



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve

Cod SMIS 2021+ 309287



BELC NASTASIA

IM3.6 - Raport experimental de obținere a celui de-al doilea ingredient alimentar (final)

Titlu proiect	Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+	309287
Descriere raport	Integrarea rezultatelor experimentale privind obținerea, caracterizarea și valorificarea celui de-al doilea ingredient alimentar
Subactivitate	A3.2. Exercițiu de bioeconomie circulară
Responsabil	Universitatea de Științele Vieții „Regele Mihai I” din Timișoara - P3
Perioada raportată	Mai 2025 - Iulie 2026
Termen de predare	Iulie 2026
Rezultat asociat	R4-Două ingrediente obținute prin bioeconomie circulară și două produse alimentare
Termen finalizare	August 2026
Criteriu de validare	Aprobare de către Comitetul de conducere
Dovezi care probează îndeplinirea criteriilor	Document postat pe website-ul METROFOOD-RO





**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve

Cod SMIS 2021+ 309287

Cuprins

1. Structura parteneriatului pentru realizarea IM3.6.....	5
2. Metodologia de lucru și cadrul instituțional al cercetării.....	6
2.1. Stabilirea metodologiei de lucru în cadrul activității A3.2.	6
2.2. Aprobarea raportului de identificare a subproduselor din industria alimentară	6
3. Fundamente teoretice: polifenolii din subprodusele vitivinicole.....	9
3.1. Polifenolii: clasificare și proprietăți	9
3.2. Metode de extracție a compușilor bioactivi din tescovina de struguri	15
3.2.1. Factorii care influențează extracția polifenolilor din tescovina de struguri	15
3.2.2. Tehnologii de extracție utilizate pentru maximizarea concentrației de polifenoli din tescovina de struguri	17
3.2.3. Metode de caracterizare și analiză a polifenolilor	22
3.2.4. Aplicațiile compușilor polifenolici extrași din tescovina de struguri	29
4. Obținerea și caracterizarea tescovinei din struguri pentru valorificare ca ingredient bioactiv alimentar	32
4.1. Materia primă și tehnologia de cultură	32
4.2. Tehnologia de prelucrare	32
4.3. Caracterizarea tescovinei de struguri	34
4.3.1. Optimizarea procesului de uscare a tescovinei	35
4.3.2. Metode de analiză	38
4.3.3. Rezultate și discuții	38
4.3.4. Profilul compușilor bioactivi din tescovina de struguri	41
5. Obținerea extractului din făină de tescovină prin extracție asistată de microunde	43
5.1. Scop	43
5.2. Materiale și metode	44
5.2.1. Materialul vegetal	44
5.2.2. Solvent de extracție	44
5.2.3. Stabilirea condițiilor experimentale	44
5.2.4. Procedura de extracție	47
6. Protocoale de autenticitate pentru tescovina de struguri	52
6.1. Amprentarea elementală a tescovinei de struguri	52
6.2. Amprentare izotopică a tescovinei de struguri	54
6.2.1. Prepararea probelor pentru determinarea amprentelor izotopice ^{13}C și ^{15}N	55
6.2.2. Determinarea amprentelor izotopice	55
6.2.3. Rezultate experimentale	56
7. Analiza bioinformatică a compușilor biologic activi din tescovină.....	58
7.1. Caracteristicile fizico-chimice ce prezintă interes pentru profilul farmacologic ...	59
8. Determinări privind fezabilitatea utilizării tescovinei de struguri ca materie primă pentru dezvoltarea produselor alimentare funcționale și sustenabile	74
8.1. Introducere	74
8.2. Materiale și metode	77
8.2.1. Procedura de extracție pentru evaluarea conținutului de polifenoli totali și determinarea activității antioxidante prin metoda DPPH	77
8.2.2. Determinarea conținutului de polifenoli totali	78
8.2.3. Determinarea activității antioxidante prin metoda DPPH	79
8.2.4. Determinarea umidității	80





8.2.5. Determinarea conținutului de proteine totale	80
8.2.6. Determinarea conținutului de grăsimi	81
8.2.7. Determinarea conținutului de cenușă.....	82
8.2.8. Determinarea conținutului de zahăr	83
8.3. Rezultate.....	84
8.3.1. Determinarea conținutului de polifenoli totali (TPC) în probele analizate	84
8.3.2. Evaluarea activității antioxidante DPPH în probele analizate.....	85
8.3.3. Evaluarea caracteristicilor fizico-chimice din probele de tescovină de struguri... 85	
8.4. Caracterizarea fitochimică, elementală și toxicologică a tescovinei de struguri în vederea selecției ca ingredient alimentar funcțional.....	86
8.4.1. Material biologic.....	87
8.4.2. Metode de analiză.....	88
8.5. Analiza microbiologică a făinii de tescovină	103
8.5.1. Metode de analiza.....	103
8.5.2. Rezultate și discuții.....	105
8.6. Evaluarea încărcăturii microbiene a pulberilor vegetale prin metode standard adaptate, cu raportarea la criteriile Ordinului nr. 27/2011.....	106
8.6.1. Metode standard de numărare microbiană.....	106
8.7. Evaluarea potențialului prebiotic al pulberii de tescovină (P2)	109
8.7.1. Materiale și metode.....	109
9. Instrumente biotehnologice de modulare a funcționalității subproduselor și ingredientelor obținute	113
9.1. Funcționalitatea subproduselor rezultate de la prelucrarea strugurilor	113
9.2. Efectul fermentației lactice asupra funcționalității subproduselor rezultate de la prelucrarea strugurilor	115
9.3. Influența suplimentării cu subproduse rezultate de la prelucrarea strugurilor asupra activității fermentative a bacteriilor lactice	118
9.4. Influența suplimentării iaurtului cu subproduse rezultate de la prelucrarea strugurilor asupra activității antioxidante	120
9.5. Influența suplimentării iaurtului cu subproduse rezultate de la prelucrarea strugurilor asupra fenomenului de sinereză.....	122
9.6. Influența suplimentării iaurtului cu subproduse rezultate la prelucrarea strugurilor asupra proprietăților reologice	123
10. Studiu privind eliberarea aparentă a compusilor fenolici din tescovina de struguri în timpul digestiei in vitro	126
10.1. Material și metodă.....	126
10.1.1. Digestia gastrointestinală simulată in vitro.....	126
10.1.2. Determinarea polifenolilor totali (metoda Folin-Ciocalteu)	127
10.1.3. Determinarea capacității antioxidante totale.....	127
10.2. Rezultate	128
10.2.1. Conținutul de polifenoli totali	128
10.2.2. Capacitatea antioxidantă totală.....	130
11. Optimizarea proceselor de obținere extracte polifenolice și ridicare la scară cu valorificarea reziduurilor	134
11.1. Introducere	134
11.2. Material biologic	134
11.3. Metode de analiză	135
11.4. Rezultate și discuții	137



**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura
europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve

Cod SMIS 2021+ 309287

11.5. Obținerea prin ridicare la scară și caracterizarea extractelor de tescovina rosie din soiul Cabernet Sauvignon	142
11.5.1. Stabilirea parametrilor de lucru	142
11.5.2. Evaluarea procesului de extracție la scară mărită	144
11.5.3. Bilanțul material al procesului de extracție la 300ml.....	146
11.6. Valorificarea tescovinei reziduale	147
11.7. Concluzii.....	150
12. Extracția compușilor polifenolici din tescovină prin percolare asistată de ultrasunete și valorificarea acestora în formularea de biopesticide	151
12.1. Oportunitatea valorificării tescovinei în contextul economiei circulare și al agriculturii sustenabile.....	151
12.2. Obiectiv general	151
12.3. Direcții strategice și obiective specifice	152
12.3.1. Optimizarea procesului de extracție prin percolare asistată de ultrasunete ...	152
12.3.2. Caracterizarea fitochimică și profilarea bioactivă	152
12.3.3. Evaluarea potențialului dual: bioprotecție și biostimulare	152
12.3.4. Evaluarea impactului.....	153
12.4. Profilul fitochimic al tescovinei asociat potențialul biopesticid al compușilor polifenolici.....	153
12.5. Proprietățile biostimulatoare și biofertilizante ale extractelor polifenolice din tescovină	155
12.5.1. Mecanisme de biostimulare și inducerea rezilienței	156
12.5.2. Biofertilizarea și dinamica nutrienților în rizosferă	156
12.6. Materiale si metodă	156
12.6.1. Pregătirea materiei prime.....	157
12.6.2. Instalația Experimentală de Percolare Asistată de Ultrasunete (UAE)	157
12.7. Evaluarea activității pesticide și a spectrului de acțiune	163
12.8. Formularea biopesticidului și biofertilizantului	164
12.9. Sinteza analitică a stadiului actual al cercetării în valorificarea tescovinei.....	165
12.10. Impact și aplicabilitate	167
12.11. Concluzii	168
13. Identificarea subproduselor din viticultură și vinificație în contextul bioeconomiei circulare.....	169
13.1. Perspective asupra bioeconomiei	169
13.2. Stabilirea potențialului metanogen al deșeurilor organice.....	173
13.2.1. Prelevarea de probe și analiza acestora	173
13.2.2. Rezultate și discuții	175
14. Concluzii	179
15. Echipa de experți care a participat la elaborarea documentului.....	181
16. Bibliografie	190





**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve

Cod SMIS 2021+ 309287

1. Structura parteneriatului pentru realizarea IM3.6.

Conform Acord de colaborare din Cererea de finanțare	Abreviere	Raport
Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Bioresurse Alimentare - IBA București (Lider de proiect)	IBA	✓
INCDO INOE 2000 Filiala Institutul de Cercetări pentru Instrumentație Analitică - ICIA, Cluj-Napoca (Partener 1)	ICIA	✓
Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice și Moleculare - INCDTIM, Cluj-Napoca (Partener 2)	ITIM	✓
Universitatea de Științele Vieții "Regele Mihai I" din Timișoara (Partener 3)	USVT	✓
Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Mașini și Instalații destinate Agri-culturii și Industriei Alimentare - INMA, București (Partener 4)	INMA	✓
Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară din București - USAMV, București (Partener 5)	USAMVB	✓
Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați (Partener 6)	UDJG	✓
Universitatea din București (Partener 7)	UB	✓





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve, Cod SMIS 2021+ 309287

2. Metodologia de lucru și cadrul instituțional al cercetării

2.1. Stabilirea metodologiei de lucru în cadrul activității A3.2.

Activitățile desfășurate în această fază contribuie la realizarea OS3 - Consolidarea poziționării METROFOOD-RO în comunitatea științifică la nivel național, METROFOOD-RI și european, ca facilitate de cercetare orientată către actorii sistemului alimentar și este implementat prin intermediul activității de bază A3 - Promovarea economiei circulare, prin dezvoltarea de soluții sustenabile pentru reducerea risipei alimentare, având ca scop principal dezvoltarea a două ingrediente inovatoare obținute prin bioeconomie circulară și a două produse alimentare sustenabile.

Activitatea A3.2 - Exercițiu de bioeconomie circulară este coordonată de USV Timișoara. Obiectivul specific al subactivității A3.2 este “Fundamentarea Strategiei de Selecție a Subproduselor și Etapele Dezvoltării Ingredientelor”.

2.2. Aprobarea raportului de identificare a subproduselor din industria alimentară

Workshop-ul intitulat „Aprobarea raportului de identificare a subproduselor din industria alimentară”, organizat în cadrul proiectului METROFOOD-RO EVOLVE, reprezintă o etapă esențială în efortul național și european de consolidare a lanțului alimentar durabil și de valorificare eficientă a resurselor disponibile. Într-un context în care sustenabilitatea sistemului agroalimentar este o prioritate strategică, identificarea, clasificarea și utilizarea subproduselor alimentare dobândesc o importanță tot mai mare.



Subprodusele alimentare sunt materiale rezultate în urma proceselor tehnologice din industria alimentară, care, deși nu sunt destinate direct consumului uman, pot avea multiple întrebuințări secundare, contribuind astfel la reducerea pierderilor alimentare, la eficientizarea proceselor de producție și la crearea de noi surse de valoare economică. Aceste subproduse pot proveni din diverse sectoare alimentare: panificație, lactate, carne, legume și fructe, băuturi etc., fiind utilizate ulterior în industria furajelor, în producția de bioenergie, în cosmetică, farmacologie sau ca materii prime pentru noi produse alimentare.

Importanța acestui demers este susținută de politicile europene, cum ar fi Pactul Verde European și Strategia „De la fermă la furculiță”, care încurajează utilizarea circulară a resurselor și promovarea economiei circulare în agricultură și industrie





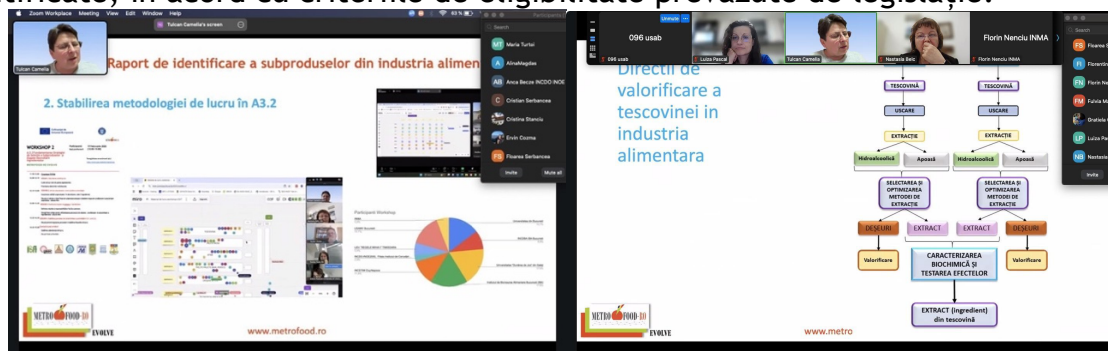
Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

alimentară. Astfel, definirea corectă a statutului juridic al unui material ca subprodus (și nu ca deșeu) presupune respectarea anumitor criterii prevăzute de legislația europeană (Directiva 2008/98/CE privind deșeurile), printre care: existența unei utilizări ulterioare certe, utilizarea legală fără efecte adverse asupra sănătății sau mediului, și generarea în cadrul unui proces de producție principal.

Workshop-ul desfășurat pe 28 mai 2025 a avut ca obiectiv principal aprobarea raportului elaborat în cadrul activității I.M.3.4., axată pe identificarea și analiza subproduselor existente în industria alimentară națională. Acest raport, rezultat al colaborării între partenerii implicați în METROFOOD-RO EVOLVE, reprezintă o bază documentară și practică esențială pentru recunoașterea și integrarea subproduselor în circuite valorice sustenabile. Prezentarea activității A3.2., urmată de prezentarea detaliată a raportului final, a permis dezbaterea și validarea tipurilor de subproduse identificate, în acord cu criteriile de eligibilitate prevăzute de legislație.



Agenda evenimentului a inclus prezentarea obiectivelor și metodologiei de lucru, analiza raportului propriu-zis cu accent pe categoriile principale de subproduse selectate, precum și o sesiune de discuții dedicate clarificării și aprobării documentului. În încheiere, au fost stabilite concluziile și pașii următori, printre care se pot menționa dezvoltarea unor planuri de valorificare, crearea de parteneriate pentru transfer tehnologic, și propuneri pentru armonizarea cadrului normativ național cu directivele europene.

În cadrul workshop-ului din data de 28 mai 2025, organizat online prin platforma ZOOM, s-au desfășurat următoarele activități conform agendei stabilite:

18:15 - 18:45 - Prezentare Activitate A3.2

- În această etapă a fost prezentată activitatea A3.2., una dintre componentele metodologice ale proiectului. Aceasta a vizat clarificarea obiectivelor specifice workshop-ului, precum și a instrucțiunilor de lucru pentru participanți.
- A fost explicată structura documentului supus aprobării și importanța acestuia pentru direcțiile strategice ale proiectului.
- S-a subliniat rolul acestei activități în cadrul mai larg al inițiativei METROFOOD-RO, respectiv contribuția la construirea unui cadru național coerent de valorificare a subproduselor alimentare.

18:45 - 19:15 - Prezentare I.M.3.4. - Raport de identificare a subproduselor din industria alimentară

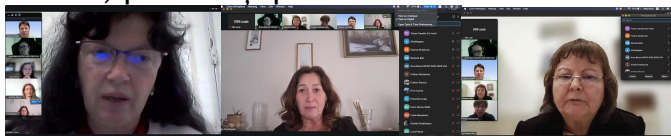




- d. Această sesiune a constituit elementul central al workshop-ului. A fost prezentat raportul final rezultat în cadrul activității I.M.3.4., document care a identificat principalele tipuri de subproduse alimentare relevante în context național.
- e. Prezentarea a inclus detalii legate de metodologia de colectare a datelor, sursele de informare, criteriile de selecție a subproduselor, precum și justificarea încadrării lor în această categorie juridico-economică. De asemenea, s-au evidențiat exemple concrete din industriile-cheie precum și posibilele aplicații ulterioare ale acestor subproduse.

19:15 - 19:30 - Discuții. Aprobare raport. Concluzii și pași următori

- a. În ultima parte a workshop-ului, participanții au fost invitați să adreseze întrebări, să aducă observații și completări raportului prezentat. Discuțiile s-au axat pe fezabilitatea implementării concluziilor raportului, pe oportunitățile de parteneriat între industrie și cercetare, precum și pe necesitatea armonizării cadrului legal.



- b. S-au tras concluzii privind valoarea strategică a documentului și s-au conturat pași următori, care includ: elaborarea unui plan de valorificare sustenabilă a subproduselor, integrarea recomandărilor în politicile instituționale ale partenerilor, și demararea unor inițiative de diseminare către stakeholderi relevanți.

În concluzie, acest workshop constituie un moment de referință în procesul de validare și operaționalizare a unor măsuri concrete de promovare a economiei circulare în industria alimentară. Prin desfășurarea acestor activități, workshop-ul a reușit să își atingă obiectivele de validare, consultare și planificare strategică a etapelor viitoare din proiectul METROFOOD-RO EVOLVE.

Ca urmare a strategiei pentru selectarea subproduselor, care a luat în considerare factorii precum disponibilitatea, costurile și potențialul subproduselor, au fost selectate cele două subproduse: tescovina și piețița de roșii. În cadrul IM 3.6. este prezentat modul de obținere a unui ingredient alimentar obținut din tescovină de struguri.



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

3. Fundamente teoretice: polifenolii din subprodusele vitivinicole

3.1. Polifenolii: clasificare și proprietăți

Industria vitivinicolă reprezintă unul dintre cele mai importante sectoare agroalimentare la nivel mondial, având un rol economic major în numeroase țări europene, inclusiv în România. Dezvoltarea intensă a viticulturii și a industriei vinului conduce însă la generarea unor cantități foarte mari de reziduuri organice, rezultate în urma procesării strugurilor. Printre cele mai importante reziduuri se numără tescovina, semințele, cojile, ciorchinii și drojdiile vinicole. Aceste subproduse sunt generate în cantități semnificative și, în lipsa unor metode eficiente de valorificare, pot produce efecte negative asupra mediului.

În ultimele decenii, interesul cercetătorilor pentru valorificarea deșeurilor din viticultura a crescut considerabil, datorită conținutului ridicat de compuși bioactivi, în special polifenoli. Polifenolii sunt compuși naturali cu proprietăți antioxidante, antimicrobiene și antiinflamatoare, având aplicații importante în industria alimentară, farmaceutică și cosmetică. Extracția acestor compuși din reziduurile viticole reprezintă o soluție sustenabilă pentru reducerea deșeurilor și pentru obținerea unor produse cu valoare adăugată ridicată.

Conceptul de economie circulară promovează reutilizarea și valorificarea deșeurilor agricole și agroindustriale, iar reziduurile rezultate din viticultură constituie un exemplu important de resursă secundară care poate fi exploatată eficient. În prezent, cercetările sunt orientate către dezvoltarea unor metode moderne și ecologice de extracție a polifenolilor, care să asigure randamente ridicate și un impact minim asupra mediului.

Cultivarea strugurilor atinge o producție mondială de aproximativ 60 de milioane de tone pe an. Aceștia sunt bogați în compuși polifenolici, 75% găsimu-se în coajă și semințe. O mare parte din recoltă este utilizată pentru producția de vin, o activitate care implică generarea de deșeuri organice, ape uzate și gaze cu efect de seră, ceea ce reprezintă o problemă serioasă de poluare. Tescovina de struguri este principalul reziduu solid din etapele de macerare și fermentare, atingând valori de aproximativ 8,49 milioane de tone pe an la nivel mondial. La fel ca vinurile, tescovina de struguri este o matrice complexă formată din diferite grupuri de compuși polifenolici, inclusiv molecule simple precum acizii hidroxicinamic și hidroxibenzoic și molecule mai complexe, cum ar fi flavonoidele. Cu toate acestea, valorificarea sa s-a concentrat pe utilizarea sa ca îngrășământ sau pe vânzarea către distilerii pentru producerea de etanol, pierzând potențiali compuși bioactivi în acest proces.

Cu accent pe industria alimentară, potențialul acestor subproduse se bazează pe conținutul de compuși fenolici și pe relația acestora cu prevenirea diferitelor boli. Procentul ridicat de polifenoli din tescovina de struguri se datorează extracției incomplete în timpul vinificației, iar variația concentrației sale este direct asociată cu soiul de struguri și cu variabilele care controlează procesul de vinificație. Fenomenele de transfer vor depinde de afinitatea substanțelor dintre cele două faze implicate. Un factor determinant este solubilitatea, deoarece aceasta variază pentru diferitele





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

grupuri de antocianine monomerice. Este posibil să se transfere în vin 60% din totalul compușilor fenolici prezenți în struguri, în schimb, doar 38% din antocianinele monomerice pot fi transferate. În acest sens, extracția compușilor fenolici din tescovina de struguri are un dublu scop: pe de o parte, reducerea poluării și, pe de altă parte, recuperarea compușilor cu valoare ridicată, deoarece aceștia au potențialul de dezvoltare ca înlocuitori pentru coloranții artificiali.

Există diferite studii privind impactul pozitiv al extractelor de tescovină de struguri, însă majoritatea se concentrează pe tescovina de struguri albi și, în consecință, cantitatea de antocianine și alți compuși din tescovina de struguri roșii este mai puțin bine documentată. În ciuda avantajelor pe care antocianinele le oferă ca posibili înlocuitori pentru coloranții artificiali, încorporarea lor în matricele alimentare este limitată din cauza stabilității lor scăzute în timpul procesării și depozitării. Stabilitatea sa este determinată de structura moleculară, pH, temperatură, oxigenul din mediu, concentrația de pigmenți și activitatea apei din matrice.

În acest sens, cercetările se concentrează pe trei etape principale: extracția, identificarea și stabilizarea. Mecanismele de extracție sunt împărțite în cel puțin 2 grupe: procese clasice și proceduri moderne, deși până în prezent nu există o metodă standard. Datorită polarității antocianinelor, se utilizează în mod obișnuit extracția solid-lichid convențională folosind apă, metanol, etanol și acetonă. Procesele convenționale au timpi lungi de extracție, un consum ridicat de solvent și ar putea provoca degradarea componentelor biologic active. Trebuie studiate tehnici suplimentare de extracție și separare pentru a respecta principiile chimiei verzi și a obține astfel extracte de calitate superioară, cu un impact minim asupra structurii moleculelor țintă.

Strugurii *Vitis vinifera* sunt deosebit de bogați în polifenoli, iar produsul lor secundar, tescovina, păstrează un conținut ridicat al acestor compuși. Polifenolii sunt un grup divers de metaboliți secundari care se găsesc din abundență în diverse surse vegetale, inclusiv fructe, legume, ierburi și semințe, ceea ce îi face cei mai răspândiți fitochimicali din regnul vegetal. Acești compuși sunt caracterizați printr-o structură comună care include un inel aromatic cu una sau mai multe unități fenolice. Sinteza polifenolilor are loc prin calea fenilpropanoidă, o cale biosintetică crucială la plante care transformă fenilalanina într-o varietate de compuși polifenolici prin reacții enzimice care implică intermediari cheie, cum ar fi acidul cinnamic și acidul p-cumaric.

Până în prezent, au fost identificați peste 10.000 de compuși fenolici, clasificați în linii mari în două grupe majore: flavonoide și non-flavonoide. Această diversitate chimică largă provine din diversele forme pe care le pot lua acești compuși - liberi sau conjugați - care diferă prin nivelul lor de hidroxilare și prin modificări precum glicozilarea, metilarea sau acilarea.

Polifenolii joacă roluri multiple în fiziologia plantelor. Aceștia contribuie la apărarea plantelor împotriva stresului abiotic (radiații ultraviolete (UV), salinitate, secetă, metale grele etc.), precum și a stresului biotic cauzat de erbivore, bacterii și ciuperci și ajută la nutriția și reproducerea plantelor. Efectele lor protectoare se





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

datorează în mare măsură proprietăților lor antioxidante puternice. În consecință, acești compuși au câștigat o atenție considerabilă în ultimele decenii pentru beneficiile lor pentru sănătate, studiile concentrându-se pe diverse sisteme in vitro și in vivo, inclusiv linii celulare umane, modele animale și culturi microbiene, pentru a evalua activitățile lor antibacteriene, antiinflamatorii, anticardiovasculare, antidiabetice și anticancerigene. Mai mult, au fost efectuate mai multe studii clinice pentru a valida potențialul lor terapeutic, în special în contextul efectelor anticancerigene și antidiabetice, demonstrând rezultate promițătoare în îmbunătățirea rezultatelor pacienților.

Soiurile de struguri sunt adesea clasificate în funcție de culoarea pieluței, care joacă un rol semnificativ în determinarea profilului fenolic. Strugurii pot fi, în general, clasificați în soiuri roșii, albi și negri/violet. Strugurii roșii, cum ar fi *Cabernet Sauvignon* și *Merlot*, sunt bogați în antocianine, care contribuie la culoarea lor intensă și au proprietăți antioxidante puternice. De asemenea, conțin niveluri ridicate de flavonoli și taninuri, cunoscuți pentru efectele lor antiinflamatorii și cardioprotectoare. În schimb, strugurii albi, cum ar fi *Chardonnay* și *Sauvignon Blanc*, au un conținut mai scăzut de antocianine și taninuri, dar sunt totuși bogați în acizi fenolici, cum ar fi acidul cafeic și acidul p-cumaric, care contribuie la capacitatea lor antioxidantă. Strugurii negri sau violet, cum ar fi *Concord*, sunt abundenți în resveratrol, un compus stilbenic bine cunoscut pentru potențialele sale proprietăți anti-îmbătrânire și anticancerigene.

Compoziția fenolică a tescovinei de struguri poate varia semnificativ în funcție de factori precum tipul de sol, condițiile agroclimatice, soiul de struguri și tehnicile de vinificație. Mai precis, procesul de vinificație diferă pentru vinurile roșii și albe. În producția de vin alb, strugurii sunt zdrobiți, iar mustul nu este de obicei fermentat cu reziduurile solide. În schimb, producția de vin roșu implică macerarea și fermentarea alcoolică a boabelor de struguri cu mustul. Această diferență afectează semnificativ compoziția tescovinei, soiurile albe, deși mai puțin bogate în fenoli, oferind totuși subproduse nefermentate valoroase.

Diverse familii fenolice pot fi găsite în tescovină, inclusiv flavonoide, acizi fenolici și stilbene.

Polifenolii se împart în mai multe categorii principale:

Flavonoidele: sunt cei mai răspândiți polifenoli din struguri și includ: flavonoli; flavanolii; catechine; antociani.

Flavonoidele reprezintă un grup semnificativ de polifenoli definiți prin structura lor C₆-C₃-C₆, care constă din două inele fenil (A și B) conectate printr-o punte cu trei atomi de carbon care formează un inel piranic heterociclic închis (C). Acest schelet de fenil benzopiran permite o gamă largă de substituții și modificări, rezultând diverse familii de flavonoide. Principalele flavonoide găsite în tescovina de struguri sunt flavanolii, antocianinele și flavonoli. Unele studii identifică, de asemenea, prezența altor grupări flavonoide, cum ar fi flavanonele și flavonele.

Flavonoidele sunt cunoscute în special pentru proprietățile lor antioxidante. Aceste substanțe ajută la protejarea celulelor împotriva efectelor negative ale radicalilor liberi, molecule instabile care pot provoca deteriorarea celulelor și pot





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

contribui la apariția unor boli. Prin acțiunea lor antioxidantă, flavonoidele contribuie la menținerea sănătății organismului și la reducerea stresului oxidativ.

Pe lângă efectul antioxidant, flavonoidele au și proprietăți antiinflamatoare, ajutând la reducerea proceselor inflamatorii din organism. De asemenea, unele flavonoide pot împiedica dezvoltarea anumitor bacterii și microorganisme, ceea ce le conferă proprietăți antimicrobiene.

Consumul de alimente bogate în flavonoide este asociat cu numeroase beneficii pentru sănătate, inclusiv protecția sistemului cardiovascular și susținerea mecanismelor naturale de apărare ale organismului. În plus, flavonoidele contribuie la menținerea calității și stabilității produselor alimentare datorită capacității lor de a încetini procesele de oxidare.

Din punct de Vedere agricol, în plante, flavonoidele îndeplinesc numeroase funcții importante pentru creștere și dezvoltare. Acestea contribuie la protecția împotriva radiațiilor ultraviolete (UV), reduc efectele stresului cauzat de secetă, temperaturi extreme sau salinitate și participă la mecanismele naturale de apărare împotriva agenților patogeni. De asemenea, flavonoidele sunt implicate în procesele de comunicare dintre plante și microorganismele benefice din sol, favorizând dezvoltarea unor relații simbiotice care contribuie la absorbția nutrienților. Datorită acestor proprietăți, compușii bogați în flavonoide proveniți din subproduse vegetale, inclusiv tescovina de struguri, prezintă interes pentru dezvoltarea biostimulatorilor și a produselor utilizate în agricultura sustenabilă.

Flavan-3-olii sunt compuși flavonoizi care joacă un rol crucial în proprietățile nutriționale și senzoriale ale strugurilor și ale produselor derivate din struguri. Din punct de vedere chimic, flavanolii se diferențiază de alți flavonoizi printr-o grupare hidroxil (-OH) atașată la al treilea atom de carbon al inelului C. Acești compuși sunt prezenți atât în semințele de struguri, cât și în pielețe, semințele conținând de obicei o concentrație mai mare și o compoziție diferită. Monomerii flavan-3-olului includ catechină și epicatechină, care pot forma în continuare oligomeri și polimeri, cum ar fi taninurile condensate sau proantocianidinele. În plus, flavanolii pot fi esterificați cu acid galic, formând compuși precum catechin galat, epicatechin galat, galocatechină, epigallocatechină și epigallocatechin galat

Antocianinele: sunt pigmenți naturali responsabili pentru culorile roșu, albastru și violet din multe fructe și legume. În struguri, acești pigmenți se găsesc exclusiv în pielețe. Antocianinele există în principal sub formă de glicozide, formate atunci când o antocianidină, forma agliconă (fără zahăr), se leagă de una sau mai multe molecule de zahăr. Această glicozilare le sporește stabilitatea și solubilitatea în apă, făcând din antocianine principalii pigmenți responsabili de colorarea vie a țesuturilor vegetale.

Antocianidinele, nucleul structural al antocianinelor, se bazează pe ionul flavil sau 2-fenilbenzopiriliu și conțin grupări hidroxil și metoxil în diferite poziții. Numeroase antocianidine se găsesc în strugurii roșii, variind în funcție de numărul și poziția substituenților hidroxil și metoxil, glucozidele malvidinice fiind cele mai abundente.

Deși majoritatea antocianinelor sunt extrase în vin în timpul vinificației, un număr semnificativ rămâne în tescovina de struguri. Antocianinele identificate în tescovină includ în principal 3-O-glucozide ale delfinidinei, cianidinei, petunidinei,





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

pelargonidinei, peonidinei și malvidinei. În plus, au fost identificați și derivați de acetyl, cumaril sau cafeoil - forme modificate ale antocianinelor în care grupările de acid acetic, cumaric sau cafeic sunt atașate la molecula de antocianină. Beneficiile semnificative pentru sănătate ale acestor molecule au condus la numeroase studii axate pe caracterizarea lor chimică în tescovina de struguri.

În domeniul agricol, antocianinele contribuie la mecanismele naturale de apărare ale plantelor împotriva diferiților factori de stres, precum radiațiile UV excesive, temperaturile extreme, seceta sau atacul unor agenți patogeni. Datorită proprietăților lor antioxidante, acestea ajută la protejarea țesuturilor vegetale și la reducerea efectelor stresului oxidativ. De asemenea, tescovina de struguri bogată în antocianine și alți compuși fenolici poate fi valorificată în agricultură ca ingredient în biostimulatori sau amendamente organice, contribuind la îmbunătățirea calității solului și la dezvoltarea sustenabilă a culturilor.

Taninurile: sunt compuși fenolici cu greutate moleculară mare, prezenți în diferite părți ale strugurilor, în special în semințe, piele și ciorchini. Acestea contribuie semnificativ la proprietățile senzoriale ale vinului, influențând gustul, astringența și structura acestuia. Taninurile sunt responsabile pentru senzația de „uscăciune” percepută în cavitatea bucală, deoarece interacționează cu proteinele din salivă. De asemenea, ele joacă un rol important în stabilitatea și evoluția vinului în timpul maturării, participând la formarea și stabilizarea culorii.

Din punct de vedere chimic, taninurile sunt clasificate în două categorii principale: taninuri hidrolizabile și taninuri condensate. În struguri și în produsele rezultate din prelucrarea acestora predomină taninurile condensate, cunoscute și sub denumirea de proantocianidine. Acestea sunt formate din unități de flavanoli, precum catechina și epicatechina, legate între ele în structuri complexe.

Taninurile sunt recunoscute pentru puternica lor activitate antioxidantă, având capacitatea de a neutraliza radicalii liberi și de a proteja celulele împotriva deteriorării oxidative. Prin această acțiune, ele contribuie la reducerea stresului oxidativ și la menținerea integrității structurilor celulare. În plus, numeroase studii au evidențiat proprietăți antiinflamatoare și antimicrobiene ale taninurilor, acestea putând inhiba dezvoltarea unor bacterii și fungi patogeni.

Beneficiile taninurilor nu se limitează doar la sănătatea umană. În plante, acestea reprezintă un important mecanism natural de apărare împotriva insectelor, microorganismelor și erbivorelor. Gustul lor astringent descurajează consumul țesuturilor vegetale, iar activitatea antimicrobiană contribuie la protecția plantei împotriva infecțiilor.

În agricultură, taninurile și extractele bogate în taninuri provenite din tescovina de struguri prezintă interes pentru dezvoltarea biostimulatorilor și a produselor de protecție a plantelor. Acestea pot contribui la creșterea rezistenței culturilor la diferite forme de stres și pot reduce dependența de produse chimice de sinteză. De asemenea, tescovina bogată în taninuri poate fi utilizată ca amendament organic, contribuind la îmbunătățirea calității solului și la valorificarea sustenabilă a subproduselor vitivinicole.





