelor experimentale și bibliografice pentru determinarea concentrațiilor de antioxidanți – acidul ascorbic, acidul galic, catehina, quercetina, rutina, resveratrol, și de compuși non-antioxidanți – acidul tartric, acidul citric, potrivite pentru determinarea tipurilor de interacțiune antioxidantă;
- investigarea interacțiunilor antioxidante dintre acizii tartric, citric sau dihidroxifumaric în combinație cu compușii fenolici (acidul galic, catehina, quercetina, rutina, resveratrol) sau cu acidul ascorbic; investigarea interacțiunilor antioxidante în amestecurile acid ascorbic – resveratrol, acid ascorbic – ENOXIL și studiul influenței concentrației, a mediului de reacție, a ordinii adăugării compușilor în reacție asupra tipului și mecanismelor de interacțiune antioxidantă;
- abordarea studiului interacțiunilor antioxidante prin prisma ecovaleologiei și integrarea rezultatelor obținute în cursul de Chimie ecologică din cadrul Universității de Stat din Moldova, pentru formarea concepțiilor ecovaleologice ale studenților; formularea și diseminarea concluziilor privind consumul rațional și echilibrat al antioxidanților, și utilizarea eficientă a compușilor dați;

**Noutatea și originalitatea științifică.** Pentru prima dată au fost determinate tipurile interacțiunilor antioxidante dintre compușii fenolici și acizii organici naturali în combinații și concentrații similare celor din struguri. A fost stabilită influența condițiilor de reacție asupra tipului de interacțiune antioxidantă. A fost propus mecanismul de acțiune sinergică dintre acizii ascorbic și dihidroxifumaric, și dintre resveratrol și acidul ascorbic; au fost sugerate mecanismele de interacțiune antioxidantă dintre compușii fenolici și acizii organici din struguri. În premieră au fost aplicate metodele DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> și PRFe pentru studierea activității antioxidante a soiurilor de struguri autohtoni de selecție nouă. Pentru prima dată subiectul interacțiunilor antioxidante a fost tratat din perspectiva conceptului de ecovaleologie.

**Ipozeza de cercetare.** Utilizarea sau consumul antioxidanților în combinațiile și concentrațiile la care aceștia se găsesc în natură este avantajoasă și benefică datorită efectelor sinergice, aditive sau antagoniste care apar între compușii din sistemele multicomponente.

**Importanța teoretică.** Rezultatele obținute îmbogățesc și completează studiile existente, permit formularea unor idei mai exacte referitoare la mecanismele și procesele redox în care pot fi implicate substanțele studiate. De asemenea, rezultatele investigației aduc un aport științific și didactic privind formarea concepțiilor ecovaleologice ale tinerilor din instituțiile de învățământ superior.

**Valoarea aplicativă a lucrării** se axează pe posibilitatea utilizării rezultatelor experimentale obținute pentru îmbunătățirea efectului antioxidant și a eficienței produselor farmaceutice, cosmetice și a procedeeleor tehnologice existente. Totodată, rezultatele obținute pot fi ușor integrate în curriculum disciplinelor din învățământul superior.

**Implementarea rezultatelor științifice.** Rezultatele obținute au fost integrate în conținutul prelegerii „Chimia alimentară și asigurarea calității alimentelor. Antioxidanții” ce face parte din cursul de Chimie ecologică elaborat de acad. Gh. Duca la Universitatea de Stat din Moldova, și au fost prezentate studenților timp de patru ani consecutivi.

**Publicații la tema tezei.** Rezultatele cercetărilor la tema tezei sunt reflectate în 26 de lucrări științifice: 3 capitole de carte publicate în monografiile naționale și internaționale; 2 articole în reviste internaționale cu factor de impact; 3 articole în reviste naționale; 18 participări la evenimente științifice naționale și internaționale precum conferințe, simpozioane, școli de vară la tematica chimiei ecologice/chimiei verzi.

## CONȚINUTUL TEZEI

### 1. MATERIALE ȘI METODE UTILIZATE ÎN STUDIUL INTERACȚIUNILOR ANTIOXIDANTE

În acest capitol sunt descrise materialele și metodele utilizate pentru atingerea scopului și obiectivelor propuse. Ca materie primă au fost utilizați strugurii autohtoni din soiurile Viorica, Riton, Feteasca Neagă și Copceac; iar pentru determinarea tipurilor de interacțiuni antioxidante au fost utilizați compuși fenolici (catechina, quercetina, rutina, resveratrol, acidul galic) și acizi organici (acizii ascorbic, dihidroxifumaric, tartric, citric) și preparatul ENOXIL. Au fost aplicate testele de determinare a activității antioxidante – DPPH<sup>\*</sup> (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), ABTS<sup>++</sup> (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic)), PRFe (puterea de reducere Fe(III)); testele de identificare a claselor de compuși naturali în struguri – Folin-Ciocalteu, DMACA (4-dimetilaminocinamaldehydă), metoda pH diferențială; metodele clasice de determinare a parametrilor fizico-chimici de bază ai probelor de struguri investigate. În ceea ce privește tehnica

de laborator, au fost utilizate metode fizico-chimice moderne de analiză precum spectroscopia UV-Viz (Ultraviolet-Vizibil), spectroscopia Stopped-Flow, spectroscopia RES (Rezonanța Electronică de Spin), spectroscopia RMN (Rezonanța Magnetică Nucleară), electroforeza capilară.

Pentru integrarea conceptului de ecovaleologie în conținutul prelegerii din cadrul cursului de Chimie ecologică, au fost utilizate metode de comunicare orală expositive (prelegerea, explicația, demonstrația logică) și conversative (discuția liberă, problematizarea), metode de explorare mijlocită (analiza rezultatelor experimentale, analiza comparativă), metode bazate pe acțiune reală (analiza studiilor de caz).

## 2. CARACTERIZAREA COMPOZIȚIEI CHIMICE A STRUGURILOR AUTOHTONI LA DIFERITE PERIOADE DE MATURARE

### 2.1. Indicii fizico-chimici de bază și specifici caracteristici strugurilor autohtoni

Parametrii fizico-chimici sunt primii indicatori ai calității strugurilor și ai gradului de maturitate a acestora. După cum se vede din Tabelul 2.1, la diferite perioade de timp indicatorii fizico-chimici variază în funcție de gradul de maturitate a strugurilor [5].

**Tabelul 2.1. Indicii fizico-chimici de bază determinați în soiurile de struguri Riton, Viorica, Feteasca Neagră și Copceac la diferite etape de maturare. Analizele au fost efectuate în sucul de struguri storși.**

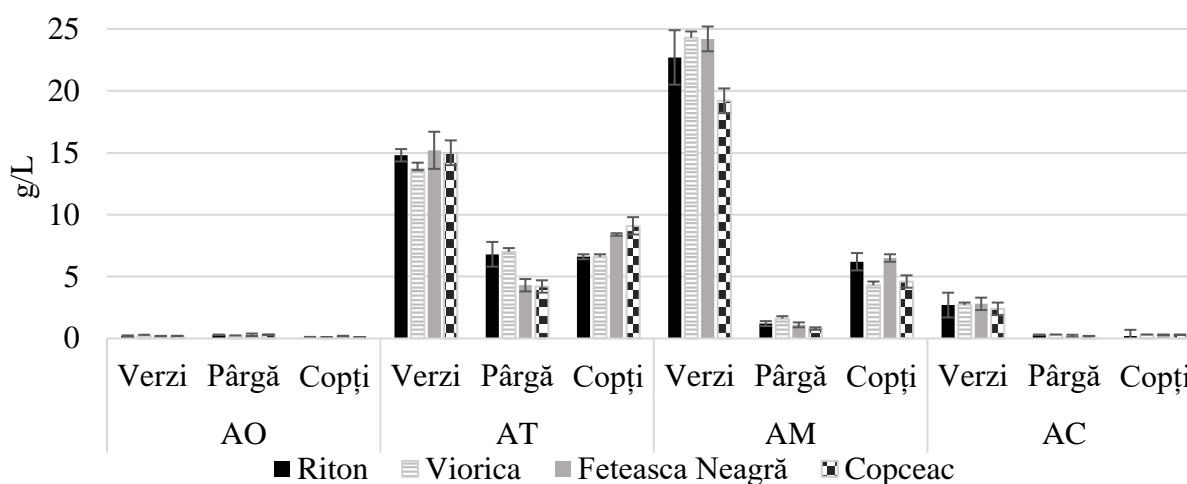
Gradul de maturitate	Denumire soi	Conținut zaharuri, g/L	Aciditatea titrabilă, g-ech. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L	pH	Potențial redox, mV
Struguri verzi	Riton	35.74±7.21	30.01±7.39	2.36±0.14	245.57±17.91
	Viorica	33.11±3.54	29.06±10.79	2.28±0.61	264.90±2.14
	Feteasca N.	43.39±10.89	25.27±2.58	2.37±0.15	260.17±7.94
	Copceac	39.78±8.65	28.01±6.19	2.43±0.10	254.83±7.01
Struguri la pârgă	Riton	140.25±10.82	9.15±2.19	2.61±0.16	245.55±8.98
	Viorica	158.13±14.42	9.73±1.68	2.79±0.13	235.35±8.13
	Feteasca N.	116.33±23.05	10.74±1.83	2.63±0.11	245.05±6.01
	Copceac	130.05±39.67	8.61±4.38	2.66±0.13	243.25±7.57
Struguri copti	Riton	215.73±16.59	5.17±0.06	2.82±0.09	233.85±6.15
	Viorica	221.85±32.46	5.79±0.55	2.91±0.02	228.70±1.27
	Feteasca N.	241.23±23.81	4.41±0.83	2.91±0.51	228.45±29.49
	Copceac	229.52±21.64	5.03±1.16	2.95±0.53	226.61±31.11

Conținutul de zaharuri crește de la 38 g/L (media) în strugurii verzi până la aproximativ 136 g/L la pârgă și ajunge la o medie de 227 g/L în strugurii copti – conținut de zaharuri care este considerat optim pentru recoltă și pentru producerea vinurilor.

Evoluția acidității titrabile este invers proporțională conținutului de zaharuri. Astfel că, indicele dat scade de la aproximativ 28 g-ech. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/L în strugurii verzi până la aproximativ 5 g-ech. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/L în bacele coapte [5]. pH-ul determinat în probele analizate crește de la aproximativ

2.4 în strugurii verzi până la o medie de 2.9 în cei coptți [5]. Această creștere a valorilor pH-ului este determinată de scăderea acidității titrabile. Fiind invers proporțional pH-ului, potențialul redox scade de la media de 256 mV în strugurii verzi până la aproximativ 228 mV în bacele coapte.

Conform Figurii 2.1, acizii tartric și malic reprezintă aproximativ 90% din totalul acizilor organici din struguri; pe lângă aceștia, mai sunt prezenți în concentrații mai mici acizii citric și oxalic.



**Figura 2.1. Conținutul de acizi organici – oxalic (AO), tartric (AT), malic (AM), citric (AC), determinat în strugurii verzi, la pârgă și în strugurii coptți din soiurile Riton, Viorica, Feteasca Neagră și Copceac**

Acidul tartric atinge valorile maxime de aproximativ 15 g/L în bobitele verzi, iar AM ajunge până la o medie de 22 g/L [6, 7]. Aceste valori maxime sunt succedate de o descreștere bruscă în perioada de pârgă, până la 6 – 8 g/L în cazul AT și până la 1 – 2 g/L pentru AM. La coacere, conținutul de AT și AM crește până la o medie de 8 g/L și, respectiv, 5 g/L. Acizii organici AO și AC se găsesc în struguri, în deosebi în cei coptți, într-o cantitate mică care nu depășește 1 g/L, excepție făcând AC în strugurii verzi, care înregistrează valori de aproximativ 3 g/L (Figura 2.1) [6, 7].

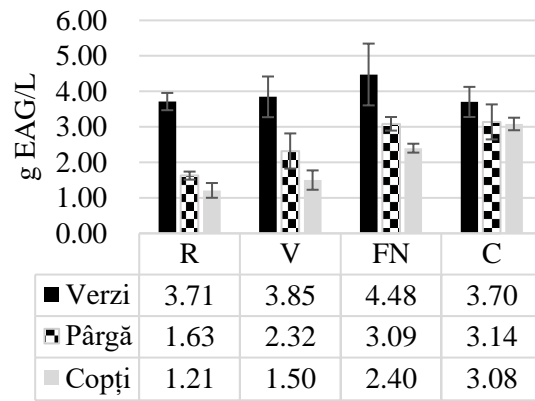
*Conținutul total de compuși fenolici, proantocianidine și antociani în strugurii autohtoni.*

Figura 2.2 arată că strugurii verzi au cel mai înalt conținut de compuși fenolici de aproximativ 4 g-echivalenți AG per litru (g EAG/L) [7–9]. Concentrația de compuși fenolici scade semnificativ în soiurile de Viorica, Riton și Feteasca Neagră în perioadele de pârgă și la coacere. Astfel că, în strugurii coptți conținutul total de compuși fenolici ajunge să fie de 1.2 – 1.5 g EAG/L în soiurile albe și de 2.4 g EAG/L în strugurii de Feteasca Neagră [7–9]. În cazul soiului Copceac, conținutul total de compuși fenolici înregistrează o scădere până la 3.1 g EAG/L, această valoare menținându-se până la coacere [7–9].

