



Universitatea Babeş-Bolyai
Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică
Școala Doctorală de Chimie



Rezumatul tezei de doctorat

**EVALUAREA BIOACCESIBILITĂȚII ȘI BIODISPONIBILITĂȚII
UNOR FITOCOMPUȘI DIN FRUCTE ȘI LEGUME**

COMISIA DE DOCTORAT

PREȘEDINTE: Prof. Dr. Tiberiu Frențiu (Universitatea Babeş-Bolyai , Cluj-Napoca)

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT: Prof. Dr. Claudia Cimpoiu (Universitatea Babeş-Bolyai, Cluj-Napoca)

REFERENȚI: Prof. Dr. Cecilia Arsene (Universitatea Alexandru Ioan Cuza, Iași)

Prof. Dr. Gabriela Adriana Filip (Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca)

Prof. Dr. Radu Silaghi-Dumitrescu (Universitatea Babeş-Bolyai, Cluj-Napoca)

DOCTORAND: Teodora Scrob (Gagy)

Cluj-Napoca

2023

Cuprins rezumat

Cuvinte cheie	3
Listă de abrevieri	4
1.Introducere	5
Contribuții originale	6
2. Cinetica de extracție a clorofilelor și carotenoidelor din <i>Brassica Oleracea</i>	6
2.3.1 Optimizarea extracției asistată cu ultrasunete	6
2.3.2 Modelarea cinetică	8
3. Digestia gastrointestinală <i>in vitro</i> la brocoli (<i>Brassica oleracea</i>)	11
3.3.1 Bioaccesibilitatea clorofilelor și carotenoidelor	11
3.3.2 Bioaccesibilitatea conținutului total de fenoli	13
3.3.3 Modificări ale capacității antioxidante în timpul digestiei <i>in vitro</i>	14
4. Efectul digestiei <i>in vitro</i> asupra caracteristicilor nutriționale ale fructelor uscate	15
4.3.1 Validarea metodelor ICP-OES, ICP-MS și FAES	15
4.3.2 Caracterizarea probelor de fructe uscate	15
4.3.3 Digestia GI <i>in vitro</i> a fructelor uscate	21
4.3.4 Evaluarea statistică a proprietăților nutriționale și funcționale ale fructelor uscate	32
5. Cinetica de degradare în timp a vitaminei C, antocianilor, fenolilor și zaharurilor reducătoare din diferite gemuri de merișoare	35
5.3.1 Variații ale conținutului de fitocompuși din gemurile de merișoare	35
5.3.2 Analiza cinetică	40
5.3.3 Analiza statistică	41
6. Efectul îndulcitorilor asupra proprietăților fizico-chimice și bioaccesibilității fitocompușilor din gemurile de merișoare	44
6.3.1 Aciditatea titrabilă	44
6.3.2 Conținutul total de solide	44
6.3.3 Proprietăți senzoriale	46
6.3.4 Studii de bioaccesibilitate	46
7. Efectul îndulcitorilor asupra activității α -glucozidazei, citotoxicității și biodisponibilității antocianilor din gemurile de merișoare	51
7.3.1 Inhibarea enzimei α -glucozidază	51

7.3.2 Citotoxicitatea și viabilitatea celulară în celulele normale și canceroase CaCo-2	52
7.3.3 Biodisponibilitatea <i>in vivo</i> a antocianilor din gemurile de merișoare	55
Concluzii generale	57
Referințe selectate	59
Lista publicațiilor	64
Lista conferințelor	65

Cuvinte cheie

fitocompuși

extracție asistată de ultrasunete

digestie in vitro/in vivo

bioaccesibilitate

capacitate antioxidantă

antioxidanți

elemente esențiale

zaharuri reducătoare

gemuri de merișoare

îndulcitori

cinetică de degradare

biodisponibilitate

α -glucozidază

citotoxicitate

alimente funcționale

Listă de abrevieri

AC	capacitate antioxidantă
Caco-2 cells	celule canceroase de colon
FAES	spectrometrie de emisie atomică în flacără
G	gastric
GAE	echivalent de acid galic
GI	gastrointestinal
HPLC	cromatografie de lichide de înaltă performanță
ICP-MS	spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv
ICP-OES	spectrometrie de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv
PCA	analiza componentelor principale
RDA	doza zilnică recomandată
SGF	fluid gastric simulat
SIF	fluid intestinal simulat
SSF	fluid salivar simulat
TA	aciditate titrabilă
TLC	cromatografie pe strat subțire
TPC	conținut total de polifenoli
TSC	conținut total de zaharuri
TSS	conținut total de solide
UAE	extracție asistată de ultrasunete

1. Introducere

Această teză își propune să aducă rezultate importante în domeniul chimiei alimentare prin studierea modificărilor apărute în conținutul de fitocompuși din fructe și legume în timpul digestiei. Prima parte a tezei prezintă o introducere teoretică cu privire la bioaccesibilitatea și biodisponibilitatea fitocompușilor din fructe și legume. A doua parte a tezei cuprinde principalele rezultate experimentale obținute.

Fructele și legumele reprezintă o sursă importantă de fitocompuși cu numeroase beneficii pentru sănătate. Recent, au fost dezvoltate numeroase metode pentru identificarea și determinarea acestor compuși. Dezvoltarea unor metode eficiente de extracție care să îmbunătățească randamentul de extracție fără a reduce beneficiile pentru sanătate este de mare importanță. În acest sens, unul dintre obiectivele principale ale acestei cercetări a fost evaluarea cineticii de extracție a unor fitocompuși din broccoli și evaluarea efectului îndulcitorilor asupra stabilității fitocompușilor din gemurile de merișoare.

Chiar dacă fitocompușii dețin numeroase proprietăți benefice, eficacitatea lor depinde de posibilitatea de a fi absorbiți. Deoarece studiile cu privire la biodisponibilitatea fitocompușilor sunt încă limitate, această teză oferă informații cu privire la digestia fitocompușilor, precum carotenoide, clorofile, polifenoli, antociani, zaharuri sau vitamina C din diferite fructe sau legume în timpul digestiei gastrointestinale (GI), folosind modele simulate *in vitro* sau *in vivo*. În plus, un alt aspect important al tezei îl reprezintă evaluarea modificărilor capacității antioxidante în timpul digestiei simulate.

De asemenea, deoarece consumatorii preferă produse cu valoare nutrițională adăugată, un alt obiectiv al acestei teze a fost evaluarea stabilității fitocompușilor din gemurile de merișoare în timpul digestiei. În plus, s-a determinat activitatea antidiabetică și citotoxicitatea gemurilor de merișoare, ca perspectivă pentru dezvoltarea unor noi alimente funcționale.

Contribuții originale

2. Cinetica de extracție a clorofilelor și carotenoidelor din Brassica Oleracea¹

În acest capitol se acordă o atenție deosebită extracției clorofilelor și carotenoidelor, precum și evaluării modelului cinetic, în vederea determinării condițiilor optime de extracție. Extracția clorofilei și carotenoidelor din brocoli folosind ultrasunetele ca metodă alternativă de extracție, economică și durabilă, este de interes din punct de vedere industrial. Rezultatele acestei cercetări implică potențiale aplicații în industria alimentară.

2.3.1 Optimizarea extracției asistată cu ultrasunete

Determinarea clorofilelor și carotenoidelor s-a realizat prin metode spectrofotometrice, descrise de Lichtenthaler și colab., (2001). Pentru a optimiza procesul de extracție a clorofilelor și carotenoidelor din *Brassica oleracea*, s-au evaluat următorii parametri: timpul de extracție, temperatura și tipul de solvent. Acetona și etanolul au fost aleși ca solvenți de extracție deoarece acești solvenți sunt adesea utilizați pentru extracția coloranților alimentari (Fernandez-Leon și colab., 2015). A fost efectuat un studiu comparativ al extracției clorofilelor și carotenoidelor din brocoli cu ambii solvenți. Rezultatele experimentale obținute după extracția cu etanol și acetonă sunt reprezentate în tabelele 2.1-2.3. Etanolul a fost mai eficient în extracția clorofilelor și carotenoidelor. Etanolul este un solvent preferat ținând cont de recomandarea sa ca solvent eco-friendly. Mai mult, etanolul este mai ieftin decât alți solvenți, netoxic și sigur. Este important ca la alegerea unui solvent de extracție să se ia în considerare posibilitatea sa toxicitate, cu atât mai mult dacă extractele sunt utilizate ca aditivi sau coloranți alimentari, cum ar fi cele de clorofile și carotenoide.

Un alt parametru care influențează procesul de extracție al coloranților naturali din legume este timpul de extracție. Timpul de extracție ales a fost 5 și 40 de minute deoarece unele studii raportează că efectul extracției asistate cu ultrasunete este mai eficient în primele 30 de minute (Zhang et al., 2008).

¹Părți din acest capitol au fost publicate în Scrob și colab., 2019b.

Tabelul 2.1 Concentrația de Chl-A (mg/g) la diferiți timpi și temperaturi de extracție

Timp de extracție (min)	Acetonă (30°C)	Etanol (30°C)	Etanol (50°C)	Etanol (80°C)
0	0	0	0	0
5	4,29	5,02	4,60	3,98
10	6,48	7,35	6,10	5,49
15	7,39	8,40	6,87	6,33
20	7,15	8,53	7,32	6,56
30	7,00	8,27	7,62	6,69
40	7,07	8,13	7,74	6,79

Tabelul 2.2 Concentrația Chl-B (mg/g) la diferiți timpi și temperaturi de extracție

Timp de extracție (min)	Acetonă (30°C)	Etanol (30°C)	Etanol (50°C)	Etanol (80°C)
0	0	0	0	0
5	2,34	3,19	3,23	2,72
10	3,27	4,99	4,55	4,10
15	3,58	5,92	5,26	4,75
20	3,34	6,13	5,65	4,90
30	3,23	6,11	5,77	4,98
40	3,27	6,06	5,82	5,02

Tabelul 2.3 Concentrația carotenoidelor (mg/g) la diferiți timpi și temperaturi de extracție

Timp de extracție (min)	Acetonă (30°C)	Etanol (30°C)	Etanol (50°C)	Etanol (80°C)
0	0	0	0	0
5	1,46	1,45	1,15	1,02
10	1,64	1,93	1,53	1,42
15	1,63	2,15	1,63	1,49
20	1,63	2,16	1,63	1,48
30	1,62	2,12	1,62	1,47
40	1,62	2,08	1,60	1,45

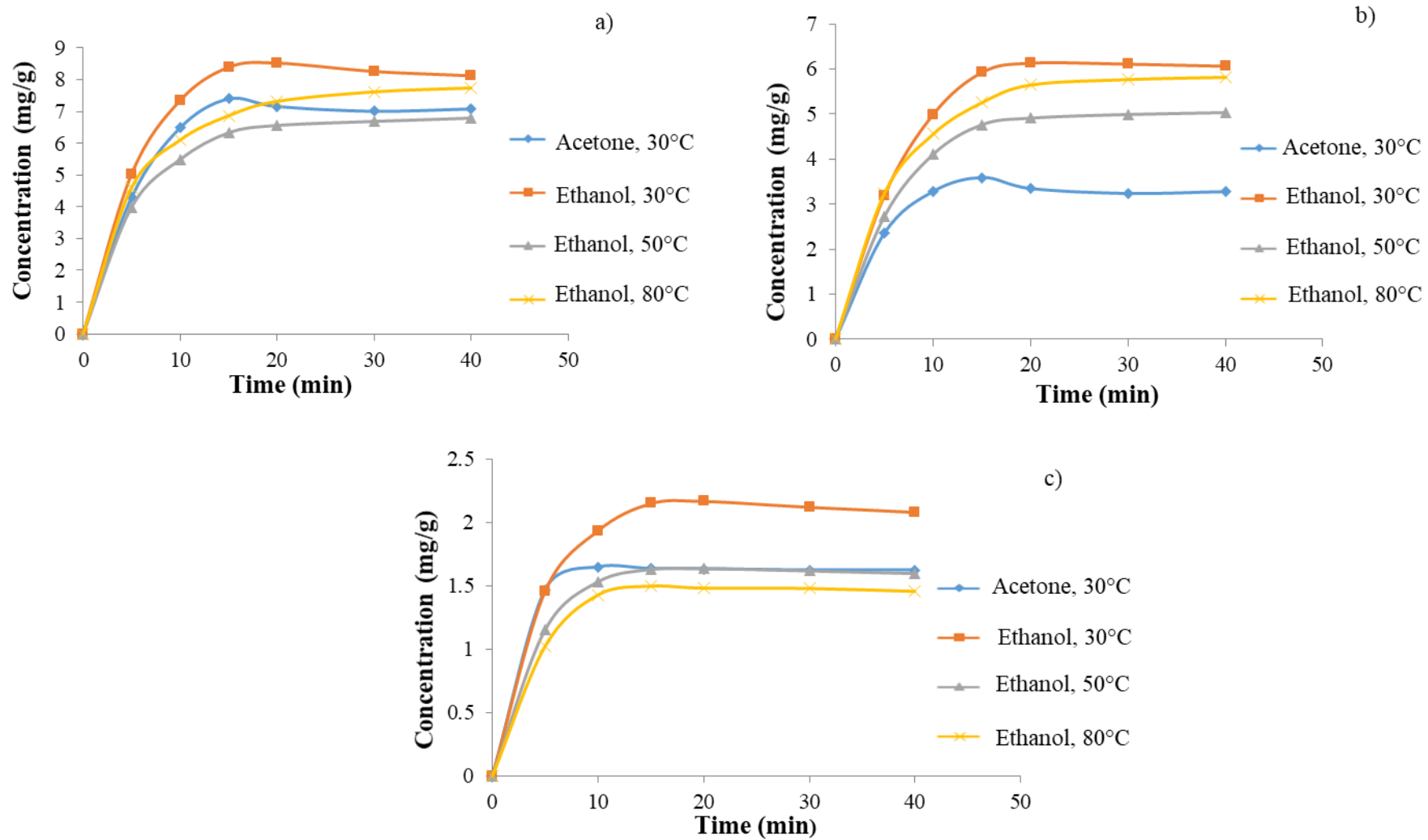


Figura 2.1 Influența timpului de extracție, al solventului și a temperaturii asupra Chl-A (a), Chl-B (b) și carotenoide (c).

2.3.2 Modelarea cinetică

Determinarea parametrilor cinetici este extrem de importantă pentru o extracție asistată de ultrasunete eficientă. Evaluarea modelelelor cinetice și a vitezei de extracție în procesul de extracție este extrem de utilă atunci când se dorește transferul tehnologic (Lazăr și colab., 2016).

Procesul de extracție al clorofilelor și carotenoidelor din broccoli se desfășoară în două etape: una rapidă, în primele 20 min, urmată de o etapă mai lentă, care se apropie de concentrația de echilibru. În aceste circumstanțe, viteza de extracție urmează o lege de ordinul doi. Datele experimentale obținute au fost prelucrate și reprezentate grafic în coordonatele specifice modelului cinetic de ordinul doi (Lazar și colab., 2016). Validarea modelului cinetic pentru toate datele experimentale este confirmată în fiecare caz de coeficientul de determinare ($R^2 > 0,98$) (Figurile 2.2-2.4).

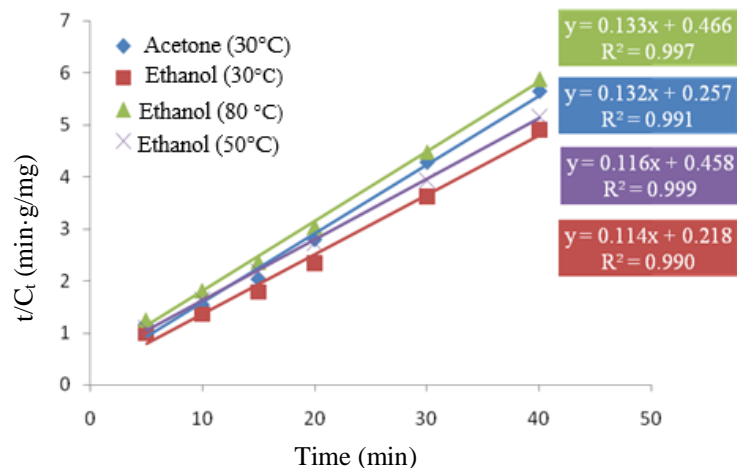


Figura 2.2 Validarea modelului cinetic de ordinul doi pentru Chl-A

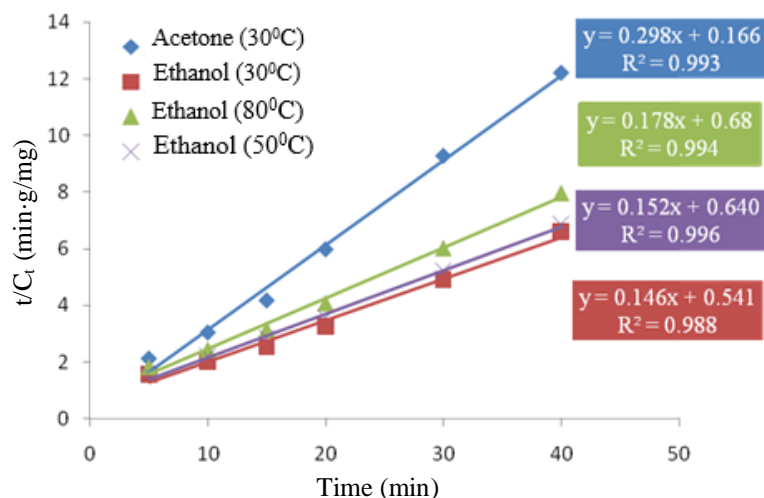


Figura 2.3 Validarea modelului cinetic de ordinul doi pentru Chl-B

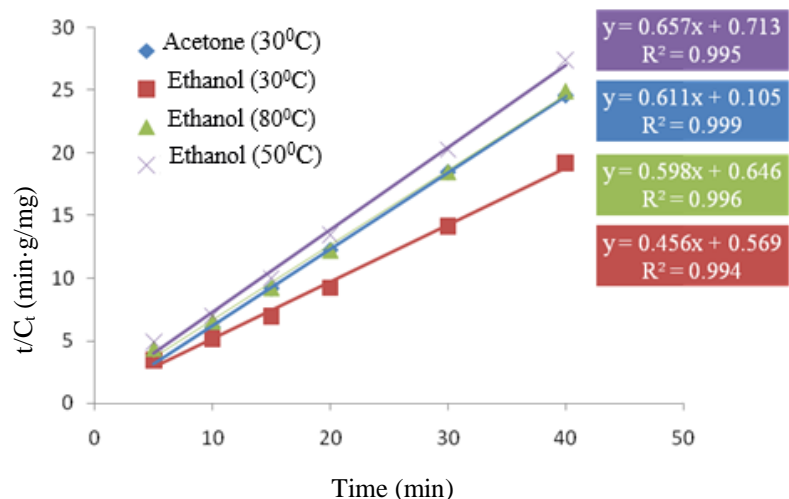


Figura 2.4 Validarea modelului cinetic de ordinul doi pentru carotenoide

În concluzie, studiul extracției asistată de ultrasunete a clorofilelor și carotenoidelor din brocoli (*Brassica oleracea*) a avut ca obiectiv principal determinarea factorilor și mecanismelor implicate în procesul de extracție, pentru posibilele aplicații ulterioare în industria alimentară. Extracția clorofilelor și carotenoidelor urmează un model cinetic de ordinul doi ($R^2 > 0,98$). Etanolul a extras o cantitate mai mare de coloranți decât acetona. Extracția cu acetonă a determinat valori mai mari ale constantelor de viteză k decât etanolul. Deși acetona extrage mai repede clorofilele și carotenoidele din brocoli, extractele etanolice se pot folosi ca aditivi naturali în industria alimentară. Extracția cu etanol la 30°C a fost cea mai eficientă. Creșterea temperaturii a determinat diminuarea cantității acestor pigmenți. Rezultatele acestei cercetări implică potențiale aplicații pentru aditivii naturali în industria alimentară.

3. Digestia gastrointestinală *in vitro* la brocoli²

Broccoli (*Brassica oleracea*) este printre legumele foarte consumate în zilele noastre, în special datorită efectelor sale benefice și a conținutului mare de antioxidanți. Acest capitol cuprinde rezultatele obținute în urma evaluării digestiei gastrointestinale *in vitro* asupra capacității antioxidante, clorofilelor, carotenoidelor și conținutului total de polifenoli din brocoli. Capacitatea antioxidantă a fost determinată prin ABTS, iar conținutul de fitocompuși a fost investigat spectrofotometric și prin cromatografie pe strat subțire. Rezultatele experimentale evidențiază faptul că digestia gastrointestinală poate afecta substanțial absorbția de polifenoli, clorofile și carotenoide prezente în *Brassica oleracea*, reprezentând o bază privind stabilizarea acestor fitocompuși.

3.3.1 Bioaccesibilitatea clorofilelor și carotenoidelor

Pentru a evalua conținutul de fitocompuși din brocoli în urma procesului de digestie, probele au fost analizate înainte și după digestia *in vitro*. Metoda de digestie *in vitro* utilizată în acest studiu include trei etape: salivara, gastrică și intestinală (Minekus et al., 2014). Compoziția detaliată a fluidelor simulate, și anume lichidul salivar - SSF, lichidul gastric - SSG și lichidul intestinal - SIF este prezentată în Tabelul 3.1.

Tabelul 3.1 Prepararea fluidelor de digestie simulată

Fluid de digestie simulata	Volumul componentelor (mL)					
	KCl (37.3 g/L)	KH ₂ PO ₄ (68 g/L)	NaHCO ₃ (84 g/L)	NaCl (117 g/L)	MgCl ₂ (H ₂ O) ₆ (30.5 g/L)	(NH ₄) ₂ CO ₃ (48 g/L)
SSF (pH=7)	15.1	3.7	6.8	—	0.5	0.06
SGF (pH=3)	6.9	0.9	12.5	11.8	0.4	0.5
SIF (pH=7)	6.8	0.8	42.5	9.6	1.1	—

Variația conținutului de carotenoide, clorofile și polifenoli, precum și modificările capacității antioxidante în timpul digestiei *in vitro* sunt prezentate în Tabelul 3.2.