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Datorită proprietăților lor antioxidante, antimicrobiene și de protecție naturală, taninurile reprezintă una dintre cele mai valoroase categorii de compuși bioactivi prezenți în tescovina de struguri, fiind de interes atât pentru industria alimentară și farmaceutică, cât și pentru sectorul agricol.

Non-flavonoidele sunt structural mai simple decât flavonoidele. Se caracterizează prin structura lor fenolică de bază, căreia îi lipsește configurația cu trei inele tipică flavonoidelor. Această familie include acizii fenolici și stilbenele, ambii jucând roluri semnificative în proprietățile antioxidante ale strugurilor și ale produselor derivate din struguri.

Stilbenele sunt fitoalexine, localizate predominant în piețile strugurilor, cu o structură chimică C6-C2-C6, caracterizată printr-o catenă principală de 1,2-difeniletilenă. Plantele produc acești compuși ca mecanism de apărare împotriva stresurilor biotice și abiotice. Stilbenele pot exista sub formă de monomeri, dimeri sau oligomeri.

Resveratrolul este cel mai cunoscut stilben, capabil să formeze compuși mai complecși prin suferirea mai multor modificări, cum ar fi glicozilarea, metoxilarea, oligomerizarea și izoprenilarea. Acesta este produs în mod natural de plantă ca mecanism de apărare împotriva factorilor de stres, precum infecțiile fungice, radiațiile UV și condițiile de mediu nefavorabile. În struguri, resveratrolul se găsește în principal în piețe, dar poate fi prezent și în semințe și ciorchini, motiv pentru care tescovina reprezintă o sursă importantă a acestui compus bioactiv.

Interesul pentru resveratrol este determinat de numeroasele sale efecte benefice asupra sănătății. Datorită proprietăților sale antioxidante, acesta contribuie la neutralizarea radicalilor liberi și la reducerea stresului oxidativ, protejând celulele împotriva deteriorării. De asemenea, resveratrolul prezintă proprietăți antiinflamatoare, fiind capabil să reducă procesele inflamatorii asociate cu diverse afecțiuni cronice.

Numeroase studii au evidențiat rolul resveratrolului în protecția sistemului cardiovascular. Acesta poate contribui la menținerea sănătății vaselor de sânge, la îmbunătățirea circulației sanguine și la reducerea riscului de apariție a bolilor cardiovasculare. În plus, cercetările sugerează că resveratrolul poate avea activitate anticancerigenă prin inhibarea dezvoltării și proliferării anumitor celule tumorale.

Resveratrolul este asociat și cu efecte neuroprotectoare, având capacitatea de a proteja celulele nervoase împotriva stresului oxidativ și a proceselor degenerative. Din acest motiv, este intens studiat pentru potențialul său rol în prevenirea unor afecțiuni neurodegenerative.

Din punct de vedere agricol, resveratrolul face parte din sistemul natural de apărare al plantelor. Acesta este sintetizat ca răspuns la atacul agenților patogeni și la diferite forme de stres abiotic, contribuind la creșterea rezistenței plantelor. Datorită proprietăților sale antimicrobiene și antioxidante, resveratrolul este considerat un compus de interes pentru dezvoltarea unor soluții inovatoare destinate agriculturii sustenabile.

Acizii fenolici sunt o clasă diversă de compuși, împărțiți în acizi hidroxibenzoici și acizi hidroxicinamici, în funcție de numărul și poziția grupărilor hidroxil de pe inelul





aromatic. Acizii hidroxicinamici sunt compuși fenolici predominanți din struguri, caracterizați printr-un schelet de atomi de carbon C6-C3 cu o legătură dublă în catena laterală. Principalii acizi hidroxicinamici găsiți în struguri includ acizii cafeic, ferulic și p-cumaric. Acești compuși se conjugă adesea cu acidul tartric, formând acizi caftaric, fertaric și respectiv coutaric. Cantități semnificative din acești compuși sunt prezenți și în pielețele strugurilor. Acizii hidroxi benzoici sunt derivați ai acidului benzoic, având un schelet de atomi de carbon C6-C1. Cei mai comuni acizi hidroxi benzoici din struguri sunt acizii vanilic, siringic, galic, protocatechuic și elagic.

Acizii fenolici sunt abundenți în tescovina de struguri, ceea ce îl face o sursă valoroasă de compuși bioactivi. Studiile au arătat că conținutul total de acid fenolic din tescovină poate varia semnificativ. De exemplu, un studiu realizat de Onache și colab. (2022) a constatat că nivelurile de acid siringic au variat de la 18,31 la 19,80 mg/100 g în tescovina de struguri albi și de la 22,00 la 94,30 mg/100 g în tescovina de struguri roșii, tescovina de struguri Merlot prezentând cele mai mari cantități. În mod similar, acizii galic și elagic au fost găsiți în cantități comparabile atât în tescovina de struguri albi, cât și în cea de struguri roșii, cu concentrații cuprinse între 6,44 și 14,02 mg/100 g pentru acidul galic și între 0,28 și 3,63 mg/100 g pentru acidul elagic. Literatura de specialitate anterioară a raportat cantități comparabile de acid siringic și galic în tescovină, cu niveluri de acid galic între 2,52 și 36,04 mg/100 g și niveluri de acid siringic între 46,9 și 173,1 mg/100 g în tescovina de struguri Cabernet Sauvignon, Merlot și Malbec roșu.

Acizii fenolici sunt compuși bioactivi cunoscuți în principal pentru proprietățile lor antioxidante, contribuind la neutralizarea radicalilor liberi și la reducerea stresului oxidativ. De asemenea, aceștia prezintă proprietăți antimicrobiene și antiinflamatoare, având efecte benefice asupra sănătății. În plante, acizii fenolici participă la mecanismele naturale de apărare împotriva agenților patogeni și a diferiților factori de stres, precum radiațiile UV și seceta. Datorită acestor proprietăți, ei prezintă interes atât pentru industria alimentară și farmaceutică, cât și pentru agricultură.

3.2. Metode de extracție a compușilor bioactivi din tescovina de struguri

3.2.1. Factorii care influențează extracția polifenolilor din tescovina de struguri

Eficiența procesului de extracție a compușilor polifenolici din tescovina de struguri este influențată de numeroși factori care determină atât randamentul extracției, cât și calitatea extractelor obținute. Polifenolii reprezintă o categorie complexă de compuși bioactivi, caracterizați prin structuri chimice diferite și grade variate de polaritate și stabilitate. Din acest motiv, condițiile de extracție trebuie atent optimizate pentru a obține cantități ridicate de compuși activi fără degradarea acestora. Parametrii utilizați în timpul extracției influențează transferul de masă dintre matricea vegetală și solvent, precum și stabilitatea compușilor fenolici în timpul procesării.

Unul dintre cei mai importanți factori este tipul solventului utilizat. Alegerea solventului influențează direct capacitatea de dizolvare a compușilor polifenolici. Deoarece majoritatea polifenolilor sunt compuși polari, cei mai utilizați solvenți sunt apa, etanolul, metanolul, acetona sau diferite amestecuri hidroalcoolice. Etanolul este



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

considerat unul dintre cei mai avantajoși solvenți datorită eficienței ridicate de extracție și toxicității reduse, fiind acceptat pentru aplicațiile alimentare și farmaceutice. În schimb, metanolul prezintă o capacitate mare de extracție, însă utilizarea sa este limitată din cauza toxicității ridicate. În ultimii ani, interesul cercetătorilor s-a orientat către utilizarea solvenților verzi, precum solvenții eutectici naturali și apa subcritică, pentru a reduce impactul asupra mediului și pentru a respecta principiile chimiei verzi.

Temperatura de extracție reprezintă un alt parametru esențial. Creșterea temperaturii favorizează solubilizarea compușilor fenolici și accelerează transferul de masă prin reducerea vâscozității solventului și creșterea difuziei. În general, temperaturile mai ridicate conduc la creșterea randamentului extracției. Cu toate acestea, polifenolii, în special antocianinele, sunt compuși sensibili la temperaturi ridicate, iar expunerea excesivă poate provoca degradarea sau oxidarea lor. Din acest motiv, optimizarea temperaturii trebuie realizată în funcție de stabilitatea compușilor vizati și de metoda de extracție utilizată.

Timpul de extracție influențează de asemenea eficiența procesului. Un timp mai mare de contact între solvent și materialul vegetal permite extracția unei cantități mai mari de compuși bioactivi. Totuși, prelungirea excesivă a timpului de extracție poate determina degradarea polifenolilor și creșterea costurilor energetice și operaționale. Metodele moderne de extracție, precum extracția asistată cu ultrasunete sau microunde, permit reducerea semnificativă a timpului de extracție comparativ cu metodele convenționale.

Raportul solvent/materie primă reprezintă un factor important în obținerea unui randament ridicat. O cantitate mai mare de solvent favorizează dizolvarea compușilor fenolici și crește eficiența extracției. Cu toate acestea, utilizarea excesivă a solventului conduce la creșterea costurilor și la dificultăți suplimentare în etapele de separare și concentrare a extractelor. Din acest motiv, este necesară stabilirea unui raport optim care să asigure atât eficiența extracției, cât și sustenabilitatea procesului.

Dimensiunea particulelor materiei prime influențează suprafața de contact dintre solvent și matricea vegetală. Reducerea dimensiunii particulelor prin măcinare facilitează pătrunderea solventului și accelerează extracția compușilor bioactivi. Totuși, particulele foarte fine pot provoca dificultăți de filtrare și separare ulterioară a extractului.

pH-ul mediului de extracție influențează stabilitatea și solubilitatea polifenolilor, în special a antocianinelor. În general, un mediu acid contribuie la stabilizarea antocianinelor și la menținerea culorii acestora. Din acest motiv, în numeroase studii se utilizează solvenți acidificați cu acid formic, acid citric sau acid clorhidric pentru extracția pigmentilor antocianici.

Caracteristicile materiei prime reprezintă un alt factor determinant. Compoziția tescovinei diferă în funcție de soiul de struguri, condițiile pedoclimatice, gradul de maturitate și tehnologia de vinificație utilizată. Tescovina provenită din struguri roșii conține, în general, cantități mai mari de antocianine și taninuri comparativ cu cea provenită din struguri albi. De asemenea, procesul de fermentație influențează cantitatea de polifenoli rămasă în reziduuri după vinificație.





Metoda de extracție utilizată influențează semnificativ eficiența procesului și calitatea extractelor obținute. Metodele convenționale, precum extracția solid-lichid, necesită timpi mari de procesare și volume ridicate de solvent. În schimb, tehnologiile moderne, precum extracția asistată cu ultrasunete, extracția cu fluide supercritice, extracția cu microunde sau extracția sub presiune, permit obținerea unor randamente ridicate într-un timp mai scurt și cu un consum redus de solvent.

Optimizarea factorilor care influențează extracția polifenolilor este esențială pentru dezvoltarea unor procese eficiente, sustenabile și aplicabile la scară industrială. Alegerea condițiilor optime de extracție permite obținerea unor extracte bogate în compuși bioactivi, cu proprietăți funcționale și biologice valoroase pentru diferite domenii de aplicare.

3.2.2. Tehnologii de extracție utilizate pentru maximizarea concentrației de polifenoli din tescovina de struguri

Extracția este o etapă esențială în izolarea și identificarea compușilor fenolici din tescovina de struguri. Acestea sunt împărțite în două categorii: tehnici și tradiționale de extracție.

Procesele tradiționale includ acțiuni de macerare și extracție cu solvent. Aceste proceduri necesită mult timp, sunt costisitoare în principal din cauza cantității de solvenți utilizați, a randamentului scăzut al analiților de interes din cauza degradării termice, precum și a practicilor inadecvate de eliminare și reciclare a solvenților.

Cu toate acestea, tehnicile moderne includ extracția *asistată de ultrasunete*, extracția cu fluide supercritice, *extracția cu lichide sub presiune*, câmpurile electrice pulsate, extracția accelerată cu solvent și extracția cu solvenți eutectici profunzi naturali. Aceste tehnici sunt mai eficiente, necesită un timp de extracție mai scurt, costă mai puțin și oferă o puritate superioară a moleculelor extrase.

Cu toate acestea, există diferite probleme inerente metodelor convenționale și moderne, și anume toxicitatea solventului, polaritatea moleculelor, solubilitatea, selectivitatea scăzută și separarea componentelor bioactivi de solvent. Polifenolii prezintă variații în ceea ce privește solubilitatea și randamentul de recuperare, ceea ce face dificilă extracția selectivă.

Extracția solid-lichid

Procedura obișnuită pentru extragerea polifenolilor din tescovină este extracția solid-lichid cu agitare mecanică. Datorită naturii lor polare, aceștia sunt solubilizați în solvenți protici polari, care includ soluții etanolice sau metanolice. Aceste tehnici duc la pierderea compușilor legați de hidroliză și oxidare. Factorii legați de performanța sa eficientă, cum ar fi tipul de solvent, raportul solvent/probă, dimensiunea particulelor, temperatura și timpul de extracție, determină extracția optimă. Etanolul oferă o eficiență mare a extracției, dar nu este specific pentru diferitele tipuri de polifenoli. Un alt solvent utilizat este metanolul, dar toxicitatea asociată limitează utilizarea sa la proceduri experimentale. Din acest motiv, etanolul a fost recunoscut ca fiind sigur de către Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară și Comitetul de Experți FAO/OMS pentru Aditivi Alimentari.



Extracție asistată cu ultrasunete (UAE)

Există diferite intervale de frecvență pentru ultrasunete, cum ar fi ultrasunetele de putere (20-100 kHz) utilizate în curățare, sudarea plasticului și procesele de extracție; intervalul extins (100 kHz-2 MHz), aplicat în sonochimie; și intervalul de înaltă frecvență (2-10 MHz), care este adesea utilizat în imagistica medicală. Ultrasunetele de putere sunt utilizate în extracția polifenolilor. Frecvențele joase induc bule mari de cavitație în mediul de extracție. Bulele implodează violent, ceea ce provoacă o forfecare mai mare, ducând la deteriorarea celulară superioară, o penetrare mai mare a solventului și o rată de extracție mai mare. Puterea furnizată pentru extracția din subproduse din fructe și legume depinde de molecula specifică care urmează să fie extrasă și de matricea selectată și variază în intervalul 20 până la 700 W.

Diferite studii au raportat extracția compușilor bioactivi folosind ultrasunete. Zheng și colab., 2010, au evaluat extracția antocianinelor din piețele strugurilor. Pentru a realiza acest studiu, au folosit un design ortogonal cu 4 factori și 3 niveluri. Factorii evaluați au fost solventul (metanol/acid formic: 95, 98 și 100%), timpul de extracție (30, 60, 90 min), temperatura de extracție (25, 30, 35 °C) și timpul de extracție cu ultrasunete (0, 10, 20 min). Extracția optimă a antocianinelor a fost obținută cu solvent acid formic/metanol (95%), cu ultrasunete timp de 10 min, temperatura de extracție la 25 °C și timpul de extracție timp de 1,5 ore. Valorile obținute în aceste condiții pentru antocianinele monomerice totale $1442,7 \pm 136,6$ mg/100 g piele-dw, antocianine acilate totale $663,1 \pm 66,1$ mg/100 g piele-dw și antocianine polimerice totale $30,4 \pm 3,1$ mg/100 g piele-dw. Aplicarea ultrasunetelor are un impact favorabil asupra extracției antocianinelor, deoarece provoacă rupura fizică a pereților celulari și a membranei celulare, ceea ce facilitează pătrunderea eficientă a solventului în țesutul celular.

Da Porto și colab., 2015, au decis să evalueze extracția cu ultrasunete urmată de extracția cu fluid supercritic. Extracția cu ultrasunete a fost efectuată la o frecvență de 20 kHz și 80 W timp de 4, 7 și 10 minute. În condițiile evaluate, s-a constatat un conținut mai mare de polifenoli la 80 °C și 4 minute, atingând o valoare de 2336 ± 7 mg GAE 100 g DM⁻¹.

Drosou și colab., 2015, au evaluat mai multe metode de extracție și pretratare în ceea ce privește randamentul și recuperarea compușilor fenolici. În cazul extracției cu ultrasunete, s-a utilizat ca solvent apă sau apă:etanol (1:1), la o frecvență de 25 kHz, o putere de 300 W și o temperatură de 20 °C pentru o durată totală de 60 de minute. Compușii fenolici au atins o valoare de până la 438.984 ± 4034 ppm GAE în extractul uscat, cu o activitate antiradicală ridicată de $0,36 \pm 0,01$ până la $0,91 \pm 0,02$ mg/mL. De asemenea, au raportat o valoare de 34.188 ± 362 mg echivalenți de malvidin-3-O-glucozidă per g de piele de struguri uscată la aer, antocianine totale mai mari decât uscarea solară sau netratată.

După cum s-a demonstrat, extracția cu ultrasunete poate îmbunătăți extracția compușilor bioactivi sensibili la căldură prin temperaturi de procesare mai scăzute. Principalele avantaje în comparație cu extracția convențională sunt reducerea timpului de procesare și a volumului de solvent.



Extracția lichidă sub presiune utilizează solvenți la temperaturi ridicate și la o presiune suficientă pentru a-i menține în stare lichidă. Temperatura este unul dintre parametrii cheie de optimizare într-un PLE, deoarece proprietățile solventului se schimbă odată cu creșterea temperaturii. De asemenea, aceasta afectează transferul de masă prin modificarea tensiunii superficiale, a difuzivității și a vâscozității solventului.

Pe de altă parte, utilizarea temperaturilor ridicate este limitată atunci când compușii de interes sunt termolabili. Spre deosebire de temperatură, presiunea are un impact limitat asupra caracteristicilor solventului în stare lichidă. În mod normal, se utilizează o presiune de 5-15 MPa, cu excepția cazului în care este selectată presiunea de saturație a solventului. PLE poate fi în mod de curgere continuă sau static, pentru fiecare fiind necesare modele diferite.

Cel mai frecvent utilizat solvent în această tehnică este etanolul, iar temperatura ar fi în intervalul 40-60 °C și 75-220 °C pentru compușii fenolici termolabili, respectiv termostabili.

Pereira și colab., 2018, au evaluat extracția la presiune înaltă folosind metoda dinamică. Au fost evaluate temperaturi de 40, 60, 80 și 100 °C, utilizând ca solvenți etanol pur, apă-etanol (50% v / v), apă-etanol pH = 2,0 (50% v / v) și apă acidificată (pH = 2,0), constantă de presiune la 10,0 ± 0,5 MPa și debit masic 5,0 g/min. Pentru metoda secvențială, extracția din prima fază a fost efectuată la 40 °C, apă/etanol (50% v / v) pH 2,0 și faza a doua la 100 °C, apă/etanol (50% v / v). Cele mai bune condiții de extracție a antocianinelor au fost etanol-apă (50% v / v), pH 2,0 și 40 °C. Au fost identificate și cuantificate cincisprezece antocianine; cinci dintre ele constituie peste 78% din total.

Extracția cu fluide supercritice (SFE)

Extracția cu fluide supercritice implică practic două etape: în primul rând, extracția compușilor solubili din solid, urmată de separarea analiților țintă de solvent. Factorii care influențează eficiența extracției supercritice includ: selecția adecvată a fluidelor supercritice, utilizarea modificatorilor, condițiile de temperatură și presiune.

Dioxidul de carbon (CO₂) în condiții supercritice este cel mai utilizat ca solvent în aplicațiile alimentare. Are un cost redus și se elimină ușor prin simpla expansiune la valori ale presiunii ambientale, ceea ce favorizează obținerea de extracte cu puritate ridicată. CO₂ supercritic dizolvă compuși nepolari sau slab polari. Extracția cu fluide supercritice se efectuează fără lumină și aer, reducând la minimum riscul reacțiilor de deteriorare care sunt frecvente în metodele convenționale.

CO₂ supercritic are o capacitate limitată de a dizolva polifenolii din reziduurile de struguri. Pentru a compensa această dificultate, se introduce de obicei un modificator polar (etanol, apă) ca și cosolvent pentru a-i crește puterea de solvatare. Ca solvent polar alimentar, etanolul este unul dintre cei mai utilizați. Consumul de solvent în timpul metodei cu CO₂ modificat este mai mic în comparație cu metodele tradiționale, unde procentul de etanol fluctuează între 5-15%. În timpul procesului de extracție cu fluid supercritic, se utilizează o temperatură de extracție moderată (30 °C), evitând astfel degradarea acestor analiți.



Pinelo și colab., 2007, au dezvoltat două metode: extracția convențională și extracția cu fluid supercritic. Pentru procesul convențional, viteza de agitare a fost de 140 rpm, temperatura 25-50 °C și raporturile solid-lichid 1:1, 5:1. Pentru metoda supercritică, temperatura a fost de 35-50 °C, presiunea 80-350 bar, iar modificatorul a variat între 0-8%. Randamente de extracție mai mari au fost obținute atunci când etanolul a fost utilizat ca și co-solvent. S-a obținut un randament de extracție între 2,5 și 30%, unde cea mai mare valoare corespunde unui modificador de 8% și presiunii ridicate. Extractele obținute cu fluid supercritic au prezentat o concentrație fenolică și o activitate antiradicalică mai mari decât cele obținute prin metoda convențională.

Ghafoor și colab., 2010, au studiat SFE. Pentru dezvoltarea experimentală s-a utilizat un design de matrice ortogonală. Debitul de CO₂ și modificador au fost stabilite la 2 mL/min, extracția fiind efectuată timp de 30 de minute în fiecare serie experimentală. Temperaturile testate au fost de 37, 40, 43 și 46 °C; presiunile de 140, 150, 160 și 170 kg cm⁻², modificatorii de 5, 6, 7 și 8% etanol. Condițiile optime găsite: temperatură de 45-46 °C, presiune de 160-165 kg cm⁻² și etanol de 6-7%. S-a obținut un randament maxim de 12,31%, 2,156 mg GAE/100 mL polifenoli totali și 1,176 mg/mL antocianine totale.

Tabel 3.1. Tehnici de extracție pentru obținerea compușilor polifenolici din tescovina de struguri

Metoda de extracție	Materii prime	Compuși principali identificați	Conținut fenolic	Referință
EAU (etanol, 25 kHz, 20°C, 60 min)	Agiorgitiko - tescovina de struguri roșii	Delfinidină, Malvidin-3-O-glucozidă, Miricetină, Quercetină	TPC: 438.984 ± 4034 ppm GAE	(Drosou C. et al., 2015)
EAU (Temperatură: 80 °C, Timp: 4 min) și SFE	tescovina de struguri roșii	Proantocianidine	TPC: 3493 ± 61 mg GAE/100 g DW	(Da Porto C. et al., 2015)
EAU (Frecvență: 2458 MHz, Densitate de putere: 1000 W/L, Timp: 30 min, Temperatură: 28 ± 3 °C)	tescovina de struguri cu pielea roșie	Malvidin-3-O-glucozidă, Quercetină, Catechină, Miricetină	TPC: 104 mg GAE/g	(Caldas T. W. et al., 2018)
MAE (Timp: 10 min, Putere: 93 W, Temperatură: 24 ± 1 °C)	Tescovină de struguri Chardonnay	Flavanoli, Quercetină, Kaempferol, Acid galic	TPC: 1,21 ± 0,04 mg GAE/mL	(Garrido T. et al., 2019)
Extracție subcritică cu apă (Timp: 10 min, Presiune: 10,34 MPa) și NaDES	Tescovină de struguri roșii	Catechină, Epicatechină, Procianidine, Resveratrol	Catechină și epicatechină: creștere de 45,05% și 47,98%	(Loarce L. et al., 2020)



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Extracție subcritică cu apă (Temperatură: 100-200 °C, Presiune: 25 × 10 ⁵ Pa)	Tescovină de struguri (soiuri roșii și albe)	Acid galic, procianidine, malvidin-3-O-glucozidă	TPC: 11,67 ± 1,67-72,52 ± 2,43 mg/g DW	(Yammine S. et al., 2020)
UAE (Temperatură: 80 °C, Timp: 30 min) și B-CD	Tescovină de struguri Muscat	Acid galic, Catechină, Quercetină	TPC: 57,47 mg GAE/g DW	(Alibante A. et al., 2021)
EAU (Temperatură: 20 °C, Timp: 30 min) și hidrodifuzia cu microunde și gravitația (MHG) (Temperatură: 80 °C, Timp: 10 min, Densitate de putere: 2 W/g) cu extracția în fază solidă (SPE)	Tescovină de struguri Aglianico	Catechină, clorură de malvidin-3-O-glucozidă, clorură de cianidină	TPC: de 6,5 până la 8,5 ori mai mare în MHG	(Crescente G. et al., 2023)
UAE (Solvent: metanol acidifiat cu acid formic (95, 98, 100%) Timp: 30, 60, 90 min Temperatură: 25, 30, 35 °C)	Coajă de struguri Cabernet Sauvignon	Antocianine monomerice totale Antocianine acilate totale Antocianine polimerice totale	1442,7 mg/100 g DW; 663,1 mg/100 g DW; 30,4 mg/100 g DW.	(Zheng L. et al., 2010)
UAE (apă, 55 ± 5 kHz, 435 ± 5 W/L, 50 °C, 60 min)	Tescovină de struguri Syrah (pielețe + semințe)	Polifenoli totali	770,9 ± 77,5 mg GAE/100 g DW	(Gonzalez-Centeno M.R. et al., 2015)
UAE + DES (solvent eutectic CM-6)	Coajă de struguri Campbell Early	Antocianine totale	63,36 mg/g	(Jeong K.M. et al., 2015)
UMWE + NADES (300 W, 50 W, 10 min)	Tescovină de struguri (Vitis vinifera cv. Plavac mali)	Polifenoli totali, antocianine, catehină, quercetină, acid galic	2892,07 ± 60,12 mg/kg DW polifenoli totali	(Panic M. et al., 2019)
UAE (40 kHz, 160 W, 30 min, etanol 50%)	Tescovină de struguri (Vitis vinifera L.)	Antocianine totale	Conținut inițial în materia primă: 10,71 mg/g substanță uscată; concentrația maximă în extract: 0,479 mg/mL la 65 °C	(Bonfigli M., et al., 2017)



3.2.3. Metode de caracterizare și analiză a polifenolilor

Polifenolii reprezintă o clasă complexă de metaboliți secundari de origine vegetală, caracterizați prin prezența a una sau mai multe grupe hidroxil atașate la inele aromatice. Aceștia includ flavonoide, acizi fenolici, taninuri, stilbeni și lignani, fiecare categorie având structuri chimice și proprietăți fizico-chimice distincte. Datorită diversității structurale ridicate și instabilității relative în anumite condiții de mediu, analiza polifenolilor necesită metode complementare, atât calitative, cât și cantitative.

Caracterizarea corectă a polifenolilor este esențială în domenii precum știința alimentelor, farmacie, nutriție și chimia mediului, deoarece acești compuși sunt asociați cu activități biologice importante (antioxidantă, antiinflamatoare, antimicrobiană și anticancerigenă). Din acest motiv, dezvoltarea și optimizarea metodelor analitice reprezintă un domeniu activ de cercetare.

Metode spectrofotometrice de analiză

1. Spectroscopia UV VIS

Spectroscopia UV-Vis ocupă un loc central datorită simplității, rapidității și capacității sale de a furniza informații utile despre structura electronică a compușilor. Această tehnică se bazează pe absorbția radiației ultraviolete și vizibile de către moleculele care conțin sisteme conjugate, iar în cazul polifenolilor, aceste sisteme sunt reprezentate în principal de inelele aromatice și de legăturile duble conjugate asociate.

Spectroscopia UV-Vis este utilizată în mod frecvent pentru identificarea grupelor cromofore din structura polifenolilor, adică acele părți ale moleculei responsabile de absorbția luminii. Benzile de absorbție observate în spectrele UV-Vis sunt asociate cu tranzițiile electronice de tip $\pi \rightarrow \pi^*$, specifice sistemelor aromatice conjugate. Aceste tranziții reflectă promovarea electronilor din orbitalii π de legătură în orbitalii π^* de antilegătură, fenomen care este direct influențat de gradul de conjugare, de substituenții prezenți în structură și de mediul chimic în care se află compusul. Din acest motiv, spectrele UV-Vis ale polifenolilor pot oferi informații utile nu doar despre prezența acestora, ci și despre anumite caracteristici structurale generale, fiind adesea utilizate în combinație cu alte metode analitice pentru o caracterizare completă.

a. Determinarea conținutului total de polifenoli (Folin-Ciocalteu)

Metoda Folin-Ciocalteu este una dintre cele mai utilizate metode pentru evaluarea conținutului total de polifenoli. Principiul se bazează pe reacția dintre compușii fenolici și reactivul Folin-Ciocalteu, rezultând un complex colorat albastru măsurat spectrofotometric la 760-765 nm.

Deși este o metodă nespecifică (reacționează și cu alți compuși reducători), rămâne standard în analiza preliminară a extractelor vegetale.

b. Metoda DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

Metoda DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) reprezintă una dintre cele mai utilizate metode spectrofotometrice pentru evaluarea capacității antioxidante a compușilor fenolici, fiind frecvent aplicată în studiile privind activitatea biologică a extractelor vegetale. Principiul metodei se bazează pe utilizarea radicalului stabil DPPH•, care prezintă o culoare violet intens datorită electronului neîmperecheat delocalizat pe întreaga structură moleculară. În prezența unor compuși cu proprietăți



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

antioxidante, cum sunt polifenolii, acest radical este redus prin transfer de electroni sau atomi de hidrogen, proces care conduce la decolorarea soluției și la scăderea absorbantei măsurate spectrofotometric.

Determinarea se realizează, în mod obișnuit, la lungimea de undă de 517 nm, unde forma oxidată a radicalului DPPH prezintă un maxim de absorbție caracteristic. Pe măsură ce reacția de neutralizare a radicalului are loc, intensitatea semnalului scade proporțional cu capacitatea antioxidantă a probei analizate. Această relație permite cuantificarea activității antioxidante într-un mod relativ simplu și rapid, fără a necesita echipamente complexe sau etape analitice laborioase.

Un parametru esențial utilizat în interpretarea rezultatelor este IC_{50} , care reprezintă concentrația de extract sau compus necesară pentru inhibarea a 50% din radicalii DPPH• prezenți în sistemul de reacție. Acest indicator este utilizat frecvent pentru compararea eficienței antioxidante între diferite probe, valori mai mici ale IC_{50} indicând o activitate antioxidantă mai ridicată. Din acest motiv, metoda DPPH este considerată un instrument standard în screeningul preliminar al capacității antioxidante a polifenolilor și al extractelor vegetale, fiind larg utilizată în cercetarea din domeniul științei alimentelor, farmacologiei și chimiei produselor naturale.

c. Metoda ABTS

Metoda ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)) este o tehnică spectrofotometrică larg utilizată pentru evaluarea capacității antioxidante a compușilor fenolici, fiind considerată o alternativă complementară și, în multe cazuri, superioară metodei DPPH. Principiul metodei se bazează pe generarea radicalului cation $ABTS^{+•}$, un compus cromogenic stabil, de culoare albastru-verzui intens, care absoarbe puternic în domeniul vizibil. Acest radical este obținut, de regulă, prin reacția ABTS cu un agent oxidant, cum ar fi persulfatul de potasiu, formând un sistem radicalic stabil utilizat ulterior în testarea capacității antioxidante.

În prezența compușilor cu activitate antioxidantă, inclusiv a polifenolilor, radicalul $ABTS^{+•}$ este redus prin mecanisme de transfer de electroni sau de hidrogen, ceea ce conduce la decolorarea progresivă a soluției. Această diminuare a intensității culorii este monitorizată spectrofotometric, de obicei la o lungime de undă de aproximativ 734 nm, unde radicalul prezintă un maxim de absorbție caracteristic. Gradul de decolorare este direct proporțional cu capacitatea antioxidantă a probei analizate, permițând astfel cuantificarea activității antioxidante într-un mod reproductibil și relativ rapid.

Un avantaj important al metodei ABTS constă în sensibilitatea sa ridicată, care permite detectarea chiar și a concentrațiilor scăzute de antioxidanți. În plus, spre deosebire de metoda DPPH, ABTS este aplicabilă atât compușilor hidrofilii, cât și celor lipofili, ceea ce îi conferă o versatilitate mai mare în analiza extractelor complexe de origine vegetală sau alimentară. Această caracteristică este deosebit de importantă în cazul polifenolilor, care prezintă o diversitate structurală semnificativă și o gamă largă de polarități, influențând astfel solubilitatea și comportamentul lor în sisteme de reacție. Din aceste motive, metoda ABTS este frecvent utilizată în studii comparative ale capacității antioxidante și în evaluarea globală a activității biologice a extractelor bogate în compuși fenolici.





d. Metoda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Metoda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) reprezintă o tehnică spectrofotometrică utilizată pe scară largă pentru evaluarea capacității antioxidante a compușilor fenolici, fiind fundamentată pe proprietatea acestora de a acționa ca agenți reducători. Principiul metodei constă în reducerea ionilor ferici (Fe^{3+}) la ioni feroși (Fe^{2+}) în prezența antioxidantilor din probă, proces care conduce la formarea unui complex colorat intens, ușor de cuantificat spectrofotometric. În mod obișnuit, complexul format are o culoare albastru intens, iar intensitatea acesteia este direct proporțională cu puterea reductoare a probei analizate.

Determinarea se realizează prin măsurarea absorbției spectrofotometrice la o lungime de undă specifică, corespunzătoare complexului Fe^{2+} format în reacție. Cu cât capacitatea antioxidantă a probei este mai mare, cu atât reducerea ionilor Fe^{3+} este mai intensă, ceea ce se reflectă într-o creștere a semnalului spectrofotometric. Această relație permite cuantificarea relativ simplă și rapidă a capacității antioxidante totale, fiind frecvent utilizată în analiza extractelor vegetale bogate în polifenoli.

Un avantaj important al metodei FRAP îl constituie rapiditatea și reproductibilitatea ridicată a rezultatelor, ceea ce o face adecvată pentru analize comparative și screening de rutină în studiile de laborator. În plus, metoda nu necesită echipamente complexe sau etape experimentale dificile, ceea ce contribuie la utilizarea sa extinsă în cercetarea din domeniul științei alimentelor și al chimiei produselor naturale.

Totuși, o limitare esențială a metodei FRAP este faptul că aceasta reflectă exclusiv mecanismul de reducere a ionilor metalici, fără a evalua alte mecanisme antioxidante importante, cum ar fi neutralizarea radicalilor liberi prin transfer de hidrogen sau captarea speciilor reactive de oxigen. Din acest motiv, rezultatele obținute prin FRAP sunt adesea interpretate împreună cu cele provenite din alte metode antioxidante, precum DPPH sau ABTS, pentru a obține o imagine completă asupra activității antioxidante a polifenolilor.