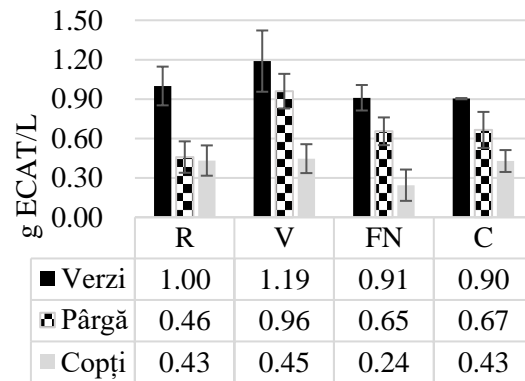


Descrescerea conținutului de compuși fenolici se datorează migrației polifenolilor din pulpă în semințe și pielică. Conform Figurii 2.3, cel mai mare conținut de proantocianidine este înregistrat în strugurii verzi, în special în soiul Viorica – aproximativ 1.2 g-echivalenți Cat per litru (g ECat/L) [7–9]. Pe parcursul coacerii, indicele dat scade până la o medie de 0.43 g ECat/L în bacele coapte de Riton, Viorica și Copceac, și până la 0.24 g ECat/L în soiul de Feteasca Neagră [7–9]. Formarea pigmentilor roșii în strugurii de Feteasca Neagră și Copceac în perioada de pârgă și la coacere este demonstrată de Figura 2.4. Conținutul maximal de antociani se observă în soiul de strugurii Copceac, care conține aproximativ 500 mg-echivalenți Malvidină per litru (mg EMalv/L) în perioada de pârgă și 875 mg EMalv/L în strugurii copti [7–9]. În probele de Feteasca Neagră sunt determinate concentrații mai mici de antociani și anume 300 mg EMalv/L la pârgă și aproximativ 700 mg EMalv/L în bobیțele coapte [7–9]. Compușii antociani se formează în perioadele de pârgă și coacere a strugurilor roșii, conținutul de antociani dublându-se în acest interval de timp [7–9].

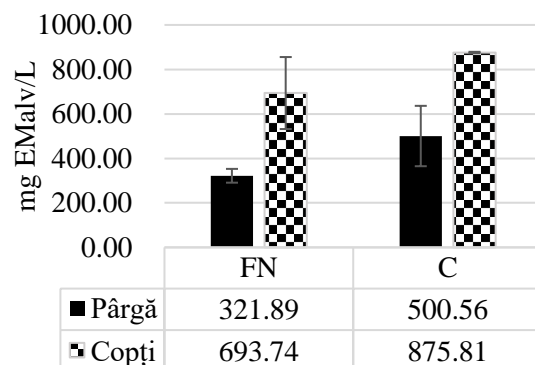
Compușii fenolici, inclusiv proantocianidinele și antocianii, pot reduce radicalii liberi din sistemele naturale, prin urmare, conținutul lor influențează activitatea antioxidantă a strugurilor.



**Figura 2.2. Conținutul total de compuși fenolici determinat în struguri verzi, la pârgă și în strugurii copti din soiurile Riton (R), Viorica (V), Feteasca Neagră (FN) și Copceac (C)**



**Figura 2.3. Conținutul de proantocianidine determinat în struguri verzi, la pârgă și în strugurii copti din soiurile Riton (R), Viorica (V), Feteasca Neagră (FN) și Copceac (C)**

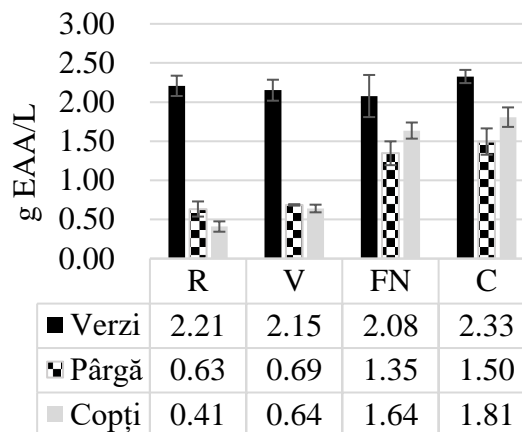


**Figura 2.4. Conținutul de antociani determinat în struguri la pârgă și în strugurii copti din soiurile Feteasca Neagră (FN) și Copceac (C)**

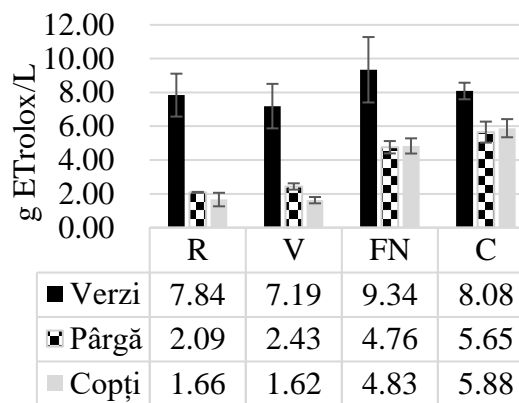
## 2.2. Activitatea antioxidantă a strugurilor studiate

Activitatea antioxidantă a extractelor din struguri autohtoni a fost determinată prin trei metode descrise în literatura de specialitate – DPPH<sup>\*</sup>, ABTS<sup>+</sup> și PRFe. Conform Figurii 2.5, cea mai mare activitate antioxidantă în reacția cu DPPH<sup>\*</sup> este observată în strugurii verzi și depășește 2 g-echivalenți AA per litru (g EAA/L) [8–10]. Extractele din struguri la pârgă și copti posedă o activitate antioxidantă mai redusă, în special în cazul soiurilor de struguri albi de Riton și Viorica – aproximativ 0.6 g EAA/L; strugurii de Feteasca Neagră și Copceac demonstrează o activitate antioxidantă echivalentă cu aproximativ 1.6 g EAA/L [8–10]. Faptul dat este cauzat de formarea și acumularea în perioada de pârgă și la coacere a antocianilor, care sunt compuși ce anihilează eficient DPPH<sup>\*</sup>.

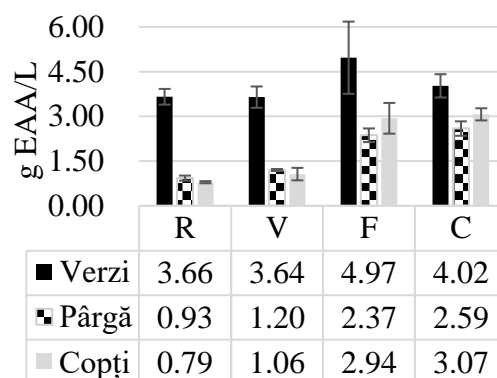
Activitatea antioxidantă determinată prin metoda ABTS<sup>+</sup> este exprimată în echivalenți de Trolox (g ETrolox/L) (Figura 2.6). Astfel că, extractele din struguri verzi posedă cea mai mare activitate antioxidantă de aproximativ 8 g ETrolox/L [8–10]. În strugurii copti de Riton și Viorica activitatea antioxidantă scade până la 1.6 g ETrolox/L, iar în cazul soiurilor Feteasca Neagră și Copceac – până la o medie de 5 g ETrolox/L, această diferență între soiurile albe și cele roșii datorându-se prezenței antocianilor în strugurii roșii [8–10].



**Figura 2.5. Activitatea antioxidantă a strugurilor verzi, la pârgă și strugurilor copti din soiurile Riton (R), Viorica (V), Feteasca Neagră (FN) și Copceac (C) determinată prin metoda DPPH<sup>\*</sup>**



**Figura 2.6. Activitatea antioxidantă a strugurilor verzi, la pârgă și strugurilor copti din soiurile Riton (R), Viorica (V), Feteasca Neagră (FN) și Copceac (C) determinată prin metoda ABTS<sup>+</sup>**



**Figura 2.7. Activitatea antioxidantă a strugurilor verzi, la pârgă și strugurilor copti din soiurile Riton (R), Viorica (V), Feteasca Neagră (FN) și Copceac (C) determinată prin metoda PRFe**

Extractele obținute în strugurii verzi demonstrează cea mai mare putere de reducere a Fe(III) – mai mare de 3.6 g EAA/L (Figura 2.7), în același timp, și cea mai mare activitate prooxidantă [8–10]. Odată cu diminuarea conținutul de compuși fenolici (Figura 2.2) și conținutul de proantocianidine (Figura 2.3), puterea de reducere a Fe(III) este, de asemenea, în scădere la strugurii albi în perioada de pârgă și la maturitate, înregistrând valori de aproximativ 1 g EAA/L [8–10]. Pe de altă parte, pentru soiurile roșii Copceac și Feteasca Neagră, indicatorul PRFe depășește valoarea de 2.4 g EAA/L în perioada de pârgă și în strugurii copti, în contextul acumulării concentrației mari de antociani.

### 2.3. Stabilirea concentrațiilor optime de compușilor fenolici și acizi organici pentru studiul interacțiunilor antioxidante

Rezultatele experimentale descrise în acest capitol, precum și datele cunoscute în literatura de specialitate, au permis stabilirea concentrațiilor și raporturilor optime pentru efectuarea experimentelor de determinare a interacțiunilor antioxidante dintre compușii studiați (Tabelul 2.2).

**Tabelul 2.2. Raporturile de concentrație ale compușilor fenolici și acizilor organici din struguri conform datelor raportate în literatura de specialitate și datelor experimentale. Raporturile de concentrație utilizate în experimentele de determinare a interacțiunilor antioxidante**

Raporturi de concentrație								
		Conform datelor din literatura de specialitate		Conform datelor experimentale		Raporturi utilizate pentru determinarea IA		
Acid organic		AT	AC	AT	AC	AT	AC	DHF
Compus antioxidant	AA	11- 173	1 - 9	31 - 154	5 - 25	1 - 700	1 - 700	0.1 - 5
	AG	11 - 10113	0.2 - 706	11456	1901	1 - 2500	1 - 1500	0.1 - 5
	Cat	3 - 6578	0.1 - 459	7452	1237	1 - 1000	1 - 1000	0.1 - 5
	Que	8 - 21856	0.1 - 1116	1490	247	1 - 800	1 - 800	0.1 - 10
	Rut	10 - 3686	0.2 - 297	437	73	1 - 900	1 - 900	0.1 - 10
	Res	114 - 29706	1.6 - 2392	1694	281	1 - 5000	1 - 4000	0.05 - 5

Tabelul 2.2 reflectă raporturile dintre cele mai mari și cele mai mici concentrații de compuși identificați în struguri conform literaturii de specialitate și datelor obținute experimental în strugurii autohtoni și intervalul de raporturi de concentrație în care au fost combinați compușii antioxidanți și non-antioxidanți pentru stabilirea tipului de IA.

Astfel, în amestecurile cu acizii organici tartric sau citric, raporturile de concentrație studiate variază pentru fiecare compus – acidul ascorbic: 1 – 700, acidul galic: 1 – 2500 , catehina: 1 – 1000, quercetina: 1 – 800, rutina: 1 – 900 și resveratrol: 1 – 5000; iar în amestecurile cu acidul dihidroxifumaric, în intervalul 0.05 – 10.

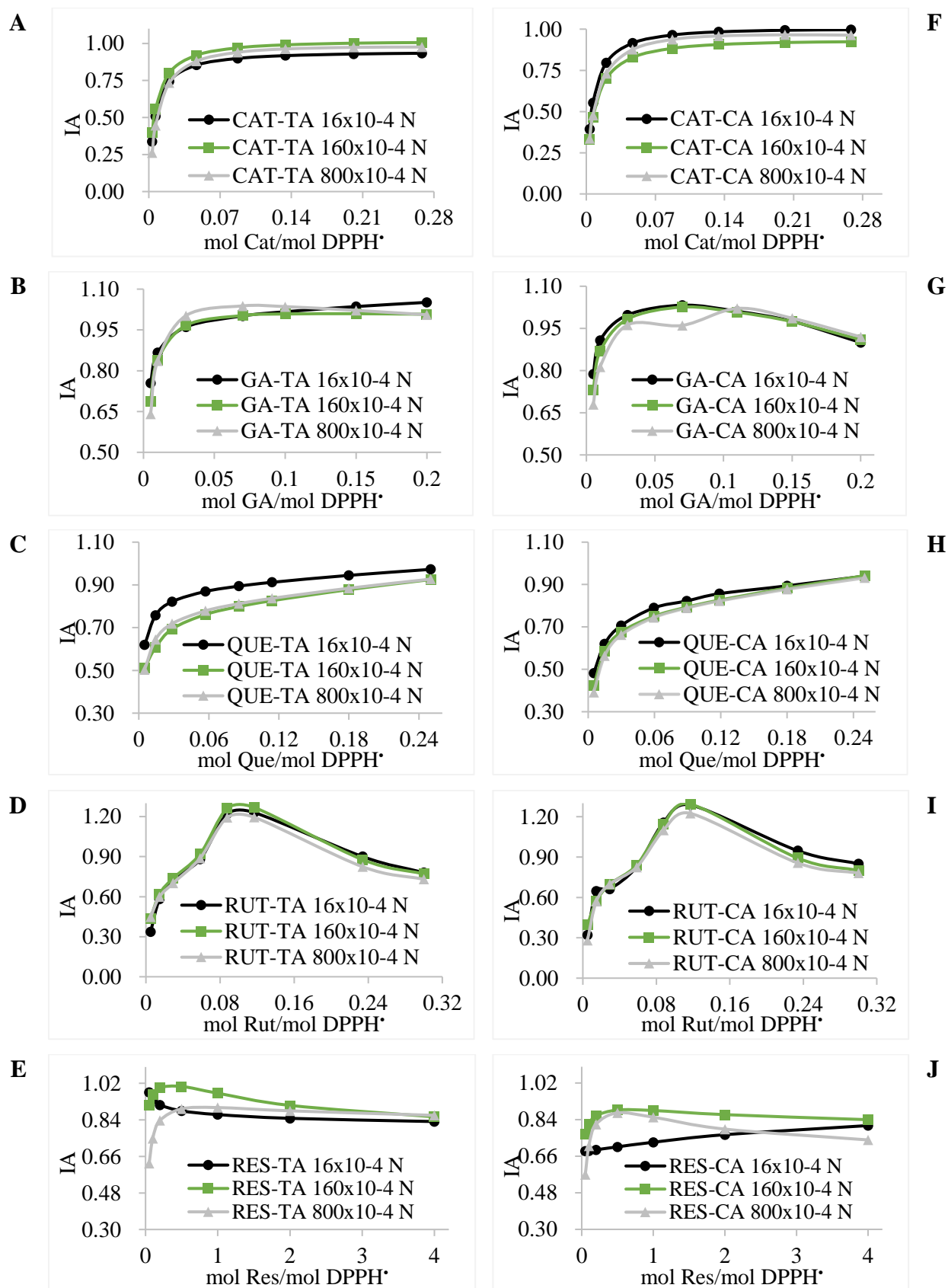
### 3. INTERACȚIUNI ANTIOXIDANTE DINTRE COMPUȘII NATURALI DIN STRUGURI

Conform literaturii de specialitate, interacțiunile antioxidante pot fi sinergice, aditive și antagoniste în dependență de concentrația și combinarea compușilor [11]. Explicațiile privind mecanismul de IA dintre compuși dați se referă la (1) procese de regenerare, (2) formarea complexelor intermoleculari, dimerilor sau aducțiilor antioxidanților și (3) efecte complementare care presupun efectul solventului, pH-ului, concentrației, solubilității etc. [11]. Totodată, prezența proceselor de polimerizare dintre compușii fenolici duc la scăderea numărului de grupări donatoare de electroni și la manifestarea efecte antagoniste [11]. Acizii organici precum acizii tartric și citric sunt compuși non – antioxidanți care se găsesc în cantități mari în struguri și pot influența activitatea antioxidantă a compușilor reducători [12]. Aceleași studii au dovedit prezența efectelor sinergice dintre diverși captatori de radicali liberi și acizii organici din struguri.