² Acest capitol a fost publicat în Scrob și colab., 2019b

Tabelul 3.2 Conținutul total de carotenoide, clorofile, polifenoli și capacitatea antioxidantă în probele nedigerate și digerate *in vitro*

Etapa de digestie	Concentrație			Capacitate antioxidantă ($\mu\text{mol Trolox/mL}$)
	Carotenoide (mg/ml)	Clorofile (mg/ml)	Polifenoli ($\mu\text{gGAE/mL}$)	
Inițial	6,11 \pm 0,98	18,21 \pm 1,21	136,44 \pm 9,85	1,05 \pm 0,03
Gastric	1,34 \pm 0,12	7,49 \pm 0,84	126,36 \pm 5,16	0,43 \pm 0,01
Intestinal	1,34 \pm 0,14	5,09 \pm 0,62	69,24 \pm 4,25	0,20 \pm 0,00

În comparație cu cantitatea de carotenoide prezente în probele nedigerate, conținutul acestor compuși a scăzut după procesul de digestie. S-a raportat o scădere de 78,07% din totalul de carotenoide, atât după digestia gastrică, cât și intestinală. Scăderea conținutului de carotenoide în timpul digestiei a fost confirmată și de alți autori (Courraud și colab., 2013; Fernández-García și colab., 2012). Conținutul de clorofile a scăzut similar cu carotenoidele (72,05%). S-a raportat că clorofilele sunt compuși sensibili la variații de pH și la temperaturi ridicate.

Modificările apărute în conținutul de clorofile și carotenoide înainte și după fiecare etapă de digestie *in vitro* au fost evaluate și prin cromatografie în strat subțire, fiind o metodă rapidă și relativ ieftină în separarea amestecurilor complexe. Odată cu dezvoltarea fazelor staționare și posibilitatea acestei metode de a fi combinată cu echipamente de detecție precise, tehnica își crește în continuare utilizările în multe domenii de cercetare (Scrob și colab., 2019a). Probele obținute în urma digestiei simulate - în fază salivară (P1), în fază gastrică (P2) și în fază intestinală (P4), au fost analizate prin TLC și s-a observat o tendință de scădere a conținutului de clorofile și carotenoide după procesul de digestie *in vitro* comparativ cu extractul etanolic nedigerat (P6). Probele (P3) și (P5) reprezintă reziduurile etanolice obținute după digestia gastrică, respectiv intestinală; aceste probe au fost analizate pentru a verifica dacă fitocompușii de interes au rămas în matricea solidă în timpul digestiei. Vizualizarea s-a făcut în lumină UV la o lungime de undă de 366 nm (Figura 3.1). Intensitatea culorii arată că cea mai mare cantitate de compuși se găsește în proba nedigerată (P6), urmată de extractele etanolice din materialul solid rezidual rezultat din digestia orală (P1), gastrică (P3) și digestia intestinală (P5).

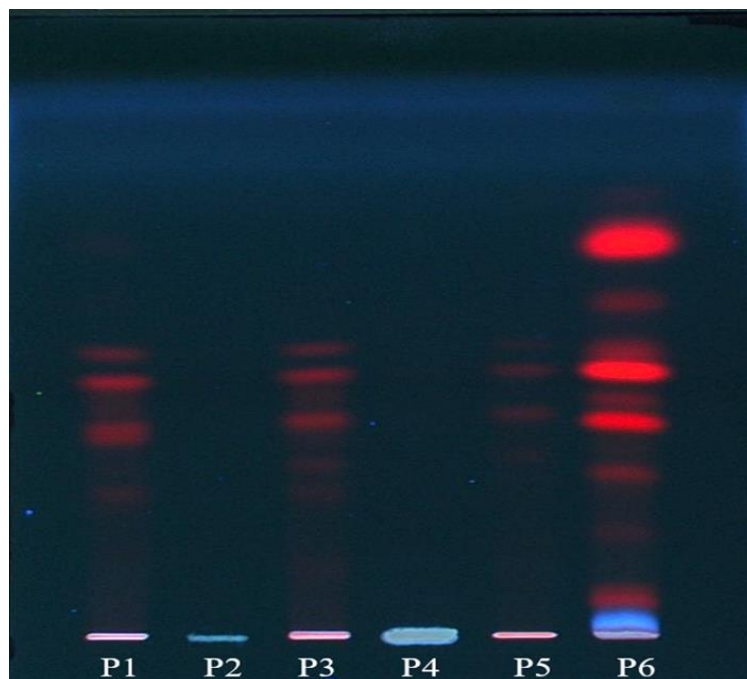


Figura 3.1 Separarea prin cromatografie pe strat subțire (TLC) în lumină UV la 366 nm în fază salivară (P1), în fază gastrică (P2), extract etanolic gastric (P3), în fază intestinală (P4), extract etanolic intestinal (P5) și extract etanolic nedigerat (P6).

Profilul clorofilelor și carotenoidelor în timpul digestiei gastrice și intestinale prin analiza imaginii separării la 366 nm arată că cea mai mare cantitate de compuși se găsește în proba nedigerată (P6), urmată de extractele etanolice din materialul solid rezidual rezultat din digestia salivara (P1), digestia gastrică (P3) și digestia intestinală (P5). În ceea ce privește fluidele obținute din etapele de digestie gastrică (P2), respectiv intestinală (P4), conținutul de clorofile și carotenoide a scăzut astfel încât compușii nu au mai putut fi detectați prin TLC.

3.3.2 Bioaccesibilitatea conținutului total de polifenoli

În ceea ce privește conținutul total de polifenoli, studiile de literatură au raportat interacțiunea acestor fitocompuși cu diferiți constituenți ai matricilor alimentare precum proteine, fibre, lipide, modificându-le structura chimică și afectând în acest fel biodisponibilitatea acestora (Bouayed și colab., 2011). În studiul de față, eliberarea polifenolilor din *Brassica oleracea* în urma digestiei simulate a fost realizată în principal în timpul etapei gastrice (Tabelul 3.2).

Din datele experimentale se poate observa că polifenolii din brocoli sunt mai stabili la modificările pH-ului și activităților enzimatică (pepsină și pancreatină) în timpul digestiei GI decât clorofilele și carotenoidele. Rezultatele acestui studiu evidențiază faptul că bioaccesibilitatea polifenolilor din *Brassica oleracea* este strâns legată de transformările care au loc în timpul procesului de digestie.

3.3.3 Modificări ale capacității antioxidante în timpul digestiei simulate

Capacitatea antioxidantă a probelor a scăzut în urma digestiei *in vitro* în comparație cu probele nedigerate (Tabelul 3.2). Capacitatea antioxidantă prezintă un comportament similar cu cel al fitocompușilor determinați, indicând faptul că aceasta ar putea fi atribuită prezenței acestora. Capacitatea antioxidantă scăzută la sfârșitul procesului de digestie ar putea fi asociat cu stabilitatea scăzută a acestor fitocompuși (Gayoso et al., 2016).

În concluzie, studiul bioaccesibilității fitocompușilor din brocoli joacă un rol important deoarece numai compușii eliberați din matricea solidă a plantei ca urmare a procesului de digestie vor fi ulterior biodisponibili pentru absorbție. Rezultatele indică faptul că digestia simulată determină scăderea conținutului total de carotenoide și clorofile din *Brassica oleracea*, precum și conținutul total de polifenoli și capacitatea antioxidantă. Toate modificările au fost statistice semnificative ($p < 0,05$), cu excepția modificării conținutului de carotenoide în timpul digestiei intestinale. Rezultatele experimentale au evidențiat o ușoară scădere a conținutului de polifenoli după etapele gastrice și intestinale, indicând un nivel mai ridicat de biodisponibilitate a acestor compuși în comparație cu carotenoidele și clorofilele; astfel, *Brassica oleracea* rămâne o sursă importantă de compuși cu proprietăți antioxidante.

4. Efectul digestiei gastrointestinale simulate asupra caracteristicilor nutriționale ale fructelor uscate³

Fructele uscate sunt foarte consumate în zilele noastre datorită proprietăților sănătoase pe care le dețin. Pentru a oferi noi informații cu privire la potențialele beneficii pentru sănătate ale fructelor uscate, acest capitol studiază determinarea efectelor digestiei *in vitro* asupra mineralelor, conținutului total de polifenoli, conținutului total de zaharuri și capacității antioxidante. Determinarea Mg, Ca, Mn, Fe, Cu și Zn a fost efectuată prin spectrometrie de emisie optică cu plasma cuplata inductiv (ICP-OES), în timp ce determinarea Na și K a fost efectuată prin spectrometrie de emisie atomică în flacără (FAES). Metalele toxice au fost determinate prin spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv (ICP-MS). Bioaccesibilitatea acestor compuși a fost evaluată și prin analiză statistică multivariată. Această cercetare oferă informații și cu privire la studiul fructelor uscate ca alimente funcționale.

4.3.1 Validarea metodelor ICP-OES, ICP-MS și FAES

LOD-urile din probele solide au fost calculate luând în considerare protocolul de preparare a probei pentru determinarea fracției totale și bioaccesibile (Tabelul 4.4).

Tabelul 4.4 Limitele de detecție în ICP-OES, ICP-MS și FAES pentru determinarea multielementală în fructele uscate.

Determinare	Metode													
	ICP-OES						ICP-MS						FAES	
	Mg	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn	La fel de	CD	Co	Hg	Pb	Ni	N / A	K
Lichid (ng/ml)	0,50	0,50	0,60	0,20	3.3	3.5	0,0006	0,02	0,02	0,04	0,10	0,06	100	20
Solid (total) (μg/kg)	50	50	60	20	330	350	0,06	2	2	4	10	6	100000	2000
Gastric (μg/kg)	1	1	1	0,4	6.6	7.0	-	-	-	-	-	-	200	40
Intestinal (μg/kg)	2	2	2	0,8	13.2	14.0	-	-	-	-	-	-	400	80

4.3.2 Caracterizarea probelor de fructe uscate

³ Acest capitol a fost publicat în Scrob și colab., 2022a

Tabelul 4.5 Compoziția elementală (mg/kg db) a celor 24 de probe de fructe uscate studiate. Bioaccesibilitatea in etapa gastrică (Bioaccesibilitatea _(G)) și etapa gastrointestinală (Bioaccesibilitatea _(GI)) sunt exprimate în procente (%). Co și Cd sunt < LOD în toate probele.

Probă	Na	K	Mg	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn	As	Pb	Ni	Hg
Curmale (D)												
Min.	2074	33357	426	333	4,82	8,06	9,76	16,5	0,00018	0,149	0,478	0,0085
Max.	3092	36503	610	820	7,48	27,2	18,0	38,0	0,0173	0,481	0,664	0,0747
Media	2427	35575	524	550	6,02	18,3	12,6	26,5	0,0112	0,268	0,580	0,0260
CI ^b	983	3202	213	463	2,95	16,9	8,17	24,7	0,0176	0,314	0,171	0,0680
Mediana	2271	36220	529	522	5,88	19,0	11,4	25,7	0,0140	0,221	0,590	0,0125
Bioaccesibilitate _(G)	48,5	59,5	42,5	51,6	65,3	12,7	4,10	<	c	c	c	c
Bioaccesibilitate _(GI)	20,3	34,2	36,6	40,1	<	2,65	<	<	c	c	c	c
Stafide (R)												
Min.	2302	25866	303	555	5,22	29,6	9,08	10,1	0,0151	0,144	0,314	0,0086
Max.	6555	32345	397	632	6,34	73,3	10,5	14,7	0,0354	0,862	0,371	0,0168
Media	3931	29671	345	608	5,63	43,6	9,85	12,1	0,0280 ^a	0,397	0,350	0,0100
CI ^b	4156	5880	84,9	75,8	1,12	20,0	1,38	4,96	0,0240	0,336	0,0540	0,0083
Mediana	3432	30235	339	621	5,47	35,7	9,92	11,75	0,0350	0,291	0,358	0,008
Bioaccesibilitate _(G)	54,3	66,1	53,8	28,8	50,0	27,7	11,3	2,39	c	c	c	c

Bioaccesibilitate (GI)	24,8	74,2	51,9	29,2	37,6	10,2	<	<	c	c	c	c
Nucă de cocos (K)												
Min.	2058	17247	554	92,1	17,1	24,2	11,7	16,4	0,0021	0,0503	0,357	-
Max.	2869	19100	861	162	23,7	31,6	16,2	19,7	0,0397	0,252	3,17	-
Media	2480	18056	713	123	20,3	28,1	12,8	18,8	0,0209 ^a	0,131 ^a	1,63	0,0096 ^a
CI ^b	714	1648	273	76,3	6,08	6,51	5,29	3,50	0,0572	0,228	3,08	0,0000
Mediana	2496	17938	718	119,3	20,1	28,4	12,3	19,6	0,0209	0,0931	1,51	0,0096
Bioaccesibilitate (G)	74,1	58,8	47,7	75,2	92,5	26,2	16,7	12,7	c	c	c	c
Bioaccesibilitate (GI)	51,1	37,3	33,4	50,3	3,27	43,8	20,1	<	c	c	c	c
Merișoare (C)												
Min.	3003	10055	35,7	72,6	2,80	2,47	4,34	2,73	0,0011	-	0,130	0,0086
Max.	4013	11784	53,7	94,5	3,51	4,52	5,21	3,72	0,0396	-	0,269	0,0260
Media	3455	10619	43,3	78,1	3,20	3,56	4,88	3,17	0,0124	-	0,183	0,0160
CI ^b	898	1849	18,3	24,2	0,676	1,81	0,866	0,887	0,0380	-	0,129	0,0212
Mediana	3402	10398	41,8	74,2	3,25	3,63	5,00	3,12	0,0053	0,0520	0,168	0,0170
Bioaccesibilitate (G)	46,8	68,5	53,9	74,3	17,5	9,36	<	<	c	c	c	c

Bioaccesibilitate (GI)	24,1	40,8	42,3	61,9	7,55	6,53	<	<	c	c	c	c
Prune uscate (P)												
Min.	10528	17923	262	523	2,86	5,73	5,11	9,43	0,0154	0,145	0,218	-
Max.	20791	33586	337	634	5,26	13,7	7,63	24,7	0,0542	0,391	0,653	-
Media	15618	24065	300	520	3,91	9,66	6,39	16,3	0,0373 ^a	0,261	0,367	-
CI ^b	9050	15347	81,2	217	2,38	7,17	2,85	16,3	0,0432	0,280	0,419	-
Mediana	15576	22376	301	529	3,77	9,62	6,41	15,6	0,0430	0,255	0,300	0,0070
Bioaccesibilitate (G)	53,5	72,3	56,3	31,4	57,9	12,4	10,4	17,9	c	c	c	c
Bioaccesibilitate (GI)	39,0	53,0	38,4	25,0	36,2	9,35	39,7	<	c	c	c	c
Banane uscate (B)												
Min.	4758	22335	547	157	6,67	4,89	4,81	9,54	0,00021	0,0426	0,275	-
Max.	7857	26483	610	183	17,4	10,5	5,72	15,6	0,0020	0,195	0,937	-
Media	5802	23768	577	165	10,5	6,39	5,27	11,5	0,00065	0,0850	0,494	0,0090 ^a
CI ^b	3002	4528	61,8	26,4	10,2	4,56	0,809	6,00	0,0019	0,159	0,660	0,0000
Mediana	5295	23165	575	159	9,01	7,38	5,29	10,4	0,00021	0,0525	0,383	0,0090

Bioaccesibilitate (G)	77,0	72,0	39,9	21,6	33,4	34,4	5,26	13,7	c	c	c	c
Bioaccesibilitate (GI)	55,1	46,3	25,7	17,0	11,0	16,7	43,7	<	c	c	c	c

Valorile sunt prezentate ca medie pentru 4 probe și 3 măsurători paralele pentru fiecare probă.

^a Calculat fără valori sub limita de detecție (LOD).

^b Interval de încredere (IC) (95%, n=4).

^c Metalele toxice nu au fost luate în considerare pentru măsurătorile de bioaccesibilitate.

db: bază uscată

a) Minerale esențiale și metale toxice

Concentrațiile totale de Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Co, As, Pb, Cd, Ni și Hg, exprimate ca medie a trei măsuratori, sunt redată în Tabelul 4.5. În toate cazurile, valorile acceptabile pentru erorile între măsurători (RSD) au fost mai mici de 10,0%.

Conform rezultatelor obținute pentru conținutul total, se poate concluziona că K este cel mai abundent macronutrient, în timp ce dintre microelemente, Zn și Fe sunt prezente într-o concentrație mai mare. Concentrații mari de K au fost raportate și în alte tipuri de fructe de către Perreira și colab., (2015). Concentrațiile elementare au scăzut în următoarea ordine: $K > Na > Ca > Mg > Zn > Fe > Cu > Mn$, pentru curmale și prune uscate; $K > Na > Mg > Ca > Fe > Zn > Cu > Mn$ în cazul stafidelor; $K > Na > Mg > Ca > Fe > Zn > Mn > Cu$, pentru nuca de cocos; $K > Na > Ca > Mg > Cu > Fe > Mn > Zn$, pentru merisoare; $K > Na > Mg > Ca > Zn > Mn > Fe > Cu$, pentru banane uscate.

Prezente în concentrații mari, metalele toxice precum Co, As, Pb, Cd, Ni și Hg pot avea ca rezultat diferite efecte adverse asupra sănătății. De exemplu, acumularea de cadmiu în corpul uman poate afecta sistemul pulmonar, renal sau hepatic (Tokalioglu și colab., 2014), în timp ce plumbul este implicat în multe efecte adverse asupra sănătății, inclusiv neurotoxicitatea și nefrotoxicitatea (Gercia-Leston și colab., 2010). Prin urmare, evaluarea potențialelor riscuri pentru sănătate ale metalelor grele din alimente este importantă. Riscul necancerigen al As, Cd, Ni, Co, Pb și Hg din fructele uscate a fost evaluat utilizând coeficientul THQ. THQ-urile metalelor toxice sunt prezentate în Figura 4.2.

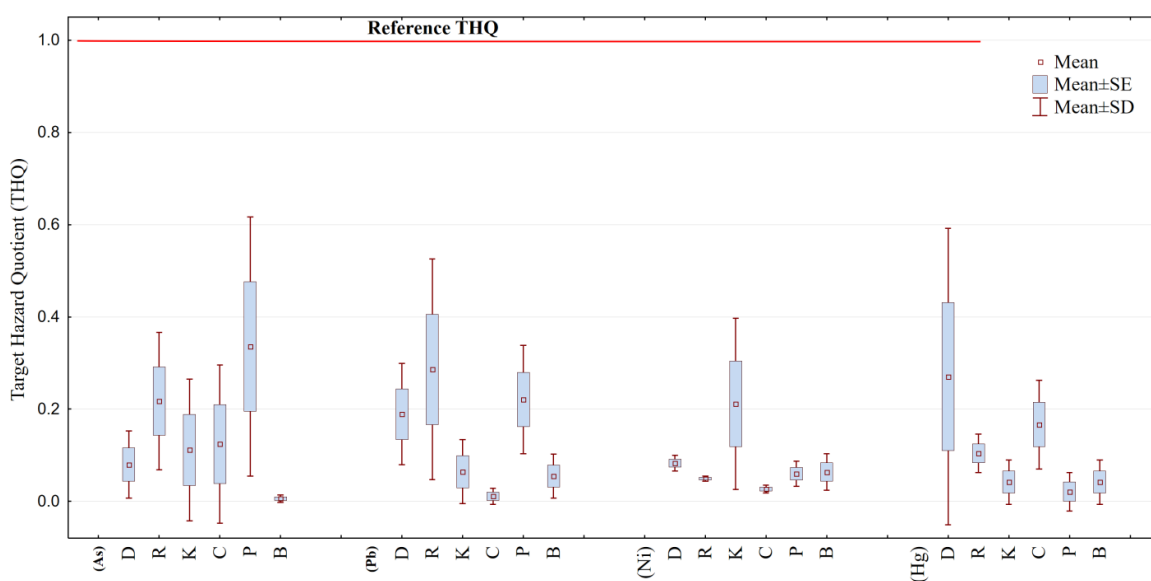


Figura 4.2 Gradul de expunere la risc în cazul As, Pb, Ni și Hg prin consumul moderat de fructe uscate: D - curmale; R - stafide; K - nuca de cocos; C – merisoare; P - prune uscate; B – banane uscate. Cd și Co sunt < LOD în toate probele.

Valoarea THQ a fiecărui metal este mult mai mică decât 1, ceea ce sugerează că consumul de fructe uscate nu prezintă un pericol pentru sănătate. Riscul cumulativ a fost, de asemenea, evaluat și exprimat ca THQ total (TTHQ). Rezultatele obținute au o valoare semnificativă în special pentru vegetarieni. Din cauza valorilor scăzute obținute în probele nedigerate și pentru că nu reprezintă un potențial risc pentru sănătate, As, Cd, Ni, Co, Pb și Hg nu au fost luate în considerare în măsurătorile de bioaccesibilitate.

b) TPC, TSC și AC din fructele uscate

Rezultatele experimentale pentru TPC, TSC și AC obținute înainte de digestia *in vitro* sunt prezentate în Tabelul 4.6. Dintre fructele uscate studiate, stafidele conțin cea mai mare cantitate de TPC, urmate de merișoare, curmale, prune uscate și banane uscate. Cel mai scăzut TPC dintre fructele uscate testate se găsește în nuca de cocos. Rezultatele obținute sunt în concordanță cu cele raportate de alți autori (Ishiwata și colab., 2004; Wu și colab., 2004).

TSC a variat în toate fructele uscate analizate. Curmalele sunt fructele cu cel mai mic conținut de zaharuri. Cea mai mare concentrație de zaharuri se găsește în bananele uscate (Tabelul 4.6). Acest fapt ar putea fi atribuit zahărului și mierii adăugate de producători acestor fructe, așa cum este specificat pe etichetă. În plus, uscarea fructelor crește semnificativ concentrația de solide (Chang și colab., 2016) iar acest lucru poate fi corelat și cu conținutul ridicat de zahăr. Prunele și merișoarele reprezintă și ele o sursă mare de zaharuri, după banane. Toate tipurile de merișoare utilizate în acest studiu au conținut de zahăr adăugat și acest fapt ar putea fi corelat cu conținutul ridicat de zaharuri obținut. Deși prunele nu conțin zahăr adăugat, ele reprezintă o sursă importantă de zaharuri naturale, precum fructoza și glucoza.

4.3.3 Digestia GI *in vitro* a fructelor uscate

a) Bioaccesibilitatea elementelor esențiale

În general, determinarea conținutului total de elemente dintr-un produs nu este suficientă pentru evaluarea valorii nutriționale reale și sunt necesare studii de bioaccesibilitate. Determinarea bioaccesibilității elementelor esențiale joacă un rol important, deoarece aceste elemente sunt implicate într-o varietate de funcții biologice. Bioaccesibilitatea (%) elementelor esențiale după digestia gastrică și gastrointestinală sunt redată în Tabelul 4.5. Variațiile conținutului de elemente esențiale în timpul digestiei gastrointestinale *in vitro* sunt prezentate în Figura 4.3.