2. Spectroscopia infraroșu (FTIR)

Spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (FTIR) reprezintă o tehnică analitică fundamentală în caracterizarea structurală a compușilor organici, inclusiv a polifenolilor, datorită capacității sale de a oferi informații rapide și precise privind grupările funcționale prezente în moleculă. Principiul metodei se bazează pe absorbția radiației infraroșii de către legăturile chimice, ceea ce determină tranziții vibraționale specifice fiecărui tip de legătură sau grupare funcțională. În cazul polifenolilor, FTIR este deosebit de utilă deoarece aceștia prezintă o varietate de grupări funcționale caracteristice, care generează benzi de absorbție bine definite în spectrul infraroșu.

Una dintre cele mai importante regiuni spectrale în analiza polifenolilor este asociată grupărilor hidroxil ($-\text{OH}$), care generează benzi de absorbție largi în intervalul $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$. Aceste benzi sunt rezultatul vibrațiilor de întindere ale legăturilor O-H, iar lărgimea lor este determinată de fenomenul de legături de hidrogen inter- și intramoleculare, foarte frecvent întâlnite în structurile polifenolice. Prezența acestor semnale este un indicator important al conținutului fenolic și contribuie la identificarea generală a compușilor din această clasă.



În plus, FTIR permite evidențierea legăturilor carbonil ($C=O$), care apar frecvent în structura acizilor fenolici, flavonoidelor oxidate sau a esterilor fenolici. Aceste grupări prezintă benzi de absorbție intense în regiunea specifică vibrațiilor de întindere ale legăturii $C=O$, oferind informații importante despre gradul de oxidare și despre tipul de derivați fenolici prezenți în probă. De asemenea, structurile aromatice caracteristice polifenolilor sunt evidențiate prin benzile corespunzătoare vibrațiilor de întindere ale legăturilor $C=C$ din nucleele benzenice, aceste semnale fiind esențiale pentru confirmarea prezenței sistemelor aromatice conjugate.

Datorită acestor caracteristici, FTIR este considerată o metodă rapidă, eficientă și non-distructivă, ceea ce o face extrem de utilă în analiza preliminară a extractelor vegetale sau a produselor alimentare. Un avantaj major îl constituie posibilitatea utilizării sale pentru fingerprinting molecular, adică obținerea unui „amprentă spectrală” specifică fiecărei probe, care poate fi utilizată pentru compararea, clasificarea și identificarea rapidă a diferitelor extracte bogate în polifenoli. Această abordare este frecvent utilizată în controlul calității, autentificarea produselor naturale și în studiile de tip chemometric, unde FTIR este adesea combinată cu metode statistice pentru discriminarea probelor în funcție de compoziția lor fenolică.

3. Spectroscopia Raman

Spectroscopia Raman reprezintă o tehnică spectroscopică avansată, utilizată pe scară largă în caracterizarea structurală a compușilor organici, inclusiv a polifenolilor, datorită capacității sale de a furniza informații complementare față de spectroscopia în infraroșu (FTIR). Principiul metodei se bazează pe efectul Raman, care constă în împrăștierea inelastică a radiației monocromatice, de regulă laser, atunci când aceasta interacționează cu moleculele probei. În urma acestei interacțiuni, o mică parte din radiația împrăștiată suferă modificări de energie corespunzătoare tranzițiilor vibraționale ale moleculelor, generând un spectru caracteristic fiecărui compus sau sistem molecular.

În analiza polifenolilor, spectroscopia Raman este deosebit de valoroasă deoarece oferă informații detaliate despre structurile aromatice, care constituie elementul central al acestor compuși. Benzile Raman sunt sensibile la vibrațiile legăturilor $C=C$ din nucleele benzenice, precum și la modul în care aceste sisteme aromatice sunt substituite și conjugate. Astfel, variațiile spectrale pot reflecta diferențe structurale fine între diverși polifenoli, cum ar fi flavonoidele, acizii fenolici sau taninurile, permițând o caracterizare mai precisă a compoziției chimice.

Un alt aspect important al spectroscopiei Raman îl reprezintă capacitatea sa de a furniza informații privind interacțiunile moleculare, inclusiv legături de hidrogen și efecte de conjugare electronică, care influențează intensitatea și poziția benzilor spectrale. Acest lucru este deosebit de relevant în cazul polifenolilor, unde interacțiunile intermoleculare joacă un rol esențial în stabilitatea și activitatea biologică a compușilor. Comparativ cu FTIR, spectroscopia Raman este mai puțin afectată de apa din probe, ceea ce o face extrem de utilă în analiza sistemelor apoase sau a materialelor biologice complexe.

Datorită acestor caracteristici, spectroscopia Raman este frecvent utilizată în analiza solidelor, pulberilor și materialelor complexe, inclusiv extracte vegetale



nepurificate sau produse alimentare minim procesate. Capacitatea de a analiza probele fără o pregătire extinsă și fără distrugerea acestora reprezintă un avantaj major, mai ales în studiile de autenticitate, control al calității și caracterizare rapidă a produselor naturale bogate în polifenoli. În plus, atunci când este combinată cu metode chemometrice, spectroscopia Raman permite clasificarea și discriminarea probelor pe baza profilului lor molecular, oferind o perspectivă integrată asupra compoziției fenolice.

4. Spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (NMR)

Spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (NMR - Nuclear Magnetic Resonance) reprezintă una dintre cele mai avansate și informative tehnici utilizate în elucidarea structurală a compușilor organici, inclusiv a polifenolilor. Această metodă se bazează pe proprietatea anumitor nuclee atomice, în special protonii (^1H) și carbonul-13 (^{13}C), de a interacționa cu un câmp magnetic extern și de a absorbi energie în domeniul radiofrecvenței. Semnalele obținute sunt extrem de sensibile la mediul chimic al fiecărui nucleu, ceea ce permite obținerea unor informații detaliate despre structura moleculară, conectivitate și configurație.

În analiza polifenolilor, spectroscopia NMR este esențială pentru identificarea precisă a structurii moleculare, fiind considerată o tehnică de referință în confirmarea compușilor izolați. Printre cele mai utilizate tipuri de analize se numără spectroscopia ^1H -NMR, care oferă informații despre protonii din moleculă, inclusiv poziția acestora în raport cu grupările funcționale și sistemele aromatice. De asemenea, spectroscopia ^{13}C -NMR furnizează informații privind atomii de carbon, permițând diferențierea între tipuri de carbon (aromatic, carbonilic, alifatic) și contribuind la conturarea scheletului molecular al polifenolilor.

Pentru o caracterizare structurală completă sunt frecvent utilizate tehnicile bidimensionale de tip COSY, HSQC și HMBC. Aceste metode avansate permit corelarea semnalelor între nuclee diferite, oferind informații despre cuplajele spin-spin și despre conectivitatea dintre atomi. În cazul polifenolilor, aceste tehnici sunt extrem de utile pentru determinarea poziției grupărilor hidroxil pe nucleele aromatice, pentru identificarea scheletului flavonoidic și pentru stabilirea relațiilor structurale dintre diferitele unități fenolice.

Unul dintre principalele avantaje ale spectroscopiei NMR constă în capacitatea sa de a furniza informații extrem de detaliate despre structura moleculară, inclusiv despre aranjamentul spațial al atomilor. Această caracteristică permite nu doar identificarea compușilor, ci și elucidarea stereochemiei, aspect esențial în cazul polifenolilor care pot prezenta izomerie spațială cu impact asupra activității biologice. Din acest motiv, NMR este considerată indispensabilă în studiile de caracterizare a compușilor purificați, fiind utilizată pe scară largă în chimia produselor naturale și în dezvoltarea de standarde analitice.

Cu toate acestea, metoda prezintă și anumite limitări importante. În primul rând, necesită cantități relativ mari de substanță pură, ceea ce poate reprezenta o dificultate în cazul compușilor prezenți în concentrații scăzute în matrici vegetale complexe. În plus, echipamentele NMR sunt costisitoare, atât din punct de vedere al achiziției, cât și al întreținerii și operării, ceea ce limitează accesibilitatea acestei



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

tehnici la laboratoare specializate. Din aceste motive, NMR este utilizată în principal ca metodă de confirmare structurală, complementară tehnicilor cromatografice și spectroscopice de separare și detecție.

Metode cromatografice de separare și identificare

Metodele cromatografice sunt esențiale pentru separarea și identificarea individuală a polifenolilor din amestecuri complexe.

a. Cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC)

Cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC - High Performance Liquid Chromatography) reprezintă una dintre cele mai importante și utilizate tehnici analitice în domeniul chimiei compușilor naturali, fiind considerată metoda de referință pentru analiza polifenolilor din matrici complexe. Această tehnică permite separarea eficientă a compușilor individuali din amestecuri vegetale complexe, urmată de identificarea și cuantificarea lor cu un grad ridicat de precizie. Datorită diversității structurale a polifenolilor și a comportamentului lor chimic variabil, HPLC oferă un instrument indispensabil pentru evaluarea profilului fenolic din probe alimentare, farmaceutice sau biologice.

Unul dintre principalele avantaje ale acestei metode constă în rezoluția ridicată, care permite separarea chiar și a compușilor cu structuri foarte asemănătoare, cum este cazul izomerilor flavonoidici sau al derivaților de acizi fenolici. Această performanță este esențială în analiza polifenolilor, având în vedere că aceștia apar frecvent în amestecuri complexe și pot avea proprietăți biologice diferite în funcție de structura lor exactă. În plus, HPLC prezintă o sensibilitate ridicată, ceea ce permite detectarea unor concentrații foarte mici de compuși fenolici, aspect deosebit de important în probele biologice sau în produsele alimentare procesate, unde concentrațiile pot fi reduse semnificativ prin degradare sau transformare chimică. Un alt avantaj major îl constituie reproductibilitatea excelentă a rezultatelor, ceea ce face ca metoda să fie adecvată atât pentru cercetare fundamentală, cât și pentru aplicații de control al calității în industrie.

Detecția compușilor separați prin HPLC se realizează, în mod frecvent, prin utilizarea mai multor tipuri de detectoare, fiecare având avantaje specifice în funcție de natura analitului și de scopul analizei. Cel mai utilizat este detectorul UV-Vis, datorită faptului că majoritatea polifenolilor prezintă sisteme conjugate capabile să absoarbă radiație ultravioletă sau vizibilă, ceea ce permite monitorizarea lor eficientă. În aplicațiile mai avansate este utilizat detectorul cu rețea de diode (DAD - Diode Array Detector), care oferă avantajul înregistrării spectrelor complete de absorbție pentru fiecare compus separat, facilitând astfel identificarea mai precisă și diferențierea între substanțe cu spectre similare. De asemenea, în cazul anumitor compuși fenolici cu fluorescență naturală sau după derivatizare, se poate utiliza detectorul fluorescent, care oferă o sensibilitate superioară și limite de detecție mai scăzute comparativ cu metodele spectrofotometrice convenționale.

Un element esențial al separării cromatografice îl constituie faza mobilă, a cărei compoziție influențează direct eficiența, selectivitatea și durata analizei. În analiza





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

polifenolilor, fazele mobile sunt în mod frecvent constituite din amestecuri de apă acidificată cu acizi organici slabi, precum acidul formic sau acidul acetic, combinate cu solvenți organici miscibili cu apa, în special acetonitrilul sau metanolul. Acidifierea fazei apoase are rolul de a stabiliza compușii fenolici și de a îmbunătăți forma picurilor cromatografice prin reducerea interacțiunilor secundare cu faza staționară, în timp ce solvenții organici contribuie la reglarea polarității sistemului și la eluentarea controlată a compușilor în funcție de hidrofobicitatea lor. Alegerea corectă a compoziției fazei mobile, împreună cu optimizarea gradientului de eluție, reprezintă un aspect critic pentru obținerea unei separări eficiente și pentru o cuantificare precisă a polifenolilor din probe complexe. Fazele mobile utilizate includ amestecuri de apă acidificată cu acid formic sau acetic și solvenți organici precum acetonitril sau metanol.

b. Cromatografia lichidă cu spectrometrie de masă (LC-MS)

Cromatografia lichidă cuplată cu spectrometria de masă (LC-MS) combină eficiența separării cromatografice oferite de HPLC cu capacitatea de identificare structurală specifică spectrometriei de masă. Această cuplare instrumentală permite nu doar separarea componentelor din amestecuri complexe, ci și obținerea de informații detaliate privind masa moleculară, structura fragmentară și, implicit, natura chimică a compușilor analizați. Din acest motiv, LC-MS este considerată o metodă esențială în metabolomică, fitochimie și analiza alimentelor, în special în studiul polifenolilor, unde diversitatea structurală este foarte ridicată.

Unul dintre cele mai importante avantaje ale acestei tehnici constă în capacitatea sa de a identifica metaboliți necunoscuți. În multe extracte vegetale, o proporție semnificativă a compușilor fenolici nu este standardizată sau nu dispune de standarde comerciale disponibile, ceea ce face dificilă identificarea lor prin metode clasice. Spectrometria de masă permite determinarea masei moleculare exacte și compararea modelelor de fragmentare, ceea ce oferă indicii valoroase pentru elucidarea identității acestor compuși. În plus, LC-MS este extrem de utilă pentru elucidarea structurii compușilor, deoarece analiza fragmentelor ionice rezultate în urma procesului de ionizare oferă informații despre modul de legare al grupărilor funcționale, despre poziția substituenților și despre tipul de schelet molecular, aspecte esențiale în clasificarea polifenolilor.

De asemenea, această tehnică este deosebit de valoroasă în analiza urmelor de polifenoli, datorită sensibilității sale foarte ridicate. LC-MS poate detecta concentrații extrem de mici de compuși, chiar și în matrice complexe, unde metodele spectrofotometrice sau cromatografice clasice nu ar fi suficient de performante. Această caracteristică o face indispensabilă în studiile privind biodisponibilitatea polifenolilor, metabolizarea acestora în organismele vii sau evaluarea contaminării și degradării în produse alimentare procesate.

În practica analitică modernă, una dintre cele mai importante dezvoltări este reprezentată de tehnicile LC-MS/MS, cunoscute și sub denumirea de spectrometrie de masă în tandem. Aceste sisteme utilizează două sau mai multe etape de analiză de masă, permițând selectarea unor ioni precursori specifici, care sunt apoi fragmentați controlat pentru a genera ioni produs. Acest proces de fragmentare controlată oferă informații structurale mult mai detaliate comparativ cu LC-MS simplu, facilitând





identificarea precisă a compușilor chiar și în cazurile în care aceștia au mase moleculare similare sau structuri izomere. Prin urmare, LC-MS/MS este considerată una dintre cele mai puternice tehnici actuale pentru analiza calitativă și cantitativă a polifenolilor, fiind utilizată pe scară largă în cercetarea avansată și în aplicații de control al calității..

c. Cromatografia gazoasă (GC-MS)

Cromatografia gazoasă cuplată cu spectrometria de masă (GC-MS) reprezintă o tehnică analitică de mare sensibilitate, utilizată în special pentru analiza compușilor volatili sau a celor care pot fi transformați în derivați volatili prin procese de derivatizare chimică. În cazul polifenolilor, această etapă de derivatizare este esențială, deoarece majoritatea acestor compuși au caracter polar și nevolatil, ceea ce îi face incompatibili în forma lor nativă cu analiza prin cromatografie gazoasă. Din acest motiv, înainte de analiză, polifenolii sunt adesea supuși unor reacții chimice de modificare structurală, cea mai frecvent utilizată fiind sililarea, prin care grupările hidroxil sunt transformate în derivați sililați mai stabili și mai volatili. Această modificare permite introducerea compușilor în sistemul GC și separarea lor eficientă pe baza volatilității și a interacțiunilor cu faza staționară.

Deși aplicabilitatea GC-MS în studiul polifenolilor este mai limitată comparativ cu LC-MS, această tehnică este deosebit de utilă în analiza unor compuși fenolici simpli, precum și a anumitor metaboliți volatili rezultați din degradarea sau transformarea compușilor fenolici în condiții biologice sau tehnologice. În astfel de cazuri, GC-MS oferă o rezoluție foarte bună și o identificare structurală precisă, datorită spectrelor de masă caracteristice fiecărui compus și a bazelor de date extinse disponibile pentru comparare. Astfel, tehnica este utilizată frecvent în studii de volatilitate, degradare termică, fermentație sau procesare termică a produselor vegetale, unde pot apărea derivați fenolici volatili.

3.2.4. Aplicațiile compușilor polifenolici extrași din tescovina de struguri

Tescovina, este recunoscută în prezent ca o sursă valoroasă de compuși bioactivi, în special polifenoli, flavonoide, antocianine, taninuri și resveratrol. Datorită activităților antioxidante, antimicrobiene, antiinflamatoare și protectoare asupra celulelor, extractele obținute din aceste subproduse vitivinicole sunt utilizate în industria alimentară, farmaceutică, cosmetică și agricolă.

În industria alimentară, compușii polifenolici extrași din tescovina de struguri sunt utilizați ca ingrediente funcționale și conservanți naturali. Proprietățile antioxidante ale acestor compuși contribuie la reducerea proceselor oxidative care afectează calitatea produselor alimentare, precum râncezirea lipidelor și degradarea pigmentilor naturali. Din acest motiv, extractele bogate în polifenoli pot fi incorporate în diferite produse alimentare pentru a prelungi durata de valabilitate și pentru a reduce utilizarea aditivilor sintetici. În plus, antocianinele extrase din pielețele strugurilor sunt utilizate drept coloranți naturali, reprezentând o alternativă sustenabilă la coloranții artificiali utilizați în industria alimentară. Totodată, tescovina și extractele sale sunt utilizate pentru dezvoltarea alimentelor funcționale și a suplimentelor nutritive, datorită conținutului ridicat de compuși cu efect benefic asupra sănătății.



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

În domeniul farmaceutic și biomedical, polifenolii din tescovina de struguri sunt intens studiați pentru efectele lor terapeutice. Numeroase cercetări au evidențiat capacitatea acestor compuși de a reduce stresul oxidativ și procesele inflamatorii implicate în apariția diferitelor boli cronice. Resveratrolul, unul dintre cei mai cunoscuți compuși fenolici din struguri, este asociat cu efecte cardioprotectoare, neuroprotectoare și anticancerigene. De asemenea, flavonoidele și taninurile contribuie la protecția celulelor împotriva radicalilor liberi și pot susține funcționarea normală a sistemului cardiovascular și imunitar. Datorită acestor proprietăți, extractele din tescovină sunt utilizate pentru obținerea suplimentelor alimentare și reprezintă un domeniu de interes pentru dezvoltarea unor produse farmaceutice naturale.

Extractele din tescovină de struguri sunt bogate în flavonoide, stilbeni, lignani și acizi fenolici, compuși capabili să neutralizeze radicalii liberi și să stimuleze enzimele antioxidante celulare, precum catalaza, superoxid-dismutaza și glutathion peroxidaza. Studiile in vitro au evidențiat reduceri dependente de doză ale speciilor reactive de oxigen, mandialdehidei și substanțelor reactive cu acid tiobarbituric, în timp ce modelele in vivo raportează creșteri ale activității enzimelor antioxidante și reglarea expresiei genei eNOS (Chedea și colab., 2022).

Tescovina de struguri ar putea chiar să reducă nivelurile de prostaglandine, interleukine și alți mediatori proinflamatori, anumite studii pe animale confirmând diminuarea inflamației tisulare și a edemului (Bocsan și colab., 2022).

În plus, polifenolii din tescovina de struguri pot oferi protecție împotriva trombozei prin blocarea factorului activator plachetar și reducerea agregării plachetare. Recenziile clinice sugerează că consumul de GP este asociat cu ameliorarea profilului lipidic, îmbunătățirea funcției endoteliale și reducerea riscului de boală ischemică cardiacă (Machado și colab., 2024).

În lumenul intestinal, compuşii fenolici ar putea să moduleze hormonii intestinali și să contribuie la menținerea integrității barierei intestinale, favorizând în același timp o microbiotă orientată spre producția de acizi grași cu lanț scurt. Aceste acțiuni sprijină reglarea absorbției glucidelor și lipidelor, participând la efecte antidiabetice și împotriva obezității (Taladrid și colab., 2023).

Tescovina de struguri ar putea prin conținutul de quercetină, kaempferol și acid galic să atenueze formarea β -amiloidului, de a inhiba expresia protooncogenelor și de a exercita activitate antimicrobiană, sugerând relevanță în prevenția și tratamentul afecțiunilor neurodegenerative, al cancerului și al infecțiilor (Machado și colab., 2024; Abreu și colab., 2025).

Industria cosmetică utilizează din ce în ce mai frecvent extractele polifenolice provenite din subproduse vitivinicole datorită efectelor antioxidante și antiîmbătrânire. Radicalii liberi și stresul oxidativ sunt printre principalii factori implicați în procesul de îmbătrânire a pielii, iar compușii fenolici contribuie la protejarea celulelor și la menținerea elasticității țesuturilor. Extractele bogate în resveratrol, antocianine și flavonoide sunt incluse în compoziția cremelor, serurilor și produselor dermatocosmetice destinate hidratării și protecției pielii. În plus, proprietățile antimicrobiene și antiinflamatoare ale acestor compuși favorizează utilizarea lor în produse destinate îngrijirii pielii sensibile sau afectate de diferite afecțiuni dermatologice.





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

În agricultură, valorificarea tescovinei de struguri și a compușilor bioactivi extrași din aceasta contribuie la dezvoltarea practicilor agricole sustenabile. Extractele bogate în polifenoli și taninuri pot fi utilizate în formularea biostimulatorilor și a produselor naturale pentru protecția plantelor. Aceste substanțe contribuie la creșterea rezistenței culturilor împotriva stresului abiotic și biotic, reducând dependența de produsele chimice de sinteză. Totodată, reziduurile rezultate după extracția compușilor bioactivi pot fi reutilizate ca amendamente organice sau surse de materie organică pentru îmbunătățirea fertilității solului.

Valorificarea compușilor polifenolici extrași din tescovina de struguri reprezintă un exemplu important de aplicare a principiilor economiei circulare în industria agroalimentară. Transformarea acestor reziduuri în produse cu valoare adăugată ridicată contribuie atât la reducerea impactului asupra mediului, cât și la dezvoltarea unor soluții inovatoare și sustenabile pentru multiple sectoare industriale.

Cele mai importante utilizări identificate la nivel industrial sunt:

1. utilizarea în industria alimentară:
 - a. conservanți naturali;
 - b. coloranți naturali;
 - c. ingrediente funcționale;
 - d. ambalaje active biodegradabile;
2. utilizarea în industria farmaceutică:
 - a. suplimente antioxidante;
 - b. produse antiinflamatoare;
 - c. compuși cu potențial anticancerigen;
3. utilizarea în cosmetică:
 - a. creme anti-aging;
 - b. produse fotoprotectoare;
 - c. ingrediente antioxidante;
4. utilizarea în agricultură:
 - a. biostimulatori;
 - b. biofertilizanți;
 - c. biopesticide.





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

4. Obținerea și caracterizarea tescovinei din struguri pentru valorificare ca ingredient bioactiv alimentar

4.1. Materia primă și tehnologia de cultură

Plantatia viticolă din care provine tescovina soiurilor Cabernet Sauvignon și Muscat Ottonel se încadrează în categoria plantațiilor viticole clasice. Schema de plantare este de 2,2 m între rânduri și 1 m între plante pe rând, rezultând o densitate de 4545 plante/ha. Sistemul de tăiere utilizat este Guyot cu cap înălțat, cu o încărcătură de rodire de aproximativ 18 ochi pe butuc.

Tehnologia de cultură aplicată este una neconvențională, ce include efectuarea a opt tratamente fitosanitare pe parcursul perioadei de vegetație. Întreținerea solului este realizată prin menținerea ogorului negru: patru lucrări de frezare pe rând și o frezare urmată de trei cosiri între rânduri. Lucrările în verde au fost efectuate mecanizat în două treceri, iar recoltatul strugurilor s-a realizat manual, la maturitatea deplină, pentru a asigura integritatea boabelor și calitatea materiei prime.

4.2. Tehnologia de prelucrare

Muscat Ottonel

Strugurii au fost recoltați la temperaturi sub 25°C pentru a preveni pierderile de compuși aromatici caracteristici soiului. În aproximativ o oră de la recoltare, strugurii au intrat în fluxul tehnologic de vinificație, fiind supuși unei etape de prerăcire până la o temperatură sub 20°C.

Ulterior, strugurii au fost zdrobiți și desciorchinați, mustuiala fiind supusă unei macerări-fermentări pe piele cu durată scurtă (24 h) pentru favorizarea extracției compușilor aromatici. A urmat etapa de presare, rezultând mustul și tescovina proaspătă. Mustul a parcurs apoi etapele tehnologice standard de vinificare: fermentația alcoolică, transvazările succesive, limpezirea naturală și tratamentele de condiționare și stabilizare.

Tescovina rezultată a fost colectată și pregătită pentru analize fizico-chimice și senzoriale (umiditate, aciditate, compuși fenolici etc.).



Fig.4.1. Soiul Muscat Ottonel





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287



Fig. 4.2. Tescovina Muscat Ottonel - Crama Dradara- Mocrea, judetul Arad

Strugurii au fost recoltați la temperaturi sub 25°C, după care au fost introduși în fluxul tehnologic specific vinurilor roșii. Ca și în cazul vinurilor albe, procesul a debutat cu prerăcirea materiei prime până la valori sub 20°C, urmată de zdrobire și desciorchinare.

Mustuiala a fost transferată în cisterne de macerare-fermentare, unde a fost menținută pe boștină timp de 10 zile pentru a asigura extracția optimă a compușilor fenolici și a pigmentilor antocianici. În această etapă s-a desfășurat și fermentația malolactică, etapa esențială pentru obținerea stabilității microbiologice și a profilului senzorial tipic soiului.



Fig. 4.3. Soiul Cabernet Sauvignon

După finalizarea macerării-fermentării, s-a procedat la presarea boștinii și separarea mustului fermentat de tescovină. Tescovina rezultată a fost preluată pentru analize de laborator, vizând caracterizarea compozițională.



**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Mustul/vinul în curs de fermentare a continuat fluxul tehnologic: finalizarea fermentației alcoolice și malolactice, transvazări succesive pentru limpezire, urmate de tratamente de stabilizare și condiționare în vederea obținerii vinului finit.

Fetească albă

Este un soi autohton românesc, cultivat pe scară largă în principalele podgorii ale țării, precum Iași, Târnave, Dealu Mare, Cotnari și Alba. Este un soi semitimpuriu, cu o capacitate productivă constantă, având boabe mici spre mijlocii, cu piele subțire și pulpă succulentă. Strugurii acumulează conținuturi moderate spre ridicate de glucide și mențin o aciditate echilibrată, ceea ce conferă vinurilor obținute finețe, echilibru și o aromă discretă, florală. Din punct de vedere al compoziției, tescovina provenită din acest soi prezintă un conținut moderat de compuși fenolici, specifici soiurilor albe.

Riesling italian

Este un soi de origine vest-europeană, introdus de mult timp în cultură în România și adaptat foarte bine la condițiile pedoclimatice locale. Se cultivă în special în Târnave, Banat, Dobrogea și Dealu Mare. Este un soi tardiv, cu boabe galben-verzui, de dimensiuni mici spre mijlocii, și cu piele subțiri. Prezintă o capacitate moderată de acumulare a glucidelor și o aciditate ridicată, aspecte care determină obținerea unor vinuri seci, proaspete și echilibrate. Din punct de vedere tehnologic, tescovina de Riesling conține proporții moderate de compuși fenolici, dar are o compoziție crescută în fibre vegetale și compuși cu acțiune antioxidantă specifici soiurilor albe.

Fetească neagră

Este un soi tradițional românesc, este considerată cea mai valoroasă varietate autohtonă pentru vinurile roșii. Se cultivă cu precădere în podgoriile din Iași, Dealu Mare, Drăgășani și Miniș. Este un soi semitimpuriu, cu boabe mici, de culoare albastru-negricioasă, acoperite de pruină abundentă și cu o piele groasă, bogată în antociani și taninuri. Strugurii au o capacitate bună de acumulare a glucidelor, menținând totodată o aciditate echilibrată. Tescovina rezultată din acest soi se remarcă printr-un conținut ridicat de polifenoli și pigmenți naturali caracteristici care îi conferă o valoare ridicată în procesele de valorificare a subproduselor vitivinicole.

4.3. Caracterizarea tescovinei de struguri

În cadrul cercetărilor au fost utilizate tescovinele de la trei soiuri de struguri, reprezentative pentru viticultura românească și anume: Fetească albă, Riesling Italian și Fetească neagră. Aceste soiuri se disting prin originea lor, particularitățile morfologice și compoziția chimică, care influențează direct calitatea vinurilor obținute, precum și caracteristicile subproduselor rezultate în urma procesării.

În cazul tescovinei provenite de la strugurii de Fetească neagră, literatura de specialitate menționează un conținut ridicat de polifenoli (Tabel 3.2), cu preponderență antociani și taninuri inerente pielitelor groase și pigmentate ale boabelor, ceea ce determină și o activitate antioxidantă ridicată. Astfel, tescovina prezintă interes din punct de vedere al extragerii de coloranți naturali și de ingrediente cu proprietăți antioxidante, procese menționate în diverse studii (Muncaciu și colab., 2017; Onache și colab., 2022).





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Gestionarea necorespunzătoare a tescovinei poate genera probleme semnificative de ordin ecologic și economic, ajungându-se la poluarea solului și a apelor subterane, precum și la riscuri pentru sănătatea ecosistemelor acvatice și a populațiilor umane (Karastergiou și colab., 2024).

4.3.1. Optimizarea procesului de uscare a tescovinei

Strugurii (*Vitis vinifera*) se numără printre cele mai importante culturi fructifere la nivel global, fiind cultivați pe aproximativ 7,2 milioane de hectare. Producția de vin atinge aproximativ 258 milioane hectolitri, generând cantități semnificative de subproduse. Tescovina de struguri, principalul subprodus vitivinicol, reprezintă 20-30% din masa totală a strugurilor, anual estimându-se cantități de circa 9 milioane de tone (Abreu și colab., 2024; Karastergiou și colab., 2024).

Tescovina reprezintă o sursă importantă de compuși bioactivi, în special polifenoli, acizi organici și fibre alimentare. Recuperarea acestor compuși depinde în mod esențial de modul în care tescovina este prelucrată și conservată imediat după procesul de presare. Uscarea constituie una dintre cele mai eficiente metode de stabilizare, permițând reducerea conținutului de apă și prevenirea degradării microbiologice sau oxidative, fără a fi necesară utilizarea conservanților chimici.

În cadrul acestei etape a cercetărilor, s-a urmărit optimizarea procesului de uscare a tescovinei provenite din trei soiuri de struguri (Fetească albă, Riesling și Fetească neagră), prin compararea conținutului de polifenoli totali. Pentru fiecare soi, tescovina a fost supusă uscării la două temperaturi diferite (45 și 55°C), în vederea identificării regimului termic care asigură cel mai bun compromis între eficiența procesului (timp redus de uscare) și păstrarea compușilor fenolici valoroși.

De asemenea, pentru a evalua influența structurii materiei vegetale asupra pierderilor de compuși bioactivi, s-au separat și piețele din tescovină, care au fost uscate doar la temperatura considerată optimă, determinată în urma testelor preliminare. Compararea rezultatelor între probele de tescovină integrală și cele formate exclusiv din piețe oferă o perspectivă suplimentară asupra modului în care distribuția componentelor solide influențează transferul de umiditate și stabilitatea compușilor fenolici în timpul uscării.

Prin această abordare, se urmărește obținerea unui proces tehnologic optim, reproductibil și eficient energetic, care să permită valorificarea superioară a tescovinei ca aditiv funcțional în produse alimentare, datorită potențialului său antioxidant.





**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

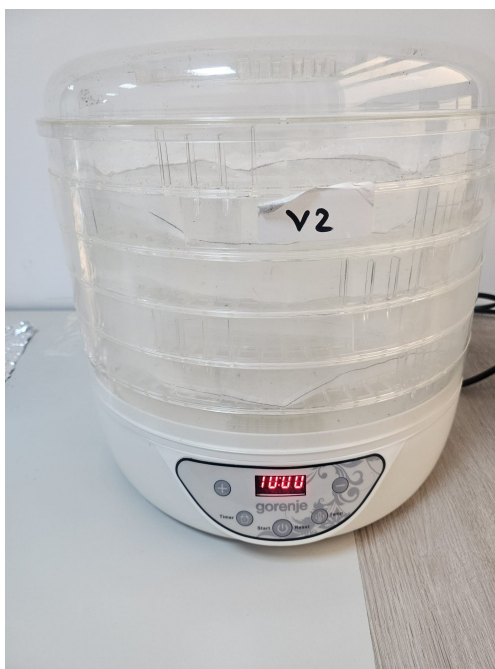


Figura 4.4. Deshidrator de laborator

Tescovina din struguri albi și roșii (Tabel 4.1.) a fost furnizată de către Stațiunea Didactică și de Cercetare-Dezvoltare pentru Viticultură și Pomicultură Pietroasa-Istrița (din cadrul USAMV București).

Tabel 4.1. Date privind tescovina procesată

Tescovina	Data recepției	Cantitatea recepționată
Fetească albă	15.09.2025	5 kg
Riesling Italian	24.09.2025	30 kg
Fetească neagră	28.10.2025	30 kg

Tescovina a fost recoltată imediat după obținerea din procesul de producție al vinului, iar până la momentul prelucrării și analizelor experimentale a fost păstrată la congelator. Tescovina din struguri albi și roșii a fost uscată la un deshidrator Gorenje (Figura 4.4.) la 2 temperaturi diferite (45 și 55 °C), aparatul fiind încărcat cu aceeași cantitate de tescovină (cca 800g) distribuită pe cele cinci talere.

După uscare și răcire, tescovina a fost macinată cu moara Retsch GM 200 și apoi păstrată în recipiente de sticlă închise etanș și acoperite cu folie de aluminiu (Figura 4.6), depozitate în loc răcoros și ferit de lumină. În urma uscării tescovinei și pielitelor din struguri albi și roșii, s-a putut determina randamentul la uscare pentru fiecare variantă în parte (Tabel 4.2).