#### 3.1. Interacțiuni antioxidante dintre compușii fenolici și acizii organici din struguri

*Interacțiunile antioxidante dintre catehină și acizi organici.* Compusul fenolic Cat, în prezența acizilor organici, demonstrează o evoluție progresivă a valorilor IA – de la puternice efecte antagoniste la efecte aditive (Figura 3.1, cazurile A și F) [13]. Atât în combinație cu AT, cât și cu AC, la concentrații mici de Cat au fost observate efecte antagoniste (0.33 – 0.93); odată ce concentrația de Cat a fost mărită, au fost depistate interacțiuni antioxidante aditive [13]. Modificarea conținutului de AT sau AC nu a afectat în mod considerabil activitatea antioxidantă a Cat. Prezența ionilor de acizi în amestecul de reacție inhibă deprotonarea compușilor fenolici și, prin aceasta, mecanismul SPLET (sequential proton loss electron transfer) de acțiune, deci donatorul de electroni este molecula părinte.

*Interacțiunile antioxidante dintre acidul galic și acizi organici.* În amestecurile de AG și AT sau AC (Figura 3.1, cazurile B și G) au fost observate majoritar efecte aditive (0.96 – 1.04) și efecte antagoniste (0.64 – 0.92) [13]. În prezența AT, valorile IA (Figura 3.1) sunt mai reduse la concentrații mici ale AG, dar cresc până la interacțiuni aditive odată ce raporturile molare AG/DPPH' devin mai mari [13]. Singurul efect sinergic moderat de 1.05 a fost înregistrat pentru interacțiunea AG – AT la raportul molar AG/DPPH' de 0.20 și concentrația AT de  $16 \times 10^{-4}$  N [13]. În combinație cu AC, amestecul de compuși a prezentat o tendință ascendentă urmată de una descendentă în ceea ce privește tipul de interacțiune antioxidantă. Amestecurile AG – AC nu au manifestat efecte sinergice, ci doar interacțiuni aditive și antagoniste [13].



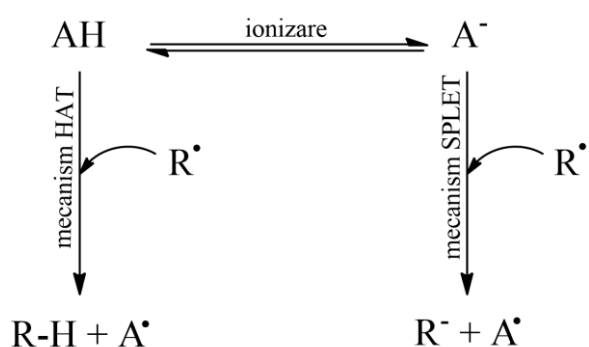
**Figura 3.1. Interacțiunile antioxidante (IA) dintre compușii fenolici (Cat, AG, Que, Rut, Res) în combinație cu diferite concentrații de AT (A, B, C, D, E) sau AC (F, G, H, I, J) [13]**

*Interacțiunile antioxidante dintre quercetină și acizi organici.* Interacțiunile antioxidante dintre diferite concentrații de Que și AT sau AC s-au dovedit a fi doar antagoniste (în intervalul 0.50 – 0.94 și respectiv 0.39 – 0.94), cu excepția unei interacțiuni aditive (0.97) observată în amestecul Que – AT (Figura 3.1, cazurile C și H) [13]. Figura 3.1C, demonstrează că concentrațiile mai mari de AT influențează negativ activitatea antioxidantă a compusului fenolic [13]. Faptul dat și persistența efectelor antagoniste independent de concentrația AT sau AC subliniază ideea că în medii acide activitatea antiradicalică a polifenolilor se diminuează. Similar catehinei, molecula de Que este mai stabilă la pH scăzut și, prin urmare, mai puțin susceptibilă la oxidare.

*Interacțiunile antioxidante dintre rutină și acizi organici.* Deși, din punct de vedere structural, Que și Rut au partea flavonoidă similară, Rut manifestă un comportament diferit în prezența acizilor organici. La cele mai scăzute concentrații de polifenol s-au observat efecte antagoniste puternice, în intervalul 0.29 – 0.92 (Figura 3.1, cazurile D și I) [13]. Totuși, la raporturile Rut/DPPH' de 0.09 și 0.12 au fost înregistrate interacțiuni sinergice semnificative de 1.19 și 1.27 (pentru amestecul Rut – AT) și de 1.10 și 1.29 (pentru amestecul Rut – AC) [13]. Efectul sinergic al acestor două raporturi molare scade odată cu creșterea conținutului de Rut. În același timp, rezultatele obținute indică ca interacțiunile antioxidante dintre Rut și AT sau AC sunt puțin dependente de concentrația de acizi organici [13]. Aceste rezultate indică faptul că, în cazul combinațiilor Rut – AT sau Rut – AC, efectul sinergic se bazează în principal pe concentrația polifenolului și pe prezența acizilor organici în amestecul de reacție, întrucât activitatea antioxidantă a Rut în lipsa AT sau AC este mai mică pentru raporturile molare Rut/DPPH' de 0.09 și 0.12 [13].

*Interacțiunile antioxidante dintre resveratrol și acizi organici.* Stilbenul Res a demonstrat în mare parte efecte antagoniste în prezența acizilor organici (Figura 3.1, cazurile E și J) [13]. Cele mai puternice interacțiuni antagoniste au fost observate pentru concentrația de AT sau AC de  $16 \times 10^{-4}$  N, iar pentru concentrația de  $160 \times 10^{-4}$  N a fost înregistrată cel mai slab efect antagonist [13]. Similar catehinei și quercetinei, în mediile acide ionizarea Res este suprimată, împreună cu mecanismul de acțiune SPLET, prin urmare, activitatea antioxidantă a compusului este mai mică.

Figura 3.2 este o reprezentare generalizată a efectului pe care îl au acizii organici asupra activității antioxidante a compușilor fenolici [13]. Compușii fenolici sunt antioxidanți eficienți prin mecanismul SPLET, care are loc odată ce molecula inițială ionizează.



**Figura 3.2. Ilustrarea dependenței mecanismului de acțiune a antioxidantului de prezența acizilor organici AT sau AC și ionizarea moleculei [11]**

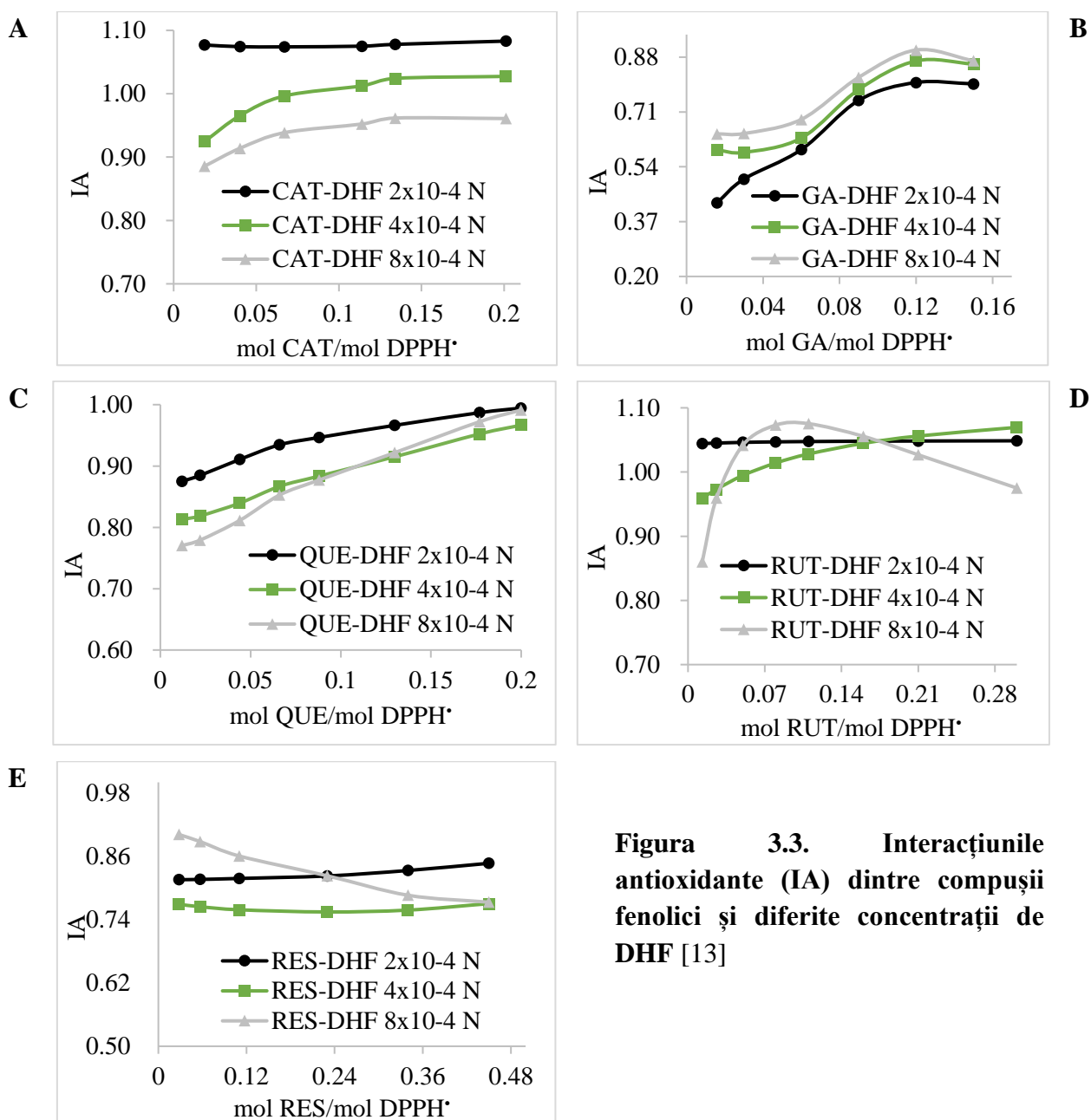
În prezența acizilor organici, ionizarea este împiedicată, iar mecanismul HAT (hydrogen atom transfer) devine operativ, prin urmare activitatea antioxidantă scade, întrucât compușii fenolici nu sunt atât de eficienți în anihilarea speciilor radicalice prin mecanismul HAT. Excepție de la această schemă face compusul Rut, care la anumite concentrații manifestă efect sinergic puternic datorită proceselor de polimerizare.

### 3.2. Interacțiuni antioxidante dintre compușii fenolici din struguri și acidul dihidroxifumaric

*Interacțiunile antioxidante dintre catechină și acidul dihidroxifumaric.* Conform Figurii 3.3A, interacțiunile antioxidante dintre Cat și DHF se dovedesc a fi dependente de concentrația acidului organic [13]. Valorile maxime ale interacțiunilor sinergice, de aproximativ 1.08, au fost observate în toate probele cu cea mai mică concentrație de DHF ( $2 \times 10^{-4}$  N) [13]. Creșterea conținutului de DHF determină modificări semnificative ale activității antioxidante totale și, respectiv, a valorilor IA; astfel, activitatea antioxidantă scade în probele cu  $4 \times 10^{-4}$  N și  $8 \times 10^{-4}$  N de DHF, observându-se, în mare parte, interacțiuni aditive [13].

*Interacțiunile antioxidante dintre acidul galic și acidul dihidroxifumaric.* Amestecurile AG – DHF posedă, în principal, efecte antagoniste în intervalul 0.43 - 0.82. Din Figura 3.3B se observă că sporirea concentrațiilor ambilor compuși ameliorează activitatea antioxidantă totală a amestecurilor, cu toate acestea, majoritatea interacțiunilor rămân în intervalul valorilor IA antagoniste [13]. Probele formate din AG/DPPH• în raport molar de 0.12 în combinație cu DHF au înregistrat cea mai mare valoare a IA (maximum de 0.90), urmate de o scădere moderată a valorilor IA [13].

*Interacțiunile antioxidante dintre quercetină și acidul dihidroxifumaric.* Amestecurile dintre Que și DHF au înregistrat, în principal, efecte aditive care nu au depășit valoarea de 0.99 [13]. Conform Figurii 3.3C, o concentrație mai mare de DHF influențează negativ activitatea antioxidantă totală a soluțiilor și intensifică efectele antagoniste, în special în amestecurile cu concentrații mai mici de Que [13].