Tabelul 4.6 TPC (mg acid galic/g db), TSC (mg D-glucoză/g db), AC_{ABTS} (μmol Trolox/g db), AC_{DPPH} (μmol Trolox/g db) și AC_{DPPH} (mg acid ascorbic/ g db) la cele 24 de probe de fructe uscate studiate. Bioaccesibilitatea în etapa gastrică (Bioaccesibilitatea_(G)) și etapa gastrointestinală (Bioaccesibilitatea_(GI)) sunt exprimate în procente (%).

Probă	TPC	TSC	AC _{ABTS}	AC _{DPPH}	AC _{FRAP}	Probă	TPC	TSC	AC _{ABTS}	AC _{DPPH}	AC _{FRAP}
Curmale (D)						Merișoare (C)					
Min.	0,625	2042	2,05	1,38	0,310	Min.	1,43	5770	5,02	2,36	0,215
Max.	3,95	2875	5,57	2,45	0,483	Max.	3,05	14220	7,48	3,06	0,267
Media	1,92	2348	3,63	1,99	0,381	Media	2,04	9116	6,34	2,70	0,242
CI ^a	4,00	886	3,13	0,540	0,0160	CI ^a	2,00	10242	4,19	0,596	0,0030
Mediana	1,55	2237	3,44	2,07	0,366	Mediana	1,85	8238	6,43	2,70	0,243
Bioaccesibilitate _(G)	42,3	109	265	103	203	Bioaccesibilitate _(G)	27,5	23,7	46,1	74,9	66,8
Bioaccesibilitate _(GI)	62,2	193	401	87,7	172	Bioaccesibilitate _(GI)	63,2	60,0	202	182	100

Stafide (R)						Prune uscate (P)					
Min.	1,30	2429	0,889	2,19	0,117	Min.	0,804	9265	0,791	1,78	0,128
Max.	3,04	5339	3,88	2,39	0,204	Max.	2,26	13625	1,75	2,89	0,223
Media	2,25	3454	2,36	2,27	0,158	Media	1,60	11595	1,40	2,39	0,160
CI ^a	2,00	3536	2,03	0,115	0,0030	CI ^a	1,00	2763	0,344	0,642	0,0000
Mediana	2,33	3024	2,33	2,25	0,155	Mediana	1,67	11746	1,54	2,44	0,145
Bioaccesibilitate (G)	110	104	255	66,9	299	Bioaccesibilitate (G)	152	10.3	589	189	801
Bioaccesibilitate (GI)	112	121	2074	88.3	234	Bioaccesibilitate (GI)	209	26.0	1412	381	818
Nucă de cocos (K)						Banane uscate (B)					
Min.	0,241	7494	0,0466	0,868	0,0596	Min.	0,445	12653	1.30	0,952	0,110
Max.	0,485	9424	0,744	1.06	0,0970	Max.	0,665	19280	2,78	1,65	0,172
Media	0,360	8096	0,239	0,945	0,0740	Media	0,549	16770	1,74	1.32	0,139
CI ^a	0,0000	1989	0,0460	0,0481	0,0000	CI ^a	0,0000	6791	2.00	0,223	0,0000

Mediana	0,358	7732	0,0840	0,926	0,0690	Mediana	0,543	17574	1,44	1,33	0,137
Bioaccesibilitate (G)	91,0	55,0	3948	46,0	91,7	Bioaccesibilitate (G)	66,8	21,4	189	36,7	35,1
Bioaccesibilitate (GI)	195	139	26792	406	371	Bioaccesibilitate (GI)	123	50,0	775	62,3	57,5

Valorile sunt prezentate ca medie pentru 4 probe și 3 măsurători paralele pentru fiecare probă.

^a Interval de încredere (IC) (95%, n=4).

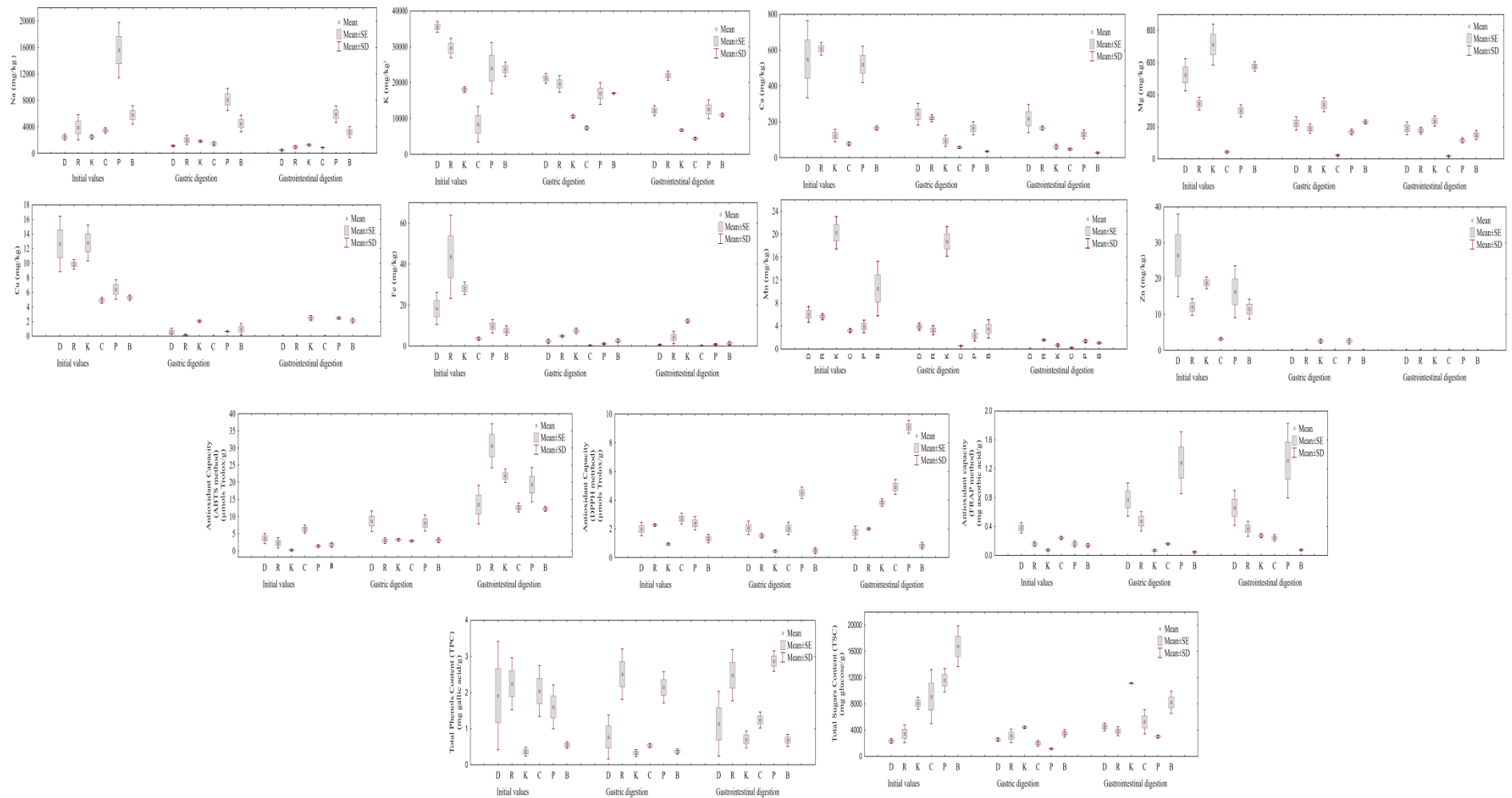
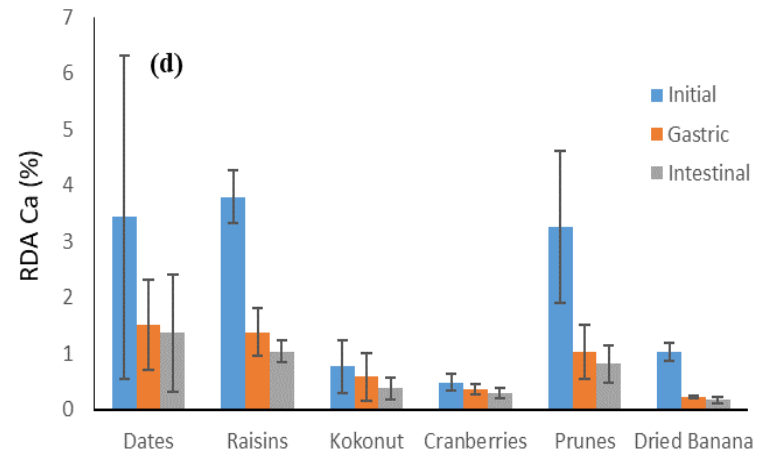
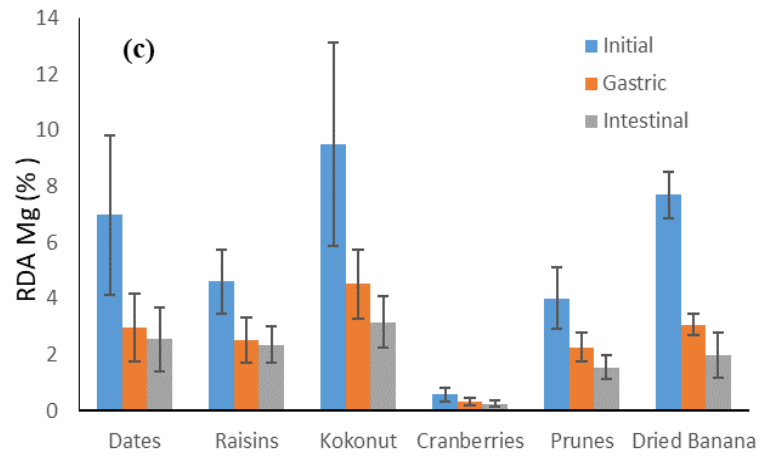
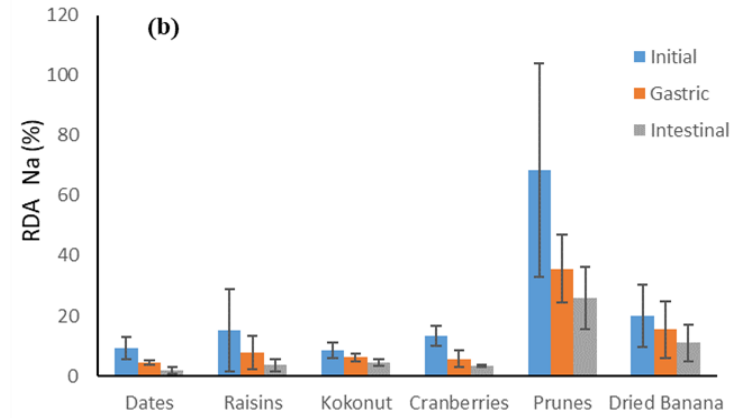
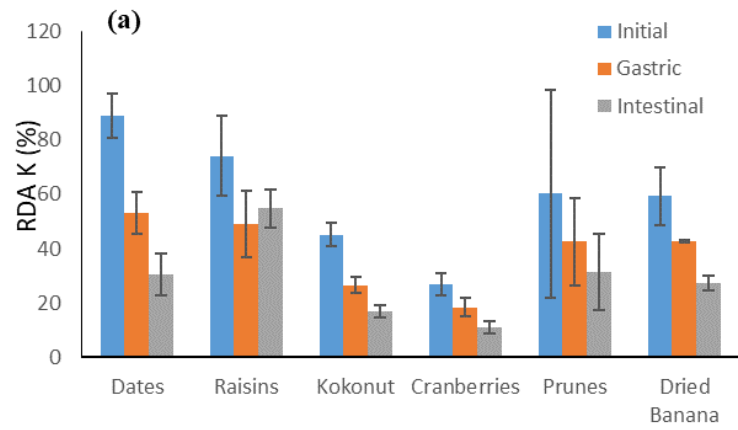


Figura 4.3 Concentrația elementelor esențiale: (a)-K, (b)-Na, (c)-Ca, (d)-Mg, (e)-Cu, (f)-Fe, (g)-Mn, (h)-Zn în probele de fructe uscate înainte de digestie și după etapele de digestie gastrică (G) și gastrointestinală (GI)

Cea mai mare bioaccesibilitate a K după faza GI a fost observată la stafide, variind între 68,17 și 78,84%, în timp ce curmalele reprezintă o sursă mai puțin importantă de K la sfârșitul digestiei, cu valori ale bioaccesibilității cuprinse între 30,64 și 37,12%. Bioaccesibilitatea Mg după digestia gastrointestinală variază între 25,7% (banane uscate) și 51,9% (stafide). În cazul Ca, bioaccesibilitatea variază între 17,0% la banane uscate și 62,0% în cazul merișoarelor. Fe, Mn și Zn au valori ale bioaccesibilității mult mai mari în etapa gastrică comparativ cu etapa gastrointestinală. Zn are cea mai scăzută bioaccesibilitate dintre toate fructele și după etapa GI, concentrația sa este sub LOD pentru toate probele. Din punct de vedere statistic, elementele Mg, Fe, Cu și Zn se găsesc într-o concentrație semnificativ mai mică (test t, $p < 0,05$) atât după digestia G, cât și după digestia GI.

b) Contribuția consumului de fructe uscate la doza zilnică recomandată (RDA) a elementelor esențiale

Elementele esențiale prezente în probele de fructe uscate nu sunt complet eliberate în timpul digestiei *in vitro*, unele dintre ele prezentând niveluri scăzute de bioaccesibilitate. Prin urmare, la estimarea aportului alimentar este important să nu se țină cont de conținutul total de elemente, ci de conținutul obținut după digestie. Regulamentul (UE) Nr. 1169/2011 a stabilit că un aport semnificativ de minerale și micronutrienți necesită o valoare de cel puțin 15% RDA furnizat într-o singură porție. Contribuțiile %RDA dintr-o porție zilnică de 50 g de fructe uscate obținute după etapele de digestie sunt prezentate în Figura 4.4. Se poate observa că fructele uscate pot fi considerate surse importante de elemente esențiale precum K, Na, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu și Zn, luând în considerare concentrația totală de metale. Cu toate acestea, luând în considerare bioaccesibilitatea, valorile RDA sunt reduse. Cu excepția merișoarelor, toate fructele uscate analizate rămân o sursă importantă de potasiu în urma digestiei GI (RDA >15%). Consumul a 50 g de stafide furnizează aproximativ 63,6% din cantitatea de K necesară, urmate de prune uscate (31,33% RDA), curmale (30,5% RDA), banane uscate (27,4% RDA) și nucă de cocos (16,8% RDA). Valorile obținute dovedesc o importanță deosebită a fructelor uscate în alimentație, deoarece potasiul este un element esențial pentru sănătate. În ceea ce privește sodiul, rezultatele reflectă contribuții importante în cazul bananelor uscate, nucii de cocos, merișoarelor uscate, stafidelor și curmalelor. Astfel de valori sunt promițătoare și dovedesc o importanță deosebită a fructelor uscate în alimentație, deoarece sodiul este un element esențial pentru sănătate.



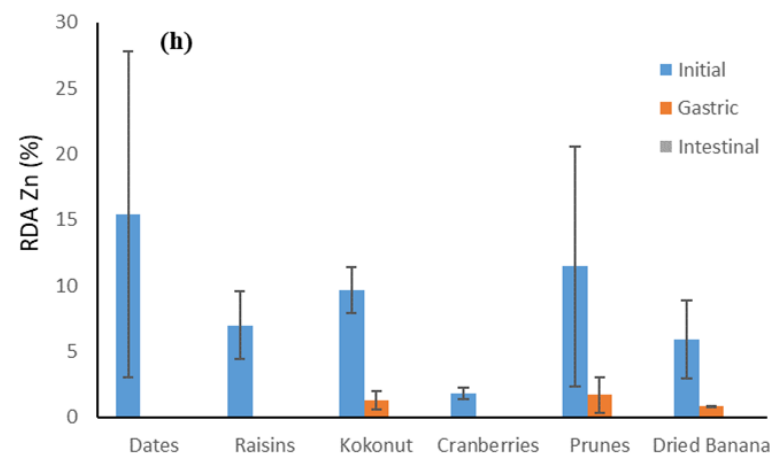
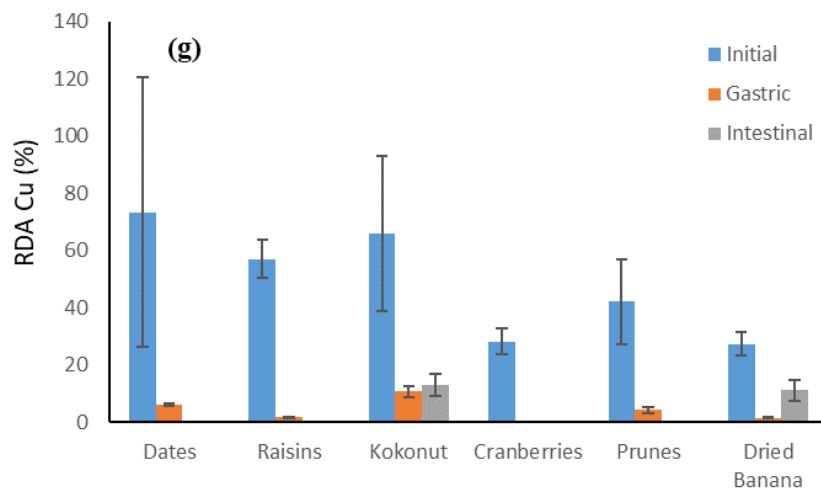
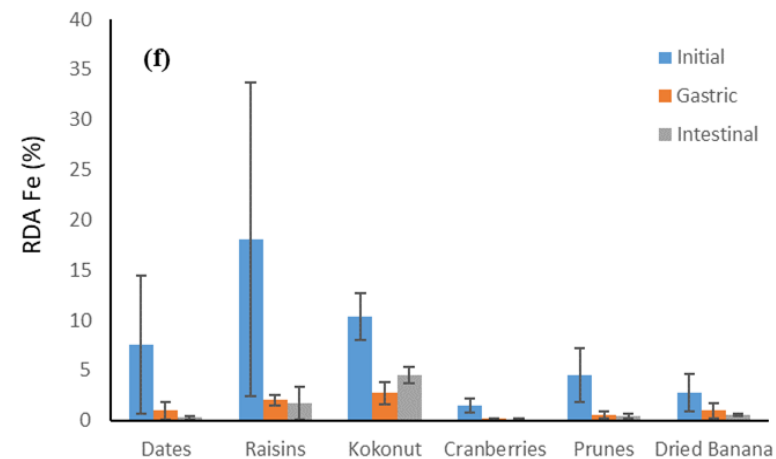
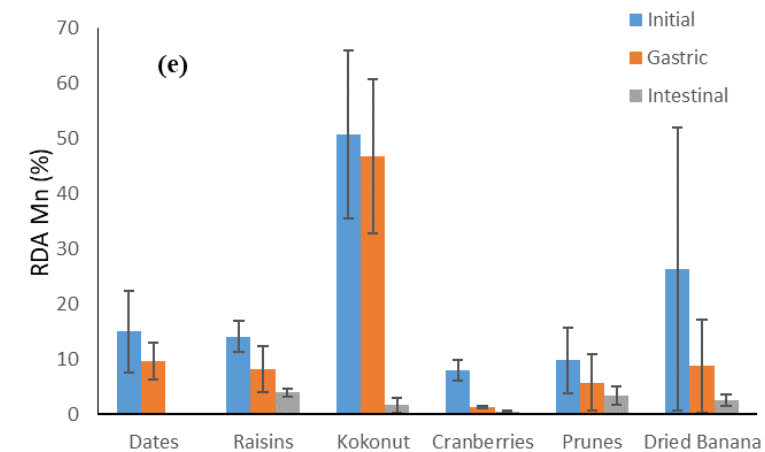


Figura 4.4 Contribuțiile % RDA ale K (a), Na (b), Mg (c), Ca (d), Mn (e), Fe (f), Cu (g), Zn (h) dintr-o porție zilnică de 50g de fructe uscate în diferite etape ale digestiei *in vitro* .

c) *Bioaccesibilitatea conținutului total de polifenoli și zaharuri*

Numeroase studii prezintă rezultate cu privire la conținutul total de polifenoli din fructe, însă puține fac referire și la bioaccesibilitatea acestora (Saura-Calixto și colab., 2007). Figura 4.5 prezintă conținutul total de polifenoli determinat în probele de fructe uscate înainte de digestie și în urma fiecărei etape de digestie.

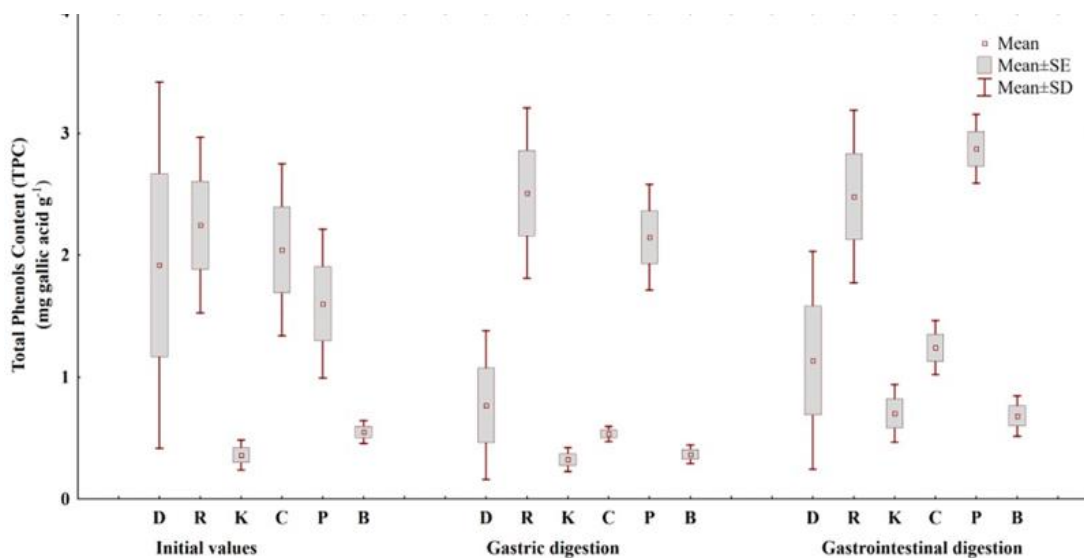


Figura 4.5 Conținutul total de polifenoli determinat în probele de fructe uscate înainte de digestie și după etapele de digestie gastrică și gastrointestinală.

Merișoarele și curmalele prezintă cea mai scăzută bioaccesibilitate gastrică dintre fructele uscate. După ambele etape de digestie gastrică și intestinală, conținutul de polifenoli a crescut în comparație cu conținutul gastric (Figura 4.6).