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Tabel 4.2. Randamentul la uscare

Soi struguri	Material vegetal	Temperatura de uscare (°C)	Randament la uscare (%)
Fetească albă	Tescovină	45 °C	45
	Tescovină	55 °C	47,5
	Pelițe	55 °C	34,54
Riesling Italian	Tescovină	45 °C	51,39
	Tescovină	55 °C	50,78
	Pelițe	55 °C	32,8
Fetească neagră	Tescovină	45 °C	50,69
	Tescovină	55 °C	48,8
	Pelițe	55 °C	42,35

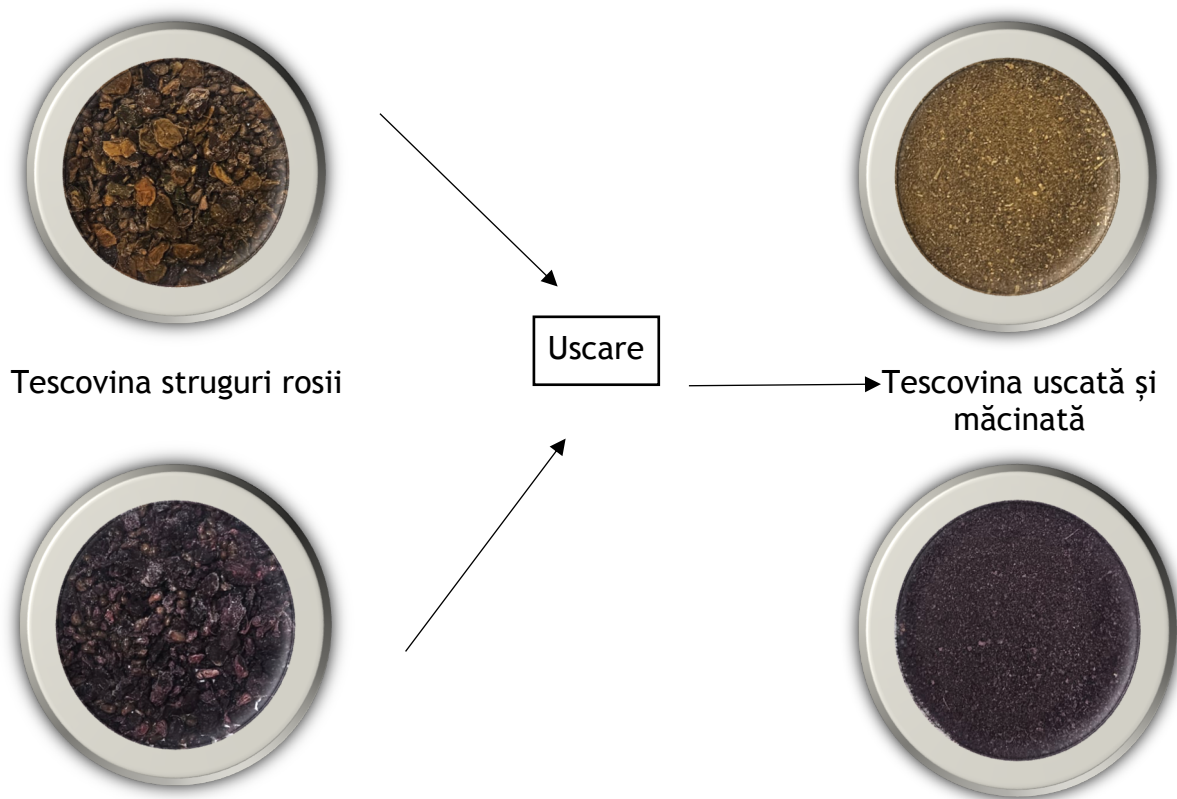


Figura 4.5. Tescovina de struguri albi și roșii înainte și după uscare și măcinare (USAMVB)



Figura 4.6. Depozitarea tescovinelor de struguri albi și roșii (USAMVB)



Fig.4.7. Aspecte din etapa de prelucrare tescovină struguri Cabernet Sauvignon (USVT)

4.3.2. Metode de analiză

Substanța uscată/Umiditatea și **polifenolii** au fost determinați prin metodele descrise anterior.

Antocianii au fost determinați printr-o metodă spectrofotometrică bazată pe comportamentul diferit al antocianilor la pH variat, conform procedurii descrise de Versari și colab. (2007). Se măsoară variația absorbânței culorii antocianilor la două valori de pH (0,6 și 3,5) în raport cu apa distilată. După cântărirea și mojararea probelor se face extracția antocianilor în etanol acidifiat cu acid clorhidric și în tampon citrat. Se filtrează și se citește absorbânța la 520nm.

4.3.3. Rezultate și discuții

Condițiile de cultivare, incluzând locația, tipul de sol, anul recoltării și condițiile de procesare pot influența semnificativ conținutul în compuși bioactivi ai tescovinei din



struguri. Acest lucru poate fi decisiv în ceea ce privește posibilitatea de utilizare în produse alimentare ca ingredient funcțional.

Obiectivul prezentului studiu a fost stabilirea temperaturii optime de uscare a tescovinei rezultate de la trei soiuri de struguri: Fetească albă (FA), Riesling Italian (R) și Fetească neagră (FN).

Pentru fiecare variantă în parte s-au cântărit cca 800g tescovină și s-a determinat perioada de uscare necesară pentru a se ajunge la o umiditate de aproximativ 5% (Tabelul 4.3).

Tabel 4.3. Descrierea proceselor de uscare pentru fiecare soi în parte

Material vegetal		Cod	Temperatura de uscare (°C)	Perioada totală de uscare
Fetească albă	Tescovină	FA45	45°C	11h
	Tescovină	FA55	55°C	8h
Riesling Italian	Tescovină	R45	45°C	12h 30min
	Tescovină	R55	55°C	11h
Fetească neagră	Tescovină	FN45	45°C	10h 20min
	Tescovină	FN55	55°C	9h

În urma analizei rezultatelor din Tabelul 4.3. se observă diferențe în ceea ce privește durata de uscare a tescovinei pentru cele trei soiuri analizate. În toate cazurile, creșterea temperaturii de la 45°C la 55°C a determinat o reducere a timpului total necesar deshidratării. Astfel, pentru tescovina de Fetească albă timpul de uscare a scăzut cu 27,3%, pentru Riesling Italian cu 12% și pentru Fetească neagră cu 13%. Această tendință evidențiază efectul direct al temperaturii asupra accelerării procesului de evaporare a apei din materialul vegetal.

Comparativ între soiuri, tescovina de Riesling Italian a necesitat cel mai lung timp de uscare, în timp ce Feteasca neagră a prezentat cel mai scurt interval. La 55°C diferențele dintre soiuri s-au redus, sugerând că temperaturile mai ridicate atenuează variațiile legate de structura și compoziția materialului vegetal.

După ce a fost obținută tescovina uscată și măcinată, acesta a fost testat organoleptic și s-a constatat că se simte pregnant duritatea unor particule provenite din sâmburii de struguri. Ca urmare s-a abordat și varianta în care au fost separate piețele de struguri din tescovină. Această abordare are la bază și ideea că pentru obținerea uleiului de sâmburi de struguri aceștia sunt separați de piețe. Astfel piețele constituie deșeu rezultat din procesul de producție, putând fi folosite pentru obținerea unui ingredient alimentar.



Tabel 4.4.. Descrierea proceselor de uscare pentru pielițele din fiecare soi

Material vegetal		Cod	Temperatura de uscare (°C)	Perioada totală de uscare
Fetească albă	Pielițe	FAP	55°C	11h 30min
Riesling Italian	Pielițe	RP	55°C	13h
Fetească neagră	Pielițe	FNP	55°C	13h

Procesul de uscare a pielițelor a necesitat, în general, un timp de uscare mai mare comparativ cu tescovina, datorită umidității mai ridicate comparativ cu tescovina integrală (Tabel 4.4.).

În ansamblu, Feteasca albă s-a uscat mai rapid decât celelalte soiuri, atât în cazul tescovinei, cât și al pielițelor, în timp ce Riesling Italian și Feteasca neagră au prezentat timpi de uscare mai mari, posibil datorită diferențelor morfologice și structurale semnificative între soiuri. Aceste rezultate sugerează că optimizarea procesului de uscare, în ceea ce privește temperatura și durata, trebuie să fie adaptată specific fiecărui soi și tip de material pentru a maximiza eficiența procesului și a păstra compoziții bioactivi.

În procesul de uscare s-a urmărit stabilirea temperaturii la care se poate usca tescovina astfel încât să se mențină un nivel cât mai ridicat al conținutului de compuși cu structură fenolică. Utilizarea **conținutului total de polifenoli** ca indicator al eficienței uscării a pornit de la premisa că tescovina analizată poate fi utilizată ca ingrediente funcționale pentru obținerea de produse alimentare îmbogățite cu extracte polifenolice. În acest context, cunoașterea nivelului inițial al acestor compuși bioactivi devine esențială.

Polifenolii reprezintă un grup divers de compuși fitochimici, atât din punct de vedere calitativ, cât și cantitativ. Conținutul lor în tescovina de struguri se situează conform literaturii, într-un interval larg de 7,55-81,81 mg GAE/ g SU.

În ceea ce privește compoziția în polifenoli totali, se observă diferențe semnificative între diferitele soiuri, temperatura de uscare și tipul de material (tescovină sau pielițe) (Tabel 4.5.).

În cazul tuturor soiurilor, conținutul de polifenoli în tescovină a fost mai ridicat la temperatura de 45°C comparativ cu 55°C, ceea ce sugerează că temperaturile mai ridicate pot determina pierderi parțiale de compuși fenolici: la Feteasca albă ~11%, la Riesling Italian ~3% și la Fetească neagră ~6%.

Tabel 4.5. Valorile parametrilor biochimici determinați la tescovina de struguri

Proba	SU (%)	Polifenoli (mg GAE/g SU)	Antociani (mg/g SU)
FA45	94,88 ± 0,12	41,48 ± 4,72	-
FA55	94,45 ± 0,04	36,92 ± 1,58	-
FAP	95,95 ± 0,09	16,19 ± 1,10	-



R45	94,61 ± 0,14	23,37 ± 0,07	-
R55	94,95 ± 0,22	22,77 ± 0,22	-
RP	95,07 ± 0,11	8,19 ± 1,69	-
FN45	94,89 ± 0,05	39,55 ± 0,69	0,37 ± 0,03
FN55	94,85 ± 0,29	37,16 ± 2,36	0,42 ± 0,03
FNP	95,13 ± 0,33	14,77 ± 0,44	0,66 ± 0,08

În ceea ce privește pielețele de struguri, toate au avut un conținut cu mult mai scăzut față de tescovină, fapt ce indică distribuția diferențiată a compușilor cu structura fenolică între diferitele componente ale strugurilor, respectiv conținutul mai ridicat în samburi.

Pentru Riesling Italian valorile de polifenoli totali au fost mai reduse comparativ cu Fetească albă, atât la 45°C, cât și la 55°C, indicând o acumulare mai scăzută a acestor compuși în tescovina și pielețele acestui soi alb. La ambele, nu au fost detectați antociani, în concordanță cu caracteristicile soiurilor albe. La Fetească neagră antocianii au fost prezenți în tescovină în cantități mici, observându-se totuși valori cu mult mai mari în pielețe față de tescovină.

Concluzii

- Uscarea tescovinei este bine să se realizeze la temperaturi sub 50°C pentru a păstra un nivel cât mai ridicat al compușilor fenolici. Creșterea temperaturii de uscare de la 45 la 55°C are drept consecință pierderi de 3-11% în conținutul de compuși cu structura fenolică. Totuși, pentru scurtarea timpului de uscare se poate aborda o situație de compromis, respectiv 50°C.
- Separarea și utilizarea doar a pielețelor din tescovină pentru obținerea unui ingredient alimentar conduce la scăderea drastică a nivelului de compuși cu structură fenolică, respectiv cu 57 până la 65%.

4.3.4. Profilul compușilor bioactivi din tescovina de struguri

Tescovina de struguri este alcătuită în principal din pielețe (cca 50%), semințe (cca 25%) și ciorchini (cca 25%) (Lopes și colab., 2025). Compoziția sa tipică include celuloză, glucide, grăsimi, acizi organici, polifenoli, proteine, fibre și pectine, precum și cantități mai reduse de minerale și vitamine (Karastergiou și colab., 2024). Concentrația și profilul acestor compuși este puternic dependente de soiul de proveniență, stadiul de coacere și de tratamentele tehnologice aplicate.

Studiile de sinteză și analizele cantitative efectuate pe diverse soiuri au arătat în mod constant că tescovina reține o proporție substanțială din fenolii inițiali ai fructului, pielea și samburii fiind matricile cele mai bogate în flavonoide. Prin urmare, tescovina din struguri de soiuri roșii tinde să aibă un conținut mai mare de antociani și taninuri decât cea obținută din soiuri albe, care este caracterizată printr-un profil dominat de acizi fenolici și flavanoli (Karastergiou și colab., 2024; Lopes și colab., 2025).



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Tescovina provenită din Fetească albă prezintă un profil fenolic caracteristic soiurilor albe - cu un conținut moderat de polifenoli totali (Tabel 4.6.), în special acizi fenolici și flavonoli (Tabel 4.7.) și valori inferioare ale antocianinelor față de tescovina din struguri roșii. Compoziția sa conferă un potențial pentru extragerea de compuși valoroși (antioxidanți sau fibre) (Rădulescu și colab., 2024).

Tabel 4.6. Conținutul de polifenoli totali raportat pentru tescovină din struguri

Soi struguri		Conținut de polifenoli totali (mg GAE/g SU)	Referințe bibliografice
Fetească albă	Tescovină	7,55 - 36,32	Rădulescu și colab., 2024; Nechifor și colab., 2024; Rădulescu și colab., 2023; Chedea și colab., 2025;
Riesling Italian	Tescovină	16,9 - 74,75	Chedea și colab., 2025; Pintać și colab., 2018;
Fetească neagră	Tescovină	17,7 - 81,81	Rădulescu și colab., 2024; Grosu și colab., 2024

Tescovina provenită din Riesling are un conținut mai ridicat de compuși fenolici (Tabel 4.6.) și componente lipofile (din sâmburi), compuși care pot influența capacitatea antioxidantă a extractelor. Studii recente (Muncaciu și colab., 2017; Chedea și colab., 2025) asupra tescovinei de Riesling Italian cultivate în Transilvania au furnizat profile fenolice detaliate și au arătat că, în funcție de regiune și condițiile de vinificare, tescovina poate furniza flavonoli și acizi fenolici cu activitate antioxidantă semnificativă.

Tabel 4.7. Profilul compușilor fenolici* prezenți în tescovina din struguri (Balea și colab., 2018; Rădulescu și colab., 2024; Chedea și colab., 2025; Onache și colab., 2022; Muncaciu și colab., 2017)

Compus fenolic	Fetească albă	Riesling	Fetească neagră
Acid galic	-	665,7-910,5	-
Acid 2-hidroxibenzoic	-	50,9-3216,6	-
Catechina și derivați	156,92	2044,5-18156	287,87-66120
Quercetina	-	272,7-370,2	-
Kaempferol	156,92	44,1-45,6	3,55
Resveratrol	91,45	1,41	8250-12850
Acid vanilic	1,134	-	7,79
Acid cafeic	11,695	-	21,29
Miricetin	3,023	-	-



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

5. Obținerea extractului din făină de tescovină prin extracție asistată de microunde

Tescovina reprezintă un subprodus rezultat în urma procesării strugurilor în industria vinicolă, fiind constituită în principal din coji, semințe și resturi de pulpă. Datorită conținutului ridicat de compuși bioactivi, precum polifenoli, flavonoide și antioxidanți naturali, tescovina prezintă un interes crescut pentru valorificarea în domeniul alimentar, farmaceutic și biotehnologic. În contextul dezvoltării unor tehnologii sustenabile și eficiente de recuperare a compușilor biologic activi, extracția asistată de microunde (Microwave-Assisted Extraction - MAE) reprezintă o metodă modernă care permite reducerea timpului de extracție, utilizarea unor cantități reduse de solvent și îmbunătățirea randamentului de extracție. În cadrul prezentului studiu s-a urmărit obținerea unui extract apos din făină de tescovină roșie utilizând sistemul Milestone ETHOS X achiziționat în cadrul proiectului și instalat în Laboratorul de analiză metaboliți primari și secundari - USVT (Figura 5.1.) și optimizarea condițiilor de extracție prin monitorizarea parametrilor experimentali.

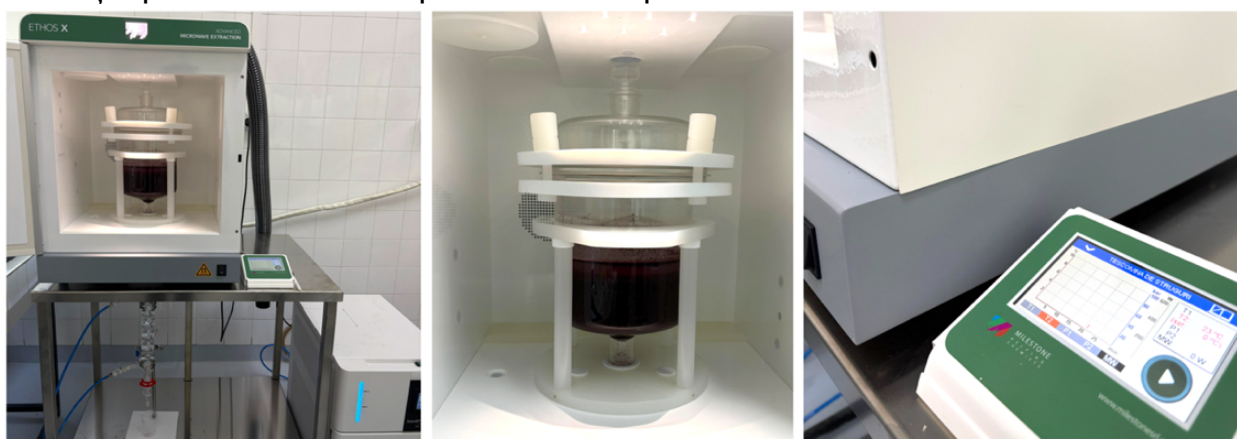


Figura 5.1. Sistemul Milestone ETHOS X încărcat cu tescovina de struguri roși

5.1. Scop

Scopul studiului a constat în obținerea și optimizarea unui extract apos din făină de tescovină roșie prin extracție asistată de microunde, utilizând condiții controlate de temperatură, timp și putere. De asemenea, s-a urmărit stabilirea unor parametri experimentali care să permită desfășurarea extracției în condiții moderate de temperatură, favorabile conservării compușilor bioactivi termolabili.



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

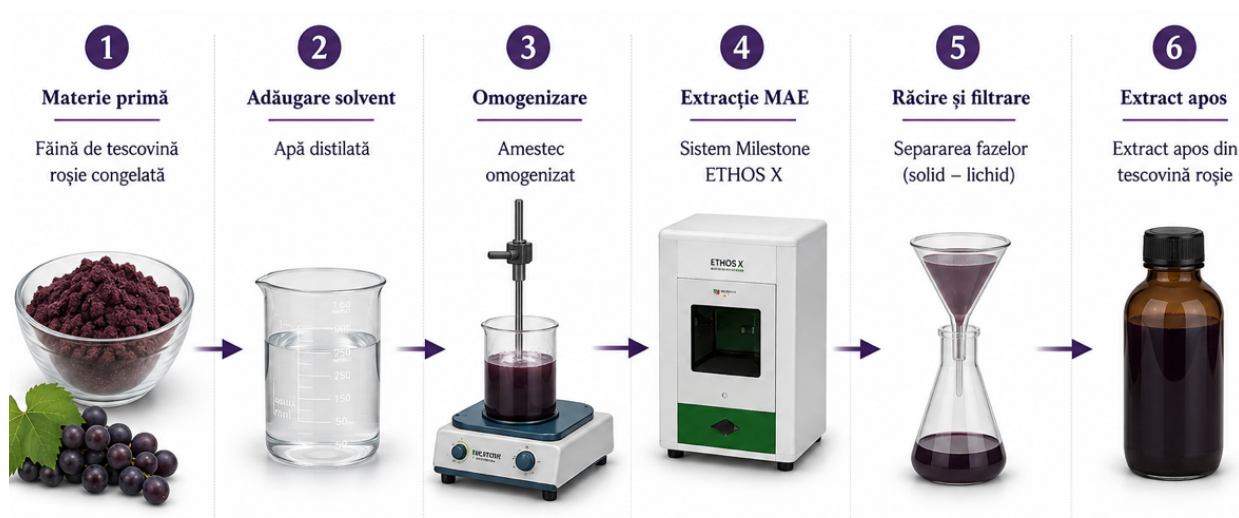


Figura 5.2. Schema de flux pentru obținerea extractului de tescovină

5.2. Materiale și metode

5.2.1. Materialul vegetal

Materialul vegetal utilizat a fost reprezentat de făină de tescovină roșie congelată. Utilizarea materialului congelat poate favoriza degradarea parțială a structurilor celulare și creșterea eficienței extracției compușilor bioactivi.

5.2.2. Solvent de extracție

Ca solvent de extracție a fost utilizată apă distilată, datorită caracterului ecologic și compatibilității cu principiile extracției verzi („green extraction”).

5.2.3. Stabilirea condițiilor experimentale

În vederea optimizării procesului de extracție, au fost analizate și evaluate mai multe condiții experimentale privind timpul de extracție, puterea aplicată și evoluția temperaturii în timpul procesului. Parametrii finali au fost selectați astfel încât:

- să permită o extracție eficientă a compușilor bioactivi;
- să evite supraîncălzirea matricei vegetale;
- să reducă riscul degradării termice a compușilor fenolici;
- să asigure o încălzire progresivă și uniformă a amestecului;
- să permită desfășurarea procesului într-un interval moderat de temperatură.

Monitorizarea profilului termic în timpul extracției a reprezentat un criteriu important în stabilirea condițiilor finale de lucru.

S-a optat pentru utilizarea extracției asistate de microunde în detrimentul extracției convenționale datorită avantajelor semnificative pe care această metodă le oferă în ceea ce privește eficiența procesului și conservarea compușilor bioactivi. Extracția asistată de microunde permite reducerea considerabilă a timpului de extracție și a consumului de solvent, asigurând în același timp o încălzire rapidă și uniformă a matricei vegetale. În plus, metoda MAE contribuie la creșterea eficienței extracției și la reducerea consumului energetic, fiind compatibilă cu principiile



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

extracției verzi și ale valorificării sustenabile a biomasei reziduale. Avantajele comparative dintre extracția convențională și extracția asistată de microunde sunt prezentate în Figura 5.3.

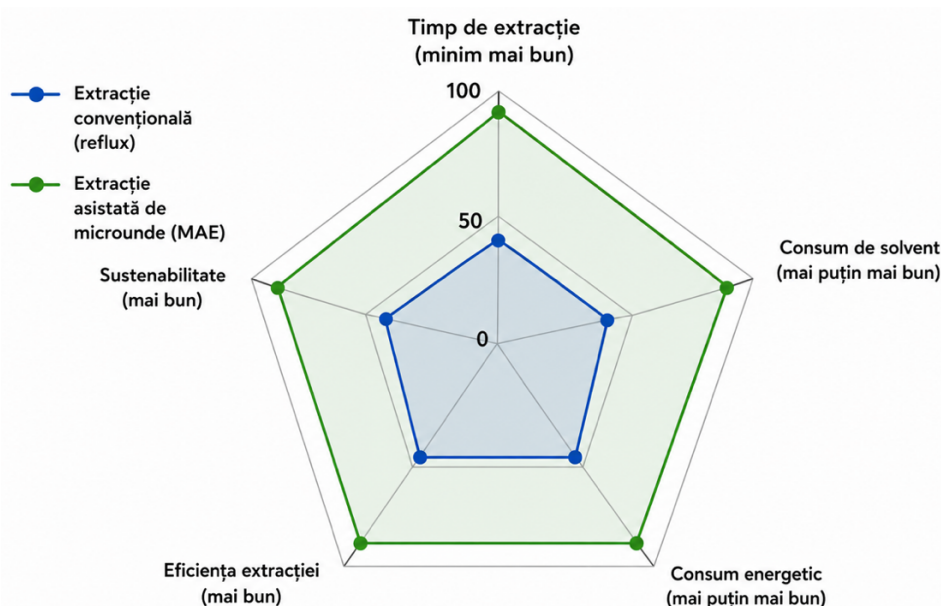


Figura 5.3. Comparație între extracția convențională și extracția asistată de microunde (MAE) în funcție de timpul de extracție, consumul de solvent, consumul energetic, eficiența extracției și sustenabilitatea procesului

Eficiența extracției asistate de microunde este determinată în principal de efectul radiațiilor electromagnetice asupra structurilor celulare vegetale. Energia de microunde produce încălzirea rapidă a apei intracelulare și creșterea presiunii interne, favorizând ruperea pereților celulari și eliberarea compușilor bioactivi în solventul de extracție. Mecanismul general al extracției asistate de microunde și etapele implicate în degradarea structurilor celulare sunt prezentate în Figura 5.4.

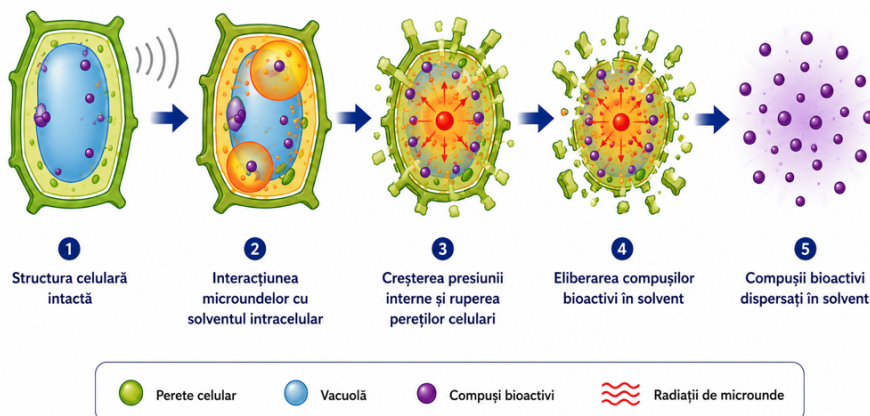


Figura 5.4. Mecanismul de extracție al compușilor bioactivi sub acțiunea microundelor





Selecția parametrilor experimentali a avut la bază atât date raportate în literatura de specialitate privind extracția asistată de microunde a compușilor fenolici din matrici vegetale, cât și monitorizarea directă a comportamentului termic al sistemului în timpul extracției. În fazele inițiale au fost evaluate variante cu puteri mai reduse, unde s-a observat o încălzire insuficientă a amestecului și posibilitatea unei extracții incomplete a compușilor solubili. Ulterior, au fost analizate și condiții cu puteri mai ridicate, însă acestea au condus la creșteri rapide ale temperaturii (Figura 55.) și la apariția riscului de supraîncălzire și degradare termică a compușilor bioactivi sensibili (Tabel 5.1).

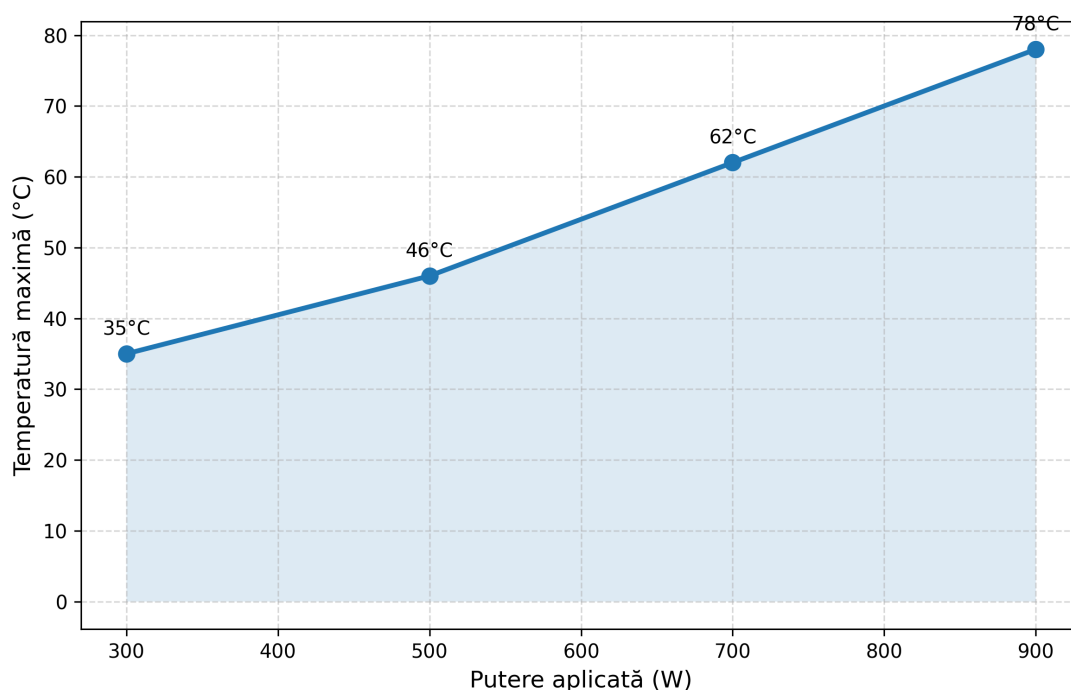


Figura 5.5. Corelația dintre puterea aplicată și temperatura înregistrată în timpul analizei

Prin monitorizarea continuă a profilului temperaturii și evaluarea stabilității procesului, s-a stabilit că utilizarea unei puteri moderate de 500 W, pentru o durată de 20 minute, permite desfășurarea extracției într-un regim termic controlat, cu atingerea unei temperaturi maxime de aproximativ 45°C. Aceste condiții au fost considerate optime pentru asigurarea unui echilibru între eficiența extracției și conservarea compușilor bioactivi termolabili, precum polifenolii și compuși antioxidanți.



Tabel 5.1. Efectele paramtriilor aleși asupra matricei vegetale

Varianta experimentală	Putere (W)	Timp (min)	Temperatura estimată/observată	Observații
V1	300 W	15 min	< 35 °C	Încălzire redusă, posibilă extracție incompletă a compușilor bioactivi
V2	500 W	20 min	~45 °C	Încălzire progresivă și controlată, condiții favorabile pentru extracția compușilor fenolici și limitarea degradării termice
V3	700 W	20 min	> 60 °C	Risc crescut de supraîncălzire și degradare a compușilor termolabili
V4	900 W	25 min	> 75 °C	Condiții agresive de extracție, posibilă degradare termică și instabilitate a sistemului

Analiza comparativă a condițiilor experimentale și monitorizarea profilului termic au indicat faptul că utilizarea unei puteri moderate (500 W) și a unui timp de extracție de 20 minute permit desfășurarea extracției într-un regim termic controlat, cu menținerea temperaturii sub 50 °C. Aceste condiții sunt considerate favorabile pentru conservarea compușilor bioactivi termolabili și pentru realizarea unei extracții eficiente utilizând apă distilată ca solvent.

5.2.4. Procedura de extracție

Extracția a fost realizată utilizând echipamentul Milestone ETHOS X prin metoda extracției asistate de microunde. Pentru extracție s-au utilizat:

- 720 g făină de tescovină roșie;
- 1600 mL apă distilată.
- raportul material vegetal:solvent utilizat în extracție a fost de aproximativ 1:2,22; amestecul a fost omogenizat înaintea introducerii în sistemul de extracție. În urma evaluării parametrilor experimentali, extracția a fost realizată în următoarele condiții:
- putere: 500 W;
- timp de extracție: 20 minute;
- temperatură maximă atinsă: aproximativ 46 °C.

Condițiile selectate au permis desfășurarea procesului într-un regim moderat de temperatură, favorabil pentru conservarea compușilor bioactivi și evitarea degradării termice excesive.



Monitorizarea temperaturii în timpul extracției a evidențiat o creștere graduală și controlată a temperaturii, de la aproximativ 24 °C până la aproximativ 46 °C după 20 minute de extracție. Curba temperaturii indică o încălzire progresivă și uniformă a amestecului solvent-material vegetal, fără fluctuații majore sau supraîncălzire (Figura 5.6).

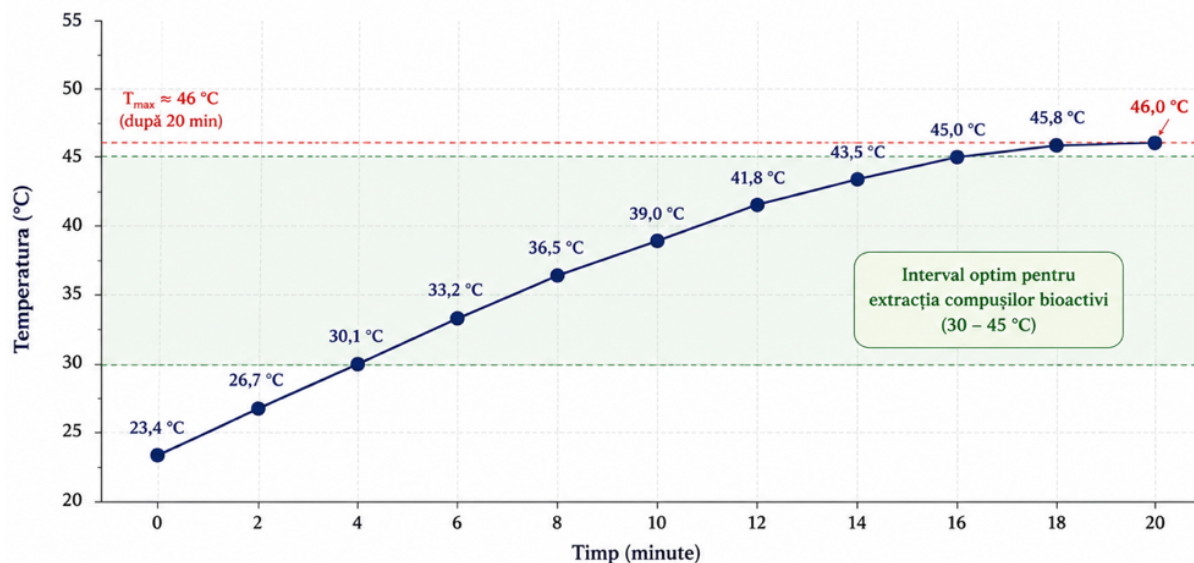


Figura 5.6. Curba de monitorizare a temperaturii în timpul procesului de extracție

Mentținerea temperaturii sub 50 °C reprezintă un aspect important pentru conservarea compușilor bioactivi termolabili, precum polifenolii și compuși antioxidanți, reducând riscul degradării termice. Aplicarea energiei de microunde facilitează transferul rapid de energie către matricea vegetală și favorizează ruperea pereților celulari, contribuind la îmbunătățirea transferului de masă și la creșterea eficienței extracției. În urma procesului de extracție asistată de microunde s-a obținut un extract apos cu aspect omogen și colorație roșu-vioacee intensă, caracteristică prezenței compușilor fenolici și pigmentilor naturali extrași din tescovina roșie. Extractul obținut a prezentat o ușoară opalescență și un miros specific vegetal-fructat, fără apariția unor modificări evidente asociate degradării termice sau caramelizării compușilor organici. Intensitatea culorii extractului sugerează o bună capacitate de solubilizare și transfer al compușilor bioactivi în mediul apos (Figura 5.7).

Materialul vegetal rezidual rezultat după extracție a prezentat o reducere vizibilă a intensității pigmentării comparativ cu proba inițială, indicând transferul parțial al compușilor extractibili în solvent. Tescovina rămasă după extracție a avut o textură umedă, granulară și o colorație brun-roșiatică închisă, specifică matricei vegetale epuizate parțial în compuși solubili. Evaluarea macroscopică a extractului și a rezidului vegetal oferă informații preliminare privind eficiența procesului de extracție și gradul de transfer al compușilor bioactivi din matricea vegetală către solventul utilizat.