**Figura 3.3. Interacțiunile antioxidante (IA) dintre compușii fenolici și diferite concentrații de DHF [13]**

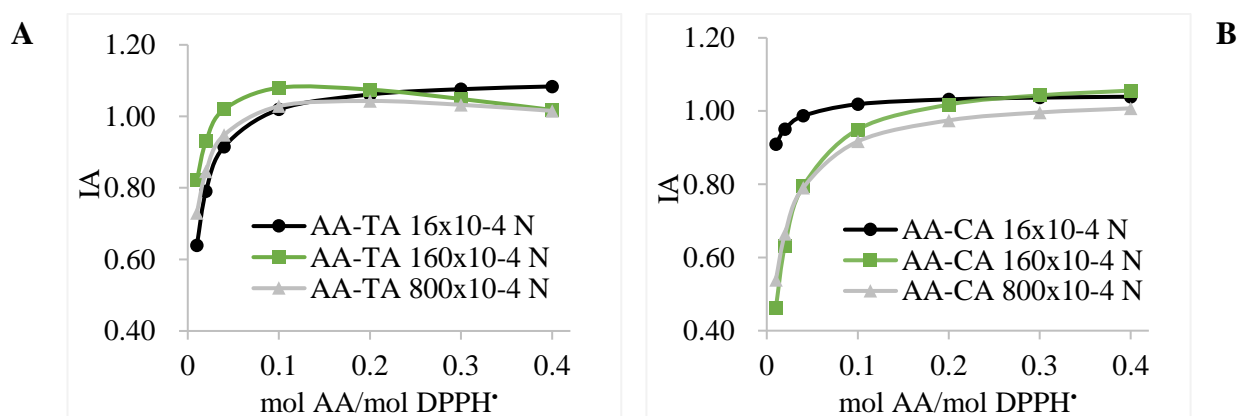
*Interacțiunile antioxidante dintre rutină și acidul dihidroxifumaric.* Multiple interacțiuni sinergice moderate, în intervalul 1.05 – 1.08, au fost observate în amestecurile de Rut – DHF (Figura 3.3D) [13]. Diferite concentrații de DHF produc efecte și tendințe diferite, în ceea ce privește valorile IA [13]. De exemplu, Rut în combinație cu  $2 \times 10^{-4}$  N DHF manifestă efecte sinergice de 1.05 indiferent de modificarea conținutului de Rut [13]. Pentru a doua concentrație de DHF de  $4 \times 10^{-4}$  N, valorile IA încep cu 0.96 și cresc până la 1.07 odată ce crește raportul molar Rut/DPPH\* [13]. La concentrația de  $8 \times 10^{-4}$  N DHF, cel mai mare efect sinergic de 1.07 a fost observat pentru raportul molar Rut/DPPH\* de 0.11, urmat de o scădere semnificativă a valorilor IA [13].



*Interacțiunile antioxidante dintre resveratrol și acidul dihidroxifumaric.* Amestecurile de Res și DHF au demonstrat, în mare parte, efecte antagoniste (0.75 – 0.83) și doar unele interacțiuni aditive (0.85 – 0.90) (Figura 3.3E) [13]. Datele privind amestecurile formate din Res și primele două concentrații de DHF –  $2 \times 10^{-4}$  N și  $4 \times 10^{-4}$  N, demonstrează că valorile IA scad semnificativ odată cu creșterea concentrației de DHF [13]. În amestecurile cu  $8 \times 10^{-4}$  N DHF, IA evoluează negativ – de la efecte aditive la unele antagoniste, odată cu mărirea conținutului de Res [13].

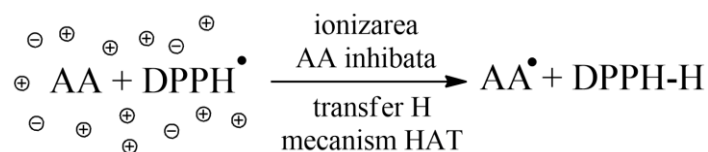
### 3.3. Interacțiuni antioxidante dintre acidul ascorbic și alți compuși din struguri

*Interacțiuni antioxidante dintre acidul ascorbic și acizii tartric și citric.* Figura 3.4 arată că AT are o influență mai bună decât AC asupra activității antioxidante a AA, remarcându-se șase combinații de AA – AT cu efect sinergic, și o singură combinație de AA – AC cu același efect [13]. În ambele cazuri, probele cu concentrații mai mici de AT sau AC –  $16 \times 10^{-4}$  N și  $160 \times 10^{-4}$  N, au demonstrat activitate antioxidantă mai bună, înregistrându-se efecte sinergice de maximum 1.08 pentru amestecul AA – AT și de maximum 1.06 pentru AA – AC [13].



**Figura 3.4. Interacțiunile antioxidante (IA) dintre acidul ascorbic (AA) și acizii A) tartric (AT) și B) citric (AC) [13]**

Îmbunătățirea activității antioxidante a AA în prezența acizilor organici se poate datora mecanismului de acțiune al acestui captator de radicali liberi. În acest mediu de reacție, ionizarea AA este blocată din cauza concentrației mari de ioni de AT sau AC prezenți în soluție (Figura 3.5). În consecință, mecanismul SPLET este inhibat, iar mecanismul HAT devine operativ pentru anihilarea DPPH<sup>•</sup>. Compusul AA acționează eficient prin mecanismul HAT donând doi atomi de H speciilor radicalice.



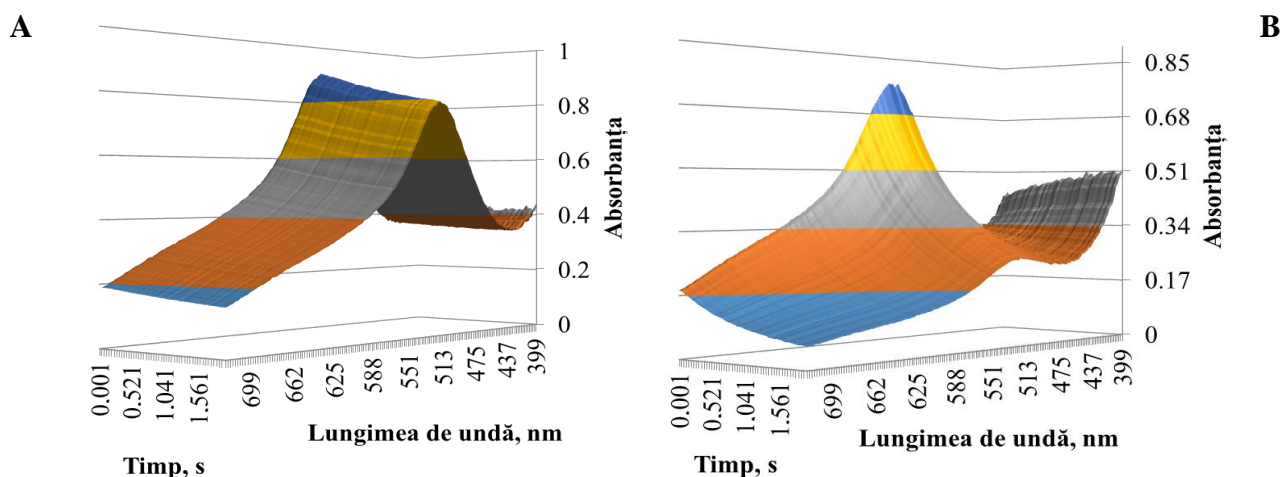
**Figura 3.5. Mecanismul HAT de anihilare a DPPH<sup>•</sup> de către AA în prezența acizilor organici AT sau AC**

*Interacțiuni antioxidante dintre acidul ascorbic și acidul dihidroxifumaric.* Rezultatele obținute la spectroscopia Stopped-Flow în 98% etanol (EtOH) și în matricea de vin au demonstrat că în matricea de vin activitatea antioxidantă a compușilor testați individual în reacția cu DPPH<sup>•</sup> este semnificativ mai mare. Conform Tabelului 3.1, unde sunt reprezentate constantele de viteză observate ( $k_{obs}$ ) pentru compușii AA și DHF, utilizați în diferite concentrații, se observă că valorile  $k_{obs}$  pentru DHF sunt de 10 ori mai mari în matricea de vin, comparativ cu cele în 98% etanol, iar  $k_{obs}$  pentru AA sunt de două ori mai mari în matricea de vin [14].

**Tabelul 3.1. Constantele de viteză observate pentru DHF și AA în reacție cu DPPH<sup>•</sup> determinate în 98% etanol și matricea de vin [14]**

Proba	Concentrația, mM	$k_{obs}, s^{-1}$	
		98% Etanol	Matricea de vin
DHF	0.06	$0.368 \pm 0.049$	$3.656 \pm 0.496$
	0.12	$0.350 \pm 0.030$	$3.863 \pm 0.155$
	0.18	$0.383 \pm 0.054$	$3.371 \pm 0.091$
	0.40	$0.167 \pm 0.024$	$2.277 \pm 0.049$
	0.60	$0.107 \pm 0.076$	$2.122 \pm 0.032$
	0.80	$0.040 \pm 0.016$	$2.181 \pm 0.057$
AA	0.06	$0.328 \pm 0.036$	$0.654 \pm 0.021$
	0.12	$0.327 \pm 0.017$	$0.653 \pm 0.006$
	0.18	$0.385 \pm 0.020$	$0.681 \pm 0.015$

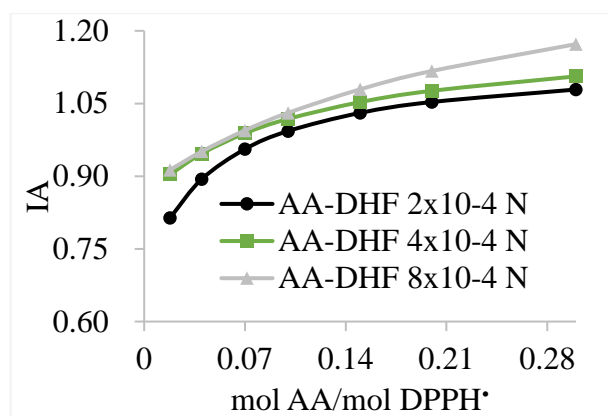
Rezultatele privind capacitatea antioxidantă a combinațiilor de AA – DHF relevă aceeași tendință ca în cazul utilizării unui singur antioxidant în reacție cu DPPH<sup>•</sup>. În 98% etanol toate amestecurile prezintă activitate antioxidantă scăzută comparativ cu valorile obținute în matricea de vin (Figura 3.6) [14].



**Figura 3.6. Scăderea absorbantei după interacțiunea DPPH<sup>•</sup> cu amestecul de DHF (0.18 mM) – AA (0.18 mM) în (A) 98% EtOH și (D) matricea de vin [14]**

Figura 3.6 demonstrează efectul solventului asupra cineticii reacției și capacității de reducere a radicalului liber de acizii studiați [14]. În ambele exemple prezentate în Figura 3.6 a fost folosită

aceeași concentrație pentru ambii antioxidanți – 0.18 mM, totuși în matricea de vin DPPH<sup>\*</sup> este anihilat aproape în întregime după 2 secunde [14]. Pentru amestecurile cu cele mai mari concentrații de antioxidanți, cea mai mare eficiență în etanol este de 20%, în timp ce în matricea de vin aceeași combinație de antioxidanți captează 85% din DPPH<sup>\*</sup> [14]. Datorită spectroscopiei Stopped-Flow au fost obținute rezultate privind cinetica interacțiunii în primele 2 secunde ale reacției. Acest timp s-a dovedit insuficient pentru ca reacția să atingă starea de echilibru, prin urmare au fost efectuate investigații la spectroscopia UV-Viz. Valorile IA dintre AA – DHF determinate prin metoda UV-Viz evoluează de la efecte antagoniste la cele sinergice drept consecință a creșterii concentrațiilor ambilor antioxidanți (Figura 3.7).

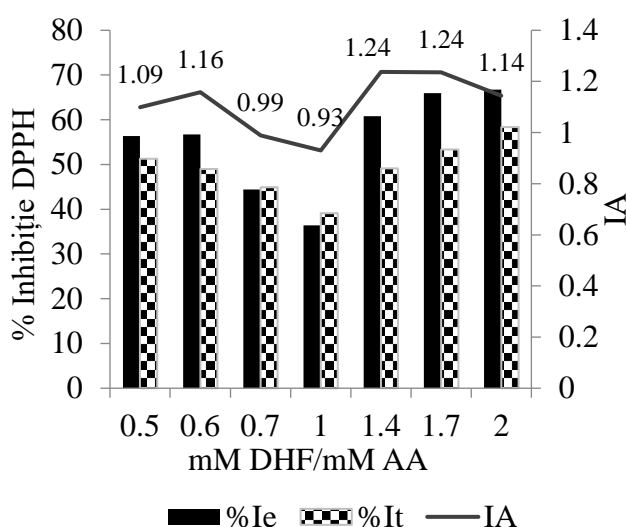


**Figura 3.7. Interacțiunile antioxidante dintre acizii ascorbic și dihidroxifumaric**

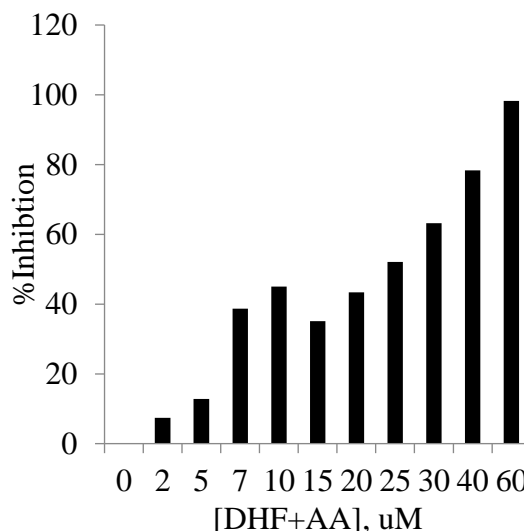
de concentrații mM DHF/mM AA: 0.5, 0.6, 0.7, 1, 1.4, 1.7 și 2, au fost utilizate în reacția cu DPPH<sup>\*</sup>, după cum este ilustrat în Figura 3.8 [15, 16]. Dintre cele 7 raporturi investigate, raportul mM DHF/mM AA = 1 a oferit cel mai slab rezultat de 0.93, fiind caracteristic interacțiunilor aditive [15]. Raporturile mM DHF/mM AA de 1.4 și 1.7 au demonstrat cel mai puternic efect sinergic de 1.24 și, respectiv, cea mai mare activitate antioxidantă [15]. Faptul dat este observat și prin analiza procentelor de inhibiție a DPPH<sup>\*</sup> teoretică și în amestec (Figura 3.8) [15, 16]. Găsind raportul mM DHF/mM AA = 1.7 ca fiind cel care posedă cel mai puternic efect sinergic și inhibă eficient DPPH<sup>\*</sup>, în continuare a fost investigată dependența efectului sinergic de concentrația totală a antioxidanților, respectând în toate probele raportul mM DHF/mM AA = 1.7 (Figura 3.9) [15, 16]. Faptul dat, a permis determinarea indicelui FIC, care este o altă metodă de calcul a tipului de interacțiune antioxidantă dintre compuși. Astfel, indicele FIC pentru raportul mM DHF/mM AA = 1.7 a fost stabilit ca fiind 0.9, valoare care descrie o interacțiune sinergică dintre cei doi antioxidanți [15, 16].