Cea mai mare bioaccesibilitate GI a polifenolilor a fost observată în cazul prunelor uscate, nucii de cocos și bananelor uscate. Curmalele și merișoarele prezintă un nivel de bioaccesibilitate GI mai scăzut (Tabelul 4.5). Niveluri ridicate de bioaccesibilitate GI au fost raportate și de alți autori (Kamiloglu și colab., 2014). Acest fapt ar putea fi atribuit unui timp mai lung de digestie comparativ cu etapa gastrică. În plus, digestia intestinală este realizată în prezența mai multor enzime digestive, ceea ce favorizează eliberarea nutrienților din matricea solidă (Kamiloglu și colab., 2014).

Modificările TSC în timpul fiecărei etape a digestiei GI sunt prezentate în Figura 4.7. S-a constatat că zaharurile se eliberează preponderent în etapa GI și în cantități mai mici în etapa gastrică. Prunele uscate, bananele uscate și merișoarele prezintă o bioaccesibilitate gastrică mai mică de 50% (Tabelul 4.5). Nuca de cocos prezintă o bioaccesibilitate puțin mai mare (55,0%). Bioaccesibilitatea scăzută în etapa gastrică poate

fi explicata prin prezența polifenolilor atașați de moleculele de zaharuri (Coe și colab., 2013). Variațiile TSC sunt statistic semnificative (test t, $p < 0,05$, Tabelul 4.7) pentru probele de merișoare, prune uscate și banane.

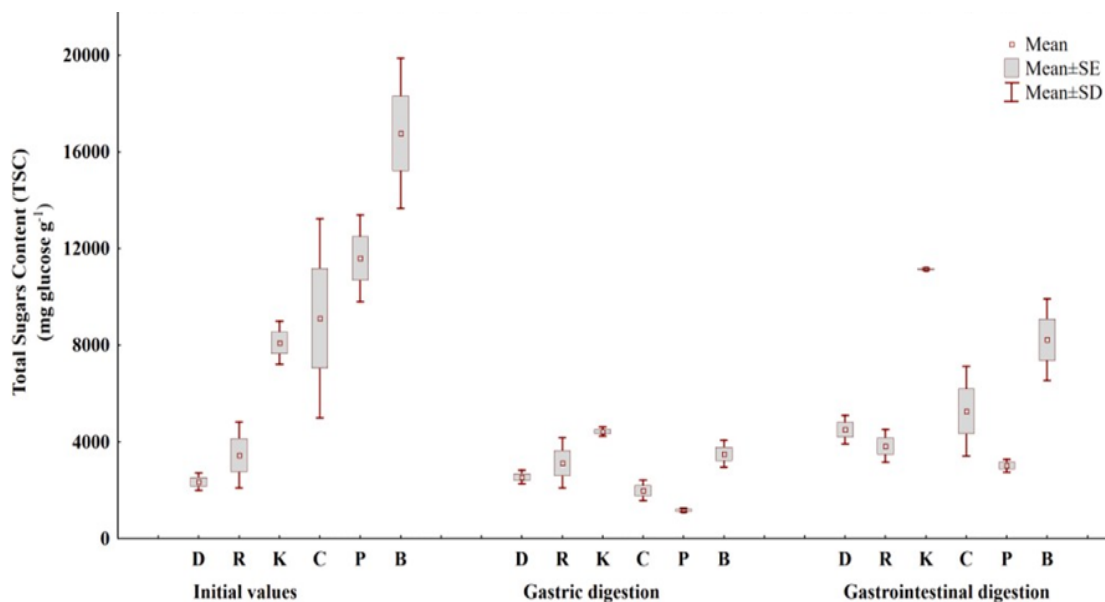


Figura 4.7 Concentrația conținutului total de zaharuri (TSC) în probele de fructe uscate înainte de digestie și după etapele de digestie gastrică (G) și gastrointestinală (GI).

d) Modificări ale AC în timpul digestiei *in vitro*

Capacitatea antioxidantă s-a determinat folosind trei metode diferite, și anume ABTS, DPPH și FRAP. Bioaccesibilitatea compușilor cu acțiune antioxidantă determinată prin aceste metode este prezentată în Tabelul 4.5, putându-se observa un comportament diferit al antioxidantilor în funcție de metoda utilizată.

AC_{ABTS} a crescut semnificativ (testul t, $p < 0,05$, Tabelul 4.7) în cazul tuturor fructelor uscate după digestia *in vitro* GI. Acest lucru indica faptul că antioxidanții prezenți în fructele uscate au capacitatea de a elimina radicalii liberi $ABTS \cdot^+$ în timpul digestiei. În urma digestiei GI, AC_{ABTS} a crescut semnificativ în cazul tuturor probelor, în special în cazul nucii de cocos și al stafidelor. Compușii antioxidanți prezenți în fructele uscate prezintă valori mai scăzute ale bioaccesibilității prin metodele DPPH și FRAP, comparativ cu metoda ABTS (Figura 4.10). Rezultatele obținute sugerează necesitatea folosirii mai multor metode de determinare a capacității antioxidante.

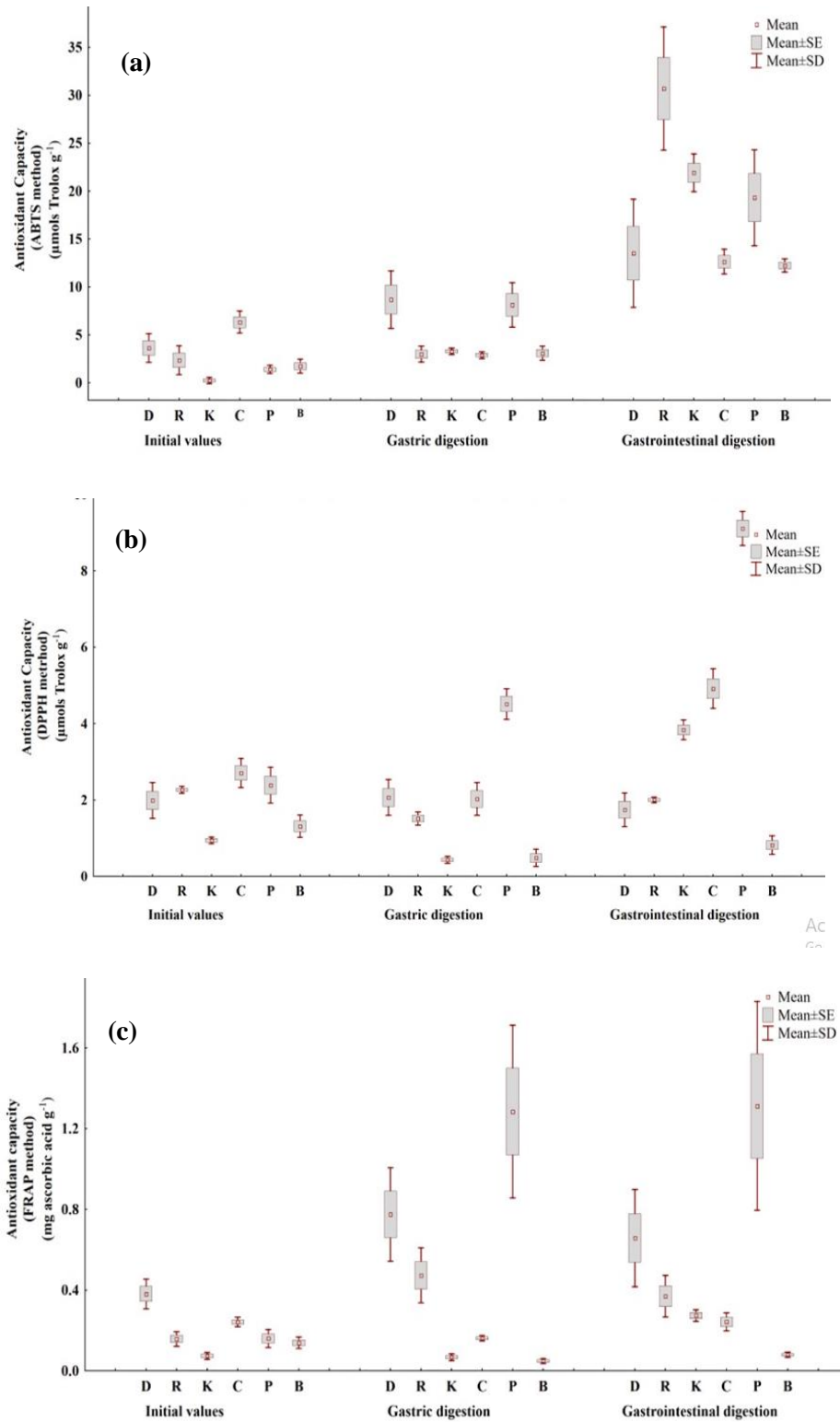


Figura 4.10 AC determinată prin metodele ABTS (a), DPPH (b) și FRAP (c) în probele de fructe uscate înainte de digestie și după etapele de digestie gastrică (G) și gastrointestinală (GI).

4.3.4 Evaluarea statistică a proprietăților nutriționale și funcționale ale fructelor uscate

Pentru a evidenția proprietățile fructelor uscate în timpul procesului de digestie, s-a aplicat analiza componentelor principale (PCA) și harta termică. Graficele hărții termice care ordonează variabilele pe baza modelelor de similaritate sunt prezentate în Figura 4.11. Graficele cu scorul PCA sunt redată în Figura 4.12.

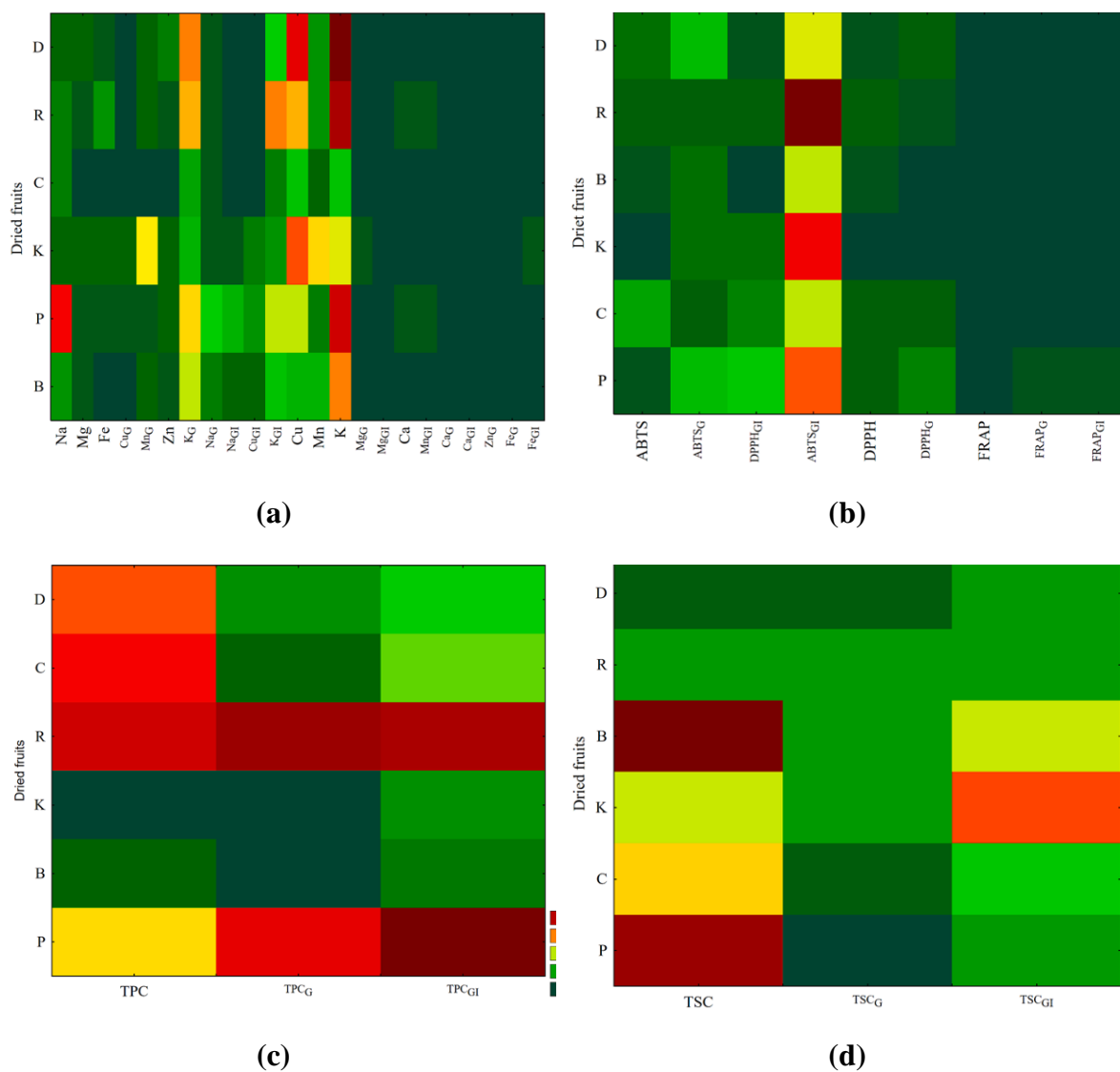


Figura 4.11 Hărți termice ce descriu variația: (a) elementelor esențiale; (b) AC; (c) TPC și (d) TSC.

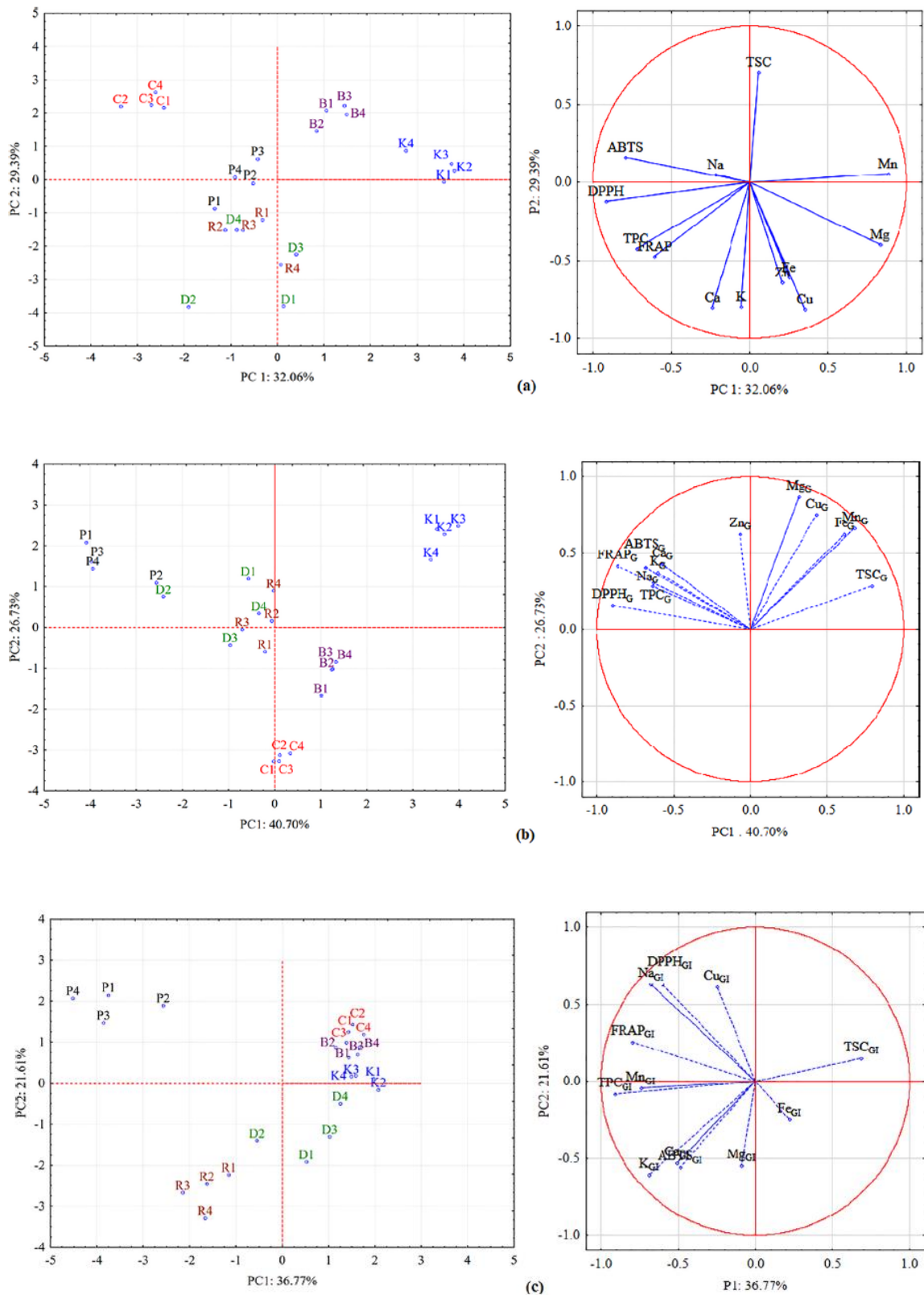


Figura 4.12 Graficul scorului PCA: a) înainte de digestie; b) după digestia G; c) după digestia GI.

În concluzie, în urma digestiei GI se observă modificări pentru toate elementele esențiale studiate. Fructele uscate studiate reprezintă o sursă bună de minerale precum Na, K, Mg, Fe, Mn și Cu, prezentând niveluri medii de bioaccesibilitate pentru aceste elemente, cu excepția Zn, care a prezentat cea mai scăzută bioaccesibilitate. De asemenea, s-a demonstrat ca fructele uscate nu prezintă risc cancerigen (THQ<1). Prunele, nuca de cocos, bananele uscate și stafidele reprezintă surse importante de polifenoli, prezentând un nivel de bioaccesibilitate ridicată după digestie. În urma simulării *in vitro* a digestiei, AC a crescut în cazul majorității fructelor uscate; prin urmare, fructele uscate reprezintă o alegere sănătoasă în prevenirea unor boli corelate cu stresul oxidativ. Deși rezultatele obținute în urma digestiei GI *in vitro* nu pot simula în mod direct condițiile *in vivo*, aceste rezultate au importanță în elaborarea unor studii epidemiologice sau investigarea bioaccesibilității fitocompușilor din alte surse.

5. Cinetica de degradare a vitaminei C, antocianilor, polifenolilor și zaharurilor reducătoare din diferite gemuri de merișoare⁴

Merișoarele (*Vaccinium vitis-idaea*) sunt considerate o sursă bogată de fitocompuși, dar din cauza faptului că sunt perisabile, cel mai adesea sunt folosite sub formă de gemuri, siropuri sau alte derivate. Acest capitol descrie modificările apărute în timp în conținutul de antociani, vitamina C, polifenoli, zaharuri reducătoare și capacitatea antioxidantă a gemurilor de merișoare. Gemurile au fost preparate cu diferiți îndulcitori naturali sau sintetici: zaharoză, fructoză, eritritol, zahăr brun, zahăr de cocos, stevie, zaharină. Prepararea gemurilor s-a realizat în laborator, după o rețetă tradițională. Nu s-au folosit aditivi sau conservanți în prepararea acestora. Gemurile au fost păstrate la 4°C și 25°C (atât în condiții de lumină, cât și de întuneric), timp de 180 de zile. Vitamina C, antocianii, polifenolii, zaharurile și capacitatea antioxidantă s-au determinat spectrofotometric. S-au determinat constantele de viteză (k) și timpii de înjumătățire ($t_{1/2}$) ale proceselor de degradare. Cinetica de degradare a vitaminei C, TAC, TPC, AC și TSC s-a determinat prin potrivirea datelor experimentale cu diferite modele cinetice teoretice. De asemenea, s-a evaluat efectul îndulcitorilor asupra conținutului total de polifenoli, dar și asupra capacității antioxidante. Rezultatele oferă informații utile în înțelegerea degradării fitocompușilor, contribuind la dezvoltarea de noi produse funcționale.

5.3.1 Variația conținutului de fitocompuși din gemurile de merișoare

a) Vitamina C

Vitamina C prezintă numeroase beneficii pentru sănătate (Zanini și colab., 2018). Această vitamină însă se degradează foarte repede în timp, deoarece este oxidată rapid la acid dehidroascorbic (Sutwal și colab., 2019). Având în considerare cele menționate mai sus, stocarea gemurilor în condiții adecvate este importantă pentru a obține toate beneficiile vitaminei C. Variația conținutului de vitamina C pe parcursul a 180 de zile în diferite condiții este prezentată în Figura 5.1. Se poate observa o scădere semnificativă din punct de vedere statistic a conținutului de vitamina C, iar degradarea acestui compus este influențată de tipul îndulcitorului folosit la prepararea gemurilor.