Figura 5.7. Aspectul extractelor și al matricei vegetale consecutiv procesului de extracție

Același protocol experimental utilizat pentru extracția compușilor bioactivi din tescovina roșie a fost aplicat și în cazul tescovinei albe (Figura 5.8), în vederea evaluării influenței tipului de matrice vegetală asupra caracteristicilor extractelor obținute. Extracția asistată de microunde a fost realizată utilizând aceiași parametri experimentali privind raportul material vegetal:solvent, puterea aplicată, timpul de extracție și intervalul de temperatură monitorizat pe durata procesului.

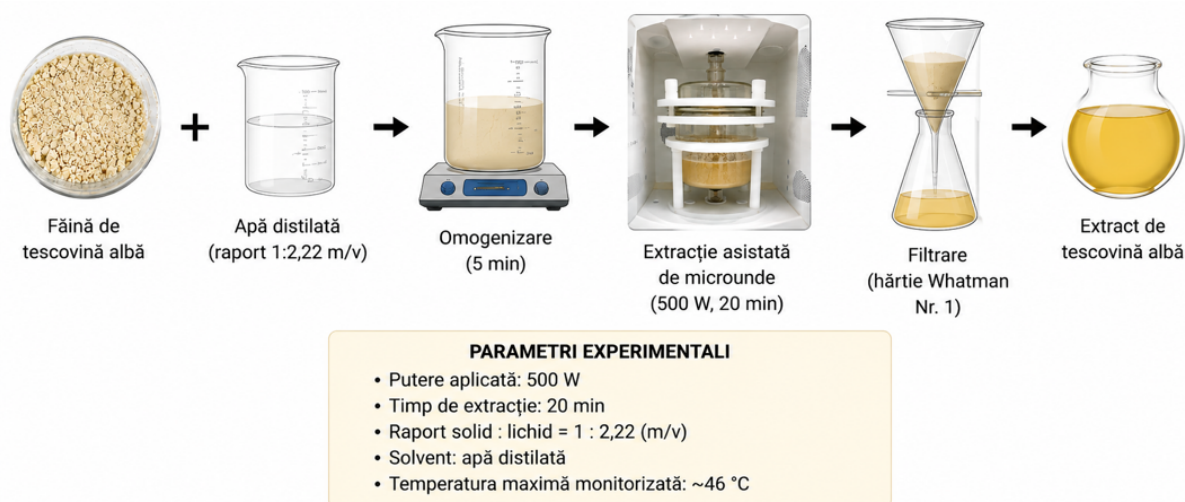


Figura 5.8. Schema de flux pentru obținerea extractului de tescovină albă

Pentru evaluarea influenței parametrilor experimentali asupra profilului termic al procesului de extracție asistată de microunde, a fost realizată o analiză a efectului combinat al puterii aplicate și al timpului de extracție asupra temperaturii sistemului. Rezultatele sunt prezentate sub forma unei suprafețe de răspuns în Figura 5.9.



Suprafața de răspuns evidențiază influența combinată a puterii aplicate și a timpului de extracție asupra profilului termic al procesului de extracție asistată de microunde.

Rezultatele indică faptul că o creștere a puterii și prelungirea timpului de extracție determină o creștere progresivă a temperaturii sistemului. Zona experimentală selectată, corespunzătoare parametrilor de 500 W și 20 minute, a permis menținerea temperaturii maxime în jurul valorii de 46 °C, interval considerat favorabil pentru limitarea degradării termice și pentru extracția eficientă a compușilor bioactivi din tescovina albă.

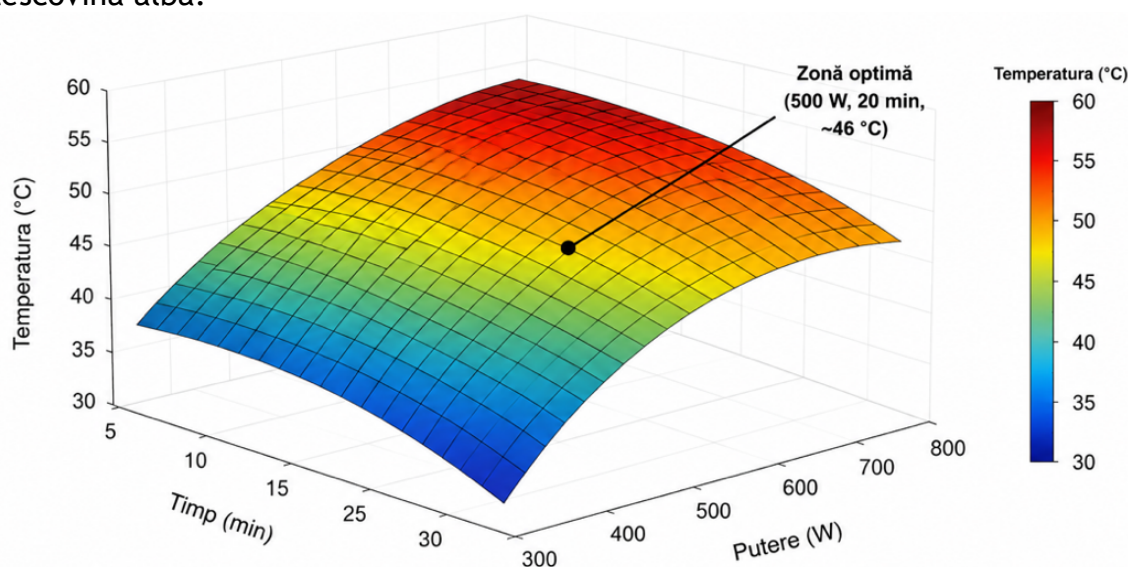


Figura 5.9. Suprafață de răspuns privind influența puterii aplicate și a timpului de extracție asupra temperaturii în procesul de extracție asistată de microunde a tescovinei albe

Menținerea aceluiași condiții experimentale a permis realizarea unei comparații directe între cele două tipuri de tescovină și evidențierea diferențelor generate de compoziția fitochimică specifică fiecărei matrici vegetale.

În urma extracției asistate de microunde aplicate asupra tescovinei albe s-a obținut un extract apos cu aspect relativ limpede și colorație galben-aurie, specifică extracției compușilor fenolici și a metaboliților solubili din matricea vegetală. Comparativ cu extractul obținut din tescovina roșie, intensitatea pigmentării a fost mai redusă, aspect asociat conținutului scăzut de antocianine caracteristic soiurilor albe de struguri. Extractul obținut a prezentat o ușoară opalescență și un miros vegetal-fructat discret, fără modificări evidente asociate degradării termice a compușilor organici.

Aspectul translucid al extractului sugerează o bună separare a fazei solide în urma procesului de filtrare și o extracție eficientă a compușilor solubili în mediul apos (Figura 5.10). Materialul vegetal rezidual rezultat după extracție a prezentat o textură granulară și o colorație crem-bej până la brun deschis, indicând transferul parțial al compușilor extractibili din matricea vegetală în solventul utilizat.



Figura 10. Aspectul extractelor și a matricei vegetale consecutiv procesului de extracție

Observațiile macroscopice realizate asupra extractului și a rezidului vegetal oferă informații preliminare privind eficiența procesului de extracție asistată de microunde aplicat tescovinei albe.

În etapa următoare a studiului se urmărește caracterizarea biochimică a extractelor obținute prin determinarea principalilor metaboliți secundari, respectiv a conținutului total de polifenoli și flavonoizi. De asemenea, rezultatele obținute pentru extractele asistate de microunde vor fi comparate cu cele obținute prin metode convenționale de extracție, în vederea evaluării eficienței metodei MAE asupra recuperării compușilor bioactivi din tescovina roșie.



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

6. Protocoale de autenticitate pentru tescovina de struguri

Creșterea diversității produselor alimentare și a subproduselor vegetale utilizate în industrie a determinat un interes sporit pentru dezvoltarea unor metode analitice care să permită trasabilitatea și autentificarea acestora. Subprodusele rezultate din procesele de procesare a fructelor și legumelor, cum este tescovina obținută după extracția sucului de struguri, pot prezenta o valoare economică și funcțională semnificativă, ceea ce subliniază necesitatea unei caracterizări riguroase a originii și compoziției lor.

Autentificarea acestor produse necesită instrumente analitice capabile să identifice amprenta specifică a materiei prime. În acest context, analiza izotopică a carbonului și azotului, corelată cu determinarea compoziției elementale (macro- și microelemente), oferă informații relevante privind originea botanică, condițiile de cultivare și practicile agricole aplicate. Aceste metode permit diferențierea între produsele vegetale și subprodusele lor, contribuind la consolidarea trasabilității și prevenirea etichetării incorecte în lanțul alimentar.

Determinările izotopice furnizează date valoroase despre sursele de carbon și azot implicate în creșterea plantei, reflectând tipul de fertilizare și regimul de irigare, factori care influențează semnătura izotopică a produsului. Analiza elementală, la rândul său, oferă indicii despre calitatea solului și procesele de mineralizare ce au avut loc pe parcursul creșterii plantei.

În cadrul acestei etape a proiectului, laboratorul a primit o probă de tescovină de struguri pentru determinarea compoziției elementale și a amprentei izotopice a carbonului ($\delta^{13}\text{C}$) și azotului ($\delta^{15}\text{N}$). Proba a fost depozitată la temperatura camerei (aproximativ 20°C) până la efectuarea analizelor.

6.1. Amprentarea elementală a tescovinei de struguri

În vederea determinării profilului elemental al unei probe de **tescovină de struguri**, a fost supusă digestiei acide prin introducerea a ≈ 100 mg probă, 5 mL HNO_3 și 2 mL H_2O_2 într-un sistem de digestie cu microunde SpeedWave ENTRY (Berghof®), echipat cu 10 recipiente din PTFE (Figura 1), utilizând parametrii și setările prezentate în Tabelul 6.1. Soluția „blank” (amestecul de acid azotic și apă oxigenată, fără probă) a fost pregătită identic.





Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

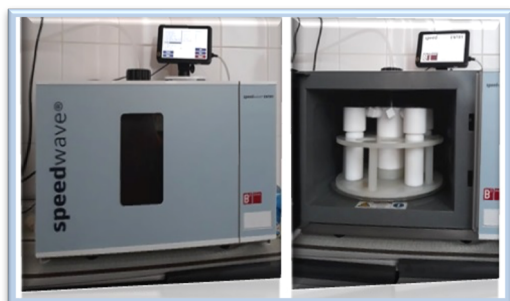


Figura 6.1. Cuptor digestie cu microunde, SpeedWave Entry, Berghof®

Tabel 6.1. Program utilizat pentru digestia acidă a probelor de tescovină de struguri.

Pas	1	2	3	4	5
Rampa (min)	5	5	2	2	2
Timp (min)	10	10	10	5	5
Temperatura (°C)	170	190	210	75	75

După finalizarea programului de digestie, recipientele au fost lăsate să se răcească la temperatura camerei. Ulterior, soluțiile digerate au fost transferate în baloane cotate de 25 mL și completate până la semn cu apă ultrapură. Soluțiile astfel obținute au fost analizate pentru determinarea concentrațiilor **macromineralelor** (Na, Mg, Ca și K) și **micromineralelor** (oligoelemente) (Cu, Mn și Fe) cu ajutorul spectrometrului de absorbție atomică în flacără, ContraAA 800D (Figura 6.2). În acest scop, s-au utilizat soluții de calibrare preparate prin diluarea succesivă a unui standard multielement de puritate ridicată (multielement standard 3, conținând 10 µg/mL Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V, Zn).



Figura 6.2. Spectrometrul ContraAA 800D de absorbție atomică în flacără utilizat pentru determinarea conținutului elemental.



Concentrațiile macromineralelor și micro-elementelor determinate în probele analizate: tescovină de struguri (cod proba 1971-T-1) sunt prezentate în Tabelul 6.2.

Tabel 6.2. Concentrațiile elementelor determinate.

Nr. crt.	Cod proba INCDTIM	Concentratia (mg/kg)						
		Na	K	Mg	Ca	Cu	Mn	Fe
1.	1971-T	5.5±0.1	13337.2±30 6.8	679.2±27 .3	4199.0±9 3.2	11.53±0. 21	6.06±0. 12	33.84±1.0 4

În urma analizelor efectuate pentru tescovină de struguri, K cel mai abundent element, urmat de Ca, Mg, Na, Fe, Cu și Mn. În ceea ce privește valorile determinate pentru Fe, Cu și Mn, acestea indică faptul că probele studiate pot contribui la aportul zilnic de oligoelemente. Se remarcă un conținut ridicat de potasiu (13337.2 mg/kg) și calciu (4199.0 mg/kg), ceea ce poate fi atribuit acumulării mineralelor în fracțiile solide reziduale rezultate în urma procesării strugurilor.

6.2. Amprentare izotopică a tescovinei de struguri

Spectrometria de masă pentru rapoarte izotopice (IRMS - Isotope Ratio Mass Spectrometry) este o tehnică analitică utilizată pe scară largă pentru determinarea originii materialelor organice în diverse domenii. În ultimii ani, IRMS a devenit un instrument esențial și în autentificarea produselor alimentare.

Prin această metodă, amprentarea izotopică a elementelor ușoare permite investigarea compoziției sau „amprente” izotopice a substanțelor. Principiul se bazează pe măsurarea rapoartelor dintre izotopii stabili ai unor elemente precum hidrogen ($^2\text{H}/^1\text{H}$), oxigen ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$), carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) și azot ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$), exprimate în notația delta (δ) raportată la standarde internaționale de referință:

$$\delta X = \frac{R_p - R_s}{R_s} 10^3 = \left(\frac{R_p}{R_s} - 1 \right) 10^3 (\text{‰}) \quad (1)$$

unde X - elementul (hidrogen, oxigen, carbon, azot, etc), R_p - raportul izotopic al probei, R_s - raportul izotopic al standardului. Valoarea δ se exprimă în ‰ (per mil). Standardul internațional VPDB, acceptat pentru măsurători izotopice de carbon, este CO_2 obținut dintr-o fosilă, Cretaceus belemnite, din formațiunea Pee Dee din Carolina de Sud și care are valoarea $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = 0 \text{ ‰}$. Valorile $\delta^{15}\text{N}$ sunt exprimate în raport cu azotul atmosferic, utilizat ca standard de referință (AIR).

Semnătura izotopică a materialelor vegetale este rezultatul interacțiunii dintre mai mulți factori, incluzând caracteristicile izotopice ale surselor de carbon, apă și azot (CO_2 , H_2O , NO_3^-), mecanismele de absorbție și asimilare ale acestora, precum și condițiile de mediu în care plantele se dezvoltă, cum ar fi clima și altitudinea. În plus, tipul de fertilizare și practicile agricole aplicate pot influența semnificativ compoziția izotopică a țesuturilor vegetale.

Din punct de vedere fiziologic, semnătura izotopică a carbonului este strâns corelată cu tipul de metabolism fotosintetic al plantei. În mediul natural predomină



două căi fotosintetice principale: C3 (ciclul Calvin) și C4 (ciclul Hatch-Slack). Majoritatea plantelor cultivate, inclusiv cele mai multe legume și fructe, aparțin grupului C3, în timp ce porumbul și trestia de zahăr sunt exemple reprezentative pentru plantele C4.

Plantele C3 prezintă, în mod caracteristic, valori ale $\delta^{13}\text{C}$ cuprinse între -30‰ și -23‰ , în timp ce plantele C4 se disting prin valori mai puțin negative, situate între -14‰ și -12‰ . Spre deosebire de carbon, compoziția izotopică a azotului este influențată în principal de sursele de nutrienți din sol și de procesele de transformare ale acestora, reflectând tipul de fertilizare și dinamica azotului din ecosistemul agricol.

6.2.1. Prepararea probelor pentru determinarea amprentelor izotopice ^{13}C și ^{15}N

Pentru a obține amprenta ^{13}C și ^{15}N a probei de tescovină de struguri, aceasta a fost mai întâi uscată timp de 48 de ore într-un cuptor, la 60°C , pentru a îndepărta apa. Apoi, 5 mg de probă uscată au fost combustionate (3 ore, la 555°C) pentru a obține CO_2 . În acesta secvență s-au utilizat tuburi de pyrex pentru încărcarea probelor, Cu sarmă și CuO ca reactivi, precum și un cuptor B170, Nabertherm. CO_2 rezultat a fost izolat de ceilalți produși obținuți în urma combustiei prin distilare criogenică și analizat prin spectrometria de masă de rapoarte izotopice (IRMS).

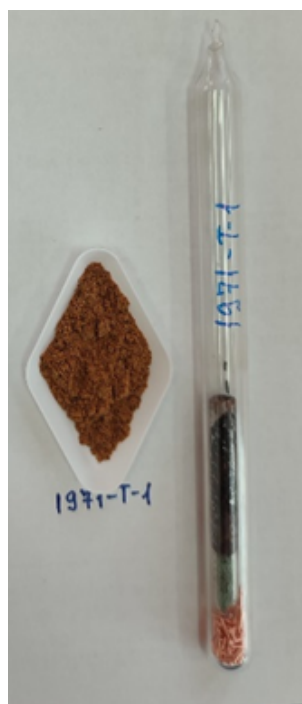


Figura 6.3. Pregătirea probelor pentru combustionare și analiza ^{13}C .

6.2.2. Determinarea amprentelor izotopice

Determinarea experimentală a amprente izotopice a carbonului ($\delta^{13}\text{C}$) a fost realizată utilizând un spectrometru de masă pentru rapoarte izotopice, operat în modul „dual inlet”. Analiza izotopică a azotului ($\delta^{15}\text{N}$) a fost efectuată cu același tip de



spectrometru de masă pentru rapoarte izotopice (Delta V Advantage, Thermo Scientific), cuplat cu un analizor elemental.

Probele au fost cântărite și sigilate în capsule de staniu, după care au fost introduse în analizorul elemental, unde au fost supuse unui proces de combustie la o temperatură a reactorului de 920 °C. Heliul de înaltă puritate (6.0) a fost utilizat ca gaz purtător, iar azotul și oxigenul au fost folosite pentru a asigura desfășurarea reacțiilor de oxidare și reducere. Valorile obținute pentru compoziția izotopică a azotului au fost exprimate relativ la standardul internațional de referință, aerul atmosferic, pentru care $\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}$ este definit ca 0‰.



Figura 6.4. Pregătirea capsulelor cu probe și determinările cu spectrometrul de masă Delta V Advantage

6.2.3. Rezultate experimentale

Rezultatele amprentelor izotopice ale probei de tescovină de struguri sunt prezentate în Tabelul 6.3.

Tabel 6.3. Ampretele izotopice ale probelor investigate

Cod proba	Parametru încercat/ rezultat	
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} (\text{‰})$	$\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}} (\text{‰})$
1971-T	-24.7±0.5	5.5±0.2

Valorile $\delta^{13}\text{C}$ determinate pentru probă indică apartenența materialului vegetal la categoria plantelor cu metabolism fotosintetic de tip C3. Proba de tescovină de struguri a prezentat o valoare $\delta^{13}\text{C}$ de -24.7 ‰, în timp ce proba de făină de tomate, analizată ca primul subprodus valorificat (A3.2-IM3.5) a înregistrat o valoare mai negativă, de -27.4 ‰. Aceste rezultate sunt în concordanță cu intervalele caracteristice plantelor C3 raportate în literatura de specialitate și confirmă originea botanică a materialelor analizate. Diferențele observate între valorile $\delta^{13}\text{C}$ pot fi corelate cu particularități fiziologice specifice fiecărei specii vegetale, precum și cu variațiile condițiilor de mediu în care acestea s-au dezvoltat, în special cu regimul de apă și intensitatea proceselor evaporative. Valoarea mai puțin negativă a $\delta^{13}\text{C}$ determinată



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

pentru tescovina de struguri poate indica prezența unui stres hidric mai accentuat sau o eficiență sporită în utilizarea apei pe parcursul perioadei de creștere și maturare a strugurilor, în comparație cu tomatele.

În ceea ce privește compoziția izotopică a azotului, proba de tescovină a prezentat o valoare $\delta^{15}\text{N}$ relativ ridicată (5.5 ‰), comparativ cu proba de făină de tomate (2.1 ‰). Acest rezultat poate indica diferențe în sursele de azot disponibile în sol sau în tipul de fertilizare utilizat, valorile mai mari ale $\delta^{15}\text{N}$ fiind frecvent asociate cu fertilizarea organică sau cu procese intense de reciclare a azotului în sol. Valoarea mai redusă a $\delta^{15}\text{N}$ în cazul făinii de roșii susține utilizarea acesteia ca material de referință relativ omogen, adecvat pentru comparații ulterioare în cadrul proiectului.

Combinarea parametrilor $\delta^{13}\text{C}$ și $\delta^{15}\text{N}$ oferă informații complementare utile pentru caracterizarea materialelor vegetale analizate și evidențiază potențialul acestor determinări în studiile de trasabilitate și autentificare a produselor vegetale și a subproduselor acestora.





7. Analiza bioinformatică a compușilor biologic activi din tescovină

Industria vinificației procesează o cantitate semnificativă de struguri (50% din întreaga producție). Odată cu aceasta expansiune, însă, a fost înregistrată implicit și o creștere considerabilă de subproduse (tescovină, semințe). Acest aspect evidențiază necesitatea identificării unor soluții sustenabile în scopul gestionării și valorificării acestor materiale.

Subprodusele rezultate în urma procesului de vinificație reprezintă o sursă accesibilă de compuși biologic activi ce pot fi utilizați în diverse matrice alimentare. În cazul în care aceste subproduse nu sunt gestionate corespunzător, pot conduce la implicații negative asupra mediului înconjurător (Ferrer-Gallego & Silva, 2022).

Aproximativ 45% din producția de struguri (*Vitis vinifera L*) este înregistrată la nivelul Europei. Literatura de specialitate sugerează faptul că strugurii posedă o serie de activități biologic active cu implicații pozitive pentru sănătate. Compoziția și repartitia compușilor bioactivi sunt dependente de formațiunea anatomică. Este cunoscut faptul că tescovina conține o serie de compuși valoroși cu proprietăți biologic active, ce exercită numeroase efecte benefice asupra organismului uman. Zhou *et al.* (2022) prezintă beneficiile compușilor fenolici și, în mod particular, a flavonoidelor. Samah *et al.* (2012) descrie tescovina ca o sursă importantă de compuși fenolici, ce exercită activitate antioxidantă ridicată. Astfel, autorii au raportat că principalii compuși fenolici identificați au fost pirogalolul, acidul dihidroxicinamic, acidul vanilic, acidul siringic și catecolul. Caracterul biologic activ atribuit acestor compuși este asociat cu beneficiile raportate în cazul diferitelor afecțiuni (Samah *et al.*, 2012).

Cel mai însemnat conținut de fenoli totali se regăsește la nivelul semințelor de struguri, urmate de pieliță și pulpă. În pieliță predomină resveratrolul, acidul cinamic, acidul vanilic, acidul sinergic și catecolul (Samah *et al.*, 2012), Flavonoidele predomină la nivelul pielitei (quercetină, miricetină și kaempferol). Resveratrolul reprezintă un compus valoros, regăsindu-se predominant sub forma trans, pielița strugurilor reprezentând formațiunea structurală cea mai abundentă în acest compus.

Resveratrolul exercită un rol esențial de protecție împotriva patogenilor și a stresului oxidativ. Alți compuși ce se regăsesc la nivelul pielitei de struguri sunt reprezentați de acizii vanilic, siringic, cafeic, p-cumaric, respectiv de cianidină, peonidină, delfinidină și petunidină. La nivelul semințelor s-au identificat cantități considerabile de quercetină, miricetină și kampferol (Zhou *et al.*, 2022).

Pentru caracterizarea avansată a acestor compuși biologic activi care predomină în pielița și sâmburii din struguri roșii s-a utilizat analiza bioinformatică. Compușii de interes identificați, care prezintă potențial terapeutic, au fost caracterizați pentru a afla informații despre profilul farmacologic dar și toxicologic.

Prin interogarea bazei de date PubChem au fost colectate datele structurale cu privire la compușii de interes, precum reprezentarea SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System), masa moleculară (Da) și formula moleculară (Tabelul 7.1).



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Tabelul 7.1. Informații despre structura compușilor și masa moleculară a compușilor bioactivi din *semințe* și *pieleța strugurilor*

Compus	MM (Da)	FM	logP	Flexibilitate
Quercetină	302,23	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	1,23	1
Miricetină	318,23	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	0,79	1
Kaempferol	286,24	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	1,58	1
Pirogalol	126,11	C ₆ H ₆ O ₃	0,58	0
Acid cinamic Di-OH	150,17	C ₉ H ₁₀ O ₂	1,60	2
Acid vanilic	168,15	C ₈ H ₈ O ₄	1,08	2
Acid siringic	198,17	C ₉ H ₁₀ O ₅	0,99	3
Catecol	110,11	C ₆ H ₆ O ₂	0,97	0
Cianidină	484,8	C ₂₁ H ₂₁ ClO ₁₁	-1,99	4
Peonidină	336,72	C ₁₆ H ₁₃ ClO ₆	0,04	2
Delfinidină	301,23	C ₁₅ H ₉ O ₇	0,95	1
Petunidină	352,72	C ₁₆ H ₁₃ ClO ₇	-0,31	2
Resveratrol	228,24	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	2,48	2
Acid cafeic	180,16	C ₉ H ₈ O ₄	0,98	2
Acid p-cumaric	164,16	C ₉ H ₈ O ₃	1,26	2

MM - masă moleculară

7.1. Caracteristicile fizico-chimice ce prezintă interes pentru profilul farmacologic

În urma inserării structurii SMILES a compușilor predominanți în tescovină în baza de date SwissADMET, au fost identificate caracteristici relevante, precum aria topologică a suprafeței polare (TPSA), hidrofobicitatea, solubilitatea în apă, flexibilitatea și indicele de refracție molară (Tabelul 7.2).

Indicele TPSA (Å²) indică spațiul efectiv ocupat de atomii din moleculă și reprezintă un factor descriptiv util cu privire la biodisponibilitatea compușilor.

Tabelul 7.2. Profilul farmacologic al compușilor identificați în tescovină (sursa: ADME)

Compus	TPSA	Refractivitate	HBA	HDB
Quercetină	131,36	78,03	7	5
Miricetină	151,59	80,06	8	6
Kaempferol	111,13	76,01	6	4
Pirogalol	60,69	32,51	3	3
Di-OH acid cinamic	37,30	43,61	2	1
Acid vanilic	66,76	41,92	4	2
Acid siringic	75,99	48,41	5	2
Catecol	40,46	30,49	2	2
Cianidină	193,44	114,15	11	8
Peonidină	103,29	86,49	6	4



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Delfinidină	134,19	75,26	7	4
Petunidină	123,52	88,52	7	5
Resveratrol	60,69	67,88	3	3
Acid cafeic	77,76	47,16	4	3
Acid p-cumaric	57,53	45,13	3	2

HBA - numărul de acceptori de legături de hidrogen

HBD - numărul de donori de legături de hidrogen

Flexibilitatea moleculei, exprimată prin numărul legăturilor ce pot suferi fenomenul de rotație, reprezintă un indicator frecvent utilizat în analiza bioinformatică, literatura de specialitate sugerând faptul că un compus de interes nu trebuie să prezinte mai mult de 9 legături ce pot suferi proces de rotație (Mareș *et al.*, 2023).

Solubilitatea prezintă implicații în ceea ce privește absorbția, distribuția și eliminarea compușilor.

Refracția moleculară reflectă atât volumul real al moleculei, cât și forțele ce acționează asupra sistemului medicament-receptor.

Numărul de grupări donatoare participante la legături de hidrogen exercită o importanță deosebită în ceea ce privește capacitatea moleculei de a traversa membrana celulară. Astfel, un număr ridicat al acestor grupări implică o afinitate crescută pentru solvenții polari, cum ar fi apa, în detrimentul mediului lipofilic al membranei celulare de la nivelul intestinului. Grupările donatoare de legături de hidrogen (de tip -NH; -OH) contribuie la polaritatea moleculei. Astfel, polaritatea ridicată va conduce la creșterea solubilității în apă și implicit la reducerea partiției într-un mediu lipofilic, acesta din urmă regăsindu-se la nivelul membranei intestinale (Coimbra *et al.*, 2021).

Regula lui Ghose, complementară regulii lui Lipinski, introduce criterii suplimentare cu privire la proprietățile fizico-chimice ale compușilor. În cazul acestei reguli, masa moleculară trebuie să fie cuprinsă între 160 și 480 Da, iar coeficientul de partiție logP trebuie să fie cuprins între -0,4 și 5,6. Suplimentar regulii lui Lipinski, Ghose prevede un număr total de atomi cuprins între 20 și 70, precum și o valoare a retroactivității molare situate în intervalul 40-130 (Kralj *et al.*, 2023).

Tabelul 7.3. Farmacocinetica compușilor identificați în tescovină

Compus	BBB	Absorbția GI	Scorul biodisponibilității	Lipinski	Ghose
Quercetină	-	Ridicată	0,55	Da	Da
Miricetină	-	Redusă	0,55	Da; 1 abatere: HBA>5	Da
Kaempferol	-	Ridicată	0,55	Da	Da
Pirogalol	+	Ridicată	0,55	Da	Nu; 3 abateri: MW<160,



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Acid cinamic Di-OH	+	Ridicată	0,85	Da	MR<40, atomi<20 Nu; 1 abatere: MW<160
Acid vanilic	-	Ridicată	0,85	Da	Yes
Acid siringic	-	Ridicată	0,56	Da i	Yes
Catecol	+	Ridicată	0,55	Da	Nu; 3 abateri: MW<160, MR<40, atomi<20
Cianidină	-	Redusă	0,17	Nu; 2 abateri: HBD>10, HBA>5	Nu; 2 abateri: MW>480, logP<-0,4
Peonidină	-	Ridicată	0,55	Da	Da
Delfinidină	-	Ridicată	0,56	Da	Da
Petunidină	-	Ridicată	0,55	Da	Da
Resveratrol	+	Ridicată	0,55	Da	Da
Acid cafeic	-	Ridicată	0,56	Da	Da
Acid p-cumaric	+	Ridicată	0,85	Da	Da

*BBB - bariera hematoencefalică, GI - gastrointestinal, HBA - numărul de acceptori de legături de hidrogen, HBD - numărul de donori de legături de hidrogen, MW - masă moleculară, LogP - coeficient de partiție, MR - refracție molară.

Valoarea logP a fost obținută în urma interogării bazei de date SwissADME, acest parametru rezultând în baza a cinci metode distincte de predicție a coeficientului de partiție octanol/apa (logP). Aceste metode includ: ILOGP, XLOGP3, WLOGP, MLOGP și SILICOS-IT. Media acestor cinci metode reprezintă o estimare a lipofilicității compusului.

Numărul grupărilor donatoare de legături de hidrogen prezintă un rol cheie în determinarea capacității unei molecule de a traversa membrana celulară. Astfel, un număr ridicat de grăpări favorizează interacțiunea cu solvenții polari, precum apa, limitându-se astfel penetrarea moleculei în mediul lipofilic al membranei intestinale. În consecință, o polaritate ridicată crește solubilitatea în apă, reducându-se astfel coeficientul de partiție în mediul lipofilic, cum este cazul membranei intestinale (Coimbra *et al.*, 2021). Un rol la fel de important este atribuit și grupărilor acceptoare de legături de hidrogen, influențând permeabilitatea prin interacțiunea cu solvenții polari.

Astfel, pe baza criteriilor farmacologice descrise anterior privind biodisponibilitatea și administrarea orală, compușii analizați prezintă următoarele caracteristici moleculare: masa moleculară se încadrează în intervalul 110,11 și 484,8 Da, iar coeficientul de partiție octanol/apă (logP) variază între -1,99 și 2,48. În ceea ce privește numărul grupărilor donatoare și acceptoare de legături de hidrogen este



cuprins între valorile 1 și 8, respectiv 2 și 11. TPSA prezintă valori cuprinse între 40,46 și 193,44.

Scorul biodisponibilității Abbot reprezintă un indicator utilizat în scopul estimării probabilității ca un compus să prezinte cel puțin 10% biodisponibilitate orală în cazul rozătoarelor, sau să prezinte o permeabilitate semnificativă în cazul unui model celular de tip Caco-2 - celule epiteliale de la nivelul colonului - utilizat pentru a evalua absorbția intestinală. La baza determinării acestui scor stau sarcina totală a moleculei, suprafața polară topologică (TPSA) și eventuale încălcări ale regulilor Lipinski, permițând astfel o clasificare a compușilor în patru clase, cu probabilități de 11%, 17%, 56% sau 85% (Daina *et al.*, 2017).

Este esențial să se cunoască dacă un compus reprezintă sau nu substrat pentru glicoproteina P-gp - principalul transportor ABC (ATP Binding Cassette), în scopul evaluării transportului prin membrana biologică, cu implicații în protejarea sistemului nervos central dar și în ceea ce privește rezistența la medicamente (Montanari & Ecker, 2015).

Permeabilitatea barierei hemato-encefalice (BBB) are la baza modelul BOILED EGG (Figura 7.1), rezultat în urma interogării bazei de date SwissADME (Daina *et al.*, 2017). Barierea hemato-encefalică (BBB) stă la baza mecanismului de protecție a creierului, alcătuit din două componente principale o barieră fizică și o barieră biochimică. Astfel, difuzia pasivă reprezintă principala cale prin care medicamentele sunt transportate din fluxul sanguin la nivelul creierului (Daina *et al.*, 2017). Prin urmare, comportamentul compușilor în raport cu glicoproteina P, trebuie îndeaproape studiat, în scopul evaluării transportului la nivelul membranei biologice, având la bază implicații în protejarea sistemului nervos central dar și rezistența la medicamente.