Prin urmare, cea mai mare valoare ce caracterizează o interacțiune sinergică – 1.17, a fost obținută pentru raportul molar AA/DPPH<sup>\*</sup> de 0.30 în combinație cu  $8 \times 10^{-4}$  N de DHF (Figura 3.7), care reprezintă cele mai mari concentrații de AA și DHF utilizate în acest experiment [13].

Pentru determinarea tipului de interacțiune antioxidantă dintre AA și DHF prin spectroscopia RES, mai multe raporturi

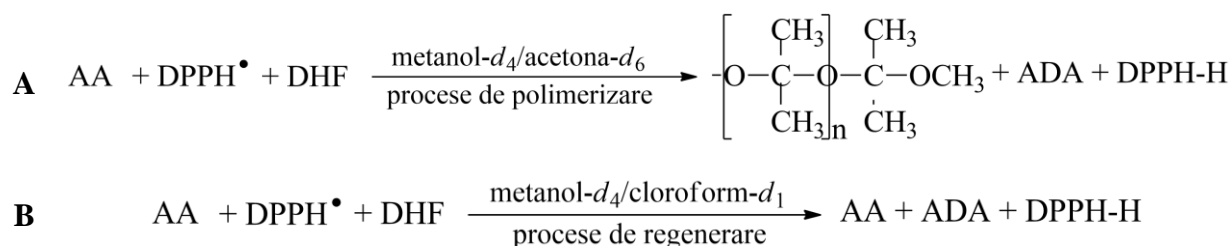


**Figura 3.8.** %Inhibiția DPPH' determinată experimental (%Ie) și calculată teoretic (%It) (axa stângă); tipul de interacțiune antioxidantă pentru fiecare raport mM DHF/mM AA (axa dreaptă) [15, 16]



**Figura 3.9.** Ilustrarea dependenței procentului de inhibiție a DPPH' de concentrația totală de antioxidanți (DHF+AA,  $\mu\text{M}$ ) combinați în raport mM DHF/mM AA = 1.7; [15, 16]

Utilizând spectroscopia RMN a fost studiat mecanismul de interacțiune sinergică dintre AA și DHF în amestecurile de solvenți metanol- $d_4$ /acetonă- $d_6$  și în metanol- $d_4$ /cloroform- $d_1$  (Figura 3.10). Regenerarea reciprocă a antioxidanților AA și DHF s-a dovedit a fi dependentă de natura solvenților utilizați, în cazul de față, ipoteza dată fiind valabilă numai în mediul de metanol- $d_4$ /cloroform- $d_1$ , unde s-a stabilit regenerarea parțială a ADA de către DHF [17, 18] (Figura 3.10B).



**Figura 3.10.** Scheme generale ale mecanismelor de acțiune antioxidantă a amestecurilor AA – DHF în metanol- $d_4$ /acetonă- $d_6$  (A) și metanol- $d_4$ /cloroform- $d_1$  (B)

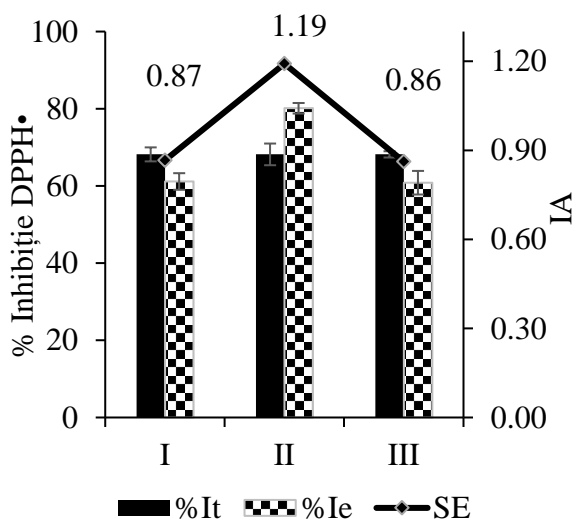
Mecanismul dat are o legătură directă cu procesele de polimerizare sau de decarboxilare care, datorită spectroscopiei RMN, au fost identificate în amestecul de reacție și a fost stabilit că depind de solvenții utilizați (Figura 3.10). Prin urmare, poate fi presupus că în 96% EtOH pot avea loc procese similare de regenerare dintre antioxidanți.

Deși nu poate fi afirmat cu certitudine care este mecanismul de interacțiune antioxidantă operativ în combinația AA – DHF, a fost stabilit că 1) procese de regenerare parțială dintre AA și DHF au loc în anumite condiții de reacție și că 2) DHF este compusul care regenerează AA. De

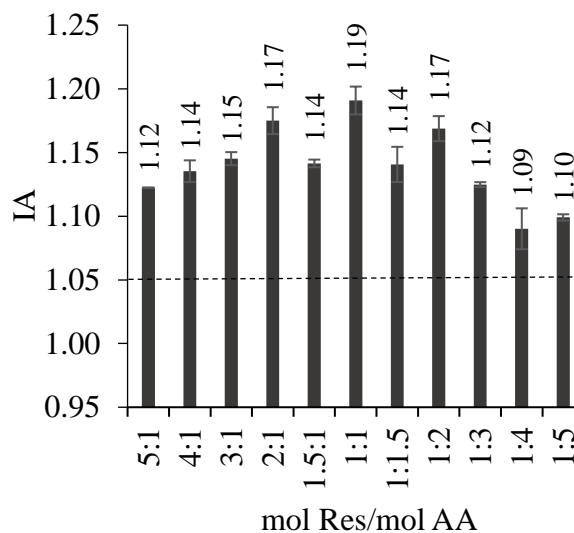
asemenea, soluțiile formate din 96% EtOH, AA și DHF posedă aciditate relativ mare – 3.64 până la 4.04, caracterizată prin predominarea formei *ceto-*, fapt care poate determina decarboxilarea parțială a DHF.

*Interacțiuni antioxidante dintre acidul ascorbic și resveratrol.* În actuala investigație la spectroscopia UV-Viz, au fost urmate trei abordări de efectuare a experimentului, cu scopul de a înțelege efectul asupra activității antioxidante a consecutivității adăugării compușilor în reacție: I) amestecarea antioxidanților în raport molar 1:1 Res/AA, urmată de adăugarea DPPH<sup>•</sup> (timp de reacție – 1 oră); II) amestecarea Res și DPPH<sup>•</sup> (timp de reacție - 1 oră), apoi adăugarea AA (timp de reacție – 15 min); III) amestecarea AA și DPPH<sup>•</sup> (timp de reacție – 15 min), apoi adăugarea Res (timp de reacție – 1 oră) [19–21]. Din Figura 3.11, se poate observa că doar abordarea II, care presupune interacțiunea Res cu DPPH<sup>•</sup>, urmată de adăugarea AA, oferă un efect sinergic pronunțat de 1.19 [19–21]. Rezultatele reprezentate în Figura 3.11 demonstrează că, în aceste condiții de reacție, (1) sunt posibile atât IA sinergice, cât și antagoniste între aceleași concentrații de Res și AA, de asemenea (2) consecutivitatea adăugării compușilor în reacție este un factor determinant pentru manifestarea unui anumit tip de IA dintre antioxidanți [19–21].

Pentru a investiga impactul concentrației compușilor asupra activității antioxidante, au fost testate diferite raporturi molare Res/AA în reacția cu DPPH<sup>•</sup>, respectând cea de-a doua abordare de efectuare a experimentului (Figura 3.12).



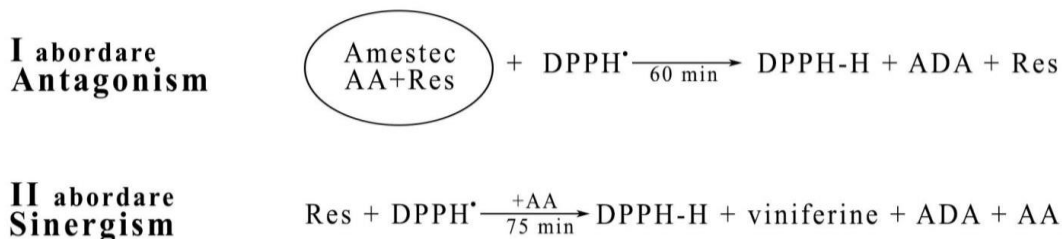
**Figura 3.11. Reprezentarea grafică a Inhibiției teoretice (%It) și experimentale (%Ie) (axa stângă) și a IA pentru abordările I, II și III (axa dreaptă) [19–21]**



**Figura 3/12. Reprezentarea grafică a interacțiunilor antioxidante ale diferitor raporturi molare Res/AA. Valorile mai mari de 1.05 (mai sus de linia întreruptă), inclusiv, sunt caracteristice IA sinergice [19–21]**

Figura 3.12 demonstrează că toate probele cu diferite raporturi molare Res/AA, de la 5:1 la 1:5, posedă efect sinergic [19–21]. Cel mai puternic efect sinergic – 1.19, a fost înregistrat pentru raportul molar 1:1 Res/AA, urmat de raporturile Res/AA 2:1 și 1:2 cu efecte sinergice de 1.17 fiecare [19–21]. Raporturile molare 1.5:1 și 1:1.5 Res/AA au înregistrat o valoare a IA de 1.14. Pe măsură ce diferența de concentrație între cei doi antioxidanți devine mai mare, efectul sinergic scade (Figura 3.12) [19–21]. Cea mai mică valoare a IA de 1.09 a fost observată pentru raportul molar 1:4 Res/AA [19–21].

Conform datelor obținute la spectroscopia RMN, efectul sinergic dintre AA și Res se datorează formării *trans*- $\delta$ -viniferinelor, proces care este determinat de ordinea adăugării compușilor în reacție (Figura 3.13). Abordarea a II-a, unde inițial interacționează Res și DPPH<sup>\*</sup>, iar apoi este adăugat AA, rezultă cu manifestarea efectului sinergic. Prin urmare, combinația Res – AA urmează mecanismul „formării a complecșilor intermoleculari, dimerilor sau aducțiilor” pentru a genera efect sinergic [19–21].



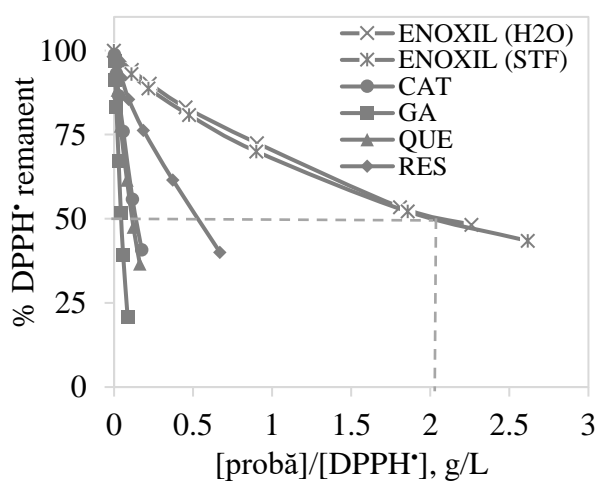
**Figura 3.13. Reprezentarea diferitor produși de reacție și a diferitor tipuri de efecte antioxidante generați(te) în urma abordărilor I și II [19–21]**

#### **3.4. Activitatea antioxidantă a preparatului ENOXIL și interacțiunile antioxidante în amestec cu acidul ascorbic**

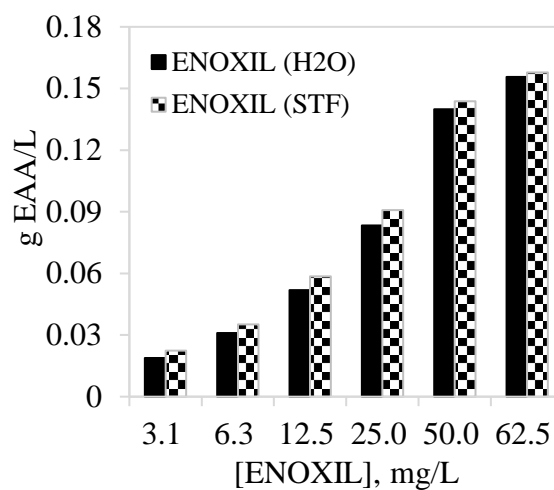
Preparatul ENOXIL este un produs medicinal autohton obținut din enotaninurile din struguri prin procese de oxidare lentă [22]. Preparatul ENOXIL posedă activități antiseptice și antioxidante, de asemenea, este un produs medicinal non-toxic și eficient contra infecțiilor de piele [22]. Conform Figurii 3.18, preparatul ENOXIL posedă activitate antioxidantă în reacția cu DPPH<sup>\*</sup> comparabilă cu cea a compușilor polifenolici naturali [23, 24]. Valoarea CE<sub>50</sub> atât pentru proba dizolvată în apă, cât și pentru cea din soluția tampon fosfat (STF) este de 2.1, ENOXUL-ul având proprietăți antioxidante mai puțin pronunțate decât restul compușilor testați (Figura 3.14) [23, 24]. Faptul dat demonstrează că 2.1 g/L ENOXIL anihilează în proporție de 50% 1 g/L DPPH<sup>\*</sup>, iar pentru a anihila 100% radicalul de aceeași concentrație, este nevoie de 4.2 g/L ENOXIL [23, 24].

Comparând aceste date cu activitatea antioxidantă a compușilor naturali din struguri – Cat, Que, GA, Res, se observă că preparatul ENOXIL posedă activitate antioxidantă mai mică, întrucât

este nevoie de mai mult compus pentru a neutraliza aceeași concentrație de radicali liber [23, 24]. Exprimând rezultatele în g EAA/L, devine posibilă compararea activităților antioxidante a probelor de ENOXIL în apă și în STF după cum este indicat în Figura 3.15 [23, 24].