⁴ Părți din acest capitol au fost publicate în Scrob și colab., 2022c

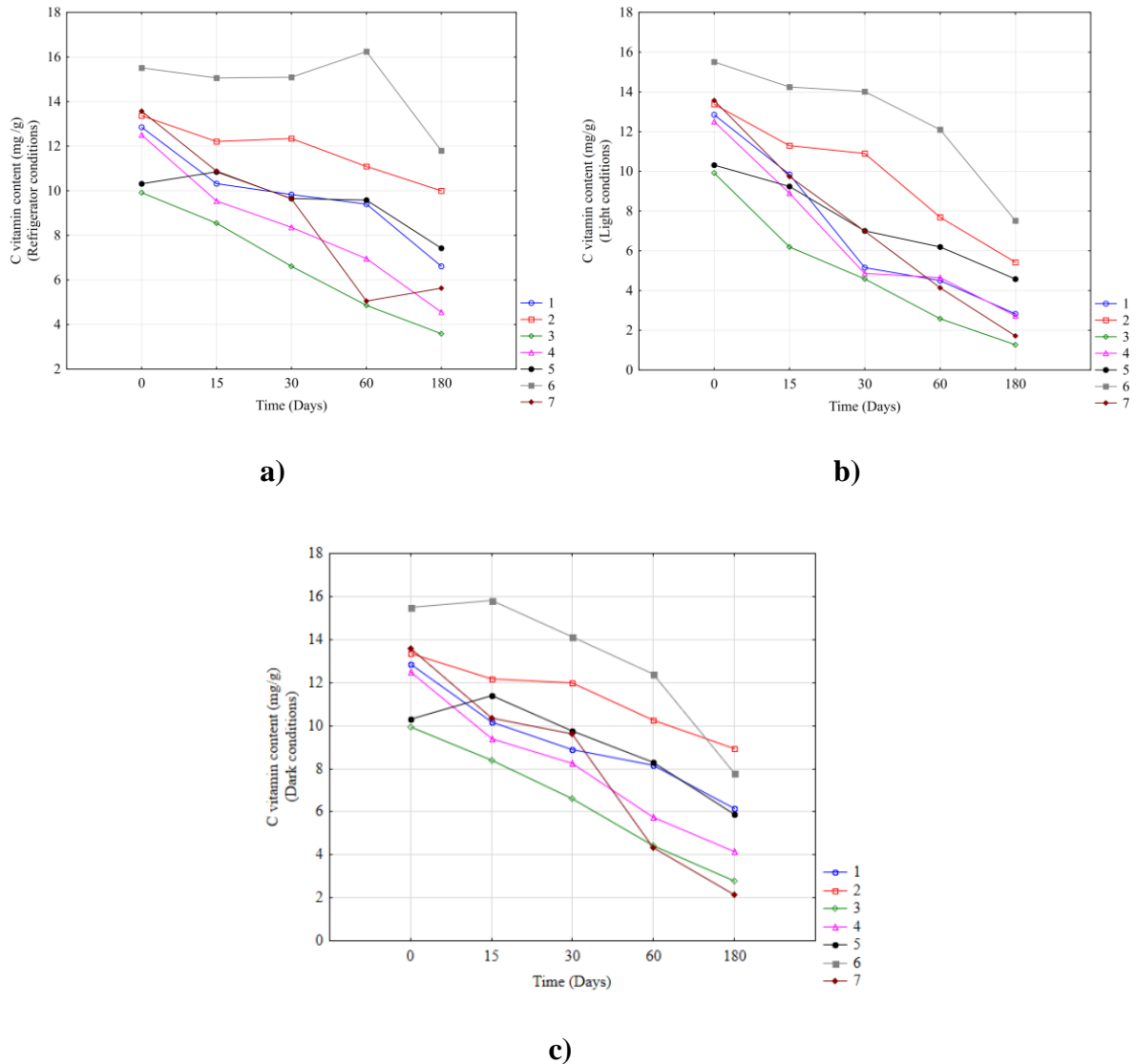


Figura 5.1. Variația conținutului de vitamina C în probele de gemuri pe parcursul a 180 de zile în diferite condiții de păstrare: (a) frigider, (b) lumină și (c) întuneric (1-zahăr; 2-fructoză, 3-eritritol; 4-zahăr brun; 5-zahăr de cocos; 6-stevie; 7-zaharină).

b) Conținutul total de antociani și antociani individuali

Printre fitocompușii prezenți în merisoare, antocianii joacă un rol important. Deși dețin proprietăți antioxidante, aceștia au dezavantajul de a fi sensibili la expunerea la lumină, temperaturi ridicate, acizi etc. (Hou și colab., 2013). Degradarea acestor compusi din merisoare poate fi parțial atribuită reacțiilor indirecte de oxidare sau polimerizare care au loc în timp (Benedek și colab., 2020). S-a constatat că toate probele de gem prezintă o scădere semnificativă a TAC după numai 15 zile în condiții de lumină (Tabelul 5.2). Chiar și în cazul gemurilor păstrate la întuneric s-a determinat o scădere semnificativă a TAC

după 30 de zile. În cazul gemurilor păstrate la frigider, scăderea conținutului total de antociani a devenit semnificativă abia după 60 de zile. Acest fapt indică importanța păstrării gemurilor la temperaturi joase.

Variația concentrației TAC în gemurile de merișoare pastrate pe parcursul a 180 de zile în diferite condiții este prezentată în Figura 5.2. Antocianii s-au degradat în proporție de aproximativ 90% în cazul gemului de merișoare preparat cu zahăr de cocos.

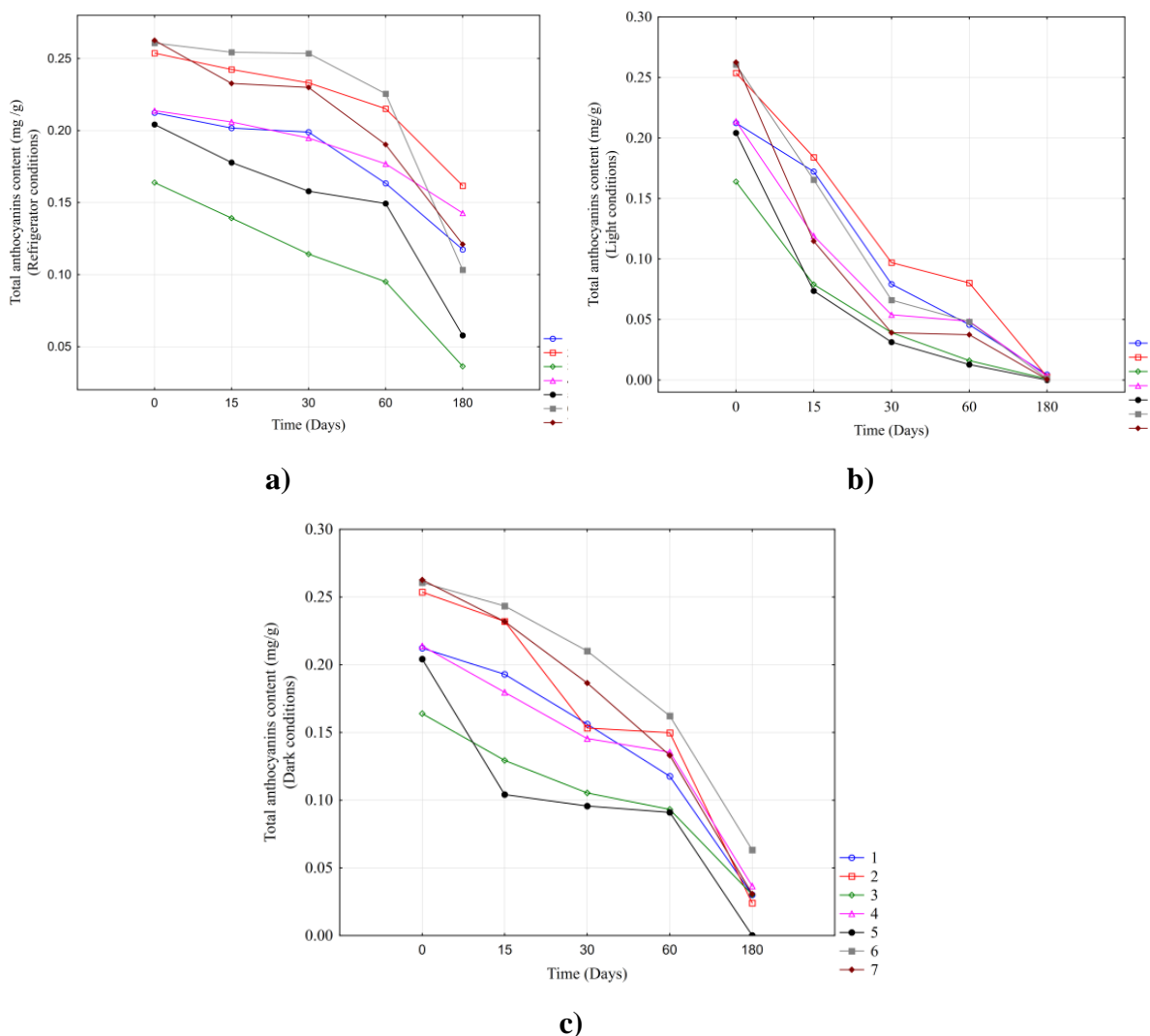


Figura 5.2. Variația TAC în probele de gemuri pe parcursul a 180 de zile în diferite condiții de depozitare: (a) frigider, (b) lumină și (c) condiții de întuneric

În ceea ce privește antocianii individuali, au fost identificați trei compuși principali: cianidin 3-galactozida (1), cianidin 3-glucozida (2) și cianidin 3-arabinozida (3) (Figura 5.3).

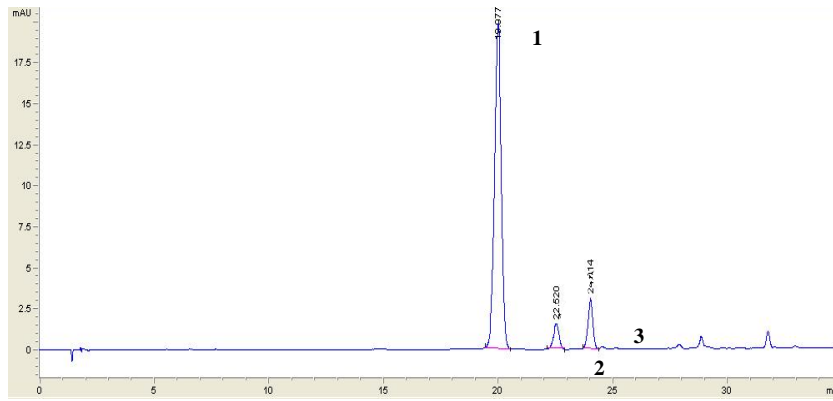
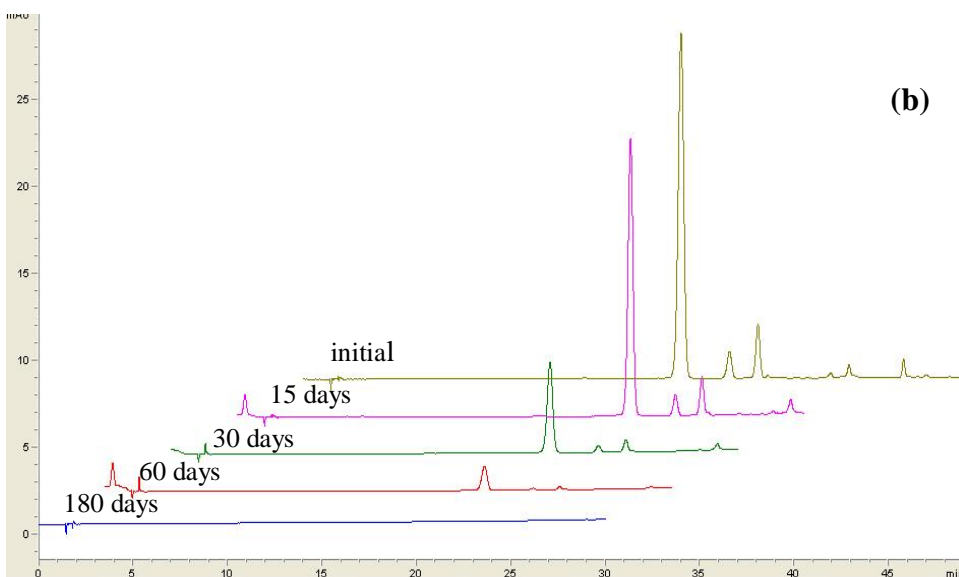
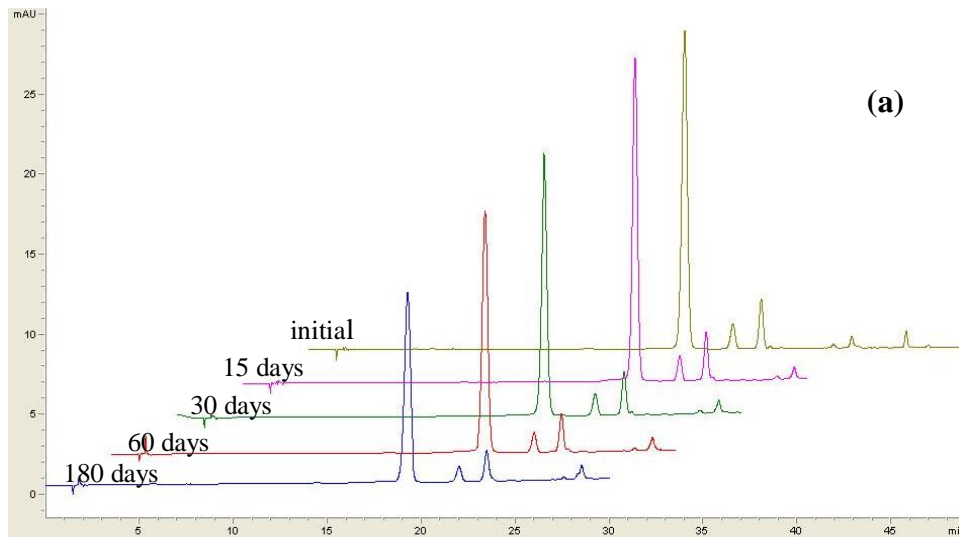


Figura 5.3 Profilul HPLC (532 nm) al antocianilor din gemurile de merișoare: (1) cianidin 3-galactozida; (2) cianidin 3-glucozida; (3) cianidin 3-arabinozida.

Antocianii individuali prezintă variații asemănătoare cu TAC. După cum se poate observa din figurile 5.4, antocianii individuali prezintă un comportament diferit în funcție de condițiile de depozitare.



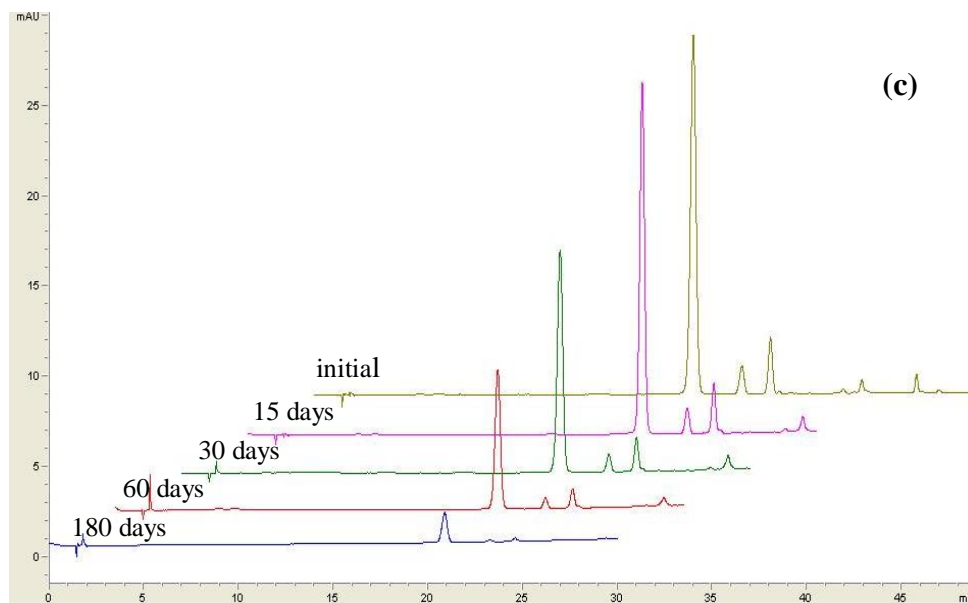
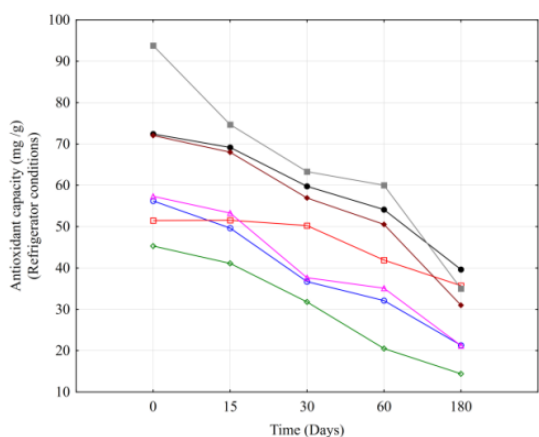


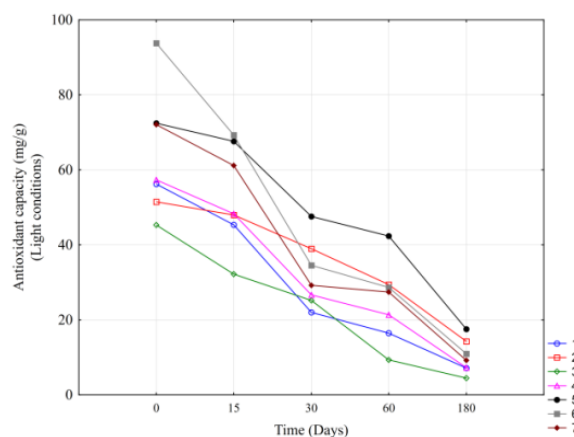
Figura 5.4. Variații ale antocianilor individuali în gemul preparat cu fructoză: (a)-frigider; (b)-lumina; (c)-întuneric.

c) *Capacitatea antioxidantă (AC)*

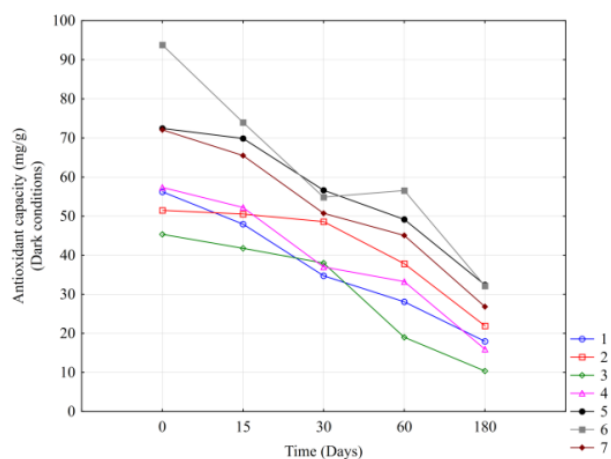
AC este direct corelată cu degradarea antocianilor, polifenolilor și a altor fitocompuși cu proprietăți antioxidante. O tendință de scădere a AC a fost observată în cazul tuturor gemurilor, indiferent de condițiile de depozitare (Figura 5.6). Nu s-au observat scăderi semnificative ale AC în primele 60 de zile de păstrare la frigider, această tendință observându-se doar după 180 de zile. Acest fapt arată că în timp îndelungat, este afectată stabilitatea compușilor antioxidanți.



a)



b)



c)

Figura 5.6. Modificări ale AC pe parcursul a 180 de zile: (a) frigider, (b) lumină și (c) întuneric; (1-zahăr; 2-fructoză, 3-eritritol; 4-zahăr brun; 5- zahăr de cocos; 6-stevie; 7-zaharină).

d) Zaharuri reducătoare

Comportamentul zaharurilor în timp reprezintă un factor important în evaluarea calitatății alimentelor procesate, deoarece acești compuși acționează ca niște conservanți naturali, influențându-le aroma (Sutwal și colab., 2019). Astfel, monitorizarea procesului de reducere a zaharurilor este importantă din punct de vedere industrial. Concentrația de zaharuri reducătoare înainte de depozitarea gemurilor pe o perioadă de 180 de zile a variat între 95,1 mg/g în cazul gemului pe bază de eritritol și 415 mg/g în cazul gemului pe bază de fructoză. Pe parcursul celor 180 de zile, conținutul de zaharuri reducătoare a crescut în toate cazurile, cea mai mare creștere fiind observată în cazul gemului preparat cu zahăr alb.

5.3.2 Analiza cinetică

În cazul vitaminei C, modelul cinetic de ordinul doi descrie cel mai bine mecanismul de degradare al acestui fitocompus din gemurile de merișoare ($R^2 = 0,91-0,99$). Parametri cinetici determinați pentru degradarea vitaminei C pe parcursul celor 180 de zile sunt prezentați în Tabelul 5.3. În ceea ce privește antocianii, degradarea acestora este descrisă un model cinetic de ordinul întâi ($R^2 = 0,97-0,99$) (Tabelul 5.3), aceste rezultate fiind în concordanță cu cele obținute de alți autori (Benedek și colab., 2020; Moldovan și colab., 2020; Hou și colab., 2013). TAC prezintă cea mai mare stabilitate în gemurile preparate cu fructoză, zahăr brun și zahăr alb, păstrate la frigider.

Tabelul 5.3. Parametri cinetici pentru procesul de degradare al vitaminei C și TAC din gemurile de merișoare: frigider (a), lumină (b) și întuneric (c). Constantele de viteză sunt exprimate ca $k \cdot 10^{-3} (\text{zi}^{-1})$ iar valorile timpului de înjumătățire ($t_{1/2}$) sunt exprimate în zile.

Probă	Vitamina C						TAC					
	A		b		c		A		b		C	
	K	t _{1/2}	k	t _{1/2}	k	t _{1/2}	K	t _{1/2}	k	t _{1/2}	k	t _{1/2}
Gem 1	0,43	180	1,68	46,3	0,52	150	3,37	206	22,1	31,4	10,7	64,8
Gem 2	0,16	467	0,64	117	0,23	325	2,54	273	24,7	28,0	12,7	54,5
Gem 3	1,08	93,4	3,93	25,7	1,49	67,7	8,55	81,1	30,0	23,1	9,55	72,6
Gem 4	0,82	97,5	1,72	46,5	0,98	81,6	2,35	295	24,1	28,8	9,67	71,7
Gem 5	0,20	485	0,74	131	0,39	249	6,89	101	46,7	14,8	35,8	19,4
Gem 6	0,11	586	0,37	174	0,34	190	4,75	146	29,9	23,2	7,83	88,5
Gem 7	0,59	124	2,81	26,2	2,21	33,3	4,43	156	34,5	20,1	11,8	58,6

În ceea ce privește TPC, degradarea acestora este descrisă de un model cinetic de ordinul doi ($R^2 = 0,89-0,99$), iar degradarea compușilor antioxidanți de un model cinetic de ordinul doi ($R^2 = 0,93-0,99$). În prezența fructozei, zahărului de cocos și steviei, compușii antioxidanți prezintă cea mai mică viteză de degradare. Pe de altă parte, eritritolul, zaharoza și zahărul brun accelerează procesul de degradare. Stabilitatea antioxidanților în prezența fructozei și a zahărului de cocos este de 5,60 ori, respectiv de 4,00 ori mai mare decât cea observată în prezența eritritolului.

În ceea ce privește zaharurile reducătoare, aceste substanțe se acumulează în timp. Acumularea de zaharuri reducătoare pe parcursul celor 180 de zile este descrisă de modelul cinetic de ordinul zero ($R^2 = 0,85-0,99$). Aceste rezultate sunt în concordanță cu rezultatele raportate de alți autori (Mane și colab., 2011).

5.3.3 Analiza statistică

Analiza factorială (FA) a fost aplicată pentru a identifica modele specifice în viteza de degradare a parametrilor determinați pe parcursul celor 180 de zile de. FA efectuată pe componentele principale (PC) arată că probele de gemuri studiate sunt descrise aproximativ 92,15% - 93,19% de TPC, AC și zaharuri reducătoare. S-a constatat că zaharoza și eritritolul au un efect negativ similar asupra TPC și AC (Figura 5.9).