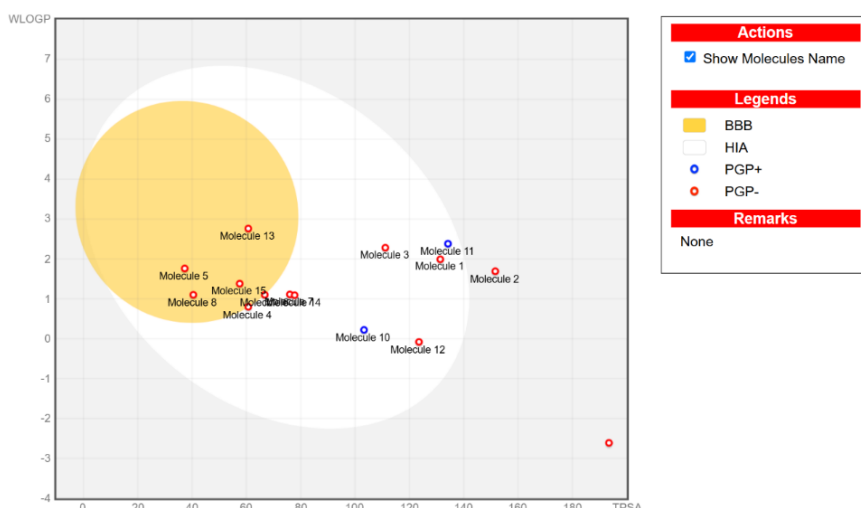


Figura 7.1. Modelul BOILLED-Egg (Brain Or IntestinaL EstimatedD)

Modelul BOILLED-Egg (Brain Or IntestinaL EstimatedD) permite o analiză intuitivă a absorbției pasive la nivelul tractului gastrointestinal (HIA) și a penetrării barierei sânge-



creier (BBB), în funcție de poziția moleculelor în raportul TPSA-WLOGP. Albușul (regiunea albă) indică o probabilitate mare a moleculelor de a fi absorbite la nivelul tractului gastrointestinal. Gălbenușul (regiunea galbenă) indică o probabilitate mare de penetrare a barierei sânge-creier. Cele două zone nu se exclud reciproc, astfel că o moleculă poate prezenta atât o absorbție ridicată la nivelul tractului gastrointestinal, cât și capacitatea de a traversa bariera sânge-creier. În plus, colorația punctelor este influențată de interacțiunea moleculei cu P-glicoproteina (PGP). Astfel, colorația albastră sugerează faptul că moleculele pot fi eliminate din sistemul nervos central de către glicoproteina P (PGP +), pe când punctele roșii indică faptul că moleculele nu sunt eliminate din sistemul nervos central (PGP-).

Denumirea compușilor în funcției de repartitia în modelul Boiled-Egg: 1 - quercetină; 2 - miricetin; 3 - kampferol; 4 - pirogalo; 5 - acid cinamic Di-OH; 6 - acid vanilic; 7 - acid siringic; 8 - catecol; 9 - cianidină; 10 - peonidină, 11 - dalfinidină; 12 - petunidină; 13 - resveratrol; 14 - acid cafeic; 15 - acid p-cumaric.

Se observă faptul că patru dintre compușii identificați sunt localizați în regiunea galbenă a modelului BOILED-Egg (acid cinamic, acid siringic, resveratrol și acidul p-cumaric), aceștia prezentând o probabilitate ridicată de a traversa bariera hematoencefalică. Mai mult decât atât, atribuirea acestor compuși a colorației roșii pune în evidență faptul că nu reprezintă substrat pentru glicoproteina P, astfel nu vor fi eliminați din sistemul nervos central.

Ulterior, compușii de interes au fost investigați, analize utilizând metoda instrumentală SwissTargetPrediction, în scopul evidențierii potențialelor interacțiuni ale acestora cu moleculele ce prezintă interes din punct de vedere fiziologic. Pentru a asigura un grad cât mai ridicat de acuratețe al rezultatelor, doar interacțiunile caracterizate de o probabilitate de legare de cel puțin 0,6 au fost considerate în cadrul acestui studiu (Tabelul 7.4).

Tabelul 7.4. Potențialele interacțiuni ale compușilor din rozmarin cu țintele moleculare și probabilitatea de legare. SwissTargetPrediction

Compus	Țintă moleculară (Probabilitate de legare)
Quercetină	Oxidaza NADPH 4 (1), Receptorul V2 al vasopresinei (1), Aldoz-reductaza (1), Xantin dehidrogenaza (1), Monoaminoxidaza A (1), Receptor insulina tip I (1), Receptorul tirozin-kinazic FLT3 (1), Citocromul P450 10A1 (1), Receptorul factorului de creștere epidermică EbrB1 (1), Trombina (1), Anhidraza carbonică II (1), Kinaza serină/treonină PIM1 (1), 5-lipoxigenaza acidului arahidonic (5-LOX) (1), Kinaza serină/treonină Aurora-B (1), Receptorul dopaminergic D4 (1), Receptorul adenozinic A1 (omologie) (1), Anhidraza carbonică VII (1), Glicoxalaza I (1), Mieloperoxidaza (1), Subunitatea p85-alfa fosfoinozitol-3-kinazei (1), Receptorul adenozinic A2A (omologie) (1), Kinaza 1 asociată apoptozei (DAPK1) (1), Fosforilaza glicogenului hepatic (1), Anhidraza carbonică I (1), Glicogen sintaza kinaza-3 beta (GSK-3beta) (1), Kinaza de adeziune focală 1 (FAK1) (1), 17B-hidroxisteroid dehidrogenaza 2 (17b-HSD2) (1), Receptor 2 al factorului de creștere endotelială vasculară (VEGFR-2) (1), Metaloproteinaza matricială 13 (MMP13) (1), Metaloproteinaza matricială (MMP3) (1), Anhidraza carbonică III (1), 15-lipoxigenaza acidului arahidonic (15-LOX) (1), Proteina 1 asociată rezistenței la multiple medicamente (MRP1) (1), Kinaza serină/treonină PLK1 (1), Anhidraza carbonică VI (1), Kinaza dependentă de ciclină 1 (CDK1) (1), Metaloproteinaza matricială (MMP9)



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

	(1), Anhidraza carbonică XII (1), Metaloproteina matricială (MMP2) (1), Protein kinaza N1 (1), Anhidraza carbonică XIV (1), Anhidraza carbonică IX (1), Cazein kinaza II alfa (1), 12-lipoxigenaza acidului arahidonic (12-LOX) (1), Receptorul factorului de creștere al hepatocitelor (1), Anhidraza carbonică IV (1), Kinaza serină/treonină NEK2 (1), Receptorul A al interleukinei-8 (1), Kinaza II dependentă de calmodulină/calciu, subunitatea beta (1), Receptorul tirozin-kinazic ALK (1), Kinaza serină/treonină AKT (1), P-glicoproteina 1 (1), Kinaza serină/treonină NEK6 (1), Fosfolipaza A2 grup 1B (1), Anhidraza carbonică VA (1), Beta-secretaza 1 (1), citocromul P450 1B1 (1), Receptorul tirozin-kinazic UFO (1), Transportorul ATP-binding cassette, subfamilia G, membrul 2 (ABCG2/BCRP) (1), Kinaza 1 familia NUA (1), Aldo-ceto reductaza, familia 1, membrii C2; C1; C3; C4 (1), Anhidraza carbonică XIII (omologie) (1), Aldehid-reductaza (omologie) (1), Receptorul cuplat cu proteina G 35 (1),
Miricetină	Proteina tau asociată microtubulilor (1), Demetilaza specifică asociată lizinei 4D-like (1), Receptorul cuplat cu proteina G 35 (1), ADN-topoizomeraza II alfa (1), Xantin dehidrogenaza (1), Receptorul tirozin-kinazic FLT3 (1), Receptorul insulinei (1), Acetilcolinesteraza (1), Glicoxalaza I (1), Kinaza miozinei din mușchiul neted (MLCK) (1), Tirozin-protein kinaza SYK (1), Proteina 1 asociată rezistența la multiple medicamente 1 (1), Subunitatea p110-gamma a fosfoinozitol-3-kinaza (PI3K) (1), Beta-secretaza 1 (BACE1) (1), Liza ADN a situsurilor apurine/apirimidinice (1)
Kaempferol	Oxidaza NADPH 4 (1), Aldoz-reductaza (prin omologie) (1), Xantin-dehidrogenaza (1), Tirozinaza (1), Receptorul tirozin-kinazic FLT3 (1), Anhidraza carbonică II (1), 5-lipoxigenaza acidului arahidonic (5-LOX) (1), Anhidraza carbonică VII (1), 17-beta-hidroxisteroid dehidrogenaza 2 (1), Proteina 1 asociată rezistenței la multiple medicamente (1), 17-beta-hidroxisteroid dehidrogenaza 2 (1), Receptorul alfa înrudit cu receptorul estrogenic (1), Anhidraza carbonică XII (1), Receptorul alfa înrudit cu receptorul estrogenic (1), P-glicoproteina 1 (1), Citocromul P450 1B1 (1), Transportorul ATP-binding cassette, subfamilia G membru 2 (1), Receptorul adenosin A1 (0,79), Anhidraza carbonică IV (0,79)
Pirogalol	Tirozin-protein kinaza FYN (0,91), receptorul factorului de creștere epidermică erbB1 (0,91), Anhidraza carbonică II (0,91), Anhidraza carbonică I (0,91), Anhidraza carbonică VI (0,91)
Acid siringic	Anhidraza carbonică II, VII, I, III, VI, XII, XIV, IX, VA (1)
Catecol	Anhidraza carbonică II (0,98), Anhidraza carbonică XII (0,98), Anhidraza carbonică VB (0,98)
Resveratrol	Monoaminoxidaza A (1), Anhidraza carbonică II (1), Receptorul androgen Alfa (1), Cicloxigenaza-1 (1), Transportorul neropinefrinei (1), Cicloxigenaza-2 (1), Anhidraza carbonică VII (1), Anhidraza beta-amiloid A4 (1), Anhidraza carbonică I (1), Anhidraza carbonică III (1), Anhidraza carbonică VI (1), Subunitatea p110-beta a fosfoinozitol-3-kinazei (1), Anhidraza carbonică XII (1), Citocromul P450 1A2 (1), Citocromul P450 2C9 (1), Citocromul P450 3A4 (1), Anhidraza carbonică XIV (1), Anhidraza carbonică IX (1), Citocromul P450 2C19 (1), Anhidraza carbonică IV (1), Anhidraza carbonică XIII (1), Chinon-reductaza 2 (1), Anhidraza carbonică VB (1), Subunitatea p110-alfa a fosfoinozitol-3-kinazei (1), Anhidraza carbonică VA (1)
Acid cafeic	Aldoz-reductaza AKR1B1 (1), Anhidrază carbonică II CA2 (1), Anhidrază carbonică VII CA7 (1), Receptorul estrogenic beta ESR2 (1), Anhidrază carbonică I CA1 (1), Anhidrază carbonică III CA3 (1), Anhidrază carbonică VI CA6 (1), Anhidrază carbonică XII CA12 (1), Anhidrază carbonică XIV CA14 (1), Anhidrază carbonică IX CA9 (1), Anhidrază carbonică IV CA4 (1), Anhidrază carbonică VB CA5B (1), Anhidrază carbonică VA CA5A (1)



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Ulterior, s-a realizat o analiză a literaturii de specialitate în scopul identificării efectelor fiziologice ale acestor compuși de interes, astfel realizându-se o clasificare a posibilelor efecte benefice, prezentate în tabelul 7.5.

Tabelul 7.5. Activitatea potențial bioactivă a compușilor din tescovină

Efect identificat	Compuși cu care interacționează	Sursă bibliografică
Hepatoprotector	Citocromul P450 1A2 Citocromul P450 2C9 Citocromul P450 3A4 Citocromul P450 19A1 Chinon-reductaza 2	Kondža et al. (2024) Kondža et al. (2024) Kondža et al. (2024) Kondža et al. (2024) Fu et al. (2005)
Antidiabetic	Aldoz-recuctaza (omologie) receptorul cuplat cu proteina G 35 Xantin Dehidrogenaza Receptorul tirozin-protein kinazic FLT3 Acetilcolinesteraza Fosforilaza glicogenului hepatic Tirozin-protein kinaza SYK Subunitatea p110-gama a fosfoinozimid-3 kinazei- Beta-secretaza 1	Chembl, Alim et al. (2017) Chembl Chembl Chembl Kato et al. (2008) Chembl Chembl Chembl
Antidepresiv	Monoaminoxidaza A	Buryanovskyy et al. (2004)
Neuroprotector	Protein beta-amiloid A4 Receptorul estrogenic alfa Beta-secretaza 1 Proteina tau asociată microtubulilor Acetilcolinesteraza Tirozin-protein kinaza FYN Xantin-oxidaza Kinaza serină/treonină Aurora-B Monoamine oxidaza A	Rojas-García et al. (2023) Chembl Chembl, Rojas-García et al. (2023) Chembl Pervin et al. (2014) Dwibedi et al. (2022) Baier et al. (2020) Buryanovskyy et al. (2004) Chembl
Antiinflamator	Cicloxigenaza-1 Cicloxigenaza-2 Subunitatea p110-beta a fosfoinozimid-3-kinazei Estrogen receptor Alpha Chinon-reductaza 2 Glicogen sintaza kinaza-3-beta Oxidaza NADPH 4 Xantin-oxidaza Receptorul cuplat cu proteina G 35 5-lipoxigenaza acidului arahidonic Kinaza serină-treonină Aurora B	Chembl Chembl Chembl Chembl Chembl Jara et al. (2008) Chembl Dwibedi et al. (2022), ChemBL Kutil et al. (2014) Baier et al. (2020) Chembl
Anti obezitate	Receptorul insulinei Estrogen receptor Alpha Glicogen sintaza kinaza-3-beta Fosforilaza A2 grup 1B	Chembl Chembl Chembl Chembl
Anti cancer	Receptor tirozin-protei kinazic FLT3 Receptor tirozin kinazic	Chembl Chembl



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

	<i>Receptor tirozin-proteî kinazic UFO</i> <i>Kinaza tirozinică SYK</i> <i>Kinaza dependentă de ciclină 1</i> <i>Metaloproteinaza matricială 2</i> <i>Metaloproteinaza matricială 9</i> <i>Receptorul estrogen alfa</i> <i>Serine/threonine-protein kinase PIM1</i> <i>Serine/threonine-protein kinase Aurora-B</i> <i>Serine/threonine-protein kinase PLK1</i> <i>Serine/threonine-protein kinase NEK2</i> <i>Serine/threonine-protein kinase AKT</i> <i>Serine/threonine-protein kinase NEK6</i> <i>Citocromul P450 1B1</i> <i>ADN topoizomeraza II alfa</i> <i>Demetilaza specifică lizinei</i> <i>Tirozin-protein Kinaza FYN</i> <i>Receptorul factorului de creștere epidermică erbB1</i> <i>Cyclooxygenase-1</i> <i>Cyclooxygenase-2</i> <i>Metaloproteinaza matricială 3</i> <i>Subunitatea p110-beta a fosfoinozimid-3-kinazei</i> <i>Transportorul ATP-binding cassette G2</i> <i>ADN topoizomeraza II alfa</i> <i>Liaza ADN a situsurilor apurinice/apirimidinice</i> <i>Citocromul P450 1A2</i> <i>Citocromul P450 3A4</i> <i>Chinon reductaza 2</i>	Naveed et al. (2024) Teller et al. (2009) Hegedüs et al. (2022) Xia et al. (2010) Xia et al. (2010) Avtanski et al. (2018) ChEMBL Baier et al. (2020) ChEMBL ChEMBL ChEMBL ChEMBL ChEMBL Avtanski et al. (2018) ChEMBL Avtanski et al. (2018) Avtanski et al. (2018) Chen et al. (2013) Engelbrecht et al. (2007) Engelbrecht et al. (2007) Jo et al. (2006) Raffoul et al. (2012) Liu et al. (2013) Kondža et al. (2024) Fu et al. (2005) ChEMBL ChEMBL
Reglarea funcției renale	<i>Receptorul V2 al vasopresinei (V2R), Xantin dehidrogenaza, Oxidaza NADPH 4, Anhidraza carbonică II</i>	ChEMBL
Cardiovascular	<i>Oxidaza NADPH 4</i> <i>Xantin oxidaza</i> <i>5-lipoxigenaza acidului arahidonic</i> <i>Metaloproteinaza matricială 2</i> <i>Receptorul 2 al factorului de creștere endotelială vasculară</i> <i>Citocromul P450 1B1</i>	Andriantsitohaina et al. (2012) Dwibedi et al. (2022) Kutil et al. (2014) Hegedüs et al. (2022) Hegedüs et al. (2022) Liu et al. (2013)

Pentru a completa studiul, compușii identificați au fost analizați și din punct de vedere al toxicității, utilizând metoda instrumentală Protox, care pune în evidență atât gradul de toxicitate orală (Tabelul 7.6), cât și probabilitatea interacțiunii compușilor cu țintele de toxicitate (Tabelul 7.7).





Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Tabelul 7.6. Rezultate analiză ProTox - Predicția proprietăților compușilor fenolici identificați în tescovină

		Querceitină	Miristicină	Kaempferol	Pirogalol	Acid cinamic	Acid vanilic	Acid siringic
Toxicitate orală	LD50 (mg/kg)	159	1190	3919	300	3700	2000	1190
	Clasa toxicității	3	4	5	3	5	4	4
	Precizie (%)	100	100	82,46	100	67,38	69,26	100

Tabelul 6.6. Rezultate analiză ProTox - Predicția proprietăților compușilor fenolici identificați în tescovină (continuare)

			Querce- itină	Miristi- cină	Kaemp- ferol	Piro- galol	Acid cina- mic	Acid vani- lic	Acid sirin- gic
Toxicitate a organelor	Hepatotoxicitate	Pred.	-	+	-	-	-	-	+
		Prob.	0.69	0,69	0,68	0,77	0,58	0,55	0,69
	Neurotoxicitate	Pred.	-	+	-	-	-	-	+
		Prob.	0.89	0,87	0,89	0,78	0,68	0,77	0,87
	Nefrotoxicitate	Pred.	+	-	+	+	+	+	-
		Prob.	0.62	0,90	0,62	0,59	0,54	0,64	0,90
	Toxicitate respiratorie	Pred.	+	+	+	-	-	-	+
		Prob.	0.83	0,98	0,83	0,64	0,74	0,77	0,98
	Cardiotoxicitate	Pred.	-	-	-	+	-	-	-
		Prob.	0.99	0,77	0,91	0,57	0,63	0,76	0,77
	Carcinogenicitate	Pred.	+	-	-	+	-	-	-
		Prob.	0.68	0,62	0,72	0,59	0,81	0,64	0,62
Indicatori ai toxicității	Imunotoxicitate	Pred.	-	+	-	-	-	-	+
		Prob.	0.87	0,96	0,96	0,97	0,98	0,97	0,96
	Mutagenitate	Pred.	+	-	-	+	-	-	-
		Prob.	0.51	0,97	0,52	0,66	0,93	0,96	0,97
	Citotoxicitate	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0.99	0,93	0,98	0,91	0,82	0,93	0,93
	Ecotoxicitate	Pred.	+	+	-	-	-	-	-
		Prob.	0.53	0,73	0,51	0,68	0,59	0,88	1
	Toxicitate clinică	Pred.	-	-	-	-	-	+	+
		Prob.	0.53	0,56	0,55	0,54	0,67	0,51	0,73
		Pred.	+	-	+	-	-	-	-



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

	Toxicitate nutritională	Prob.	0,63	0,74	0,66	0,85	0,88	0,87	0,56
Tox21-Căi de semnalizare ale receptorilor nucleari	AhR	Pred.	+	-	+	+	-	-	-
		Prob.	0,91	0,97	1	0,99	0,99	0,94	0,74
	AR	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,99	0,99	0,99	0,99	1	0,99	0,97
	AR-LBD	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,97	0,99	0,99	0,99	0,99	1	0,99
	Aromatază	Pred.	-	+	+	-	-	-	-
		Prob.	0,91	1	0,96	0,97	1	0,99	0,99
	Era	Pred.	+	+	+	+	-	-	+
		Prob.	0,87	0,99	1	1	0,98	0,96	1,00
	ER-LBD	Pred.	+	+	+	+	-	-	+
		Prob.	0,95	1	0,95	1	0,99	0,96	0,99
Tox21-căi de răspuns la stres	Nrf2/ARE	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,99	0,88	0,99	0,78	0,99	0,96	0,99
	HSE	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,99	0,88	0,99	0,78	0,99	0,96	0,88
	MMP	Pred.	+	-	+	-	-	-	-
		Prob.	1	0,7	1	0,86	0,98	0,93	0,70
	p53	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,97	0,96	0,92	0,95	0,99	0,98	0,96
	ATAD5	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,99	0,99	0,92	0,92	0,98	0,96	0,99
Evenimente moleculare inițitoare	THRα	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,90	0,90	0,90	0,90	0,91	0,90	0,90
	THRβ	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,78	0,78	0,78	0,78	0,88	0,78	0,78
	TTR	Pred.	-	-	-	-	+	-	-
		Prob.	0,97	0,97	0,97	0,97	0,68	0,97	0,97
	RYR	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,98	0,98	0,98	0,98	0,97	0,98	0,98
	GABAR	Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,96	0,96	0,96	0,96	0,59	0,96	0,96
	NMDAR	Pred.	-	-	-	-	-	-	-



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Metabolism (enzimele citotromului P450)	AMPAR	Prob.	0,92	0,92	0,92	0,92	0,98	0,92	0,92
		Pred.	-	-	-	-	-	-	-
	KAR	Prob.	0,97	0,97	0,97	0,97	1	0,97	0,97
		Pred.	-	-	-	-	-	-	-
	AChE	Prob.	0,99	0,99	0,99	0,99	1	0,99	0,99
		Pred.	-	+	-	-	-	-	+
	CAR	Prob.	0,69	0,69	0,68	0,77	0,7	0,55	0,69
		Pred.	-	-	-	-	-	-	-
	PXR	Prob.	0,98	0,98	0,98	0,98	1	0,98	0,98
		Pred.	-	-	-	-	-	-	-
	NADHOX	Prob.	0,92	0,92	0,92	0,92	0,53	0,92	0,92
		Pred.	-	-	-	-	-	-	-
	VGSC	Prob.	0,97	0,97	0,97	0,97	0,77	0,97	0,97
		Pred.	-	-	-	-	-	-	-
	NIS	Prob.	0,95	0,95	0,95	0,95	0,92	0,95	0,95
		Pred.	-	-	-	-	-	-	-
	CYP1A2	Prob.	0,98	0,98	0,98	0,98	0,91	0,98	0,98
		Pred.	+	-	+	-	-	-	-
	CYP2C19	Prob.	1	0,76	0,93	0,8	0,97	0,95	0,76
		Pred.	+	-	+	-	-	-	-
	CYP2C9	Prob.	0,77	0,87	0,65	0,87	0,88	0,91	0,87
		Pred.	+	+	+	+	-	+	+
	CYP2D6	Prob.	0,99	0,56	0,66	0,58	0,58	0,63	0,56
		Pred.	-	-	+	-	-	-	-
	CYP3A4	Prob.	0,85	0,63	0,62	0,87	0,93	0,82	0,63
		Pred.	-	-	-	-	-	-	+
	CYP2E1	Prob.	0,79	0,71	0,65	0,90	0,99	0,99	0,71
		Pred.	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	1	0,98	1	0,99	0,98	1	0,98
		Pred.	-	+	-	-	+	-	+

		Cate- col	Ciani- dină	Peoni- dină	Delfini- dină	Petuni- dină	Resveratr ol	Acid cafeic	Acid p- cumari c
Toxicitate orală	LD50 (mg/kg)	100	1190	5000	3919	1190	1560	2980	1190
	Clasa toxicității	3	4	5	5	4	4	5	4
	Precizie (%)	100	100	69,26	68,07	100	68,07	70,97	100
	Pred.	-	+	-	-	+	-	-	+



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

	Hepatotoxicitate	Prob.	0,82	0,69	0,70	0,68	0,69	0,74	0,57	0,69
	Neurotoxicitate	Pred.	-	+	-	-	+	-	-	+
		Prob.	0,63	0,87	0,87	0,86	0,87	0,77	0,83	0,87
	Nefrotoxicitate	Pred.	-	-	+	+	-	+	+	-
		Prob.	0,63	0,90	0,64	0,61	0,90	0,59	0,59	0,90
	Toxicitate respiratorie	Pred.	-	+	+	+	+	-	-	+
		Prob.	0,87	0,98	0,82	0,81	0,98	0,57	0,59	0,97
	Cardiotoxicitate	Pred.	+	-	+	-	-	+	-	-
		Prob.	0,68	0,77	0,70	0,88	0,77	0,51	0,97	0,77

Indicatori ai toxicității	Carcinogenicitate	Pred.	+	-	-	-	-	-	+	-
		Prob.	0,84	0,62	0,72	0,67	0,62	0,71	0,78	0,62
	Imunotoxicitate	Pred.	-	+	+	-	+	-	-	+
		Prob.	0,99	0,96	0,51	0,84	0,96	0,86	0,50	0,96
	Mutagenitate	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,90	0,97	0,83	0,58	0,97	0,92	0,98	0,97
	Citotoxicitate	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,87	0,93	0,83	0,94	0,93	0,98	0,86	0,93
	Ecotoxicitate	Pred.	-	+	-	-	+	-	-	+
		Prob.	0,54	0,73	0,54	0,56	0,73	0,55	0,82	0,73
	Toxicitate clinică	Pred.	-	-	-	-	-	-	+	-
		Prob.	0,63	0,56	0,62	0,69	0,56	0,60	0,50	0,56
	Toxicitate nutrițională	Pred.	-	-	+	+	-	-	-	-
		Prob.	0,80	0,74	0,58	0,63	0,74	0,89	0,77	0,74
Tox21-Căi de semnalizare ale receptorilor nucleari	AhR	Pred.	+	-	+	+	-	-	-	-
		Prob.	1	0,97	0,76	0,63	0,97	0,63	0,97	0,97
	AR	Pred.	-	-	-	-	-	+	+	-
		Prob.	0,99	0,99	0,91	0,97	0,99	1	1	0,99
	AR-LBD	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,99	0,99	0,95	0,96	0,99	0,99	0,99	0,99
	Aromatază	Pred.	-	+	-	+	+	-	-	+
		Prob.	0,93	1	0,67	0,54	1	0,85	0,99	1
	Era	Pred.	-	+	-	+	+	+	-	+
		Prob.	0,91	0,99	0,51	0,66	0,99	1	0,99	0,99
	ER-LBD	Pred.	+	+	-	+	+	+	-	+
		Prob.	1	1	0,57	0,60	1	1	0,96	1





Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

	PPAR-γ	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,97	0,99	0,90	0,95	0,99	0,97	0,99	0,99
Tox21-căă de răspuns la stres	Nrf2/ARE	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,90	0,88	0,83	0,87	0,88	0,93	0,97	0,88
	HSE	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,90	0,88	0,83	0,87	0,88	0,93	0,97	0,88
	MMP	Pred.	-	-	+	+	-	+	-	+
		Prob.	0,88	0,70	0,78	0,63	0,70	1	0,98	0,70
	p53	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,97	0,96	0,79	0,86	0,96	0,53	0,97	0,96
	ATAD5	Pred.	-	-	-	-	-	+	-	-
		Prob.	0,98	0,99	0,73	0,94	0,99	1	0,98	0,99
Evenimente moleculare inițitoare	THRα	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,90	0,90	0,90	0,89	0,90	0,90	0,90	0,90
	THRβ	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,78	0,78	0,78	0,94	0,78	0,78	0,78	0,78
	TTR	Pred.	-	-	-	+	-	-	-	-
		Prob.	0,97	0,97	0,97	0,86	0,97	0,97	0,97	0,97
	RYR	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,98	0,98	0,98	0,90	0,98	0,98	0,98	0,98
	GABAR	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,96	0,96	0,96	0,56	0,96	0,96	0,96	0,96
	NMDAR	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,92	0,92	0,92	0,99	0,92	0,92	0,92	0,92
	AMPA	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,97	0,97	0,97	1	0,97	0,97	0,97	0,97
	KAR	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,99	0,99	0,99	1	0,99	0,99	0,99	0,99
	AChE	Pred.	-	+	-	+	+	-	-	+
		Prob.	0,82	0,69	0,70	0,52	0,69	0,74	0,57	0,69
	CAR	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,98	0,98	0,98	0,99	0,98	0,98	0,98	0,98
	PXR	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,92	0,92	0,92	0,51	0,92	0,92	0,92	0,92
	NADHox	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,97	0,97	0,97	0,84	0,97	0,97	0,97	0,97



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

	VGSC	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,95	0,95	0,95	0,96	0,95	0,95	0,95	0,95
	NIS	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	0,98	0,98	0,98	0,91	0,98	0,98	0,98	0,98
Metabolism (enzimele citotromului P450)	CYP1A2	Pred.	-	-	+	+	-	+	-	-
		Prob.	0,86	0,76	0,68	0,63	0,76	0,92	0,96	0,76
	CYP2C19	Pred.	-	-	+	-	-	-	-	-
		Prob.	0,74	0,87	0,75	0,58	0,87	0,71	0,97	0,87
	CYP2C9	Pred.	+	+	+	+	+	+	+	+
		Prob.	0,68	0,56	0,67	0,54	0,56	0,76	0,65	0,56
	CYP2D6	Pred.	-	-	-	+	-	-	-	-
		Prob.	0,85	0,63	0,58	0,54	0,63	0,80	0,85	0,63
	CYP3A4	Pred.	-	+	-	-	+	+	-	+
		Prob.	0,73	0,71	0,90	0,74	0,71	1	0,95	0,71
	CYP2E1	Pred.	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prob.	1	0,98	0,99	1	0,91	0,99	1	0,98

Prin accesarea bazei de date ProTox, au fost generate informații cu privire la doza letală LD₅₀, precum și clasificarea compușilor de interes în funcție de gradul de toxicitate. Această clasificare pune în evidență șase clase de compuși din punct de vedere al gradului de toxicitate pe care îl exercită, după cum urmează - 5 mg/kg corp, 50, 300, 2.000 și 5.000 mg/kg. Se observă faptul că majoritatea compușilor prezenți în tescovină sunt încadrați în clasele 4 și 5 de toxicitate, ceea ce sugerează un grad redus de toxicitate orală.

În *tabelul 7.7* sunt indicate posibilele interacțiuni dintre compușii analizați și țintele de toxicitate, precum receptorul androgen, estrogenic, dopaminergic, amino oxidaza A, prostaglandin sintaza, implicate în posibile efecte endocrine, neurologice și inflamatoare.

Tabelul 7.7. Analiza ProTox - Predicția „țintelor responsabile de toxicitate” a compușilor biologic activi identificați în tescovină

Compus	Țintă de toxicitate	Grad mediu de potrivire cu farmacoformul (%)	Similaritate medie cu alți liganzi (%)
Quercetină	Receptorul androgenic	1,69	79,43
	Amino oxidaza A	36,22	90,1
	Receptorul estrogenic 2	0,39	72,97
	Prostaglandin G/H Sintază 1	42,27	83,51
Miricetină	Receptor androgenic	2,71	91,46
	Amino oxidaza A	61,67	0
	Receptor histaminic H1	49,7	0
Kaempferol	Receptorul androgenic	1,04	83,77



**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

	Amino oxidaza A	26,87	88,12
	Receptorul dopaminergic D3	0	73,11
	Prostaglandin G/H Sintază 1	33,6	83
Pirogalol	Prostaglandin G/H Sintază 1	0	93,33
Acid cinamic	-	-	-
Acid vanilic	Receptorul androgenic	0,39	80,85
	Amino oxidaza A	27,35	0
	Prostaglandin G/H Sintază 1	38,63	0
Acid siringic	Receptor androgenic	2,71	91,45
	Amino oxidaza A	61,67	0
	Prostaglandin G/H Sintază 1	49,7	0
Catecol	Prostaglandin G/H Sintetază 1	0	80
Cianidină	Receptorul androgenic	2,71	91,46
	Amino oxidaza A	61,67	0
	Receptorul histaminic H1	49,7	0
Peonidină	Receptorul androgenic	7	70,27
	Amino oxidaza A	15,68	76,58
	Receptor estrogenic 2	0,27	70,64
	Prostaglandin G/H Sintază 1	17,63	89,47
Delfinidină	Receptor androgenic	0	70,25
	Amino oxidaza A	0	76,03
	Prostaglandin G/H Sintază 1	0	70,59
Petunidină	Receptor androgenic	2,71	91,46
	Amino oxidaza A	61,67	0
	Receptorul histaminic H1	49,7	0
Resveratrol	Receptor androgenic	1,27	78,37
	Receptorul histaminic H1	30,82	82,45
Acid cafeic	Prostaglandin G/H Sintază 1	39,17	89,93
Acid p-coumaric	Prostaglandin G/H Sintază 1	48,83	78,52





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

8. Determinări privind fezabilitatea utilizării tescovinei de struguri ca materie primă pentru dezvoltarea produselor alimentare funcționale și sustenabile

În perioada de desfășurare a activității A3.2, personalul implicat a derulat o serie de activități experimentale și analitice având ca scop atingerea obiectivelor stabilite în cadrul proiectului, respectiv valorificarea sustenabilă a subproduselor agroalimentare. Astfel, laboratorul Chimia Alimentului a recepționat 2 probe de tescovină de struguri, una de culoare mov (TV) și una de culoare maro (TM).

Proba obținută a fost analizată microbiologic cu privire la determinarea numărului de drojdii și mucegaiuri, determinarea numărului de enterobacterii și activitatea apei pentru a verifica siguranța alimentară a produsului și pentru a evalua gradul de contaminare microbiană, parametru esențial în stabilirea posibilelor aplicații alimentare. Ulterior, probele au fost caracterizate fizico-chimic, prin determinarea umidității, conținutului de cenușă, proteine, lipide, zaharuri și glucide. În paralel, a fost investigat potențialul antioxidant și determinarea conținutului de polifenoli totali din probele de tescovină de struguri.

Rezultatele obținute în urma acestor determinări vor fi utilizate pentru evaluarea fezabilității utilizării tescovinei de struguri ca materie primă în dezvoltarea unor produse alimentare funcționale și sustenabile.

8.1. Introducere

În ultimii ani, un subiect care a atras o atenție sporită a fost diminuarea impactului deșeurilor industriale asupra mediului. Numeroase industrii alimentare au un impact negativ asupra mediului din cauza prezenței în deșeurile lor a fenolilor reziduali din materia primă vegetală utilizată. În apele uzate industriale, acești compuși cresc considerabil necesarul biochimic și chimic de oxigen, cu efecte negative asupra florei și faunei din zonele de deversare, în timp ce în reziduurile solide pentru obținerea îngrășămintelor, nivelurile relativ ridicate de compuși fenolici reprezintă o problemă din cauza inhibării proprietăților lor de germinare. Cu toate acestea, polifenolii au numeroase efecte favorabile asupra sănătății umane, cum ar fi inhibarea oxidării proteinelor cu densitate mică (Frankel și colab., 1993; Frankel și colab., 1995; Meyer și colab., 1997), reducând astfel riscurile de boli de inimă (Williams și Elliot, 1997). De asemenea, compușii fenolici au activitate antiinflamatorie și proprietăți anticancerigene (Miyake și colab., 1999; Carrol și colab., 1999; Maeda-Yamamoto și colab., 1999). Astfel, compușii fenolici pot fi considerați subproduse cu valoare adăugată, justificând izolarea lor din deșeurile industriale (Moure și colab., 2001). Aceste reziduuri, de fapt, ar putea fi o sursă alternativă pentru obținerea de antioxidanți naturali, considerați complet siguri în comparație cu antioxidanții sintetici, cum ar fi butil-hidroxianisolu (BHA) și butil-hidroxitoluenul (BHT), compuși utilizați în prezent pe scară largă în industria alimentară, cu efecte nedorite asupra enzimelor organelor umane (Nakatani, 1997).