**Figura 3.14. Activitatea antioxidantă a preparatului ENOXIL dizolvat în apă și în STF în comparație cu activitatea antioxidantă a Cat, Que, AG și Res în reacția cu DPPH\* [23, 24]**



**Figura 3.15. Activitatea antioxidantă a preparatului ENOXIL în apă și în STF exprimată în g EAA/L în reacția cu 0.03 g/L DPPH\* [23, 24]**

Figura 3.15 ilustrează dependența activității antioxidante a ENOXIL-ului de concentrația acestuia, demonstrând că 25.00 mg/L ENOXIL acționează ca 0.08 g EAA/L, 62.50 mg/L ENOXIL acționează ca 0.16 g EAA/L etc. [23, 24]. Diferența dintre datele obținute în apă și în STF este ne semnificativă, cu un mic avantaj al rezultatelor în STF, ceea ce s-ar putea datora specificului metodei DPPH\* utilizate [23, 24].

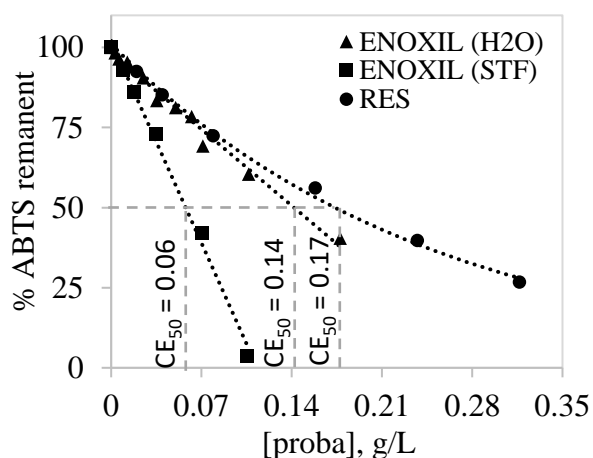
În reacția cu ABTS<sup>•+</sup>, preparatul ENOXIL prezintă activitate antioxidantă sporită (Figura 3.16). Cele două probe de ENOXIL demonstrează activitate antioxidantă mai mare decât compusul natural din struguri – Res [23, 24]. Comparând cele două probe de ENOXIL (în apă și în STF), se observa că proba dizolvată în STF posedă activitate antioxidantă semnificativ mai mare, având indicii  $CE_{50} = 0.06$ , comparativ cu  $CE_{50} = 0.14$  pentru proba în apă [23, 24]. Faptul dat arată că în STF este nevoie de mai puțin ENOXIL pentru anihilarea aceleiași cantități de radical liber, respectiv, în acest mediu captarea radicalilor liberi de preparatul ENOXIL este mai eficientă [23, 24].

În Figura 3.17 este reprezentată diferența în g ETrolox/L dintre activitatea antioxidantă a ENOXIL-ului în apă și în STF în reacția cu ABTS<sup>•+</sup>. Se observa clar că în STF activitatea antioxidantă a preparatului este de două ori mai mare decât în apă, spre exemplu, pentru concentrația de 105.60 mg/L ENOXIL activitatea antioxidantă este de 0.28 g ETrolox/L pentru

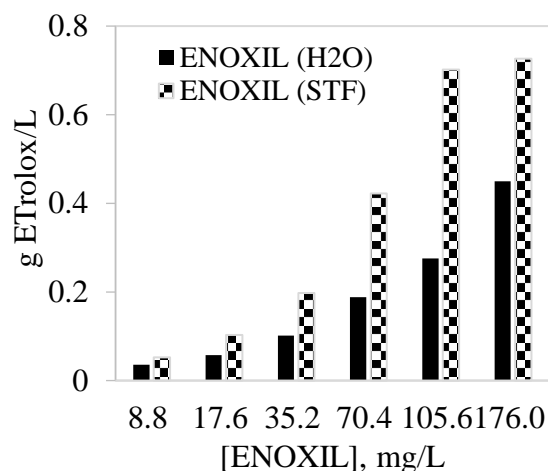
proba în apă, iar pentru proba în STF este de 0.70 g ETrolox/L [23, 24].

Testul Folin-Ciocalteu (Figura 3.18) a confirmat activitatea antioxidantă a preparatului ENOXIL și a întărit ideea că în STF preparatul dat este mai activ decât în apă, spre exemplu, pentru concentrația 140.80 mg/L de probă a fost înregistrată o activitate antioxidantă de 5.30 mg EAG/L în apă și de 7.50 mg EAG/L în STF. De asemenea, odată cu creșterea concentrației de ENOXIL se mărește și diferența dintre activitatea antioxidantă a probelor dizolvate în apă și în STF [23, 24].

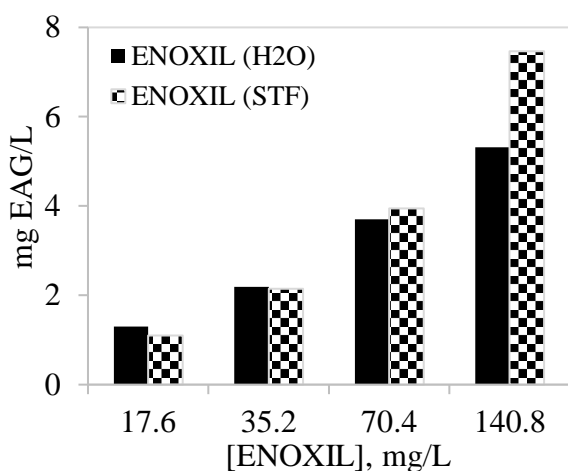
Figura 3.19 confirma capacitatea sporită a ENOXIL-ului de a reduce Fe(III) determinată prin metoda PRFe [23, 24].



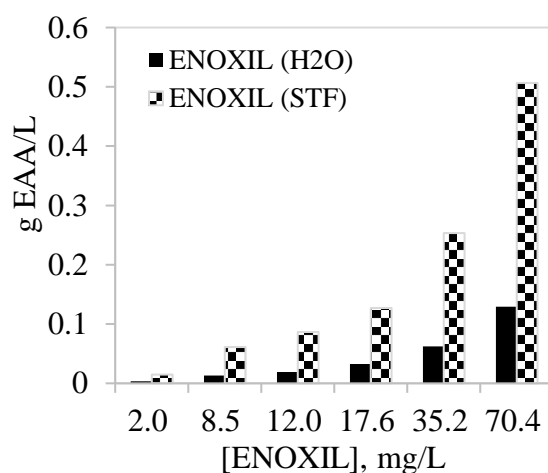
**Figura 3.16. Reprezentarea CE<sub>50</sub> pentru probele de ENOXIL în apă, în STF și pentru Res în reacția cu ABTS<sup>++</sup> [23, 24]**



**Figura 3.17. Activitatea antioxidantă a ENOXIL-ului în apă și în STF exprimată în g ETrolox/L [23, 24]**



**Figura 3.18. Rezultatele testului Folin-Ciocalteu de determinare a activității antioxidante a preparatului ENOXIL în apă și în STF exprimate în mg EAG/L [23, 24]**



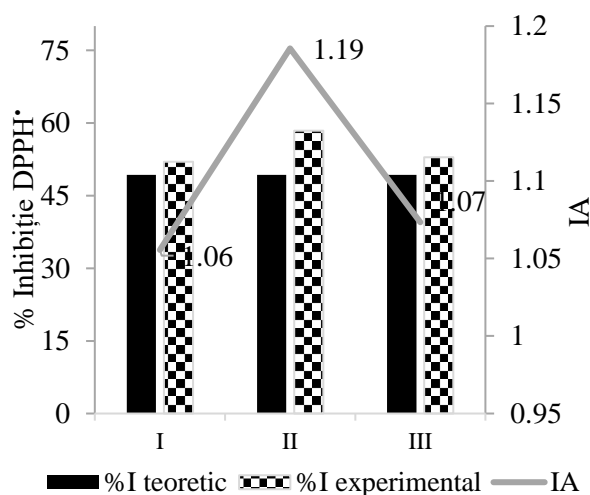
**Figura 3.19. Activitatea prooxidantă a ENOXIL-ului în apă și în STF exprimată în g EAA/L [23, 24]**

În special, activitate semnificativă manifestă proba dizolvată în STF, care prezintă



capacitate prooxidantă de trei ori mai mare decât proba în apă: pentru concentrația maximă analizată de 70,40 mg/L ENOXIL– 0.13 g EAA/L în apă, și 0.51 g EAA/L în STF [23, 24]. Activitatea antioxidantă sporită a preparatului ENOXIL în STF se poate datora faptului că compușii polifenolici sunt mai susceptibili la oxidare la pH bazic.

*Interacțiuni antioxidante dintre ENOXIL și acidul ascorbic.* Interacțiunile antioxidante dintre ENOXIL și AA au fost determinate respectând trei moduri de realizare a experimentului: abordarea I (amestecarea AA și ENOXIL, apoi adăugarea DPPH<sup>\*</sup>), abordarea II (interacțiunea preparatului ENOXIL cu DPPH<sup>\*</sup>, urmată de adăugarea AA) și abordarea III (interacțiunea AA cu DPPH<sup>\*</sup>, urmată de adăugarea preparatului ENOXIL). Datele din Figura 3.20 arată că toate cele trei abordări manifestă efect sinergic, totuși abordarea II posedă cea mai puternică interacțiune sinergică cu o valoare de 1.19; abordările I și III posedă efect sinergic asemănător de 1.06 și 1.07.



**Figura 3.20. Activitatea antioxidantă a combinațiilor ENOXIL – AA (0.0002N) în apă: abordarea I (ENOXIL-AA-DPPH<sup>\*</sup>), abordarea II (ENOXIL-DPPH<sup>\*</sup>-AA) și abordarea III (AA-DPPH<sup>\*</sup>-ENOXIL) [23, 24]**

#### 4. FORMAREA CONCEPTELOR ECOVALEOLOGICE LA DISCIPLINA CHIMIE ECOLOGICĂ

##### 4.1. Relația dintre studiul interacțiunilor antioxidante și conceptul de valeologie

Subcapitolul dat argumentează conexiunea dintre ecovaleologie și studiul interacțiunilor antioxidante. Valeologia ca direcție științifică se interconectează cu studiul interacțiunilor antioxidante prin intermediul ecovaleologiei, care investighează schimbările stării de sănătate a omului în dependență de schimbările care au loc în mediul ambiant și în natură. După cum indică datele din literatura de specialitate, concentrațiile și combinațiile antioxidantilor pot influența semnificativ echilibrul antioxidant – prooxidant, și, prin acesta, reacțiile biochimice din mitocondrii, celule și întregul organism. Puterea de generare a energiei de către mitocondrii este propusă în valeologie ca indicator al stării de sănătate a individului. În dependență de concentrația antioxidantilor, în mitocondrii pot fi generate reacții ce se soldează cu stres oxidativ, reductiv sau efecte prooxidante. Concentrațiile antioxidantilor în suplimentele alimentare și în produsele naturale sunt diferite, prin urmare afectează în mod distinct interacțiunile antioxidante dintre

compuși constituenți. Prin urmare, relația dintre mitocondrii – antioxidanți – ecovaleologie – sănătate se conturează și mai bine, luând în calcul impactul pozitiv sau negativ pe care îl pot avea antioxidanții în mitocondrii – prin afectarea/reglarea echilibrului redox din mediul intracelular.

#### **4.2. Formarea conceptelor ecovaleologice ale tinerilor – abordare sustenabilă în soluționarea problemelor ecologice**

Integrarea conceptului de ecovaleologie în conținutul prelegerii „Chimia alimentară și asigurarea calității produselor. Antioxidanții” din cadrul cursului de Chimie ecologică de la Universitatea de Stat din Moldova a oferit o viziune nouă asupra antioxidanților și studiului interacțiunilor antioxidante. Prezentarea și argumentarea rezultatelor științifice obținute în Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova au favorizat familiarizarea studenților cu subiectul interacțiunilor antioxidante, caracterul prooxidant al compușilor, importanța concentrației antioxidanților, mecanismul de reacție. Menționarea avantajelor și riscurilor pentru sănătate a consumului de antioxidanți, a concentrației și combinației acestora a facilitat integrarea principiilor ecovaleologice în conținutul prelegerii.

Conform rezultatelor chestionarului elaborat [25], studenții demonstrează o atitudine pozitivă față de consumul de antioxidanți. Materialele didactice prezentate au consolidat cunoștințele privind sursele bogate în antioxidanți, reacțiile redox, importanța consumului antioxidanților, cauzele formării speciilor radicalice. În urma prelegerii cu caracter ecovaleologic, 90% dintre studenți au pledat pentru consumul de antioxidanți din sursele naturale și doar 6.7% persoane au ales varianta ”aditivi alimentari”; 56.7% dintre studenți nu consideră suplimentele alimentare mai eficiente decât antioxidanții din surse naturale; 95% dintre tineri sunt de părerea că consumul unei concentrații mari de un singur antioxidant „este periculos pentru sănătate”, această alegere datorându-se abordării problemei caracterului prooxidant al antioxidanților [25].

#### **4.3. Integrarea conceptului de ecovaleologie în curriculumul disciplinei Chimie ecologică**

În scopul facilitării familiarizării studenților cu conceptul de ecovaleologie, în cadrul prelegerii au fost prezentate scheme de reacții chimice, diagrame, imagini reprezentative și utile subiectului discutat. Subiectul ecovaleologiei a fost tratat într-un mod subtil, la fiecare subiect/obiectiv al prelegerii, accentuându-se importanța nutrienților pentru menținerea sănătății, influența negativă asupra sănătății a poluanților și a radicalilor liberi generați de poluanți, efectul benefic sau nociv al antioxidanților dependent de concentrația acestora etc. Atenție deosebită a fost oferită interacțiunilor dintre antioxidanți, subiect care a fost exemplificat prin expunerea rezultatelor actuale raportate în literatura de specialitate și a datelor experimentale obținute în Laboratorului de Chimie Fizică și Cuantică din cadrul Institutului de Chimie al Universității de Stat din Moldova.

## CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

1. Conținutul de compuși fenolici și acizi organici în soiurile de strugurii autohtoni – Copceac, Feteasca Neagră, Viorica, Riton, variază considerabil în funcție de stadiu de maturare: bacele verzi, la pârgă și coapte. Rezultatele obținute demonstrează o dinamică firească a indicatorilor fizico-chimici de bază, a conținutului de acizi organici majoritari (max. 15 – 22 g/L în strugurii verzi, min. 1 – 8 g/L în strugurii copti), de compuși fenolici (de la 3.94 g EAG/L în strugurii verzi, până la 2.05 g EAG/L în strugurii copti), proantocianidine (struguri verzi – 1 g ECat/L, struguri copti – 0.39 g ECat/L) și antociani (struguri la pârgă – 411.23 mg EMalv/L, struguri copti – 784.78 mg EMalv/L). Aceste variații sunt dependente de perioada de maturare și de soiul strugurilor, influențând semnificativ calitatea și proprietățile antioxidante ale acestora.

2. Au fost aplicate testele DPPH<sup>\*</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, PRFe pentru determinarea activității antioxidante și a fost stabilit că activitatea antioxidantă a probelor de struguri din soiurile cercetate este în concordanță cu modificarea conținutului de compuși fenolici. Valorile cele mai mari de 2.19 g EAA/L (metoda DPPH<sup>\*</sup>), 8.11 g ETrolox/L (metoda ABTS<sup>•+</sup>), 4.07 g EAA/L (metoda PRFe) au fost înregistrate în probele de struguri verzi datorită conținutului mare de compuși fenolici și proantocianidine în pulpa bachelor.

3. Au fost stabilite raporturile de concentrații optime pentru determinarea interacțiunilor antioxidante în amestecurile de compuși, similare celor din struguri, în termeni de combinație și concentrație. Astfel, în amestecurile cu acizii organici tartric sau citric, raporturile de concentrație studiate variază pentru fiecare compus – acidul ascorbic: 1 – 700, acidul galic: 1 – 2500, catehina: 1 – 1000, quercetina: 1 – 800, rutina: 1 – 900 și resveratrol: 1 – 5000; iar în amestecurile cu acidul dihidroxifumaric, în intervalul 0.05 – 10.

4. La concentrații mici de compus fenolic, în majoritatea probelor experimentale studiate au fost înregistrate efecte antagoniste puternice (min. 0.28); mărirea concentrației compusului fenolic se soldează cu efecte aditive ( $\approx 1$ ) sau sinergice ( $> 1$ ). Sporirea concentrației acizilor tartric sau citric nu afectează semnificativ tipul interacțiunilor antioxidante, cu excepția amestecurilor formate din resveratrol – acid tartric sau citric. Contrar faptului dat, mărirea concentrației acidului dihidroxifumaric afectează tipul interacțiunilor antioxidante, favorizând manifestarea efectelor sinergice în cazul combinațiilor cu acidul ascorbic (max. 1.17) și rutina (max. 1.07); sporirea concentrației de acid dihidroxifumaric în probele cu catehina, diminuează efectelor sinergice și determină apariția celor aditive și antagoniste (min. 0.89); în probele cu acid galic, quercetină sau resveratrol, concentrația acidului dihidroxifumaric nu a produs variații semnificative ale tipului de interacțiune antioxidantă.

5. Interacțiunile antioxidante dintre compușii fenolici și acizii organici tartric și citric sunt preponderent antagoniste (0.28 – 0.94), în special în probele cu quercetină și resveratrol. A fost stabilit că efectul antagonist este cauzat de prezența concentrațiilor mari de ioni de acizi organici în mediul de reacție ce duce la inhibarea mecanismului SPLET de acțiune a compușilor fenolici. În amestecurile cu acid galic sau catehină au fost observate multiple efecte aditive (0.95 – 1.04), iar probele formate din rutina și acidul tartric sau citric au demonstrat puternice efecte sinergice de max. 1.27 și, respectiv, 1.29. Manifestarea efectului sinergic în probele date poate fi provocată de procesele de oligomerizare a compușilor fenolici, fenomen care se poate solda cu formarea structurilor cu capacitate antioxidantă sporită.

6. Datele obținute în amestecurile formate dintr-un compus fenolic și acidul dihidroxifumaric relevă prezența efectelor antioxidante sinergice, aditive și antagoniste. Amestecurile de acid dihidroxifumaric și catehina sau rutina manifestă cel mai sporit efect sinergic de 1.08 și, respectiv, 1.07, datorită potențialelor reacții de oligomerizare a polifenolilor. Combinația quercetină – acid dihidroxifumaric demonstrează, preponderent, interacțiuni antioxidante aditive în intervalul 0.95 – 0.99, iar amestecurile de acid galic – acid dihidroxifumaric și resveratrol – acid dihidroxifumaric manifestă antagonism puternic, înregistrându-se valori minime de 0.43 și, respectiv, de 0.75.

7. În amestecurile dintre acidul ascorbic și acidul tartric, au fost stabilite efecte sinergice moderate, valorile maxime fiind de 1.08; în cazul amestecurilor acid ascorbic – acid citric, a fost observată predominarea efectelor aditive (0.95 – 1.04). Prezența interacțiunilor sinergice și aditive se datorează concentrației mari de ioni de acid tartric sau citric în reacție, care susține mecanismul HAT de acțiune a acidului ascorbic.

8. A fost determinată prezența efectelor sinergice puternice între acidul ascorbic și dihidroxifumaric prin adaptarea și aplicarea a patru metode spectrale de analiză – UV-Viz, Stopped-Flow, RES și RMN. Datele obținute la spectroscopia UV-Viz demonstrează efecte sinergice în intervalul 1.05 – 1.17, înregistrate la concentrațiile maxime ale compușilor testați; rezultatele investigațiilor la spectroscopia Stopped-Flow indică asupra măririi vitezei de reacție (de 10 ori în cazul acidului dihidroxifumaric și de 2 ori în cazul acidului ascorbic) și a activității antioxidante a acizilor analizați în matricea de vin comparativ cu rezultatele obținute în 98% etanol; spectroscopia RES a demonstrat existența efectelor antioxidante sinergice puternice (1.24) și moderate (0.9 – metoda FIC) între acizii ascorbic și dihidroxifumaric, fiind aplicate două metode de calcul diferite; recurgând la spectroscopia RMN, a fost stabilit că interacțiunea antioxidantă sinergică este favorizată de unele procese de regenerare parțială dintre acizii ascorbic și dihidroxifumaric, ultimul având capacitatea de regenerare a acidului ascorbic.

9. În amestecul acid ascorbic – resveratrol există efecte antioxidante antagoniste și sinergice dependente de ordinea adăugării compușilor în reacție. Efectul sinergic maximal de 1.19 este obținut atunci când la soluția de DPPH<sup>•</sup> se adaugă inițial resveratrol, iar după consumarea completă a stilbenului, se adaugă acid ascorbic. Spectrele RMN au demonstrat că acest scenariu se soldează cu formarea *trans-δ*-viniferinelor, care posedă activitate antioxidantă și sporesc efectul sinergic al amestecului de compuși.

10. În mediu de soluție tampon fosfat, preparatul ENOXIL posedă activitate antioxidantă de 2 – 3 ori mai mare decât în apă. Adăugând acid ascorbic la soluția de ENOXIL, rezultatele demonstrează prezența sinergismului în toate probele analizate. Activitatea antioxidantă totală și amploarea efectului sinergic depind de ordinea adăugării compușilor în reacție, astfel că cel mai mare efect sinergic – 1.19, a fost obținut în proba în care inițial interacționează preparatul ENOXIL cu DPPH<sup>•</sup>, apoi se adaugă acidul ascorbic.

11. Abordarea rezultatelor studiului interacțiunilor antioxidante din perspectiva ecovaleologică oferă o viziune nouă asupra subiectului dat. Integrarea conceptului de ecovaleologie în conținutul prelegerii „Chimia alimentară și asigurarea calității produselor. Antioxidanții” din cadrul cursului de Chimie ecologică de la Universitatea de Stat din Moldova a permis familiarizarea studenților cu avantajele și riscurile pentru sănătate a consumului antioxidanților, efectul concentrației compușilor dați asupra sănătății, a facilitat argumentarea beneficiului consumului de antioxidanți din surse naturale, precum și orientarea studenților spre abordări sustenabile și în rezonanță cu dezvoltarea durabilă a societății. Chestionarul elaborat a demonstrat că prelegerea a avut impact pozitiv asupra interpretării materialului științifico-didactic și asupra formării unor concluzii privind consumul antioxidanților, impactului concentrației compușilor dați și importanței antioxidanților pentru sănătate.

### ***Recomandări practice***

- Se recomandă aplicarea rezultatelor științifice obținute pentru îmbunătățirea efectului antioxidant și a eficienței produselor alimentare, cosmetologice, medicinale, farmacologice și a procedurilor tehnologice existente.
- Se recomandă introducerea în curriculumul cursului de Chimie ecologică din cadrul Universității de Stat din Moldova a conceptului de ecovaleologie pentru formarea deprinderilor sănătoase, ecologice și sustenabile în rândul tinerilor.

## BIBLIOGRAFIE inclusiv LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI

1. DUCA, G., SCURLATOV, Iu., MISITI, M., MACOVEANU, M., SURPĂȚEANU, M. *Chimie ecologică*. București: Matrix Rom, 1999, p. 305. ISBN 973-685-016-1.
2. TSAO, R. Synergistic interactions between antioxidants used in food preservation. In: Handbook of antioxidants for food preservation. Woodhead Publishing. 2015, pp. 335-347. ISBN 978-1-78242-089-7.
3. SOTLER, R., POLJŠAK, B., DAHMANE, R., JUKIĆ, T., PAVAN JUKIĆ, D., ROTIM, C., TREBŠE, P., STARC, A. Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. In: *Acta Clinica Croatica*. 2019, nr. 58(4), pp. 726-736. ISSN 0353-9466.
4. БРЕХМАН, И. И. *Валеология - наука о здоровье*. Москва: Физкультура и спорт, 1990. 206 p. ISBN 5-278-00214-X:80к.
5. VICOL, C. Analiza indicatorilor fizico-chimici în strugurii autohtoni cu scopul estimării calității produselor. In: *Rezumatetele Comunicărilor la Conferința Științifică Studentească Online Consacrată Zilei Internaționale a Studenților „Chimia Ecologică și a Mediului”*, Ediția XVIII, 17 Noiembrie 2020, Chișinău, Republica Moldova. pp 46-47. ISBN 978-9975-152-63-1.
6. VICOL, C., MORARI, B., SCORBANOVA, E., DUCA, G. Evoluția conținutului de acizi organici în strugurii moldovenești până la atingerea valorilor optime pentru consum. In: *Analele Universității din Craiova, Seria Chimie, Simpozionul Național de Chimie „Contribuții la Creșterea Calității Învățământului și Cercetării în Domeniul Chimiei”*, Ediția a XII-a, 28 Noiembrie 2020, Craiova, România. p. 40. ISSN 1223-5288.
7. TARAN, N., MORARI, B., SOLDATENCO, G. O., PONOMARIOVA, I., NEMȚEANU, S., GĂINĂ, B., VICOL, C. Potențialul oenologic al soiurilor de struguri autohtone și de selecție nouă. In: *Revista de Știință, Inovare, Cultură și Artă „Akademos”*. 2022, nr. 67(4), pp. 58-65. ISSN 1857-0461, ISSN 2587-3687.
8. VICOL, C., MORARI, B., TARAN, N., DUCA, G. Study of the evolution of polyphenolic content and antioxidant activity of local grape varieties at different maturation periods. In: *Proceeding of The 7th International Conference Ecological & Environmental Chemistry-2022, 3-4 March 2022, Chisinau, Republic of Moldova*. p. 162. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/152021](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/152021)
9. VICOL, C., DUCA, G. Phenolic compounds and antioxidant activity of some Moldovan white and red grape varieties at different maturation periods. In: *Proceedings of the National Conference with International Participation „Life Sciences In The Dialogue Of Generations: Connections Between Universities, Academia And Business Community”, 2nd Edition, 29-30 September 2022, Chisinau, Republic of Moldova*. p. 229. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/168304](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/168304)
10. VICOL, C., DUCA, G. The antioxidant activity of some Moldovan white grapes and wines. In: *Proceeding of the Young Researchers' International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (YRICCCE III), 4 – 5 June 2021, Cluj-Napoca, Romania*. p. 54. Disponibil: <https://www.chem.ubbcluj.ro/~schr/yriccce2020/program.html>
11. VICOL, C., DUCA, G. Antioxidant Interactions Between Natural Compounds: Synergistic, Additive, Antagonistic Effects and the Prooxidant Character of Antioxidants. In: *Fundamental and Biomedical Aspects of Redox Processes*. IGI Global, 2023, pp. 224-249. ISBN13 9781668471982, ISBN10 1668471981, ISBN13 9781668472002.
12. VICOL, C., DUCA, G. Synergistic, Additive and Antagonistic Interactions of Some Phenolic Compounds and Organic Acids Found in Grapes. In: *Acta Chimica Slovenica*. 2023, nr. 70(4), pp. 588–600. ISSN 1318-0207, ISSN 1580-3155.
13. VICOL, C., CIMPOIU, C., DUCA, G. Investigation of synergic/anti-synergic interactions of dihydroxifumaric acid and ascorbic acid with DPPH. In: *Studia Universitatis Babeș-Bolyai, Chemia*. 2021, nr. 66(2), pp. 49-58. ISSN 1224-7154.