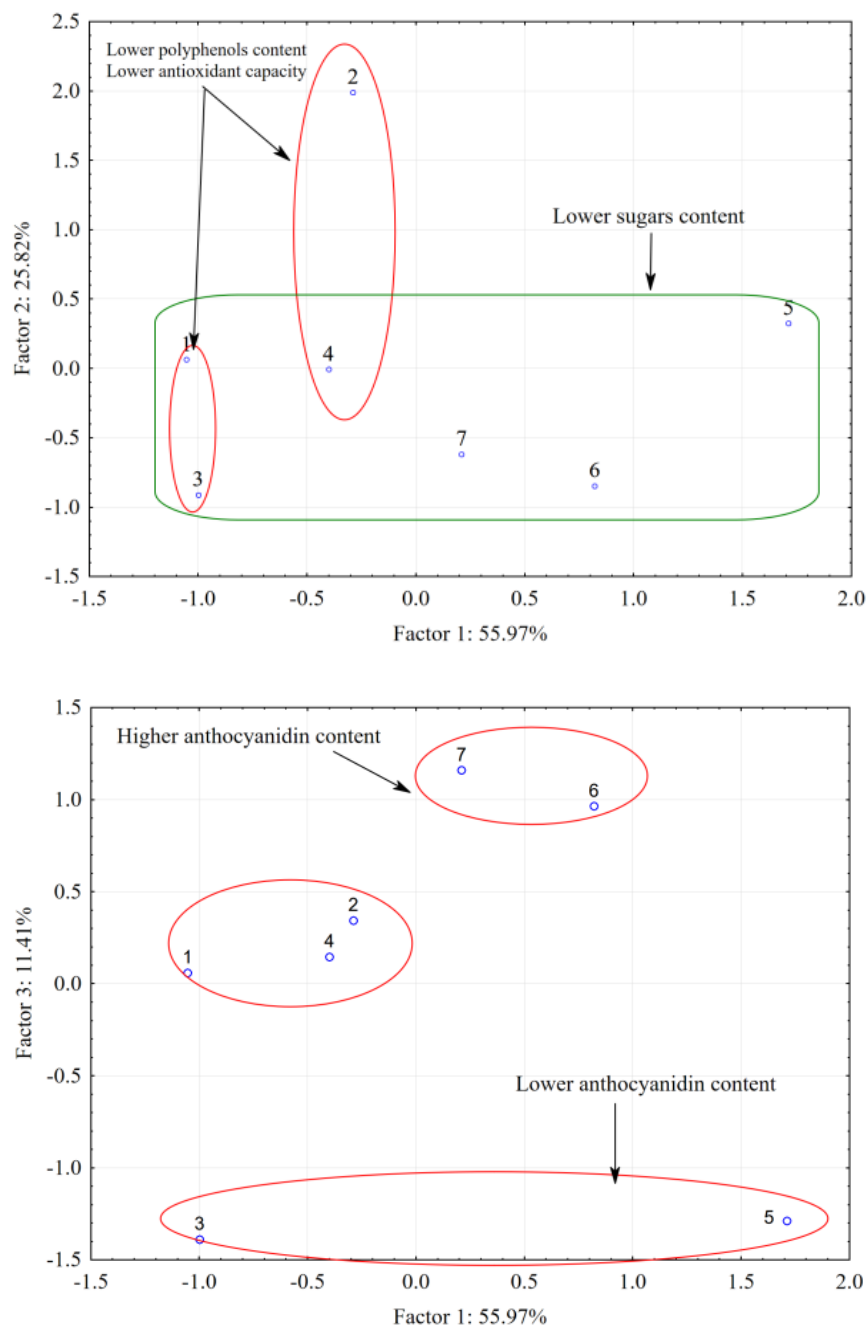


Figura 5.9 . Clasificarea probelor de gem păstrate la frigider pe baza variației parametrilor analizați

Adaosul de fructoză și zahăr brun arată un efect similar în scăderea TPC și AC al gemurilor în timp. Adaosul de zahăr de cocos și stevie prezintă un efect contrar. Se poate observa din Figura 5.9 că adăugarea de stevie are un efect pozitiv asupra degradării TAC și a vitaminei C.

Gemurile preparate cu eritritol și zahăr de cocos sunt asociate cu un conținut mai scăzut de vitamina C la lumină. Gemul preparat cu stevie prezintă un comportament diferit

față de celelalte probe, indicând că acest îndulcitor afectează procesul de degradare urmând un mecanism diferit.

Din reprezentarea factorilor care descriu viteza de degradare (Figura 5.12), se poate observa că adăugarea de îndulcitori precum stevia și fructoza scad degradarea compușilor antioxidanți, vitamina C și TAC. Deoarece stevia și fructoza sunt îndulcitori nesintetici care posedă proprietăți benefice pentru sănătate (Heacock și colab., 2002), încorporarea lor în produse alimentare precum gemurile este benefică în furnizarea de produse cu valoare nutritivă ridicată. Pe de altă parte, eritritolul accelerează degradarea fitocompușilor din gemurile de merișoare.

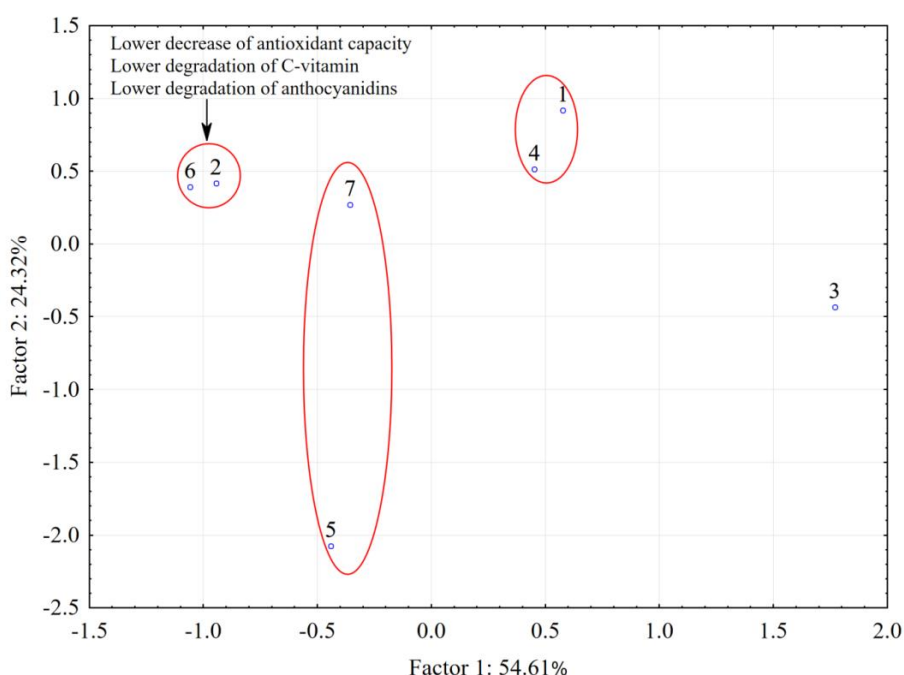


Figura 5.12 . Clasificarea probelor de gem în funcție de viteza de degradare: 1-zaharoză; 2-fructoză, 3-eritritol; 4-zahar brun; 5-zahar de cocos; 6-stevia; 7-zaharină.

În concluzie, degradarea vitaminei C este descrisă de un model cinetic de ordinul doi, în timp ce TAC de un model cinetic de ordinul întâi. Degradarea TPC și a compușilor antioxidanți este descrisă de un model cinetic de ordinul doi. Acumularea de zaharuri reducătoare a fost mai mică în prezența eritritolului, steviei și zaharinei, ceea ce indică faptul că acești îndulcitori sunt mai potriviți pentru prepararea gemurilor în cazul pacienților cu diabet. Vitamina C se degradează cel mai repede în prezența eritritolului. Fructoza încetinește viteza de degradare a antioxidanților. Acest capitol oferă informații importante pentru industria alimentară.

6 . Efectul îndulcitorilor asupra proprietăților fizico-chimice și a bioaccesibilității fitocompușilor din gemurile de merișoare⁵

Acest capitol prezintă influența îndulcitorilor (zaharoză, fructoză, eritritol, zahăr brun, zahăr de cocos, stevie și zaharină) asupra acidității titrabile (TA) și conținutului total de solide (TSS). De asemenea, se prezintă și efectul acestor îndulcitori asupra bioaccesibilității vitaminei C, antocianilor și capacității antioxidante (AC) a gemurilor de merișoare prin simularea digestiei gastrointestinale *in vitro*. Substituirea zahărului din gemuri reprezintă o provocare în ceea ce privește proprietățile fizico-chimice și senzoriale. În plus, îndulcitorii pot influența eliberarea fitocompușilor și în acest fel, bioaccesibilitatea acestora.

6.3.1 Aciditatea titrabilă (TA)

Valorile TA ale probelor de gemuri obținute pe parcursul a 60 de zile sunt prezentate în Tabelul 6.1. Aciditatea gemurilor crește în cazul tuturor probelor, indiferent de temperatură. Determinarea acestui parametru este importantă în evaluarea calității produselor pe bază de fructe, deoarece aciditatea protejează împotriva dezvoltării microorganismelor.

6.3.2 Conținutul total de solide (TSS)

TSS reprezintă un parametru important în evaluarea calității unui gem. Valorile TSS determinate pe parcursul celor 60 de zile sunt prezentate în Tabelul 6.1. Imediat după preparare, valorile conținutului total de solide ale gemurilor de merișoare au fost: 56,2°Brix (Gem 1), 56,7°Brix (Gem 5), 56,8°Brix (Gem 2 și 3), 57°Brix (Gem 4), în timp ce în cazul gemurilor 6 și 7, valorile Brix au fost mult mai mici (22 și, respectiv, 21,7°Brix). Se poate observa că TSS nu s-a modificat semnificativ după 60 de zile. Gemul pe bază de stevie prezintă cea mai mare creștere a TSS (3,63%), în timp ce gemul pe bază de fructoză a prezentat un efect opus (0,18%). Într-un alt studiu (Muhammad și colab., 2008), a fost observată o creștere a TSS a gemurilor de mere în timp. Componentele gemurilor ar putea fi solubilizate în timpul depozitării acestora și acest fapt poate crește TSS (Muhammad și colab., 2008).

⁵ Publicat în Scrob și colab., 2021 și Scrob și colab., 2022b

Tabelul 6.1 Valorile TA și TSS ale probelor de gemuri.

Timp (zile)	Aciditate titrabilă (%)			Continut total de solide (°Bx)		
	frigider	întuneric	lumină	frigider	întuneric	lumină
Gem 1						
0	0,161	0,161	0,161	56,2	56,2	56,2
15	0,168	0,168	0,175	56,3	56,4	56,6
30	0,189	0,189	0,192	56,4	56,8	56,8
60	0,192	0,195	0,203	56,5	56,9	56,9
Gem 2						
0	0,182	0,182	0,182	56,8	56,8	56,8
15	0,196	0,210	0,224	56,8	56,8	56,9
30	0,245	0,248	0,315	56,8	56,8	57,0
60	0,273	0,280	0,315	56,9	56,9	57,4
Gem 3						
0	0,168	0,168	0,168	56,9	56,9	56,9
15	0,175	0,175	0,182	43,4	44,3	45,2
30	0,182	0,182	0,196	43,7	44,6	44,8
60	0,203	0,189	0,217	44,0	44,1	44,2
Gem 4						
0	0,161	0,161	0,161	57,0	57,0	57,0
15	0,175	0,182	0,280	57,1	57,1	57,3
30	0,189	0,199	0,343	57,2	57,2	57,6
60	0,196	0,210	0,343	57,3	57,3	57,7
Gem 5						
0	0,175	0,175	0,175	56,7	56,7	56,7
15	0,210	0,217	0,315	56,8	56,8	56,8
30	0,224	0,238	0,332	56,9	56,9	56,9
60	0,252	0,273	0,364	56,9	57,0	57,2
Gem 6						
0	0,210	0,210	0,210	22,0	22,0	22,0
15	0,280	0,311	0,343	23,2	23,4	23,4
30	0,287	0,318	0,350	22,8	23,0	22,9
60	0,301	0,343	0,385	22,9	22,9	23,0
Gem 7						
0	0,210	0,210	0,210	21,7	21,7	21,7
15	0,273	0,273	0,315	21,7	21,7	22,0
30	0,294	0,308	0,322	21,9	21,9	22,0
60	0,301	0,308	0,336	22,1	22,0	22,0

6.3.3 Proprietăți senzoriale

Proprietățile senzoriale, cum ar fi culoarea, gustul, textura și acceptabilitatea generală au fost evaluate în acest studiu și comparate cu gemul preparat cu zaharoză. Evaluarea senzorială indică faptul că cea mai mare parte de gemuri sunt acceptabile pentru consum după 180 de zile păstrate la frigider (Tabelul 6.2). Gemul pe bază de zahăr de cocos înregistrează cele mai bune evaluări senzoriale, cu excepția culorii. Culoarea este un atribut senzorial important care îmbunătățește calitatea unui gem, iar acest gem prezintă culoare maro închis, care nu a fost apreciată de consumatori. Gemurile pe bază de stevie și zaharină au înregistrat cele mai mari valori pentru acceptabilitatea culorii.

Tabelul 6.2 . Parametri senzoriali ai gemurilor.

Gem Parametru	1	2	3	4	5	6	7
Culoare	8,60	8,00	5,00	8,60	6,20	8,80	8,80
Gust	7,80	7,00	4,20	7,20	8,80	8,00	6,80
Textură	8,80	7,40	4,20	8,40	8,80	8,00	8,00
Tartinabilitate	8,80	6,40	4,00	8,60	8,80	8,40	8,20
Acceptabilitate generală	8,20	7,60	3,80	8,20	8,80	8,40	8,00

6.3.4 Studii de bioaccesibilitate

a) Vitamina C

Înainte de digestie, concentrația de vitamina C din gemurile de merișoare a variat după cum urmează: Gem 6 > Gem 7 > Gem 2 > Gem 1 > Gem 4 > Gem 5 > Gem 3 (Tabelul 6.3). Gemul pe bază de stevie prezintă cea mai mare concentrație de vitamina C, în timp ce gemul preparat cu eritritol are cel mai mic conținut de vitamina C.

Conținutul de vitamina C a variat în timpul digestiei în cazul tuturor gemurilor, cu valori ale bioaccesibilitatii cuprinse între 42,8% în cazul gemului pe bază de zahăr de cocos și 62,9% în cazul gemului pe bază de stevie (Figura 6.2). Efectul protector al steviei asupra degradării vitaminei C poate fi corelat cu bioaccesibilitatea ridicată a vitaminei C (Kroyer, 2010). Nu au fost raportate studii de literatură cu privire la bioaccesibilitatea scăzută a vitaminei C în prezența zahărului de cocos.

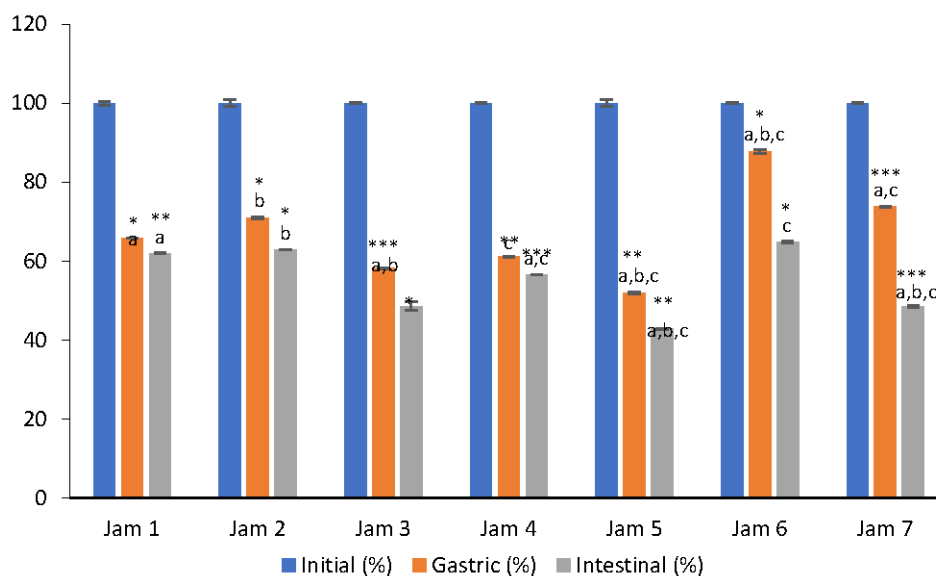


Figura 6.2 Variația bioaccesibilității (%) vitaminei C în timpul digestiei *in vitro* a gemurilor de merișoare. Datele reprezintă valori medii \pm abaterea standard a trei măsurători independente. Bioaccesibilitatea inițială determinată în gemurile nedigerate este considerată 100%. Literele a, b, c reprezintă diferențe statistice semnificative între valorile obținute pentru fiecare etapă a digestiei ($p < 0,05$). *** $p < 0,0001$, ** $p < 0,001$, * $p < 0,05$.

b) TAC și antocianii individuali

Gemurile preparate cu zaharină și stevie prezintă cel mai mare conținut de TAC înainte de digestie, în timp ce gemul preparat cu eritritol are cel mai scăzut conținut de TAC. Ca și în cazul vitaminei C, TAC este afectat și de digestia *in vitro* (Figura 6.3).

Antocianii sunt compuși stabili în etapa gastrică, aceștia prezentând o bioaccesibilitate mai mare de 50%. Alți autori (Han și colab., 2019) au raportat un comportament similar al antocianilor în mediul gastric acid, raportând o bioaccesibilitate cuprinsă între 75–88%. Stabilitatea ridicată a antocianilor se datorează valorii scăzute a pH-ului din stomac (David et al., 2019). O bioaccesibilitate gastrică ridicată este importantă datorită faptului că antocianii pot fi absorbiți și prin celulele gastrice (Han et al., 2019), exercitându-și astfel beneficiile pentru sănătate fără a fi absorbite intestinal. În prezența fructozei, antocianii individuali au prezentat cea mai mare bioaccesibilitate, în timp ce în cazul zahărului de cocos, s-a determinat o bioaccesibilitate scăzută a antocianilor (Figura 6.5).

Cianidin-3-galactozida reprezintă antocianul ce se regăsește în proporția cea mai mare (84,61% din conținutul total de antociani). Evaluarea bioaccesibilității cianidin-3-galactozidei este importantă, ținând cont de faptul că acest fitocompus este unul dintre cei mai răspândiți antociani cu efecte benefice asupra sănătății umane.

În ceea ce privește cianidin-3-arabinozida, cea mai mare bioaccesibilitate se găsește în gemul pe bază de fructoză (56,4%), urmat de gemul pe bază de zaharoză (41,8%) și eritritol (25,9%). Gemul pe baza de zaharină determină cea mai scăzută bioaccesibilitate a cianidin-3-arabinozidei la sfârșitul digestiei (8,3%).

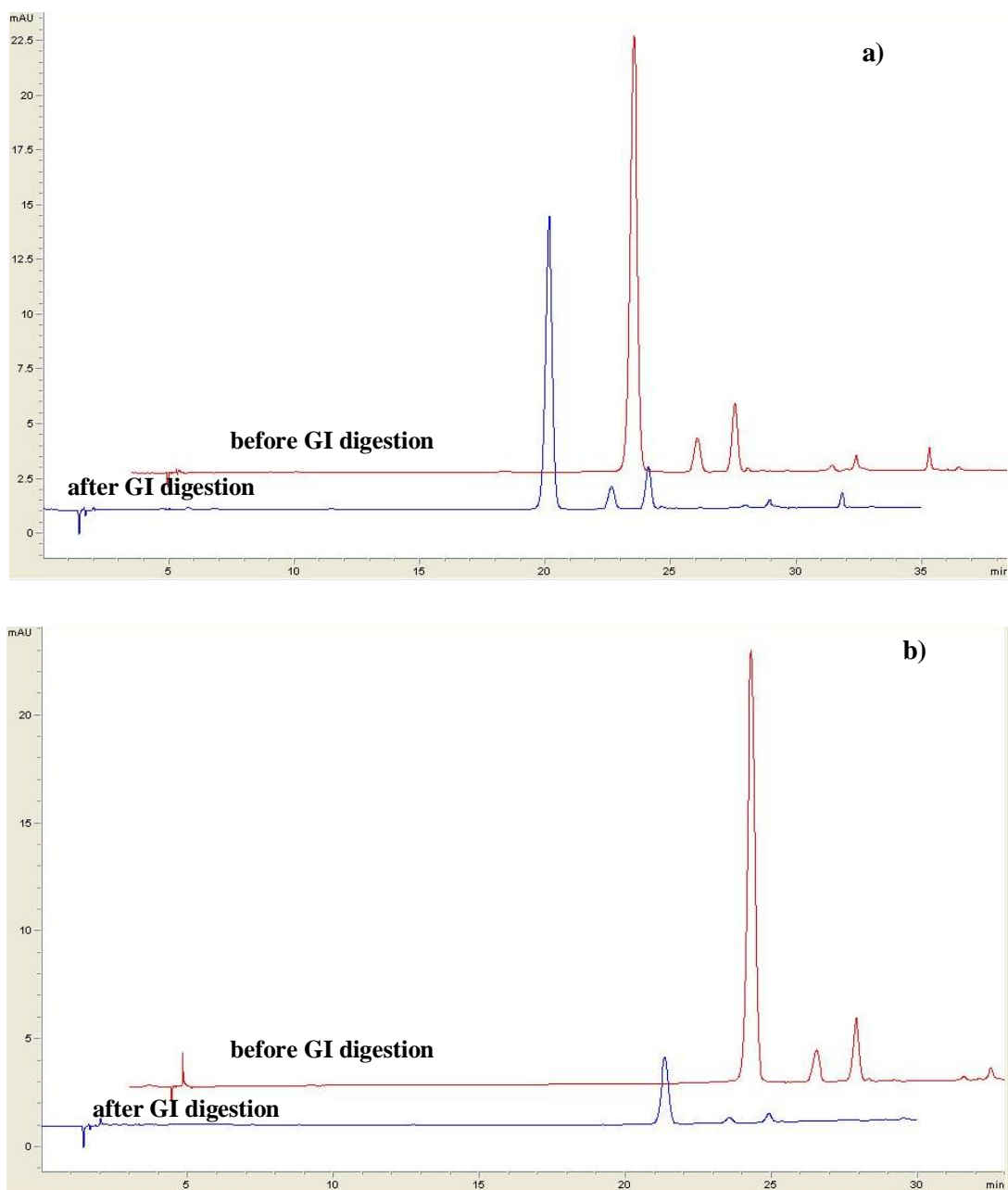


Figura 6.5 . Profilele HPLC (532 nm) ale antocianilor din gemul pe bază de fructoză (a) și zahăr de cocos (b) înainte și după digestia gastrointestinală *in vitro*

c) Capacitatea antioxidantă (AC)

Merișoarele se numără printre fructele cu importante proprietăți antioxidante (Drózdź și colab., 2018), iar aceste proprietăți se păstrează și în gemuri. Pentru evaluarea AC al gemurilor în timpul digestiei, s-au utilizat metodele ABTS și FRAP. Înainte de digestie, AC_{ABTS} al gemurilor prezintă valori de la 66,6 $\mu\text{mol Trolox/g}$ de gem la 109 $\mu\text{mol Trolox/g}$ de gem, în timp ce AC_{FRAP} variază de la 4,64 mg vit C/g de gem la 9,37 mg vit C/g de gem. (Tabelul 6.5). Gemul pe bază de stevie prezintă cea mai mare AC indiferent de metodele folosite, în timp ce gemul pe bază de eritritol prezintă un comportament contrar.