Strugurii ocupă în mod constant o poziție de lider în producția agricolă globală (Shahbandeh, 2021). Procesul de vinificație generează o cantitate substanțială de deșeuri solide, cunoscute sub numele de tescovină, care rămâne după extragerea sucului pentru vinurile albe sau după presarea strugurilor după fermentare pentru vinurile roșii. Industria vinicolă contribuie semnificativ la problemele de mediu prin eliminarea direct în natură a unor cantități enorme de tescovină. Cu toate acestea, valorificarea acest produs secundar poate fi dublu benefică prin atenuarea daunelor aduse mediului și servind ca sursă de ingrediente funcționale (în special compuși bioactivi). Această abordare se aliniază cu principiile economiei circulare, permițând recuperarea compușilor cu valoare ridicată și integrarea acestora în sistemele economice (Matthews et al., 2021). Diferite metodologii de extracție au fost utilizate pentru a recupera compușii bioactivi din tescovina de struguri (Figura 8.1).

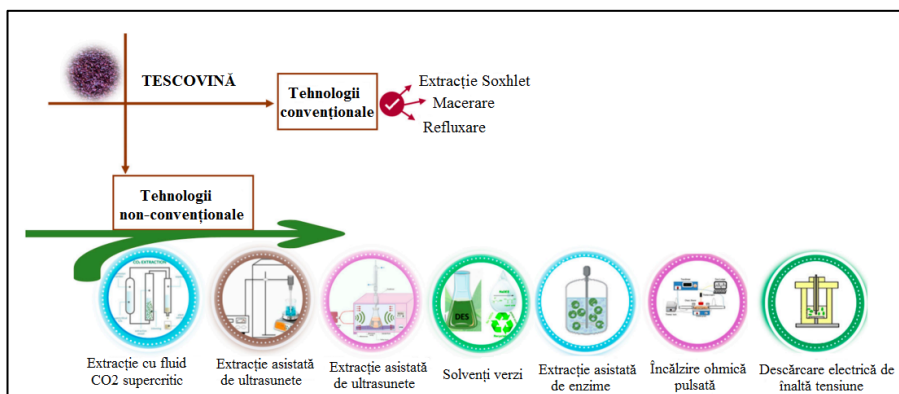


Figura 8.1. Metodologii de extracție utilizate pentru recuperarea compușilor fenolici din tescovină de struguri

Din această perspectivă, este posibilă combinarea extracției compușilor valoroși cu alte procese, cum ar fi compostarea, care ar reduce și mai mult amprenta ecologică a vinificației. În ciuda progreselor, metodele tradiționale de extracție, cum ar fi macerarea și extracția Soxhlet, se confruntă cu provocări, cum ar fi cerințele ridicate de energie, procesarea lentă și compromiterea sustenabilității, ceea ce duce la eliminarea continuă a unor cantități mari de tescovină de struguri (Cisneros și col., 2024). Pentru a depăși aceste limitări, se explorează tehnologii inovatoare și ecologice de extracție pentru a îmbunătăți recuperarea compușilor bioactivi din tescovina de struguri, cu o eficiență îmbunătățită și utilizând practici sustenabile.

Tescovina reprezintă aproape 25% din masa totală de struguri presăți și este compusă în principal din codițe, pielețe, celule zdrobite din pulpa de struguri și semințe rămase după operațiunile de presare (Devesa-Rey et al., 2011). Conform Jin și col. (2018), tescovina generată din producția vinului, este compusă din aproximativ 50% pielețe, 25% semințe și 25% tulpini (Figura 8.2).

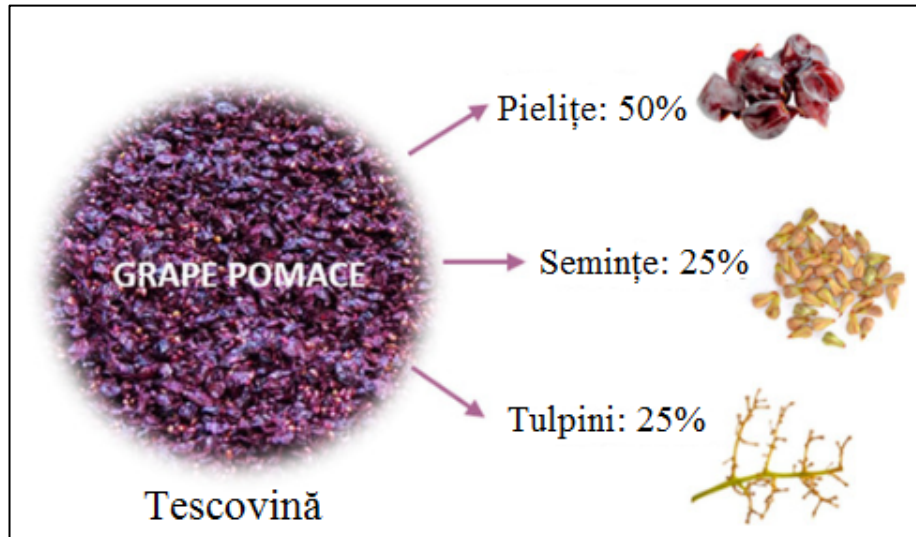


Figura 8.2. Compoziția tescovinei de struguri

Acest produs secundar este bogat în alcool, fenoli, taninuri, pigmenți, zaharuri nefermentate și alți compuși valoroși și este, prin urmare, o sursă promițătoare de substanțe bioactive pentru nutraceutice și alimente funcționale (Jiménez-Moreno et al., 2020). Tescovina posedă un potențial semnificativ de adăugare de valoare prin fermentarea etanolului în alcool de struguri și etanol industrial (Muhlack et al., 2018), sporindu-i valoarea economică și oferind aplicații în cosmetice și produse farmaceutice (Liu et al., 2023). În plus, ca sursă de bioetanol, tescovina oferă o alternativă durabilă la combustibilii fosili (Devesa-Rey et al., 2011). În ciuda utilizării sale ca aditiv pentru hrana animalelor, conținutul său ridicat de fenoli poate afecta digestibilitatea prin inhibarea enzimelor cheie și a creșterii microbiene în rumen (Fontana et al., 2013). Tescovina are, de asemenea, potențial ca amendament organic pentru sol datorită bogăției sale în nutrienți (Bustamante et al., 1975), deși aplicarea directă poate afecta negativ creșterea plantelor prin efectele fitotoxice ale taninurilor și ale altor compuși fenolici (Fontana et al., 2013).

Interesul științific pentru studierea compușilor fenolici din tescovină a crescut în ultimele decenii, având în vedere potențialele lor efecte benefice asupra sănătății umane. Compușii fenolici găsiți în tescovina de struguri induc acțiuni care ajută la îmbunătățirea sănătății și la reducerea riscurilor pentru sănătate, prezentând o gamă largă de proprietăți biologice, cum ar fi proprietăți antialergenice, antimicrobiene, antiinflamatorii, antiîmbătrânire, antitumorale, antioxidante, antilipotrope, antitrombotice, cardioprotectoare, insulinoatropice și vasodilatatoare (Spissu și col., 2023) (Figura 8.3).



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

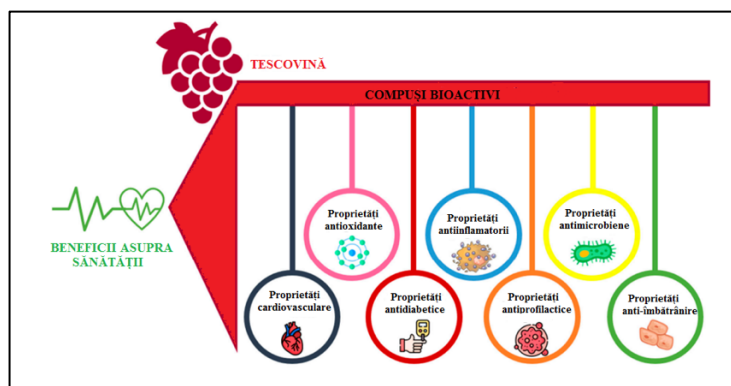


Figura 8.3. Efectele polifenolilor din tescovina de struguri asupra sănătății umane

În cercetarea prezentă, din cadrul proiectului Metrofood-Evolve, activitatea A3.2, IM 3.5, au fost analizate 2 probe de tescovină de struguri, tescovină mov (TV) și tescovină maro (TM) (Figura 8.4).



Figura 8.4. Probele de tescovină (TV și TM) analizate în cadrul proiectului Metrofood Evolve

8.2. Materiale și metode

8.2.1. Procedura de extracție pentru evaluarea conținutului de polifenoli totali și determinarea activității antioxidante prin metoda DPPH

S-a cântărit o cantitate de ~0,1 g probă peste care s-a adăugat un volum de 10 ml de solvent de extracție (metanol 80%). Extractele au fost obținute prin vortexare (Vortex Multi reax, Heidolph Instruments, Schwabach, Germany) la temperatura camerei



timp de 4 ore. După vortexare, acestea au fost centrifugate timp de 30 minute la 10.000 rotații pe minut (rpm) la o temperatură de 4°C pentru a îndepărta reziduurile.

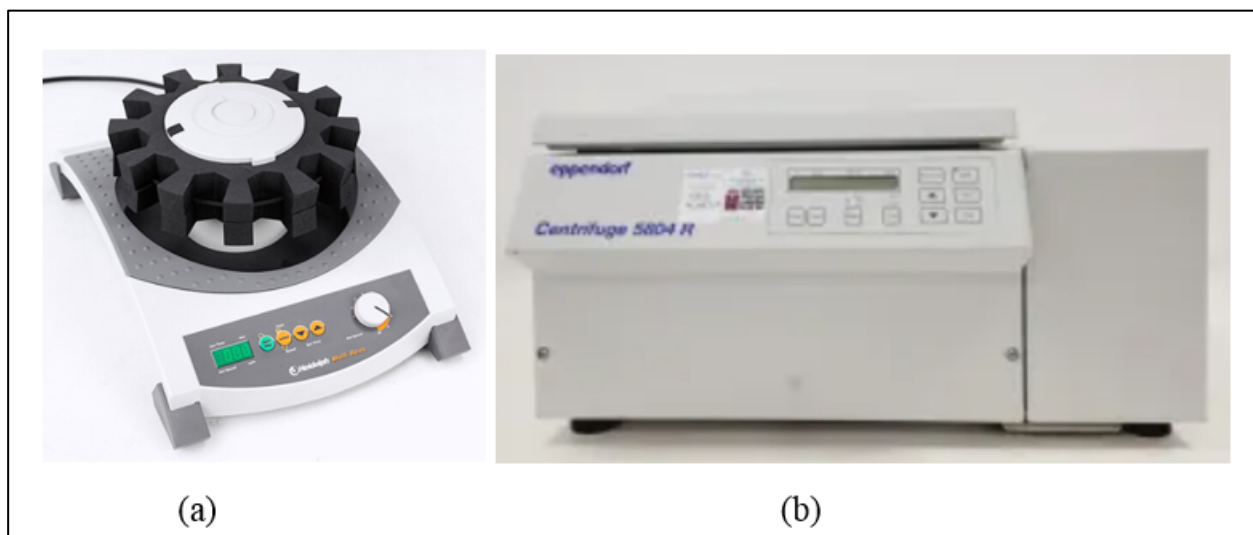


Figura 8.5. Echipamentele utilizate pentru obținerea extractelor (a) vortex, (b) centrifugă

8.2.2. Determinarea conținutului de polifenoli totali

Principiul testului F-C constă în reducerea reactivului Folin-Ciocalteu în prezența substanțelor fenolice, rezultând producerea de albastru de molibden-tungsten care este măsurat spectrofotometric la 752 nm, iar intensitatea crește liniar odată cu concentrația de fenolici în mediul de reacție.

Conținutul total de compuși polifenolici a fost determinat prin metoda Folin-Ciocalteu. Pe scurt, 500 μ L extract metanolic a fost amestecat cu 5 ml reactiv Folin-Ciocalteu 1:15 și 500 μ L carbonat de sodiu 20%. După 20 minute de incubare la temperatura camerei, la întuneric, compusul albastru colorat dezvoltat a fost măsurat spectrofotometric la 752 nm utilizând un spectrofotometru (Specord 210 UV-VIS, Analytic Jena, Germania). S-a realizat o curbă standard folosind diferite concentrații (0.005-0.175 mg/mL) de acid galic în aceleași condiții cu proba ($R^2=0,9999$) (Figura 8.6). Rezultatele au fost exprimate în miliechivalenți acid galic/100 g (mg GAE/100g substanță uscată). Analizele au fost efectuate în 6 repetiții pentru o precizie mai mare a rezultatelor.



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

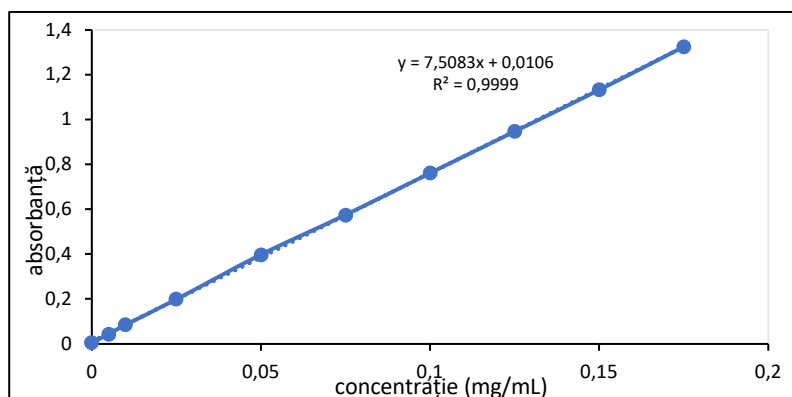


Figura 8.6. Curba de calibrare utilizată pentru determinarea compușilor fenolici

8.2.3. Determinarea activității antioxidante prin metoda DPPH

Principiul determinării activității antioxidante prin DPPH: în urma reacției, antioxidantul reacționează cu DPPH, acesta acceptă hidrogenul donor iar soluția pierde din intensitatea culorii, trecând din mov în galben pal.

Activitatea de captare a radicalilor DPPH a fost determinată utilizând ca principiu reducere radicalului 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl. Amestecul de reacție a constat în 400 μ L de supernatant și 6 ml soluție DPPH, care a fost incubat la întuneric timp de 30 minute. După expirarea timpului de reacție, s-a măsurat absorbanta la 517 nm utilizând un spectrofotometru (Specord 210 UV-VIS, Analytik Jena, Germania). Activitatea antioxidantă a fost calculată utilizând o curbă de calibrare (0.05-0.60 mmol/L) obținută cu Trolox ($R^2=0.9995$) (Figura 8.7). Rezultatele au fost exprimate în mg Trolox/100 g substanță uscată. Analizele au fost efectuate în 6 repetiții pentru o precizie mai mare a rezultatelor.

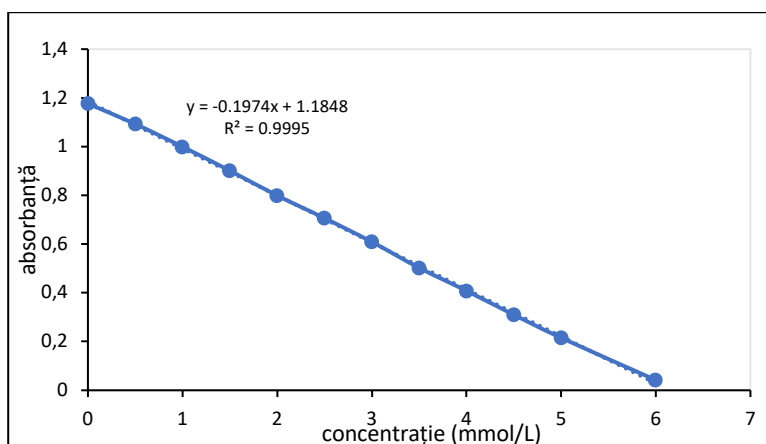


Figura 8.7. Curba de calibrare utilizată pentru determinarea activității antioxidante prin DPPH



8.2.4. Determinarea umidității

Într-o fiolă de cântărire conținând o baghetă de sticlă se introduc circa 20 g nisip de mare și se usucă în etuvă la temperatura de 103 ± 2 °C până la masă constantă. După răcirea fiolei în exsicactor, se introduc circa 5 g probă pregătită pentru analiză. Se amestecă cu ajutorul baghetei. Se introduce fiola în etuvă la 50-60 °C și se menține 2-3 ore, agitând din când în când conținutul cu ajutorul baghetei. Se reglează apoi temperatura etuvei la 103 ± 2 °C și se continuă încălzirea fiolei timp de 3-4 ore, amestecând din când în când cu ajutorul baghetei. După răcire în exsicactor până la temperatură ambiantă, se cântărește fiola. Se repetă încălzirea în etuvă timp de 30 minute, răcirea și cântărirea, până când diferența între două cântăriri consecutive nu depășește 0,004 g.

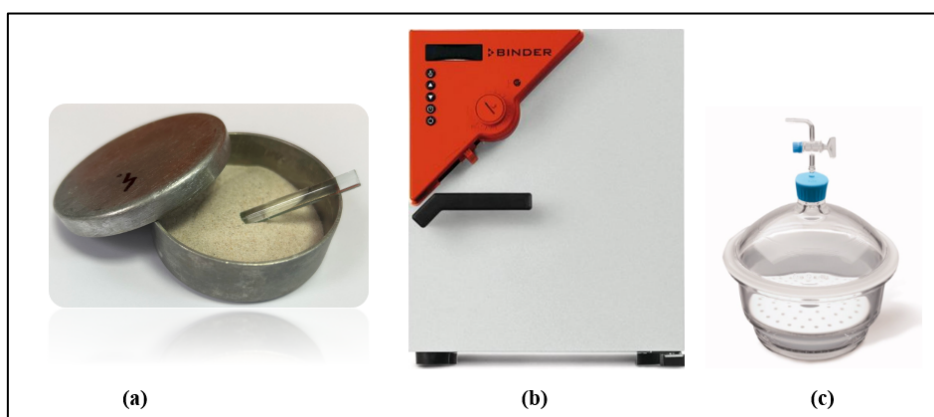


Figura 8.8. Echipamentele necesare pentru determinarea umidității
(a - fiolă; b - etuvă; c - exsicactor)

8.2.5. Determinarea conținutului de proteine totale

Metoda se bazează pe **determinarea conținutului de azot total prin metoda Kjeldahl**. Proba este supusă **mineralizării cu acid sulfuric concentrat**, în prezența unui **amestec catalitic** care accelerează oxidarea completă a substanțelor organice. În urma mineralizării, azotul organic este transformat în **ioni de amoniu (NH_4^+)**. După alcalinizare cu hidroxid de sodiu, amoniacul eliberat este **distilat cu abur** și captat într-o **soluție de acid boric**. Conținutul de azot este determinat prin **titrarea amoniacului colectat** cu o soluție standard de acid clorhidric. Pe baza conținutului de azot, se calculează **conținutul de proteină brută** al probei.

Într-un tub Kjeldahl de 300 mL se cântăresc, cu o precizie de $\pm 0,1$ mg, **1,5-2,0 g de probă**. Se adaugă **15 mL acid sulfuric concentrat (H_2SO_4)** și **5 g catalizator**, constând dintr-un amestec de **sulfat de potasiu (K_2SO_4)** și **sulfat de cupru**



pentahidratat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Pentru a preveni spumarea în timpul încălzirii, se adaugă un agent antispumant. Tuburile sunt plasate în unitatea de mineralizare și menținute la temperatura de reacție până la obținerea unei soluții incolore și limpezi (aproximativ 2 ore), indicând descompunerea completă a materiei organice. După mineralizare, probele se lasă să se răcească la temperatura camerei.

Tuburile răcite se montează în unitatea de distilare automată, Kjeldahl. Se adaugă automat 50 mL apă distilată și 60 mL soluție de hidroxid de sodiu (NaOH) pentru alcalinizarea mediului și eliberarea amoniacului. Amoniacul format este distilat și captat într-o soluție de acid boric (H_3BO_3), care reține amoniacul sub formă de borat de amoniu.

Soluția care conține amoniacul colectat se titrează cu soluție standard de acid clorhidric 0,1 N (HCl) până la virajul indicatorului mixt (roșu-verde). Volumul de HCl consumat este proporțional cu cantitatea de azot prezentă în probă.



Figura 8.9. Echipamentele utilizate pentru determinarea conținutului de proteine

8.2.6. Determinarea conținutului de grăsimi

Extracția grăsimii se realizează cu ajutorul unui solvent organic (eter de petrol) în aparat Soxhlet, urmată de îndepărtarea solventului prin distilare/evaporare și determinarea gravimetrică a fracției lipidice extrase.

Se cântăresc, cu precizie de $\pm 0,1$ mg, aproximativ 5 g din proba de analizat și se transferă cantitativ în cartușul Soxhlet. Cartușul se astupă cu un tampon de vată pentru a preveni pierderea particulelor și se introduce în extractor.

Balonul se atașează extractorului; înainte de utilizare, balonul trebuie să fie fost uscat la 103 ± 2 °C până la masă constantă iar apoi trebuie cântărit. Se toarnă solventul până la producerea primelor sifonări; ulterior se adaugă încă 50 mL solvent pentru a asigura un exces care să nu limiteze extracția. Se montează refrigerentul.

Se încălzește balonul pe baie de apă și se reglează puterea astfel încât să se obțină 10-12 sifonări/h. Durata extracției este de 5-6 ore (corespunzător numărului adecvat de cicluri de sifonare pentru extracția completă a lipidelor).

După încheierea extracției, se îndepărtează cartușul. Solventul se îndepărtează prin distilare/evaporare, colectându-se în balonul de extracție fracția grasă. Ulterior, balonul se usucă în etuvă 1 oră la 103 ± 2 °C, se răcește în exsicador până la temperatura camerei și se cântărește. Se repetă ciclul de încălzire în etuvă și răcire în



excicator până se obține **masă constantă** (diferență între două cântăriri consecutive sub limitele instrumentului).



Figura 8.10. Echipamentele utilizate pentru determinarea conținutului de grăsime

8.2.7. Determinarea conținutului de cenușă

Proba de lucru este supusă procesului de calcinare la o temperatură de **750 °C**, până la **combustia completă a substanței organice**. După finalizarea calcinării, se determină **masa rezidului mineral** (cenușii) prin cântărire analitică.

Creuzetele se introduc în cuptorul de calcinare și se mențin timp de **4 ore la 750 °C** pentru a elimina eventualele impurități și urme de umiditate. Înainte de utilizare, creuzetele se scot din cuptor și se lasă să se răcească în **excicator**, pentru a evita absorbția umidității din atmosferă. Ulterior, acestea se cântăresc cu o **precizie de $\pm 0,1$ mg** și se păstrează în excicator până la utilizare.

Se cântăresc, cu o **precizie de $\pm 0,1$ mg**, aproximativ **2,5 g de probă**. Proba se transferă în creuzetul pregătit și cântărit anterior, fără tasare, astfel încât să se formeze un **strat uniform** de material.

Pentru inițierea procesului de ardere, se adaugă o cantitate mică de **etanol** peste proba de analizat. După ce etanolul și proba s-au ars complet, creuzetul se introduce în **cuptorul de calcinare**, menținut la **750 °C**, pentru o perioadă de **4 ore**. Calcinarea se consideră completă atunci când întreaga substanță organică, inclusiv **particulele reziduale de carbon**, a fost combustă. La final, creuzetul se scoate din cuptor și se introduce în **excicator** pentru răcire la temperatura camerei. După răcire, creuzetul cu rezidul de cenușă se cântărește cu o **precizie de $\pm 0,1$ mg**.



Figura 8.11. Echipamentele utilizate pentru determinarea conținutului de cenușă (creuzet și cuptor de calcinare)

8.2.8. Determinarea conținutului de zahăr

Metoda se bazează pe **proprietatea zaharurilor reducătoare (zahăr invertit)** de a **reduce sărurile cuproase alcaline** la cald, formând **oxid cupros (Cu_2O)**. Cantitatea de oxid cupros format, proporțională cu conținutul de zahăr reducător din probă, este determinată **indirect prin titrare iodatometrică**: oxidul cupros reduce iodul liber, iar excesul de iod este titrat cu o **soluție standard de tiosulfat de sodiu**.

Se cântăresc aproximativ **5 g probă**, care se transferă cantitativ într-un **balon cotelat de 250 mL**. Se adaugă **150 mL apă caldă ($50\text{--}55\text{ }^\circ\text{C}$)** și se agită periodic (la intervale de 5 minute) timp de **30 minute**, pentru o extracție completă a zaharurilor solubile. După această perioadă, soluția se lasă să se răcească la temperatura camerei. Pentru clarificare (defecare), se adaugă **5 mL soluție de sulfat de zinc 15%** și **5 mL soluție de ferocianură de potasiu 10%**. Se agită energic, apoi se completează volumul balonului la semn cu apă distilată, se agită din nou și se lasă în repaus **15 minute** pentru decantare. Dacă filtratul obținut este tulbure, se refiltrează prima porțiune limpede prin hârtie de filtru uscată.

Se pipetează **50 mL** din soluția obținută anterior într-un **balon cotelat de 100 mL**, peste care se adaugă **5 mL acid clorhidric (HCl)**. Balonul se introduce într-o **baie de apă menținută la $68\text{--}70\text{ }^\circ\text{C}$** și se menține timp de **8 minute**, pentru hidrolizarea zaharozei în glucoză și fructoză (zahăr invertit). După hidroliză, soluția se răcește imediat în apă rece, se adaugă câteva picături de **fenolftaleină** și se neutralizează cu **soluție de hidroxid de sodiu 30%**, până la apariția unei colorări roz pal.

Într-un vas Erlenmeyer de 200-300 mL, se introduc:

- 30 mL din soluția obținută după hidroliză,
- 10 mL soluție cuprică (Fehling I),
- 10 mL soluție alcalină (Fehling II).

Amestecul se aduce la fierbere timp de **2 minute** la flacără, pe o **sită de azbest** prevăzută cu un orificiu central de circa **3 cm diametru**, pentru distribuția uniformă a căldurii. După fierbere, vasul se răcește rapid în **curent de apă rece**. Se adaugă succesiv **10 mL soluție de iodură de potasiu (KI)** și **10 mL acid sulfuric (H_2SO_4)**. Soluția se titrează imediat cu **soluție de tiosulfat de sodiu 0,1 N**, până la trecerea culorii de la brun la galben-deschis. Se adaugă apoi **5 mL soluție de amidon 1%**, iar titrarea se



continuă până la **dispariția culorii brun-albastre**, punctul final al reacției. Se efectuează o **determinare martor (blank)** în aceleași condiții și cu aceiași reactivi, înlocuind soluția de probă cu aceeași cantitate de **apă distilată**.

8.3. Rezultate

8.3.1. Determinarea conținutului de polifenoli totali (TPC) în probele analizate

Cu privire la probele de tescovină analizate, conținutul de TPC a fost de 690,46 mg GAE/100g s.u. în TV, și 4464,73 mg GAE/100g s.u. în TM (Tabel 8.1). Într-un studiu de specialitate, Castrica și col. (2019) au analizat tescovina de struguri și au obținut un conținut de polifenoli totali de 4480,50 mg GAE/100g. Rezultatul este mai mare de aproximativ 6,5 ori comparativ cu TV și asemănător cu proba TM. Conținutul de polifenoli totali în tescovina de struguri a fost între 607-729,20 μg/g substanță uscată (s.u.) (Martins și col., 2016), 252,80 μg/g s.u. (Antoniolli și col., 2015), și 116 μg/g s.u. (Sinrod și col., 2021).

Tabel 8.1. Conținutul de polifenoli totali în probele analizate

Probă	TPC (mg GAE/100g) s.u
TV	690,46±21,97
TM	4464,73±1,94

Valorile sunt exprimate ca medie ± deviație standard (n = 3).

Conținutul total de polifenoli în extractele de tescovina de struguri cu etanol 50% și acetonă 50% au fost de 38,70 mg GAE/g s.u. și 45,18 mg GAE/g s.u. (Rodrigues și col., 2023). Iora și col. (2015) au analizat 3 tipuri de tescovină obținute din 3 varietăți de struguri: Merlot, Tanat și Cabernet Sauvignon, soiuri cultivate în anul 2012, în regiunea Toledo, Brazilia, cu privire la conținutul de polifenoli totali. Rezultatele au arătat un conținut de polifenoli totali de 3762,42 mg GAE/100 g, 3014,55 mg GAE/100 g, și 5101,82 mg GAE/100 g. Rezultatul pentru TM se încadrează în acest domeniu, însă TPC pentru TV este comparabil mai mic. Într-un studiu de specialitate, Amico și col. (2008) au analizat diferite probe de tescovină din struguri și au observat că nivelul de polifenoli totali a variat între 13.980 și 39.770 mg GAE/100 g. Utilizând diferite tipuri de extracții “verzi”, precum extracția cu fluide supercritice (EFS) și extracția cu solvenți lichizi convenționali în condiții subcritice cu temperatură și presiune controlate (ESLC), Otero-Pareja și col. (2015), au raportat o concentrație de polifenoli între 34,5-135,7 mg GAE/g s.u pentru EFS și între 177,1-254,6 mg GAE/g s.u. Variațiile conținutului de polifenoli se pot datora mai multor factori, cum ar fi variabilitatea genetică, presiunea mediului, tehnicile de cultivare, vârsta și maturitatea plantelor și tratamentele postrecoltare (Thomas și col., 2018).



8.3.2. Evaluarea activității antioxidante DPPH în probele analizate

Rezultatele activității antioxidante pentru probele de tescovină sunt prezentate în tabelul 8.2. Activitatea antioxidantă în TV a fost de 877,04 mg TE/100g s.u. în timp ce valoarea DPPH pentru TM a fost de 10589,58 mg TE/100g s.u. Castrica și col. (2019) au analizat tescovina de struguri și au obținut o valoare de 5511,40 mg TE/100g. Luchian și col. (2019) au analizat diferite probe de tescovină de struguri cu privire la determinarea activității antioxidante prin metoda FRAP. Acestea au fost obținute în urma procesului de fermentație din recolta 2017 a soiurilor de struguri Sauvignon Blanc, Traminer, Busuioaca de Bohotin, Cabernet Sauvignon, Merlot, Feteasca Neagră și Fetească a Regală. Valorile activității antioxidante FRAP au variat între 937,09 și 1688,51 μ M Trolox/100 mL pentru extractele etanolice și între 186,09-1164,22 μ M Trolox/100 mL pentru extracetele metanolice.

Rockenbach și col. (2011) au analizat 4 tipuri de tescovină de struguri: Cabernet Sauvignon, Merlot, Bordeaux și Isabel cu privire la activitatea antioxidantă prin 3 metode: DPPH, ABTS și FRAP. Valorile activității antioxidante prin DPPH au variat între 188,02- 505,52 μ M Trolox/g, între 193,36-485,42 μ M Trolox/g pentru ABTS, și între 117,79-249,46 μ M Trolox/g pentru FRAP.

Tabel 8.2. Evaluarea activității antioxidante prin DPPH în probele analizate

Probă	DPPH (mg TE/100g) s.u
TV	877,04 $\pm$ 19,13
TM	10589,58 $\pm$ 25,45

Valorile sunt exprimate ca medie $\pm$ deviație standard (n = 3).

Pérez-Jiménez și col. (2008) au raportat valori ale activității de 124,4 μ mol TEAC/g prin metoda ABTS și 273,9 μ mol TEAC/g utilizând metoda FRAP. pentru tescovina din strugurii roșii recoltați în Manzanares, Spania. Într-un studiu realizat de Sánchez-Alonso și colab. (2008) tescovină de struguri din soiul Airén a prezentat o activitate antioxidantă de 284 μ mol TEAC/g utilizând metoda ABTS. Așadar, tescovina reprezintă o resursă bogată în antioxidanți naturali, a căror bioactivitate poate fi cuantificată precis prin metode precum DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC. Aceste proprietăți susțin utilizarea compușilor fenolici extrași în formulări alimentare sau farmaceutice, ca alternativă la antioxidanții de sinteză.

8.3.3. Evaluarea caracteristicilor fizico-chimice din probele de tescovină de struguri

Caracterizarea fizico-chimică a probelor de tescovină de struguri este prezentată în Tabelul 8.3. În ceea ce privește conținutul de apă, proba TV a înregistrat o umiditate mai redusă comparativ cu proba TM. În schimb, proba TV s-a remarcat printr-un conținut mai ridicat de proteine, grăsimi și cenușă față de proba TM. De asemenea, se evidențiază un conținut semnificativ de zaharuri în proba TM (35,47%), de aproximativ 30 de ori mai mare decât cel determinat în proba TV, 1,18%. Conținutul de cenușă, 4,62% respectiv 3,37% reflectă proporția de substanțe minerale, iar nivelul ridicat de glucide contribuie semnificativ la valoarea energetică totală.



Tabel 8.3. Caracterizarea fizico-chimică a probelor de tescovină de struguri

Probă	Umiditate (%)	Proteine (%)	Grăsimi (%)	Cenușă (%)	Glucide (%)	Zaharuri (%)	Valoare energetică (kcal/100g)	Umiditate (%)
TV	5,22±0,12	10,49±0,10	8,66±0,01	4,62±0,06	71,01±0,21	1,18±0,10	404±1,41	5,22±0,12
TM	7,80±0,10	6,24±0,14	5,96±0,08	3,37±0,13	76,63±0,19	35,47±0,11	385±1,41	7,80±0,10

Valorile sunt exprimate ca medie ± deviație standard (n = 2).

Într-un studiu de specialitate, Ahmed și col. (2020) au analizat compoziția fizico-chimică a unor probe de tescovină provenite din zece soiuri de struguri. Rezultatele au evidențiat un conținut de umiditate cuprins între 20,64 și 28,47%, valori semnificativ mai ridicate comparativ cu cele obținute în prezenta cercetare. Conținutul de proteine a variat între 9,28 și 14,41%, cel de grăsimi între 6,44 și 10,47%, iar conținutul de cenușă s-a situat în intervalul 3,21-6,86%. Gowman Alison și col. (2019) au raportat un conținut de cenușă de 4,65% în tescovina de struguri, valoare apropiată de cea determinată în acest studiu pentru proba TV. Sousa și col. (2014) au investigat compoziția fizico-chimică a tescovinei provenite dintr-o regiune semiaridă din nord-estul Braziliei, raportând un conținut de apă de 3,33%, inferior valorilor obținute în cercetarea de față. În același studiu, conținutul de cenușă (4,65%) și cel de lipide (8,16%) au fost comparabile cu cele determinate pentru proba TV. Conținutul de proteine (8,49%) a fost mai ridicat decât cel al probei TM, dar inferior celui înregistrat pentru proba TV.