14. **VICOL, C., IACOBESCU, A., FIFERE, A., DUCA, G.** Study of the synergic interactions of ascorbic and dihydroxyfumaric acids by EPR spectroscopy. In: *Proceedings of the 14th Green Chemistry Postgraduate Summer School (online/in-person) 3-8 July 2022, Venice, Italy.* p. 90. ISBN 978-88-945537-2-7.
15. **VICOL, C., SÂRGHI, A., FIFERE, A., DUCA G.** Antioxidant co-actions of ascorbic and dihydroxyfumaric acids investigated by EPR spectroscopy. In: *Chemistry Journal of Moldova.* (Acceptat pentru publicare: <http://cjm.ichem.md/antioxidant-co-actions-of-ascorbic-and-dihydroxyfumaric-acids-investigated-by-epr-spectroscopy>).
16. **GORINCIROI, E., VICOL, C., BARBA, A., DUCA, G.** Preliminary results on <sup>13</sup>C NMR studies regarding the radical scavenging activities of ascorbic acid and dihydroxyfumaric acid using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. In: *Proceeding of The 7th International Conference Ecological & Environmental Chemistry-2022, 3-4 March 2022, Chisinau, Republic of Moldova.* p. 64. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/151365](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/151365)
17. **VICOL, C., GORINCIROI, E., BARBA, A., DUCA, G.** Use of UV-Vis and NMR spectroscopies in studies of antioxidants' synergism involving ascorbic and dihydroxyfumaric acids. In: *Book of Abstracts of National Chemical Conference, Edition XXXVI, 4 – 7 October 2022, Călimănești - Căciulata, Romania.* p. 107. Disponibil: <https://chimcomplex.com/cnchim-2022/>
18. **GORINCIROI, E., BARBA, A., VICOL, C.** Datele spectrale RMN - mărturii notabile în studiile interacțiunilor antioxidante: Studii de caz privind unii metaboliți din struguri. In: *Procese redox cu transfer de electroni și protoni.* Chișinău: Editura USM, 2023, pp. 184-198. ISBN 978-9975-62-658-3.
19. **GORINCIROI, E., VICOL, C., BARBA, A., DUCA, G.** NMR spectral data as a robust evidence in studies of the antioxidant's interplay: report on some grape metabolites. In: *Book of Abstracts of The Central European NMR Symposium & Bruker Users Meeting Solid-State NMR Workshop (CEUM 2023), 13 – 15 September 2023, Prague, Czech Republic.* p. 35. Disponibil: <http://ceum2023.uochb.cas.cz/programme.php>
20. **VICOL C., GORINCIROI E., DUCA G.** 13C NMR Investigations Of Radical Scavenging Activities Of Ascorbic Acid And Resveratrol Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. In: *Proceeding of the 23rd International Conference "New Cryogenic and Isotope Technologies For Energy and Environment,, - EnergEn 2021, 26-29 October 2021, Băile Govora, Romania.* pp. 312-316. ISSN 2810-3203, ISSN-L 2810-3203.
21. **LUPAȘCU, T., DUCA, G., GONCIAR, V.** *Enoxil – preparat ecologic pentru sănătatea omului.* Chișinău: Tipografia AȘM, 2012. 256 p. ISBN 978-9975-62-304-9.
22. **VICOL, C., DUCA, G.** Antioxidant activity of ENOXIL determined via interaction with various free radicals. In: *Book of Abstracts of The National Conference with International Participation „Natural Sciences In The Dialogue Of Generations”, 14 – 15 September 2023, Chisinau, Republic of Moldova.* p. 223. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/ro/collection\\_view/2377](https://ibn.idsi.md/ro/collection_view/2377)
23. **VICOL, C., DUCA, G.** Interacțiuni antioxidante dintre unii compuși naturali din struguri. In: *Procese redox cu transfer de electroni și protoni.* Chișinău: Editura USM, 2023, pp. 159-183. ISBN 978-9975-62-658-3.
24. **VICOL, C., DUCA, G.** Formarea ecovaleologică a tinerilor specialiști în cadrul cursului de chimie ecologică: abordarea subiectului interacțiunilor antioxidante. In: *Proceedings of the International Scientific Conference “Science And Education: New Approaches And Perspectives”, 21 – 22 March 2024, Chisinau, Republic of Moldova.* Disponibil: <https://upsc.md/cercetare/manifestari-stiintifice/congrese-simpozioane-conferinte-internationale-2024/>

## ADNOTARE

**Vicol Crina, „Interacțiuni antioxidante dintre unii compuși fenolici și acizi organici din struguri – contribuție la formarea ecovaleologică a tinerilor specialiști”, teză de doctor în științe chimice, Chișinău, 2024**

**Structura tezei.** Teza este formată din introducere, cinci capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografia din 269 surse, 59 figuri, 8 tabele și 4 anexe, 128 pagini text de bază. Rezultatele obținute sunt publicate în 26 lucrări științifice.

**Cuvinte-cheie:** antioxidant, compuși fenolici, acizi organici, interacțiuni antioxidante, efect sinergic, efect antagonist, efect aditiv, struguri, ecovaleologie.

**Domeniul de studiu:** 145.01 Chimie Ecologică

**Scopul și obiectivele tezei** constau în determinarea (i) tipului de interacțiune antioxidantă dintre unii compuși fenolici și acizi organici din struguri și (ii) a dependenței efectelor antioxidante de concentrația și combinația substanțelor investigate; (iii) formularea unor concluzii privind consumul și utilizarea eficientă a antioxidantilor.

**Noutatea și originalitatea științifică.** În premieră au fost determinate tipurile de interacțiuni antioxidante dintre unii compuși fenolici și acizi organici naturali, fiind studiate combinațiile și concentrațiile similare celor din struguri. Au fost propuse mecanismele de interacțiune antioxidantă pentru amestecurile studiate: compus fenolic – acid organic, acid ascorbic – acid dihidroxifumaric, acid ascorbic – resveratrol. În premieră au fost aplicate metodele DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> și PRFe pentru studierea activității antioxidante a soiurilor de struguri autohtoni de selecție nouă. Pentru prima dată, subiectului interacțiunilor antioxidante a fost abordat din perspectiva conceptului de ecovaleologie în scopul formulării concluziilor privind consumul rațional și întrebuintarea eficientă a antioxidantilor.

**Problema științifică soluționată** rezidă în identificarea efectelor antioxidante existente între compușii fenolici și acizii organici din struguri, fapt care relevă avantajele consumului antioxidantilor din surse naturale sau în combinații și concentrații similare, și servește drept soluție pentru caracterul prooxidant al compușilor antioxidanți.

**Semnificația teoretică.** Rezultatele obținute îmbogățesc și completează studiile existente, de asemenea, permit formularea unor idei mai exacte referitoare la mecanismele și procesele redox în care pot fi implicate substanțele studiate – procese care au loc în struguri, vinuri, precum și în organismul uman odată ce compușii dați sunt consumați cu hrana. De asemenea, datele obținute argumentează importanța concentrației, a mediului de reacție și a consecutivității adăugării compușilor în reacție asupra activității antioxidante totale și tipului de interacțiune antioxidantă. Rezultatele investigației aduc un aport științific și didactic privind formarea ecovaleologică a tinerilor în instituțiile de învățământ superior.

**Valoarea aplicativă** se axează pe posibilitatea utilizării rezultatelor experimentale obținute pentru îmbunătățirea efectului antioxidant și a eficienței produselor farmaceutice, cosmetice și a procedurilor tehnologice existente. Totodată, rezultatele obținute pot fi ușor integrate în conținutul cursurilor didactice la disciplinele chimie, chimie ecologică, ecologie etc.

**Implementarea rezultatelor științifice.** Rezultatele obținute au fost integrate și prezentate, timp de patru ani consecutivi, în cadrul prelegerii „Chimia alimentară și asigurarea calității produselor. Antioxidanții” ce face parte din cursul de Chimie ecologică elaborat de acad. Gh. Duca la Universitatea de Stat din Moldova.



## ANNOTATION

**Vicol Crina, "Antioxidant interactions between some grape phenolic compounds and organic acids - contribution to the ecovaleological education of young experts", PhD thesis in chemical sciences, Chisinau, 2024**

**Thesis structure.** The thesis consists of the introduction, five chapters, general conclusions and recommendations, the bibliography of 269 sources, 59 figures, 8 tables and 4 appendices, 128 pages of basic text. The results obtained are published in 26 scientific works.

**Key words:** antioxidant, phenolic compounds, organic acids, antioxidant interactions, synergistic effect, antagonistic effect, additive effect, grapes, ecovaleology.

**Field of study:** 145.01 Ecological Chemistry

**The purpose and objectives of the thesis** are to determine (i) the type of antioxidant interactions between some grape phenolic compounds and organic acids and (ii) the dependence of the antioxidant effects on the concentration and combination of the investigated substances; (iii) to formulate conclusions regarding the consumption and effective use of antioxidants.

**Scientific novelty and originality.** For the first time, the types of antioxidant interactions between some natural phenolic compounds and organic acids have been determined, by studying the combinations and concentrations similar to those in grapes. Antioxidant interaction mechanisms were proposed for the studied mixtures: phenolic compound – organic acid, ascorbic acid – dihydroxyfumaric acid, ascorbic acid – resveratrol. For the first time, the DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> and PRFe methods were applied to study the antioxidant activity of autochthonous grape varieties of new selection. A new perspective on the topic of antioxidant interactions was offered by addressing the subject from the view of the ecovaleology concept in order to formulate conclusions regarding the consumption and efficient use of antioxidants.

**The solved scientific problem** resides in the identification of the existing antioxidant effects between grape phenolic compounds and organic acids, a phenomenon that reveals the advantages of consumption of antioxidants from natural sources or in similar combinations and concentrations, and serves as a solution for the prooxidant character of antioxidant compounds.

**Theoretical significance.** The obtained results enrich and complement the existing studies, also allow the formulation of more accurate ideas regarding the redox mechanisms and processes in which the studied substances can be involved - processes that take place in grapes, wines, as well as in the human body once the given compounds are consumed with food. Also, the obtained data argue the importance of the concentration, reaction environment and consecutiveness of compounds addition in the reaction on the total antioxidant activity and the type of antioxidant interaction. The results of the investigation bring a scientific and didactic contribution regarding the ecovaleological training of young people in higher education institutions.

The **applicative value** relies on the possibility of using the conclusions developed based on the obtained results to improve the antioxidant effect and the efficiency of pharmaceutical, cosmetic products and the existing technological processes. At the same time, the obtained results can be easily integrated into didactic courses of chemistry, ecological chemistry, ecology disciplines.

**Implementation of scientific results.** The obtained results were integrated and presented, four consecutive years, within the lecture "Food chemistry and product quality assurance. Antioxidants" which is part of the Ecological Chemistry course taught by acad. Gh. Duca at the State University of Moldova.

## АННОТАЦИЯ

**Викол Крина, «Антиоксидантные взаимодействия между некоторыми фенольными соединениями винограда и органическими кислотами – вклад в эковалеологическое образование молодых специалистов», диссертация по на соискание ученой степени доктора химических наук, Кишинев, 2024 г.**

**Структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, общих выводов и рекомендаций, библиографии из 269 источников, 59 рисунков, 8 таблиц и 4 приложений, 128 страниц основного текста. Полученные результаты опубликованы в 26 научных работах.

**Ключевые слова:** антиоксидант, фенольные соединения, органические кислоты, антиоксидантные взаимодействия, синергетический эффект, антагонистический эффект, аддитивный эффект, виноград, эковалеология.

**Область исследования:** 145.01 Экологическая химия

**Цель и задачи диссертационной работы** заключаются в определении: (i) типа антиоксидантных взаимодействий между некоторыми фенольными соединениями и органическими кислотами в винограде и (ii) зависимости антиоксидантного действия от концентрации и сочетания исследуемых веществ; (iii) формулирование выводов относительно потребления и эффективного использования антиоксидантов.

**Научная новизна и оригинальность.** Впервые были определены типы антиоксидантных взаимодействий между некоторыми фенольными соединениями и природными органическими кислотами, исследуемыми в сочетаниях и концентрациях, аналогичных таковым в винограде. Предложены механизмы антиоксидантного взаимодействия исследуемых смесей фенольных соединений и органических кислот. Впервые методы DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> и PRFe были применены для изучения антиоксидантной активности автохтонных сортов винограда новой селекции. Впервые была рассмотрена тема антиоксидантных взаимодействий с позиций эковалеологической концепции с целью формулирования выводов об рациональном потреблении и эффективном использовании антиоксидантов.

**Решенная научная проблема** заключается в выявлении существующих антиоксидантных эффектов между фенольными соединениями и органическими кислотами из винограда, что раскрывает преимущества потребления антиоксидантов из природных источников или в аналогичных комбинациях и концентрациях и служит решением проблемы прооксидантного характера антиоксидантных соединений.

**Теоретическое значение:** Полученные результаты обогащают и дополняют существующие исследования, а также позволяют сформулировать более точные представления относительно окислительно-восстановительных механизмов и процессов, в которых могут участвовать изучаемые вещества. Результаты исследования вносят научный и дидактический вклад в эковалеологическую подготовку молодых специалистов.

**Прикладное значение** ориентировано на возможность использования результатов диссертации для повышения антиоксидантного действия и эффективности фармацевтических, косметических, а также существующих технологических процессов. Полученные результаты можно легко интегрировать в содержание дидактических курсов по дисциплинам химия, экологическая химия, экология и т.д.

**Внедрение научных результатов:** Полученные результаты были интегрированы и представлены на лекции «Химия пищевых продуктов и безопасность пищевых продуктов; Антиоксиданты» в рамках курса «Экологическая химия», читаемого акад. Г. Дука в Государственном Университете Молдовы.

**VICOL Crina**

**INTERACȚIUNI ANTIOXIDANTE DINTRE UNII COMPUȘI  
FENOLICI ȘI ACIZI ORGANICI DIN STRUGURI –  
CONTRIBUȚIE LA FORMAREA ECOVALEOLOGICĂ A  
TINERILOR SPECIALIȘTI**

**145.01 Chimie ecologică**

**Rezumatul tezei de doctor în științe chimice**

---

Aprobat spre tipar: 20.08.2024  
Hârtie ofset. Tipar ofset.  
Coli de tipar: 2.1

Formatul hârtiei: 60×84 1/16  
Tiraj: **35 exemplare**  
Comanda nr. 65-24

---

Centrul Editorial-Poligrafic al UPS „Ion Creangă”  
Str. Ion Creangă 1, Chișinău, MD-2069