Tabelul 6.5. AC ale gemurile de merișoare înainte de digestie

Gemuri de merișoare	AC_{ABTS} ($\mu\text{mols Trolox/g gem}$)	AC_{FRAP} (mg Vitamina C/g gem)
Gem 1 (zaharoză)	56,2 \pm 2,0 ^a	5,39 \pm 0,10 ^a
Gem 2 (fructoza)	51,4 \pm 0,4 ^b	5,64 \pm 0,08 ^b
Gem 3 (eritritol)	45,3 \pm 2,7 ^a	4,64 \pm 0,02 ^{a,b,c}
Gem 4 (zahăr brun)	57,3 \pm 6,6 ^c	5,36 \pm 0,06 ^c
Gem 5 (zahăr de cocos)	72,4 \pm 1,3 ^{a,b}	7,82 \pm 0,10 ^{a,b,c}
Gem 6 (stevie)	93,8 \pm 1,1 ^{a,b,c}	9,37 \pm 0,23 ^{a,b,c}
Gem 7 (zaharină)	72,1 \pm 0,2 ^{a,b}	8,85 \pm 0,68 ^{a,b,c}

Valorile reprezintă media \pm SD ($n = 3$). Indicii (a, b, c, d) indică diferențe statistic semnificative ($p < 0,05$)

În urma digestiei gastrice, AC_{ABTS} scade semnificativ ($p < 0,05$) în cazul tuturor gemurilor (Figura 6.6a). Stevia prezintă un efect negativ asupra antioxidantilor care interacționează cu ABTS, prezentând un nivel de bioaccesibilitate de 32,8%. Fructoza prezintă în schimb un efect protector asupra acestui tip de antioxidanți (59,9%). AC_{ABTS} crește semnificativ ($p < 0,05$) după digestie, mai ales în cazul gemului pe bază de stevie.

În ceea ce privește AC_{FRAP} , bioaccesibilitatea compușilor antioxidanți testați prin această metodă este semnificativ redusă în urma digestiei gastrice, iar cea mai mare scădere se poate observa în cazul gemului pe bază de stevie (47,3%). În comparație cu AC_{ABTS} gastric, gemul pe bază de fructoză are o bioaccesibilitate mai mare la nivel gastric atunci când este testată prin metoda FRAP (90,8%) (Figura 6.6b). Dacă în cazul AC_{ABTS} după digestia GI nu s-au observat diferențe statistic semnificative între gemuri ($p > 0,05$), bioaccesibilitatea antioxidantilor evaluată prin metoda FRAP prezintă un comportament diferit.

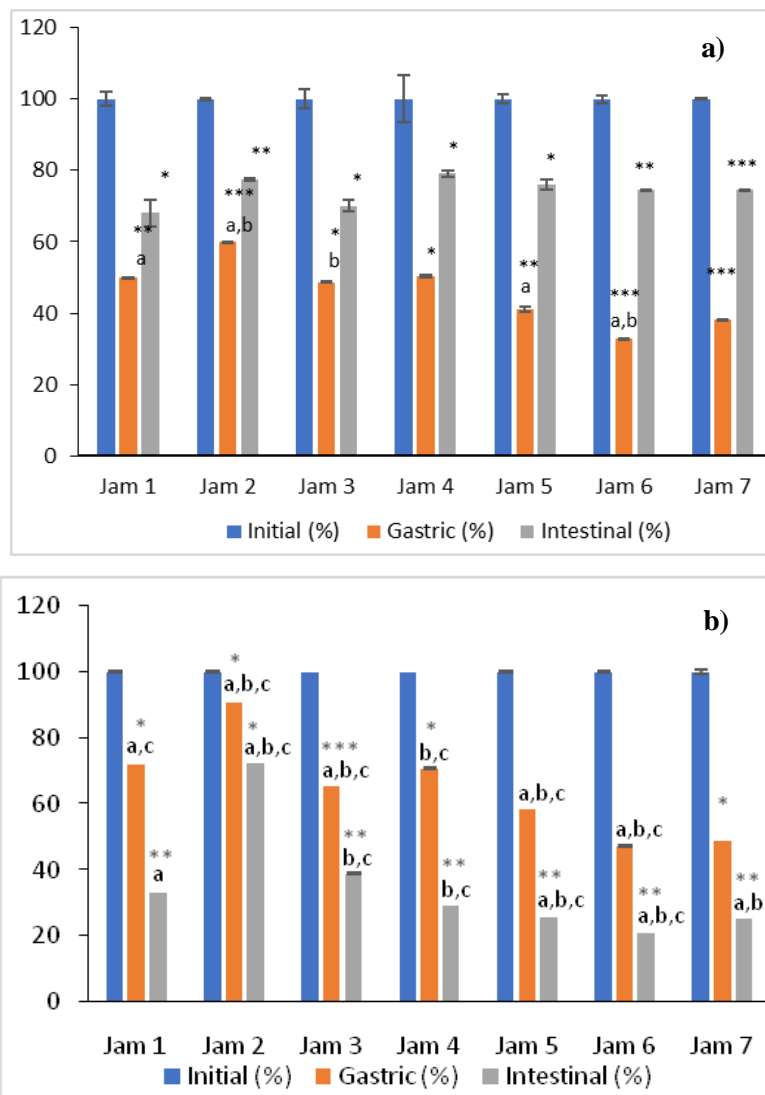


Figura 6.6. Modificări ale bioaccesibilității (%) antioxidantilor prin metoda ABTS (a) și FRAP (b) în timpul digestiei *in vitro* a gemurilor de merișoare.

În concluzie, utilizarea îndulcitorilor în prepararea gemurilor de merișoare a determinat obținerea de produse similare celui preparat în mod convențional cu zaharoză, cu excepția gemului preparat cu eritritol. Gemul preparat cu zahăr de cocos a primit cele mai bune evaluări senzoriale, în principal datorită aromei sale distincte. Vitamina C nu a suferit modificări majore în urma digestiei gastrice (<50%), dar concentrația acesteia a scăzut în urma etapei intestinale. Digestia GI a dus la o pierdere mare de TAC. Capacitatea antioxidantă a fost, de asemenea, afectată de digestia simulată. Stevia determină cea mai mare bioaccesibilitate a vitaminei C. Fructoza determină bioaccesibilități ridicate ale antocianilor. Acest studiu își propune să aducă rezultate noi în dezvoltarea de alimente funcționale.

7. Efectul îndulcitorilor asupra activității α -glucozidazei, citotoxicității gemurilor de merișoare și biodisponibilității *in vivo* a antocianilor⁶

Ultimul capitol al acestei teze cuprinde rezultatele obținute privind biodisponibilitatea antocianilor din gemurile de merișoare și efectul îndulcitorilor folosiți (zaharoză, fructoză, eritritol, zahăr brun, zahăr de cocos, stevie și zaharină) asupra absorbției acestora. S-a determinat activitatea inhibitorului enzimatic α -glucozidază, precum și citotoxicitatea gemurilor asupra celulelor endoteliale umane și a celor canceroase. Extractele de gem au fost administrate la șobolani prin gavaj și apoi probele de sânge au fost colectate la 1 oră, 2 ore, 6 ore și 24 ore. Principalii antociani din gemuri (cianidin 3-galactozida, cianidin 3-glucozida și cianidin 3-arabinozida) au fost determinați prin cromatografie de lichide de înaltă performanță. Gemurile pe bază de fructoză și stevie inhibă în proporția cea mai mare activitatea enzimei α -glucozidaza, indicând beneficiile acestora în prevenirea sau controlul diabetului. Toți cei trei antociani sunt absorbiți după administrare și sunt încă detectabili în fluxul sanguin după 24 de ore, arătând o biodisponibilitate prelungită la șobolani. Înțelegerea acestor procese va permite dezvoltarea unor produse alimentare mai stabile, cu beneficii mari pentru sănătate și pot contribui la dezvoltarea de noi alimente funcționale.

7.3.1 Activitatea inhibitorului enzimatic α -glucozidază în prezența gemurilor de merișoare

În acest studiu, s-a determinat gradul de inhibare al α -glucozidazei în prezența gemurilor de merișoare. Rezultatele sunt prezentate în Figura 7.1. Concentrația echivalentă de acarboză ($\mu\text{g/mL}$) a fost de asemenea determinată pe baza curbei de calibrare. Cea mai mare valoare a concentrației echivalente de acarboză se observă în cazul gemului neîndulcit ($132,1\mu\text{g/mL}$). Astfel, consumul a 113,5 g de gem neîndulcit este echivalent cu doza zilnică recomandată de acarboză. În cazul gemurilor cu îndulcitori, este nevoie de o doză mai mare: 186,8g gem cu fructoză sau 210,5g gem cu stevie. Jan și colab., (2021) au raportat rezultate asemănătoare, demonstrând creșterea gradului de inhibare a enzimei în prezența steviei, fiind o alternativă excelentă în prevenirea sau controlul diabetului.

⁶ Articol trimis spre publicare

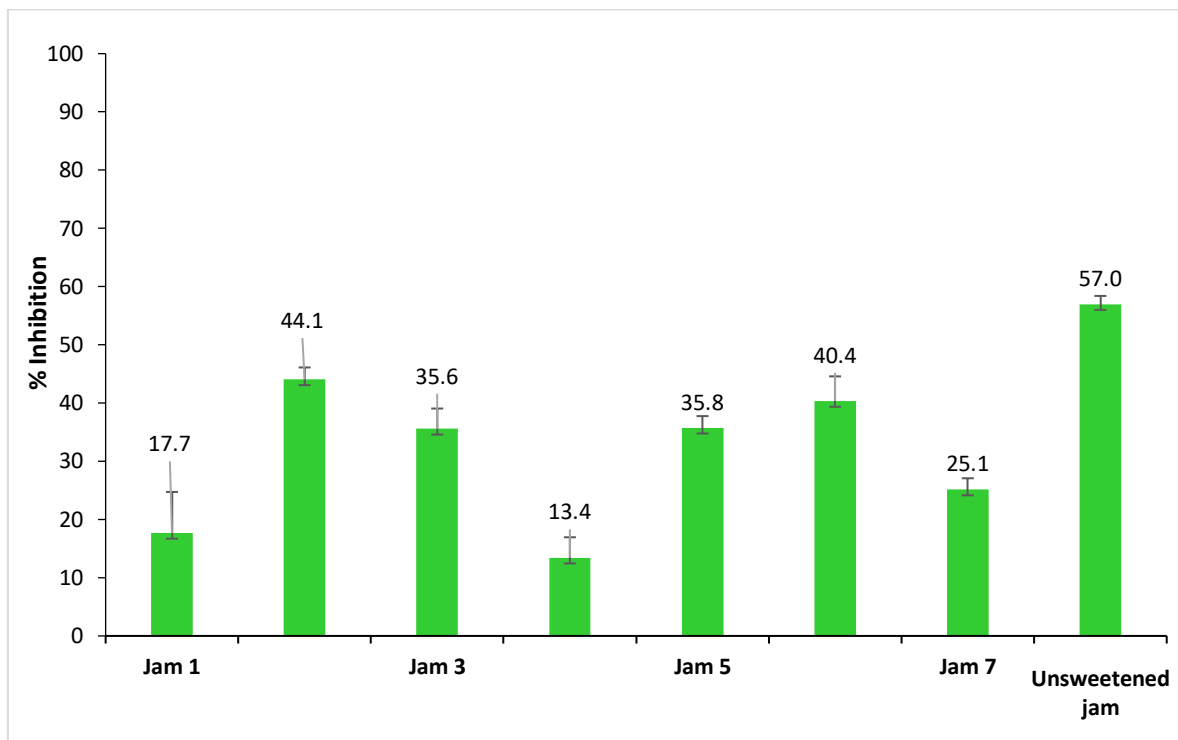
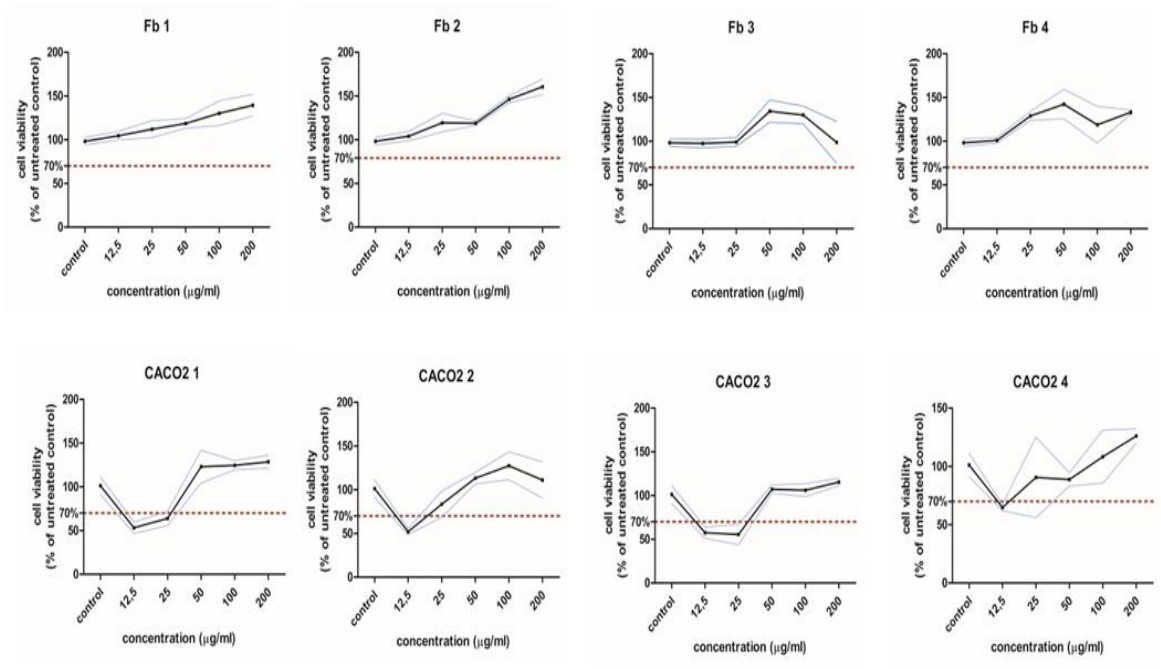


Figura 7.1 Inhibarea enzimei α -glucozidază în prezența gemurilor de merișoare.

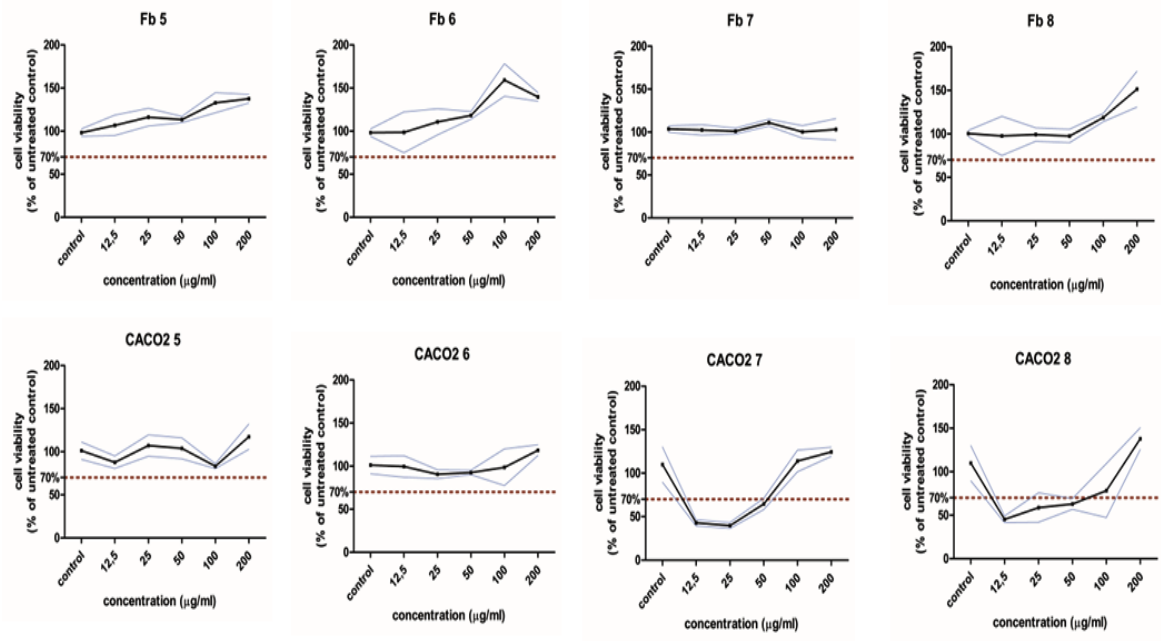
7.3.2 Citotoxicitatea și viabilitatea celulară în celulele normale și canceroase CaCo-2

Studiile de citotoxicitate au fost efectuate pe celule fibroblaste umane normale (BJ) și pe celule canceroase de colon (Caco-2) (Figura 7.2). Atât celulele normale, cât și cele canceroase au fost expuse la concentrații cuprinse între 12,5 – 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ extract de gem. S-au determinat diferențe semnificative între celulele normale și cele canceroase ($p < 0,05$). Extractele de gem nu prezintă efecte citotoxice asupra celulelor fibroblastice normale, indiferent de îndulcitorul utilizat în formularea gemului (viabilitatea celulară $> 70\%$ pentru toate celulele tratate) și indiferent de concentrația utilizată.

Celulele canceroase de colon au prezentat o vulnerabilitate mai mare decât celulele normale, viabilitatea celulară fiind mai mică de 70% în cazul tuturor gemurilor, cu excepția zahărului de cocos și a gemului pe bază de stevie. Viabilitatea celulelor canceroase de colon este mai mică de 70% doar la concentrații mai mici (12,5-25 $\mu\text{g}/\text{mL}$), cu excepția gemului pe bază de zaharină și a gemului neîndulcit, unde viabilitatea celulelor a fost mai mică de 70% într-un interval mai mare de concentrații (12,5-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Cel mai mare grad de inhibare al viabilității celulelor canceroase poate fi observat la gemul pe bază de zaharină (Figura 7.2), dar nu la concentrații mari (100 - 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$).



a)



b)

Figura 7.2 Viabilitatea celulară: gemuri 1-4 (a) și gemuri 5-8 (b) (Fb-celule normale fibroblaste, Caco-2-celule cancerose).

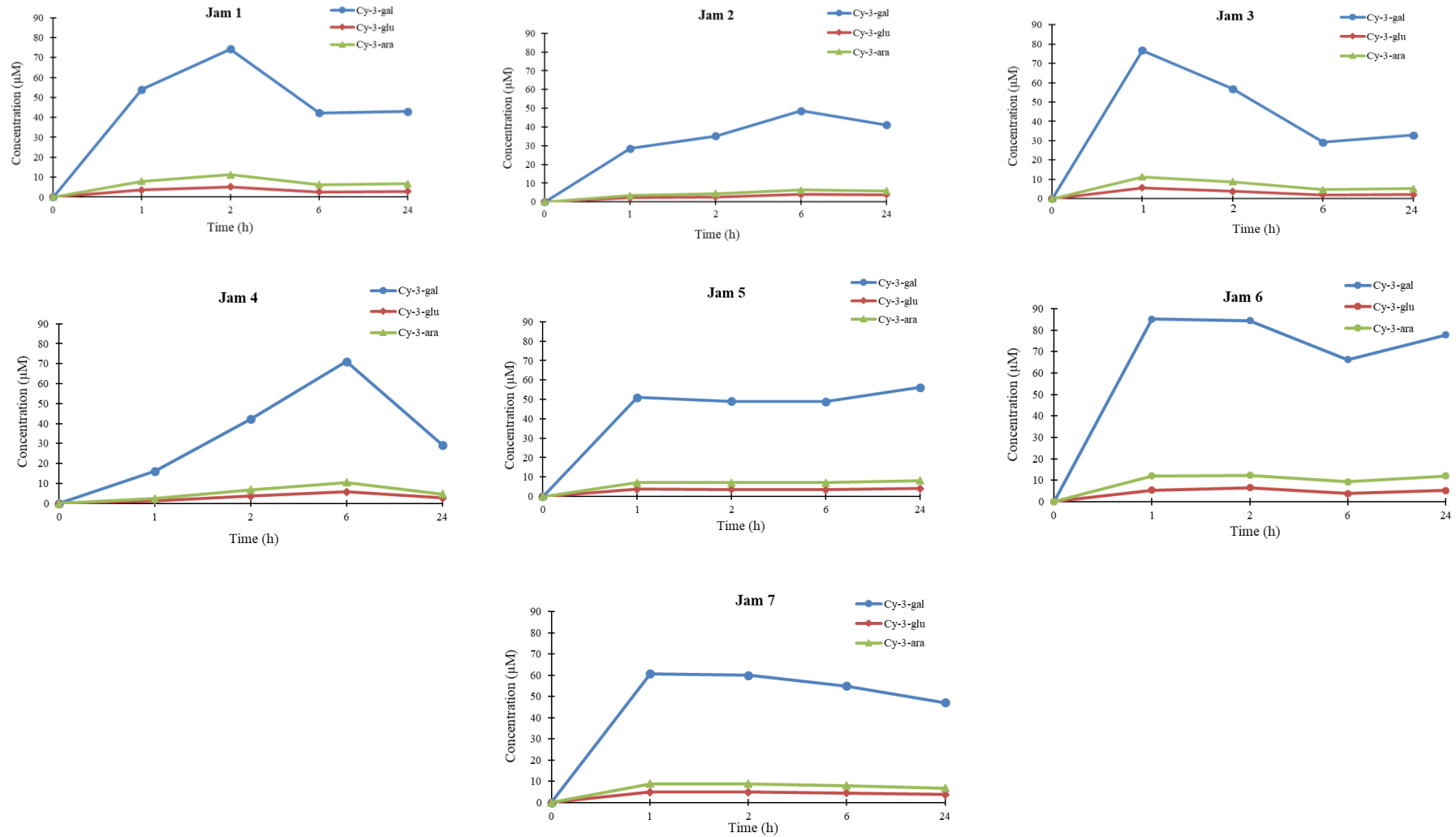


Figura 7.3 Concentrațiile plasmatice de antociani la șobolani după administrarea gemurilor de merișoare . Cy-3-gal: cianidin-3-galactozidă; Cy-3-glu: cianidin-3-glucozidă; Cy-3-ara: cianidin-3-arabinozidă.

7.3.3 Biodisponibilitatea in vivo a antocianilor din gemurile de merișoare

Pentru a înțelege mai bine modul de acțiune al antocianilor în organism, este important să se cunoască dacă toată cantitatea ingerată este absorbită. Deși bioaccesibilitatea antocianilor a fost studiată de-a lungul timpului (Scrob și colab., 2022), biodisponibilitatea și absorbția acestora este mai puțin cunoscută.

Concentrațiile plasmatice ale celor trei antociani la 1, 2, 6 și 24 de ore după administrare sunt prezentate în Figura 7.3.

La numai 1 oră după administrare, profilul HPLC al antocianilor este similar cu cel de dinainte de digestie, indicând faptul ca antocianii sunt intact absorbiți. Talavera și colab., (2003) nu au raportat prezența metaboliților antocianilor, sugerând că aceștia sunt absorbiți nemetabolizați. În acest studiu, viteza de absorbție a antocianilor în sânge variază în funcție de tipul îndulcitorului folosit în prepararea gemurilor. Acest fapt indică influența îndulcitorului asupra absorbției antocianilor. Toți antocianii sunt detectați în fluxul sanguin și după 24 de ore, indicând o biodisponibilitate prelungită la șobolani.

În cazul gemurilor preparate cu zahăr alb, stevie și zaharină, antocianii se absorb rapid, atingând nivelul maxim la 1-2h după administrare (Figura 7.3). Ichiyanagi și colab., (2006) sugerează că absorbția rapidă a antocianilor se datorează capacității lor de a trece prin mucoasa gastrică. În cazul gemurilor pe bază de fructoză și zahăr brun, antocianii au atins nivelul maxim la 6 ore de la ingerare, ceea ce indică faptul că acești îndulcitori ar putea încetini absorbția antocianilor.

În cazul gemului pe bază de zahăr de cocos, cei trei antociani au apărut în concentrație mare în fluxul sanguin după numai 1 oră, și-au menținut concentrația constantă și apoi au ajuns la o concentrație maximă la 24 de ore. Astfel, apariția antocianilor în plasmă depinde de componenta matricii solide. Într-un studiu realizat pe afine (Lehtonen și colab., 2009), antocianii sunt absorbiți mult mai lent. Din aceste rezultate, se poate concluziona că absorbția antocianilor depinde de sursa de proveniență și de interacțiunea cu alți compuși, cum ar fi îndulcitorii.

Biodisponibilitatea antocianilor exprimată sub formă de procente este prezentată în Tabelul 7.1. Biodisponibilitatea calculată variază de la 4,85 la 32,7%.

Tabelul 7.1 Biodisponibilitatea (%) antocianilor în plasma șobolanilor la 1-24 ore după administrarea gemurilor de merișoare

Antociani	Biodisponibilitate (%)						
	Gem 1	Gem 2	Gem 3	Gem 4	Gem 5	Gem 6	Gem 7
1h							
Cy-3-gal	15,2	8,10	28,3	4,91	28,1	28,0	20,3
Cy-3-glu	12,4	8,21	26,1	5,30	29,1	23,8	22,6
Cy-3-ara	15,5	7,11	27,9	5,11	28,5	29,1	20,6
2h							
Cy-3-gal	20,9	10,0	20,9	12,7	27,0	27,8	20,0
Cy-3-glu	18,0	10,2	17,8	14,9	28,0	28,7	22,8
Cy-3-ara	21,6	9,01	21,7	14,4	28,0	29,7	20,3
6h							
Cy-3-gal	11,9	13,8	10,7	21,4	26,9	21,8	18,3
Cy-3-glu	9,11	15,3	9,28	23,0	27,3	16,9	20,3
Cy-3-ara	12,1	13,1	11,5	22,3	28,0	22,4	18,5
24h							
Cy-3-gal	12,1	11,6	12,1	8,81	30,8	25,6	15,7
Cy-3-glu	9,80	14,6	9,71	10,9	32,0	22,8	17,1
Cy-3-ara	12,9	12,0	12,8	9,90	32,7	28,8	15,7

În concluzie, acest studiu descrie influența îndulcitorilor asupra stabilității și biodisponibilității *in vivo* a antocianilor din gemurile de merișoare. Mai mult, această cercetare aduce rezultate importante cu privire la interacțiunea a două linii celulare umane cu extractele de gemuri, precum și impactul acestora asupra enzimei α -glucozidază. Biodisponibilitatea și absorbția antocianilor depinde în principal de îndulcitorii utilizați în prepararea gemului. Cea mai mare biodisponibilitate a antocianilor a fost observată în prezența zahărului de cocos. Stevia este îndulcitorul care favorizează inhibarea enzimei α -glucozidază. Gemurile nu acționează asupra celulelor fibroblaste normale, însă inhibă activitatea celulelor canceroase. Inhibarea celulelor canceroase a fost influențată în mare măsură de doza administrată de extract, dar și de tipul de îndulcitor utilizat în formularea gemului. Rezultatele obținute în acest studiu reprezintă o bază în dezvoltarea unor produse alimentare stabile, cu beneficii pentru sănătate.

Concluzii generale

Această teză descrie bioaccesibilitatea și biodisponibilitatea unor fitocompuși din fructe și legume, în vederea evaluării proprietăților acestora după procesul de digestie. Principalii fitocompuși studiați au fost clorofilele, carotenoidele, polifenolii (în special antociani), vitamina C, zaharuri, dar și minerale. Digestia s-a realizat atât prin metode *in vitro* cât și *in vivo*. De asemenea, teza cuprinde și aspecte importante cu privire la prepararea și depozitarea optimă a gemurilor de merișoare, ca o perspectivă pentru dezvoltarea de noi alimente funcționale.

În urma digestiei simulate *in vitro* realizată la brocoli (*Brassica oleracea*), s-a constatat o scădere semnificativă a clorofilelor și carotenoidelor. În cazul conținutului total de polifenoli, s-a observat o stabilitate mai mare în timpul digestiei, indicând faptul că acești compuși pot fi absorbiți mai bine decât carotenoidele și clorofilele. În plus, s-a demonstrat că extracția clorofilelor și carotenoidelor este descrisă de un model cinetic de ordinul doi, iar extracția cu etanol la 30°C a fost cea mai eficientă.

S-a analizat conținutul total de elemente esențiale (Na, K, Mg, Ca, Fe, Mn, Cu și Zn) din diferite fructe uscate, precum și bioaccesibilitatea acestora. Fructele uscate studiate reprezintă o sursă bună de minerale precum Na, K, Mg, Fe, Mn și Cu, prezentând niveluri medii ale bioaccesibilității, cu excepția Zn, a cărui concentrație a fost sub limita de detecție după digestie. De asemenea, s-a demonstrat că fructele uscate nu prezintă potențial risc cancerigen (THQ < 1). Prunele, nuca de cocos, bananele uscate și stafidele reprezintă surse importante de polifenoli, cu o bioaccesibilitate ridicată după digestie. Mai mult, capacitatea antioxidantă a crescut în urma simulării digestiei în cazul majorității fructelor uscate, indicând importanța consumului acestora în prevenirea unor boli corelate cu stresul oxidativ.

Pentru a evalua efectul matricii alimentare asupra stabilității în timp și a bioaccesibilității fitocompușilor, s-au preparat gemuri de merișoare cu diferiți îndulcitori: zahăr alb, fructoză, eritritol, zahăr brun, zahăr de cocos, stevie și zaharină. Utilizarea îndulcitorilor nu a modificat proprietățile senzoriale ale gemurilor, cu excepția gemului preparat cu eritritol. Degradarea în timp a vitaminei C din gemuri este descrisă de un model cinetic de ordinul doi, în timp ce TAC de un model cinetic de ordinul întâi. Degradarea polifenolilor este cel mai bine descrisă de un model cinetic de ordinul doi.

Stabilitatea fitocompușilor a fost influențată în mare măsură de tipul de îndulcitor utilizat în prepararea gemului. Eritritolul a determinat cea mai pronunțată degradare a vitaminei C și a antocianilor. Antocianii s-au păstrat cel mai bine în timp în prezența fructozei. În ceea ce privește capacitatea antioxidantă, fructoza încetinește viteza de degradare a antioxidantilor. Un efect contrar s-a observat în cazul eritritolului. Zahărul de cocos a scăzut viteza de degradare a polifenolilor și a vitaminei C.

În urma digestiei *in vitro* gastrointestinale a gemurilor, concentrația vitaminei C a scăzut semnificativ după etapa intestinală. Deși antocianii sunt stabili la nivel gastric, conținutul lor a scăzut la finalul digestiei. Capacitatea antioxidantă testată prin ABTS a fost mai mare după faza GI decât după faza gastrică, ceea ce indică faptul că antioxidanții sunt eliberați progresiv din matricea alimentară. Pe de altă parte, capacitatea antioxidantă determinată prin FRAP a scăzut în cazul tuturor probelor după etapa de digestie GI. Vitamina C a avut cea mai mare bioaccesibilitate în gemul pe bază de stevie, în timp ce fructoza a avut un efect pozitiv asupra antocianilor în timpul digestiei. Capacitatea antioxidantă a prezentat valori mari ale bioaccesibilității în prezența steviei, fructozei și zahărului de cocos.

Ultima parte a acestei teze descrie efectul îndulcitorilor asupra biodisponibilității *in vivo* a antocianilor din gemurile de merișoare. Mai mult, această cercetare aduce rezultate importante cu privire la interacțiunea a două linii celulare umane cu extractele de gemuri, precum și impactul acestora asupra enzimei α -glucozidază. Biodisponibilitatea și absorbția antocianilor depinde în principal de îndulcitorii utilizați în prepararea gemului. Cea mai mare biodisponibilitate a antocianilor a fost observată în prezența zahărului de cocos. Glucozidele au fost absorbite mai eficient decât galactozidele în majoritatea cazurilor. Stevia este îndulcitorul care a favorizat inhibarea enzimei α -glucozidază. Gemurile nu au avut acțiune asupra celulelor fibroblaste normale, însă au inhibat activitatea celulelor canceroase. Inhibarea celulelor canceroase a fost influențată în mare măsură de doza administrată de extract, dar și de tipul de îndulcitor utilizat în prepararea gemului. Rezultatele obținute în acest studiu reprezintă o bază în dezvoltarea unor produse alimentare stabile și funcționale.

Referințe selectate

Benedek, C., Bodor, Z., Merrill, V. T., Kókai, Z., Gere, A., Kovacs, Z., Dalmadi, I., Abrankó, L. Effect of sweeteners and storage on compositional and sensory properties of blackberry jams. *European Food Research and Technology*, **2020**, *246*, 2187–2204.

Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, **2011**, *128*, 14–21.

Brown, E., Gill, C., Stewart, D., McDougall, G. Lingonberries (*Vaccinium vitis-idaea* L) and blueberries (*Vaccinium corymbosum*) contain discrete epicatechin anthocyanin derivatives linked by ethyl bridges. *Journal of Berry Research*, **2016**, *6*, 13–23.

Chang, S. K., Alasalvar, C., Shahidi, F. Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits. *Journal of Functional Foods*, **2016**, *21*, 113–132.

Coe, S., Fraser, A., Ryan, L. Polyphenol Bioaccessibility and Sugar Reducing Capacity of Black, Green, and White Teas. *International Journal of Food Science*, **2013**, *2013*, 238216.

Courraud, J., Berger, J., Cristol, J. P., Avallon, S. Stability and bioaccessibility of different forms of carotenoids and vitamin A during *in vitro* digestion. *Food Chemistry*, **2013**, *136*, 871–877.

David, L., Danciu, V., Moldovan, B., Filip, A. Effects of *in vitro* gastrointestinal digestion on the antioxidant capacity and anthocyanin content of cornelian cherry fruit extract. *Antioxidants*, **2019**, *8*, 114–123.

Drózdź, P., Šežiene, V., Wójcik, J., Pyrzyńska, K. Evaluation of bioactive compounds, minerals and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) fruits. *Molecules*, **2018**, *23*, 53–62.

Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*, **2012**, *46*, 438–450.

Fernandez-Leon, M. F., Lozano, M., Ayuso, M. C, Fernandez-Leon, A. M., Gonzalez Gomez, D. Fast and accurate alternative UV-chemometric method for the determination of

chlorophyll A and B in broccoli (*Brassica oleracea Italica*) and cabbage (*Brassica oleracea Sabauda*) plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, **2010**, *5*, 809–813.

Gayoso, L., Claerbout, A. S., Calvo, M. I., Cavero, R. Y., Astiasarán, I., Ansorena, D. Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the *in vitro* gastrointestinal digestion models. *Journal of Functional Foods*, **2016**, *26*, 428–438.

Gercia-Leston, J., Mendez, J., Pasaro, E., Laffon, B. Genotoxic effects of lead: an updated review. *Environment International*, **2010**, *36*, 623–636.

Han, P., Yang, P., Wang, H., Fernandes, I., Mateus, N., Liu, Y. Digestion and absorption of red grape and wine anthocyanins through the gastrointestinal tract. *Trends in Food Science & Technology*, **2019**, *83*, 211–224.

Heacock, P. M., Hertzler, S. R., Wolf, B. W. Fructose prefeeding reduces the glycemic response to a high-glycemic Index, starchy food in humans. *Journal of Nutrition*, **2002**, *132*, 2601–2604.

Hou, Z., Qin, P., Zhang, Y., Cui, S., Ren, G. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. *Food Research International*, **2013**, *50*, 691–697.

Ichiyanagi, T., Shida, Y., Rahman, M. M., Hatano, Y., Konishi, T. Bioavailability and tissue distribution of anthocyanins in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2006**, *54*, 6578-6587.

Ishiwata, K., Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T. DPPH radical-scavenging activity and polyphenol content in dried fruits. *Food Science and Technology Research*, **2004**, *10*, 152–156.

Kamiloglu, S., Pasli, A. A., Ozcelik, B., Capanoglu, E. Evaluating the *in vitro* bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity during consumption of dried fruits with nuts. *LWT - Food Science and Technology*, **2014**, *56*, 284-289.cpe

Kroyer, G. Stevioside and stevia-sweetener in food: application, stability and interaction with food ingredients. *Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, **2010**, *5*, 225–229.

Lazar, L., Talmaciu, A. I., Volf, I., Popa, V. I. Kinetic modeling of the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from *Picea abies* bark. *Ultrasonics Sonochemistry*, **2016**, *32*, 191–197.

- Lehtonen, H. M., Rantala, M., Suomela, J. P., Viitanen, M., Kallio, H. Urinary excretion of the main anthocyanin in lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*), cyanidin 3-O-galactoside, and its metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2009**, *57*, 4447–4451.
- Lichtenthaler, H. K., Buschmann, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV–Vis spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, **2001**, *1*, 431-438.
- Mane, C., Loonis, M., Juhel, C., Dufour, C., Malien-Aubert, C. Food grade lingonberry extract: polyphenolic composition and *in vivo* protective effect against oxidative stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2011**, *59*, 3330–3339.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S., Weitschies, W., Brodkorb, A. A standardised static in vitro digestion method suitable for food - An international consensus. *Food & Function*, **2014**, *5*, 1113–1124.
- Mohamed Sham Shihabudeen, H., Hansi Priscilla, D., Thirumurugan, K. Cinnamon extract inhibits α -glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats. *Nutrition & Metabolism*, **2011**, *8*, 46-57.
- Muhammad, A., Durrani, Y., Zeb, A., Ayub, M., Ullah, J. Development of diet jam from apple grown in swat (NWFP). *Sarhad Journal of Agriculture*, **2008**, *24*, 461-467.
- Pereira, C. C., do Nascimento da Silva, E., de Souza, A. O., Vieira, M. A., Ribeiro, A. S., Cadore, S. Evaluation of the bioaccessibility of minerals from blackberries, raspberries, blueberries and strawberries. *Journal of Food Composition and Analysis*, **2016**, *68*, 73–78.
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., Goni, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, **2007**, *101*, 492–501.
- Scrob, T., Hosu, A., Cimpoi, C. Trends in analysis of vegetables by high performance TLC. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, **2019a**, *42*, 249-257. (IF=1.312)

Scrob, T., Hosu, A., Cimpoi, C. The Influence of in vitro gastrointestinal digestion of Brassica oleracea florets on the antioxidant activity and chlorophyll, carotenoid and phenolic Content. *Antioxidants*, **2019b**, 212-223.

Scrob, T., Varodi, S. M., Vintila, G. A. Effects of sweeteners and storage on the acidity, soluble solids and sensorial profile of lingonberry jams. *Studia UBB Chemia*, **2021**, 66, 97-106.

Scrob, T., Covaci, E., Hosu, A., Tanaselia, T., Casoni, D., Torok, A. I., Frentiu, T., Cimpoi, C. Effect of in vitro simulated gastrointestinal digestion on some nutritional characteristics of several dried fruits. *Food Chemistry*, **2022a**, 385, 132713.

Scrob, T., Hosu, A., Cimpoi, C. Sweeteners from different lingonberry jams influence on bioaccessibility of vitamin C, anthocyanins and antioxidant capacity under in vitro gastrointestinal digestion. *Antioxidants*, **2022b**, 442-456.

Scrob, T., Varodi, S. M., Vintila, G. A., Casoni, D., Cimpoi, C. Estimation of degradation kinetics of bioactive compounds in several lingonberry jams as affected by different sweeteners and storage conditions. *Food Chemistry X*, **2022c**, 16, 100471.

Sutwal, R., Dhankhar, J., Kind, P., Mehla, R. Development of low calorie jam by replacement of sugar with natural sweetener stevia. *International Journal of Current Research and Review*, **2019**, 11, 9-16.

Talavera, S., Felgines, C., Texier, O., Besson, C., Lamaison, J. L., Remesy, C. Anthocyanins are efficiently absorbed from the stomach in anesthetized rats. *Journal of Nutrition*, **2003**, 133, 4178-4182.

Tokalioglu, S., Clough, R., Foulkes, M., Worsfold, P. Bioaccessibility of Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Se and Zn from nutritional supplements by the unified BARGE method. *Food Chemistry*, **2014**, 150, 321–327.

Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., Prior, R. L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2004**, 52, 4026–4037.

Zanini, D. J., Silva, M. H., Aguiar-Oliveira, E., Mazalli, M. R., Setsusko Kamimura, E., Resende Maldonado, R. Spectrophotometric analysis of vitamin C in different matrices utilizing potassium permanganate. *European International Journal of Science and Technology*, **2018**, 7, 70-84.

Zhang, Z. S., Wang, L. J., Li, D., Jiao, S. S., Chen, X. D., Mao, Z. H. Ultrasound assisted extraction of oil from flaxseed. *Separation and Purification Technology*, **2008**, 62, 192–198.

Lista lucrărilor publicate

1. **Teodora Scrob**, Anamaria Hosu, Claudia Cimpoi. Trends in analysis of vegetables by high performance TLC. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, **2019**, 42, 249-257. (IF=1.312)
2. **Teodora Scrob**, Anamaria Hosu, Claudia Cimpoi. The Influence of *in vitro* gastrointestinal digestion of *Brassica oleracea* florets on the antioxidant activity and chlorophyll, carotenoid and phenolic Content. *Antioxidants*, **2019**, 8(7), 212. (IF=7.675)
3. **Teodora Scrob**, Sanziana Maria Varodi, Georgiana Alexandra Vintila. Effects of sweeteners and storage on the acidity, soluble solids and sensorial profile of lingonberry jams. *Studia UBB Chemia*, **2021**, 66(4), 97-106. (IF=0.447)
4. **Teodora Scrob**, Eniko Covaci, Anamaria Hosu, Claudiu Tanaselia, Dorina Casoni, Anamaria Iulia Torok, Tiberiu Frentiu, Claudia Cimpoi. Effect of *in vitro* simulated gastrointestinal digestion on some nutritional characteristics of several dried fruits. *Food Chemistry*, **2022**, 385, 132713. (IF=9.231)
5. **Teodora Scrob**, Anamaria Hosu, Claudia Cimpoi. Sweeteners from different lingonberry jams influence on bioaccessibility of vitamin C, anthocyanins and antioxidant capacity under *in vitro* gastrointestinal digestion. *Antioxidants*, **2022**, 11(3), 442. (IF=7.675)
6. **Teodora Scrob**, Sânziana Maria Varodi, Georgiana Alexandra Vintila, Dorina Casoni, Claudia Cimpoi. Estimation of degradation kinetics of bioactive compounds in several lingonberry jams as affected by different sweeteners and storage conditions. Under review to *Food Chemistry X* (IF=6.63)
7. **Teodora Scrob**, Gabriela Adriana Filip, Ioana Baldea, Sânziana Maria Varodi, Claudia Cimpoi. Impact of different sweeteners on *in vitro* α -glucosidase inhibitory activity, cytotoxicity of lingonberry jams and on stability and *in vivo* bioavailability of their anthocyanins. Under review to *International Journal of Food Sciences and Nutrition* (IF=4.444)

Lista conferințelor

1. **Teodora Scrob**, Cimpoiu Claudia, Hosu Anamaria. Bioaccessibility and potential gastro-intestinal uptake of chlorophylls, carotenoids and polyphenols from *Brassica oleracea*. 9th International Conference of the Chemical Societies of the South-Eastern European Countries "Chemistry a Nature Challenger", 8-11 may, 2019, Târgoviște, Romania.
2. **Teodora Scrob**, Cimpoiu Claudia, Hosu Anamaria. Effect of *in vitro* simulated gastrointestinal digestion on total phenolics, total sugars content and antioxidant capacity of several dried fruits. 3rd International Conference on Natural and Applied Science and Engineering (ICNASSEN-2021), 16-18 April, 2021, Turkey.
3. **Teodora Scrob**, Claudia Cimpoiu, Anamaria Hosu. Degradation of bioactive compounds of several lingonberry jams during storage. Young Researchers' International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (YRICCCE III), 4-5 June, 2021, Cluj-Napoca.
4. Georgiana-Alexandra Vintila, Sanziana-Maria Varodi, **Teodora Scrob**. Preliminary phytochemical investigation of *Vaccinium* spp. leaves. International Conference "Students for Students", XVIIth Edition, 21-24 April, 2021, Cluj-Napoca.
5. Sanziana-Maria Varodi, Georgiana-Alexandra Vintila, **Teodora Scrob**. The influence of sweeteners on the characteristics of lingonberries jams. International Conference "Students for Students", XVIIth Edition, 21-24 April, 2021, Cluj-Napoca.