8.4. Caracterizarea fitochimică, elementală și toxicologică a tescovinei de struguri în vederea selecției ca ingredient alimentar funcțional

Strugurii (*Vitis* spp., Vitaceae) reprezintă una dintre cele mai mari culturi de fructe produse la nivel mondial. În fiecare an, puțin peste 39,6 milioane de tone (57% din recolta totală) sunt cultivate și procesate pentru industria vinicolă (Almanza-Oliveros și colab., 2024). Industria vinicolă este una dintre cele mai importante industrii, în special pentru economia europeană, utilizând aproximativ 80% din producția de struguri din lume (Di Stefano și colab., 2022). În timpul procesului de vinificație, după fermentația alcoolică, aproximativ 10%-30% din greutatea strugurilor procesați rămâne sub formă de deșeu organic solid, și anume tescovină; aceasta este compusă din pielete, tulpini și semințe de struguri (Milinčić și colab., 2021). Gestionarea și valorificarea adecvată a deșeurilor și subproduselor viticole sunt cruciale pentru dezvoltarea durabilă, din perspectiva economiei circulare. În prezent, tescovina de struguri a atras un interes tot mai mare în domeniul alimentar datorită conținutului său valoros, care cuprinde compuși nutriționali și bioactivi. Astfel, tescovina de struguri conține cantități mari de polifenoli (Gutiérrez-Escobar și colab., 2021; Onache și colab., 2022), fibre alimentare, proteine (Gazzola și colab., 2014) și un profil de acizi grași cu conținut ridicat de acizi grași mono și polinesaturați și niveluri scăzute de acizi grași saturați. De asemenea, a fost raportată o mare variabilitate a conținutului de minerale din tescovina de struguri (Lachman și colab., 2013).

Pe lângă utilizarea tradițională a tescovinei de struguri ca hrană pentru animale, au fost studiate utilizări alternative ale acestor subproduse valoroase. Recuperarea compușilor bioactivi din deșeurile de vin este una dintre cele mai importante



alternative studiate (Mendes și colab., 2013; Castellanos-Gallo și colab., 2022). Compoziția chimică complexă a tescovinei de struguri sugerează că aceasta reprezintă o sursă promițătoare pentru dezvoltarea de noi produse cu valoare adăugată ridicată, cum ar fi nutraceutice, alimente funcționale și produse cosmetice (în principal de îngrijire a pielii).

Obiectivul acestui studiu a fost analiza unor tescovine provenite din diferite soiuri de struguri albi și roșii din punct de vedere al conținutului în compuși bioactivi în vederea selectării pentru utilizarea ca aditiv/ingredient alimentar în dezvoltarea de produse noi cu avantaje tehnologice și funcționale.

8.4.1. Material biologic

Au fost selectate probe de tescovină (Figura 8.12) provenind din trei soiuri de struguri albi (Feteasca alba, Riesling și Muscat Ottonel) și două soiuri de struguri roșii (Feteasca Neagra și Cabernet Sauvignon), având caracteristici diferite din punct de vedere fizic, chimic și senzorial. Exceptând tescovina din soiul Muscat Ottonel furnizată de USV Timisoara, restul probelor au provenit de la Stațiunea de Cercetare-Dezvoltare pentru Viticultură și Vinificație „Pietroasa” a USAMV București.



Figura 8.12. Tescovină de la soiuri albe și roșii



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Soiurile de struguri albi sunt caracterizate prin pieleță de nuanțe verzui, galbene sau aurii, fiind folosite preponderent pentru obținerea vinurilor albe, proaspete sau maturate. Acestea oferă o gamă largă de arome (florale, fructate, minerale), o aciditate ridicată și o structură rafinată, fiind apreciate pentru eleganță și versatilitate.

Fetească Albă: soi străvechi, echilibrat, cu arome subtile de flori de câmp, fructe coapte și o aciditate plăcută.

Riesling (Rin/Italian): soi care preferă climatele reci, oferind vinuri cu o aciditate marcantă, note minerale, citrice și, uneori, o notă specifică de petrol la maturitate.

Muscat Ottonel: soi aromat, delicat, cu parfum intens de strugure proaspăt, trandafiri și miere, ideal pentru vinuri dulci și demidulci.

Soiurile de struguri roșii (negri) se caracterizează în funcție de profilul aromatic, structura taninurilor, intensitatea culorii și adaptabilitatea la climat. Vinurile roșii sunt apreciate pentru structura lor, culoarea intensă de la roșu-rodie la nuanțe închise, și extractibilitate.

Fetească Neagră: soi autohton românesc, apreciat pentru aroma sa complexă, condimentată, și culoarea intensă, rubinie. Se caracterizează prin note predominante de prune uscate, coacăze negre și nuanțe discrete de scorțișoară, având un gust catifelat și o structură bună.

Cabernet Sauvignon: soi internațional clasic, recunoscut pentru taninurile sale ridicate, structura puternică și potențialul mare de învechire. Aromele tipice includ coacăze negre, ardei gras și ierburi.

8.4.2. Metode de analiză

1. Optimizarea metodei de extracție a polifenolilor s-a realizat prin folosirea metodologiei suprafeței de răspuns printr-un design Box-Behnken (RSM - BBD), o tehnică statistică eficientă care permite modelarea și optimizarea proceselor prin evaluarea simultană a efectelor factorilor independenți și a interacțiunilor dintre aceștia, utilizând un număr redus de experimente (Li și colab., 2026).

2. Determinarea conținutului de compuși bioactivi

Polifenolii au fost determinați printr-o metodă spectrofotometrică ce se bazează pe reducerea fosfomolibdaților și fosfotungstaților din reactivul Folin-Ciocalteu (Singleton și colab., 1999).

Flavonoidele au fost analizate printr-o metodă spectrofotometrică ce se bazează pe formarea unor complecși galbeni, stabili, între ionii de Al(III) și grupările ceto și hidroxil ale flavonoidelor (Nicolescu și colab., 2025).

Antocianii au fost analizați printr-o metodă spectrofotometrică bazată pe modificarea culorii antocianilor în funcție de pH (Versari și colab., 2007). Se măsoară variația absorbantei culorii antocianilor la două valori de pH (0,6 și 3,5) în raport cu apă distilată. Măsurătorile se fac la lungimea de undă de 520 nm, absorbanta probelor fiind proporțională cu conținutul în antociani.





3. Analiza FT-IR a permis caracterizarea extractelor de tescovină prin detectarea benzilor de absorbție caracteristice compușilor fenolici: vibrațiile de întindere ale grupării O-H ($3600-3000\text{ cm}^{-1}$), vibrațiile scheletului aromatic C=C ($1610-1450\text{ cm}^{-1}$) și vibrațiile de întindere C-O ale grupărilor fenolice ($1210-1030\text{ cm}^{-1}$) (Alecă și colab., 2020).

4. Analiza elementală a constatat în mineralizarea probei prin digestie cu microunde în sistem închis, utilizând HNO_3 și H_2O_2 pentru descompunerea matricei organice, urmată de determinarea cantitativă a microelementelor și metalelor grele (Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Zn) prin spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv (ICP-MS).

5. Evaluarea contaminării cu aflatoxine și ochratoxina A s-a realizat prin extracția tescovinei în solvenți hidroalcolici și diluarea cu tampon fostat steril, extractele diluate fiind ulterior purificate prin trecerea lor prin coloane de imunoafinitate: AFLAClean pentru aflatoxine și OTAClean pentru ochratoxina A. Determinarea cantitativă s-a realizat prin UPLC-FLD, în eluție izocratică la lungimi de undă de emisie și excitare specifice: pentru aflatoxine - $\lambda_{\text{exc}}=365\text{ nm}$ / $\lambda_{\text{em}}=455\text{ nm}$, iar pentru ochratoxina A - $\lambda_{\text{exc}}=330\text{ nm}$ / $\lambda_{\text{em}}=460\text{ nm}$.

Rezultate și discuții

1. Optimizarea metodei de extracție

Optimizarea extracției polifenolilor prin folosirea metodologiei suprafeței de răspuns printr-un design Box-Behnken (RSM - BBD) a urmat un plan experimental de tip 4 factori și 3 niveluri, generat în softul Stat-Ease 360 (Design-Expert), pentru două tipuri de tescovină: alb (Riesling) și roșu (Cabernet Sauvignon). Cei patru factori independenți – raportul solid/solvent (masă/volum), temperatura de extracție ($^{\circ}\text{C}$), timpul de extracție (min) și concentrația solventului etanolic (% v/v) – au fost studiați la trei niveluri codificate (-1, 0, +1), iar matricea de experimente a cuprins 35 de puncte de design pentru fiecare tip de tescovină, dintre care 4 puncte centrale (replicate ale condițiilor mediane) pentru estimarea erorii pure și evaluarea lipsei de ajustare a modelului. După efectuarea variantelor de extracție în ordine randomizată, conținutul total de polifenoli (mg GAE/g probă) a fost introdus în soft ca răspuns dependent, iar datele experimentale au fost ajustate printr-o regresie multiplă la un model polinomial de ordinul doi. Validarea modelului s-a realizat prin analiza ANOVA, iar efectele factorilor și ale interacțiunilor dintre aceștia au fost vizualizate prin grafice de tip contur și suprafețe de răspuns 3D. Pe baza funcției de dezirabilitate, au fost stabiliți parametri optimi de extracție a polifenolilor totali, iar validarea experimentală a confirmat concordanța strânsă dintre valorile prezise și cele obținute (Li și colab., 2026).

Optimizarea s-a realizat pentru tescovina de struguri albi (Riesling) și tescovină de struguri roșii (Cabernet Sauvignon), tipul de tescovină putând determina parametri optimi de extracție diferiți, datorită compoziției fenolice distincte și a structurii matricii specifice fiecărui soi. Tescovina roșie, supusă fermentației pe piețițe, prezintă un profil fenolic mai bogat, incluzând antociani, și o structură celulară mai degradată,



care favorizează penetrarea solventului și desorbția compușilor (Da Porto și Natolino, (2026). În schimb, tescovina albă, care nu trece prin macerare prelungită, păstrează o structură celulară mai intactă și un conținut mai ridicat de taninuri condensate și catechine, ceea ce poate impune diferite condiții precum: raport solvent/probă mai ridicat, concentrație diferită de etanol sau un timp de extracție mai îndelungat pentru o extracție eficientă (Onache și colab., 2022).

Astfel, în urma optimizării s-au putut stabili condițiile optime pentru fiecare soi în parte, prezentate în tabelul 8.4., fiind evidențiate diferențe clare între profilele optime de extracție ale celor două tipuri de tescovină, justificate de particularitățile compoziționale și structurale fiecăreia.

Tabel 8.4. Parametrii optimi de extracție pentru tescovina de soi alb și roșu

Parametru optimizat	Tescovină albă		Tescovină roșie	
	Parametru optim	Parametru de lucru	Parametru optim	Parametru de lucru
Raport de extracție (g/ml)	0,975:10	1:10	0,949:15	1:15
Temperatură (°C)	52,81	50	56,06	55
Perioadă de extracție (min)	52,71	50	35,03	35
Concentrația etanolului (%)	56,15	60	64,51*	65*

*etanol acidifiat cu 0,1% HCl

În cazul raportului de extracție, tescovina roșie necesită un raport mai mare (1:15), datorat posibil de încărcătura fenolică mai ridicată a tescovinei roșii, bogată în antociani, flavanoli și proantocianidine, care necesită un volum mai mare de solvent pentru a asigura o diferență de concentrație suficientă și a preveni saturarea prematură a acestuia (Li și colab., 2026).

Temperatura optimă pentru tescovina roșie (55°C) este ușor mai ridicat decât pentru cea albă (50°C). Temperatura moderat crescută favorizează extracția antocianilor și a compușilor legați mai puternic de matricea celulară, dar nu trebuie să depășească 60°C pentru a evita degradarea termică a acestora (Gurgenidze și colab., 2022).

În cazul perioadei de extracție, s-au semnalat cele mai clare diferențe: tescovina albă având nevoie de aproape 50 de minute, față de doar 35 pentru cea roșie. Tescovina albă, nefiind supusă fermentației pe pielețe, păstrează o structură celulară mai intactă, cu pereți celulari mai puțin degradați, ceea ce încetinește difuzia compușilor fenolici în solvent și impune un timp mai îndelungat de extracție (Da Porto și Natolino, 2026). În schimb, macerarea prelungită specifică vinificației roșii fragilizează pereții celulari ai boștinei, facilitând eliberarea rapidă a compușilor.

Cu privire la concentrația etanolului, tescovina roșie necesită un procent mai mare de etanol (65% față de 60%). Antocianii și proantocianidinele din strugurii roșii au o solubilitate mai bună în amestecuri hidroalcoolice cu un conținut mai ridicat de etanol,



în timp ce catechinele și acidul galic, predominante în tescovina albă, se extrag eficient la concentrații mai moderate de alcool (Rajha și colab., 2014).

2. Determinarea conținutului de compuși bioactivi

Conținutul în polifenoli totali

Compușii fenolici sunt metaboliți secundari prezenți în struguri și vin, care se formează și se transformă în timpul procesului de vinificație. Studii recente au aratat că fenolii exercită numeroase proprietăți benefice pentru sănătate, inclusiv antioxidante, antimicrobiene, de protecție cardiacă și de prevenire a cancerului (Milinčić și colab., 2021; Di Stefano și colab., 2022).

Din punct de vedere chimic, fenolii prezenți în vin pot fi clasificați în flavonoizi (de exemplu, antocianine, flavan-3-oli, flavonoli) și non-flavonoizi (de exemplu, acizi fenolici, stilbeni și taninuri). Dintre aceștia, cel mai des utilizați pentru evaluarea calității și autenticității vinului sunt acizii fenolici, flavonoidele, taninurile și stilbenele (Merkytė și colab., 2020).

Analiza conținutului în polifenoli totali în probele de tescovină din soiurile selectate pentru acest studiu a indicat un conținut mediu mai mare în tescovina din soiurile roșii (39,86 mg/g) în raport cu cea din struguri albi (28,07 mg/g). Pentru tescovina albă au fost determinate valori cuprinse între 24,95 (Muscat Ottonel) și 33,27 mg/g (soiul Riesling), în timp ce dintre soiurile de struguri roșii analizate, valoarea cea mai mare a fost determinată în tescovina provenită din soiul Fetească Neagră (47,51 mg/g) (tabel 8.5.).

Tabel 8.5. Valorile parametrilor biochimici analizați în probele de tescovina

Tescovină	Polifenoli (mg GAE/g)	Flavonoide (mg RE/g)	Antociani (mg/g)
Fetească albă	27,89 ± 1,05	12,37 ± 0,49	-
Riesling	33,27 ± 1,76	13,84 ± 0,65	-
Muscat Ottonel	24,95 ± 0,37	11,59 ± 0,57	-
Fetească Neagră	47,51 ± 1,07	25,30 ± 1,11	2,54 ± 0,24
Cabernet Sauvignon	32,51 ± 0,87	20,72 ± 1,55	1,97 ± 0,11

Rezultatele obținute au fost comparabile cu cele raportate în literatura de specialitate pentru probele de tescovină de la alte soiuri de struguri roșii. Astfel, Negro și colab. (2021) au raportat conținuturi similare în diferite soiuri cultivate în zona Salento, sudul Italiei: Negramaro (52,9 mg/g), Cabernet Sauvignon (38,1 mg/g) și Malvasia di Lecce (27,6 mg/g). Alte cercetări au raportat valori pentru alte soiuri: Merlot (69-80 mg/g) (Ferri și colab., 2020), Malbec (196,2 mg/g) (Antoniolli și colab., 2015), Cabernet Franc (153,8 mg/g) (Xu și colab. 2016) și Tempranillo (26,8-71,8 mg/g) (Ayuda-Durán și colab., 2019).

Pe de altă parte, soiurile de struguri albi au avut valori mai mari pentru conținutul în polifenoli totali decât cele determinate în prezentul studiu: Riesling



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Italian (47,9 mg/g) (Vojáčková et al., 2020), Chardonnay (58,2 mg/g) (Xu si colab., 2016), Vidal Blanc (55,5 mg/g) (Zhang și Zhu, 2015).

Cercetări anterioare au demonstrat că polifenolii prezintă o distribuție calitativă și cantitativă diferită, în funcție de mai mulți factori, cum ar fi soiul de struguri, locația acestora și procedurile de vinificație; chiar și în cadrul aceluiași cultivar, variațiile pot fi datorate diferitelor regiuni geografice și recoltei de vin (Gutiérrez-Escobar si colab., 2021; Onache et al., 2022).

Conținutul în flavonoide

Flavonolii sunt considerați una dintre cele mai importante clase de compuși fenolici datorită activității lor ca și captatori ai speciilor reactive de oxigen și rolului lor în inhibarea oxidării lipoproteinelor cu densitate mică (Mustafa si colab., 2021). Aceștia se formează în aceeași cale biosintetică care produce și antociani în struguri și sunt asociați cu co-pigmentarea, conferind stabilitate culorii antocianilor (Beres si colab., 2017). Kaempferolul, quercetina, miricetina și izoramnetina sunt raportați ca fiind principalii flavonoli din extractele de struguri, vin și tescovină (Makris si colab., 2006).

Conținutul de flavonoide totale (exprimat în mg echivalenți rutină/g) prezintă variații semnificative între cele cinci sortimente de tescovină analizate (tabel 2), corelate atât cu tipul de strugure (alb vs. roșu), cât și cu particularitățile varietale.

Soiurile roșii (Fetească Neagră și Cabernet Sauvignon) prezintă un conținut de flavonoide semnificativ mai ridicat comparativ cu soiurile albe, ceea ce este în concordanță cu datele din literatura de specialitate (Caponio și colab., 2023). Media flavonoidelor la soiurile roșii este de 23 mg RE/g, aproximativ de 1,8 ori mai mare decât media soiurilor albe (12,60 mg RE/g). Această diferență se datorează cel mai probabil prezenței antocianilor la strugurii roșii – compuși flavonoidici caracteristici care se acumulează în pielețe și rămân în tescovină după fermentația pe pielețe specifică vinificației roșii.

Printre cele trei soiuri albe, conținutul de flavonoide scade în ordinea: Riesling (13,84 mg RE/g), Fetească albă (12,37 mg RE/g) și Muscat Ottonel (11,59 mg RE/g). Astfel, se constată o variabilitate moderată între soiuri, atribuită diferențelor genetice intrinseci în calea biosintetică a flavonoidelor, precum și influenței factorilor agro-climatici și a condițiilor de vinificație (Gonzalez-Centeno și colab., 2013).

Fetească Neagră (25,30 mg RE/g) înregistrează un conținut de flavonoide cu 22% mai ridicat decât Cabernet Sauvignon (18,74 mg RE/g), deși ambele sunt soiuri roșii. Această diferență substanțială poate fi explicată prin: un potențial biosintetic superior al soiului Fetească Neagră pentru acumularea de flavan-3-oli și proantocianidine în pielețe și semințe; un conținut mai mare de antociani; și/sau posibile diferențe în gradul de extracție al compușilor flavonoidici în timpul fermentației, care influențează cantitatea reziduală din tescovină (Spinei și Oroian, 2021).

Conținutul de flavonoide diferențiază net tescovina roșie de cea albă, însă variabilitatea semnificativă între cele două soiuri roșii (25,30 vs. 20,72 mg RE/g) subliniază importanța caracterizării individuale a fiecărui sortiment. Dintre soiurile





**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

albe, Riesling se remarcă drept cea mai bogată sursă de flavonoide, iar Muscat Ottonel prezintă cea mai redusă încărcătură flavonoică.

Raportul flavonoide/polifenoli totali reflectă ponderea flavonoidelor în fracțiunea fenolică globală și evidențiază diferențe notabile între tipurile de tescovină. La soiurile albe, flavonoidele reprezintă între 41,6% (Riesling) și 46,5% (Muscat Ottonel) din polifenolii totali, ceea ce înseamnă că fracțiunea neflavonoidică – acizi fenolici, stilbeni și alți compuși – contribuie cu peste jumătate la polifenolii totali. La soiurile roșii, proporția flavonoidelor este mai ridicată: 53,3% la Fetească Neagră și 63,73% la Cabernet Sauvignon, datorită prezenței antocianilor și a unui conținut mai mare de flavan-3-oli și proantocianidine în piețițe și semințe (Caponio și colab., 2023).

Cercetări anterioare au raportat valori ale conținutului de flavonoide totale situate între 20,7-38,4 mg/g în tescovina roșie (Abouelenein și colab., 2023; Negro și colab., 2021), rezultate comparabile cu cele prezente în acest studiu.

Conținutul în antociani

Antocianii sunt pigmenți prezenți în epicarpul (coaja) strugurilor responsabili de culoarea roșie. Principalii antociani detectați în struguri sunt 3-O-glicozidele malvidinei, petunidinei, cianidinei, peonidinei și delfinidinei (de Souza și colab., 2014; Xu și colab., 2015). Malvidin-3-O-glicozidul și derivații săi au fost utilizați anterior ca markeri chimici principali pentru autenticitatea probelor de vin (Lukić și colab., 2019).

Dintre probele de tescovină de struguri roșii analizate în acest studiu cel mai mare conținut în antociani l-a înregistrat soiul Fetească Neagră (2,54 mg/g) comparativ cu soiul Cabernet Sauvignon (1,97 mg/g) (tabel 1). Aceste valori sunt mai mici decât cele raportate anterior de către Abouelenein și colab. (2023) în trei probe de tescovină din struguri roșii (6,72-8,02 mg/g) și de către Negro și colab. (2021) în patru extracte de tescovină de struguri italieni (5,4-10,3 mg /g), dar comparabile cu cele determinate în extractul de tescovină din soiul de struguri roșii Prokupac ($2,2 \pm 3,6$ mg/g) (Milinčić et al., 2021).

3. Analiza FT-IR

Spectroscopia FT-IR (Fourier Transform Infrared) este o tehnică analitică rapidă, non-distructivă, care permite identificarea grupurilor funcționale caracteristice compușilor organici pe baza absorbției radiației infraroșii la lungimi de undă specifice, oferind informații calitative și semicalitative privind compoziția moleculară a probelor solide, lichide sau gazoase, fără a necesita pretratamente complexe.

Analiza FT-IR a fost selectată pentru caracterizarea compoziției moleculare a extractelor de tescovină provenind de la patru soiuri de struguri – Fetească albă, Riesling, Muscat Ottonel, Fetească Neagră și Cabernet Sauvignon – în domeniul spectral $4500-400\text{ cm}^{-1}$ (Figura 8.13.). Spectrele prezintă o morfologie generală similară între cele patru probe, ceea ce indică o compoziție calitativă asemănătoare, diferențele constând în intensitățile relative ale benzilor de absorbție, corelate cu concentrațiile diferite ale compușilor fenolici din fiecare soi.

În regiunea $3600-3100\text{ cm}^{-1}$, toate spectrele înregistrează o bandă largă și intensă de absorbție, centrată la aproximativ $3270-3320\text{ cm}^{-1}$, atribuită vibrațiilor de





întindere O-H ale grupărilor hidroxil fenolice și alcoolice, precum și ale apei reziduale din probe (Rădulescu și colab., 2021). Lățimea acestei benzi reflectă existența legăturilor de hidrogen intermoleculare, caracteristice compușilor polifenolici precum catechinele, procianidinele și flavonoidele glicozilate. Intensitatea ușor mai pronunțată a acestei benzi la probele de Fetească Neagră și Cabernet Sauvignon poate fi corelată cu un conținut mai ridicat de polifenoli totali, așa cum s-a evidențiat și prin determinările spectrofotometrice.

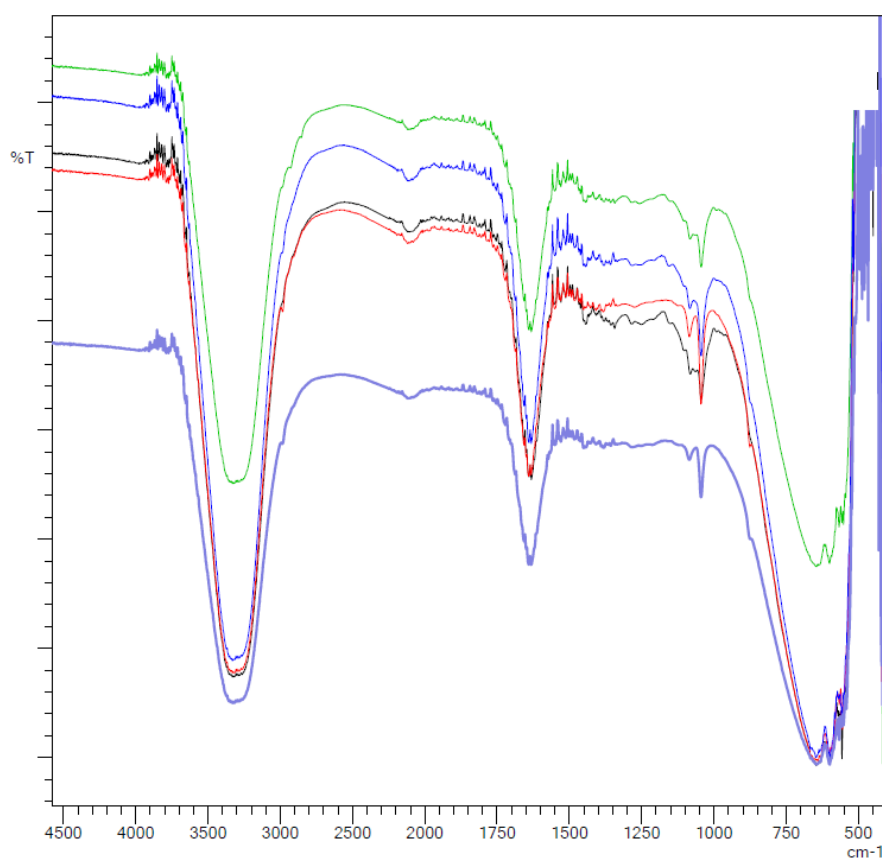


Figura 8.13. Spectrul FT-IR al probelor de tescovină: **Fetească albă**, **Riesling**, Muscat Ottonel, **Fetească neagră** și **Cabernet Sauvignon**

Se observă două benzi de intensitate moderată la $\sim 2920\text{ cm}^{-1}$ și $\sim 2850\text{ cm}^{-1}$, atribuite vibrațiilor de întindere asimetrică și, respectiv, simetrică a grupărilor $-\text{CH}_2-$ și $-\text{CH}_3$ din acizi grași, carbohidrați și componente ale peretelui celular (celuloză, hemiceluloză, lignină) (Nicolescu și colab., 2019). Aceste semnale sunt relativ constante între probe, indicând o matrice vegetală de bază comună.

Se distinge o bandă de intensitate slabă până la moderată la $\sim 1720\text{--}1730\text{ cm}^{-1}$, corespunzând vibrației de întindere $\text{C}=\text{O}$ a grupărilor esterice și carboxilice, prezente în acizii fenolici (acid galic, acid cafeic) și în taninurile hidrolizabile. Intensitatea mai



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

redușă a acestei benzi în raport cu banda O-H sugerează o prevalență a compușilor cu grupări hidroxil față de cei carbonilici, ceea ce este consistent cu un conținut ridicat de flavonoide (catechine, antociani) raportat la acizii fenolici (Koochakzadeh și Sabaghian, 2023).

Regiunea $1650\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ este zona cea mai relevantă pentru compușii fenolici. Banda de la $\sim 1635\text{--}1640\text{ cm}^{-1}$ este atribuită vibrațiilor de întindere C=C ale inelului aromatic, specifică flavonoidelor, antocianilor și taninurilor condensate (Caterino și colab., 2025). Banda de la $\sim 1510\text{--}1520\text{ cm}^{-1}$ corespunde vibrațiilor de schelet ale inelului aromatic (vibrații de întindere C-C ale ciclului benzenic). Intensitatea relativă a acestor benzi este mai accentuată la Fetească Neagră și Cabernet Sauvignon comparativ cu soiurile albe, ceea ce se corelează cu un conținut mai ridicat de flavonoide totale (25,3 și, respectiv, 20,72 mg RE/g pentru soiurile roșii față de 11,59–13,84 mg RE/g pentru cele albe) și cu prezența antocianilor.

Benzile observate la $\sim 1450\text{ cm}^{-1}$ (vibrații de deformare C-H, vibrații aromatice) și la $\sim 1320\text{--}1350\text{ cm}^{-1}$ (vibrații de întindere C-O ale grupărilor fenolice, δ O-H) sunt caracteristice taninurilor condensate și flavonoidelor (Caterino și colab., 2025).

Se remarcă o bandă complexă și intensă, cu maxim la $\sim 1045\text{ cm}^{-1}$, atribuită vibrațiilor de întindere C-O ale grupărilor fenolice, carbohidraților și glicozidelor flavonoidice, precum și vibrațiilor de întindere ale eterilor ciclici (C-O-C) din structura piranică a flavan-3-olilor (Caterino și colab., 2025). Aceasta este banda dominantă în spectru, datorită abundenței polizaharidelor din peretele celular al tescovinei.

Benzile de la $\sim 877\text{ cm}^{-1}$, $\sim 820\text{ cm}^{-1}$ și $\sim 775\text{ cm}^{-1}$ sunt atribuite vibrațiilor de deformare C-H ale ciclurilor aromatice (substituenți ai inelului benzenic), permițând diferențierea tipurilor de substituție aromatică specifice diferitelor clase de flavonoide.

3. Analiza elementală

Determinarea microelementelor și a metalelor grele în matrici complexe este esențială pentru evaluarea toxicității, siguranței alimentare sau conformității de mediu, iar alegerea unei metode analitice adecvate trebuie să asigure atât o descompunere completă a matricei, cât și o sensibilitate suficientă pentru cuantificarea unor concentrații foarte scăzute, de ordinul părților per miliard (ppb).

Analiza compoziției minerale a tescovinei de struguri este relevantă și pentru potențiala valorificare a acestui subprodus vitivinicol ca sursă de micronutrienți. Compararea rezultatelor cu datele din literatura de specialitate permite încadrarea concentrațiilor determinate în contextul mai larg al studiilor existente pe tescovină de struguri.





Rezultatele obținute pentru metale grele au fost comparate cu reglementările europene privind nivelurile maxime de contaminanți (EC 915/2023).

Cadmiul (Cd), Molibdenul (Mo) și Seleniul (Se) au fost găsite sub limita de detecție ($\leq$ LOD) în toate probele (Tabel 8.6.). Nivelurile de Cd nedetectabile sunt favorabile comparativ cu datele din literatură, unde s-au raportat concentrații de Cd în tescovină cuprinse între 0,03 și 0,25 mg/kg (Lidiková și colab., 2024; Bica și colab., 2020), ceea ce indică o contaminare foarte redusă a probelor analizate.

Concentrațiile de plumb (Pb) determinate în probele analizate au variat între 0,0258 și 0,0813 mg/kg (Tabel 3). Toate valorile se situează semnificativ sub nivelul maxim admis de 0,10 mg/kg stabilit prin Regulamentul (UE) 2023/915 pentru fructe. Comparativ cu literatura de specialitate, valorile de Pb din prezentul studiu sunt considerabil mai scăzute decât cele raportate în tescovina de Cabernet Sauvignon (0,36 mg/kg) și Merlot (0,94 mg/kg) (Lidiková și colab., 2024), ceea ce reflectă o încărcare antropogenă redusă a solurilor sau o proveniență viticolă nepoluată.

Tescovina Cabernet Sauvignon s-a remarcat prin cel mai ridicat conținut de cupru (61,057 mg/kg), fiind proba cu cea mai mare acumulare de Cu dintre toate probele analizate (Tabel 3). Această valoare se situează în intervalul superior al gamei raportate în literatură pentru tescovină (6,17-87,67 mg/kg; Bica și colab., 2020; Guardianelli și colab., 2025) și este comparabilă cu nivelul de Cu de 86,95 mg/kg găsit în tescovină de Cabernet de proveniență italiană. De asemenea, a prezentat și cel mai mare conținut de plumb (0,081 mg/kg) comparativ cu celelalte probe.

Tescovina Riesling a prezentat cel mai ridicat conținut de crom (0,739 mg/kg) și nichel (0,373 mg/kg), evidențiindu-se prin acumulări superioare pentru aceste două elemente (Tabel 3). Valoarea de Cr se încadrează în intervalul 0,058-2,33 mg/kg raportat pe 6 soiuri de tescovină (Lidiková și colab., 2024) și este apropiată de cea măsurată în tescovină de Cabernet (0,55 mg/kg) din studiul italian (Guardianelli și colab., 2025). Conținutul de Ni (0,373 mg/kg) se situează la limita inferioară a intervalului 0,66-1,36 mg/kg din literatură (Lidiková și colab., 2024) și este similar cu valorile de 0,39-0,43 mg/kg raportate pentru tescovină de Cabernet și Isabella (Guardianelli și colab., 2025). Totodată a avut și cel mai mare nivel de zinc (1,062 mg/kg), depășind ușor valorile celorlalte probe. Deși este cel mai ridicat din studiu, acest nivel este semnificativ mai scăzut decât intervalul de 4,19-17,0 mg/kg Zn raportat în literatură pentru tescovină (Lidiková și colab., 2024), ceea ce sugerează o acumulare naturală redusă de Zn în soiurile analizate.



Tabel 8.6. Conținutul în microelemente și metale grele pentru probele de tescovină

Tescovină	Cr (mg/Kg)	Mn (mg/Kg)	Co (mg/Kg)	Ni (mg/Kg)	Cu (mg/Kg)	Zn (mg/Kg)	Pb (mg/Kg)
Valorile nutriționale de referință (VNR) Conform Regulation (EU) No 1169/2011	40 µg	2 mg	-	-	1 mg	10 mg	
Fetească Albă	0.2538 ± 0.0163	19.0371 ± 0.3178	0.0146 ± 0.00003	0.2320 ± 0.0141	9.8048 ± 0.2099	0.7254 ± 0.0243	0.0467 ± 0.00320
Riesling	0.7394 ± 0.0492	20.3380 ± 0.3272	0.0428 ± 0.0035	0.3726 ± 0.0113	9.1006 ± 0.2025	1.0625 ± 0.0103	0.0735 ± 0.0016
Muscat Ottonel	0.1335 ± 0.00035	11.4150 ± 0.8683	0.00763 ± 0.00039	0.3347 ± 0.0296	14.0841 ± 1.0090	0.9662 ± 0.0514	0.0258 ± 0.00131
Fetească Neagră	0.2386 ± 0.00672	21.6205 ± 0.6204	0.0134 ± 0.00122	0.1292 ± 0.0106	13.0902 ± 0.2746	0.7434 ± 0.0281	0.0400 ± 0.00130
Cabernet Sauvignon	0.4699 ± 0.0339	16.3273 ± 1.1464	0.0290 ± 0.0022	0.2117 ± 0.00008	61.0573 ± 1.4995	0.9684 ± 0.0878	0.0813 ± 0.0076

Tescovina Muscat Ottonel s-a remarcat prin cel mai scăzut conținut de crom, mangan, cobalt, cupru și zinc, fiind proba cu cele mai reduse concentrații pentru majoritatea elementelor analizate (Tabel 8.6.). Aceasta indică o acumulare minerală general mai mică în comparație cu celelalte probe.

Tescovina Feteasca Neagră a prezentat cel mai ridicat conținut de mangan (21,620 mg/kg), de asemenea, având o valoare ridicată și pentru cupru (13,090 mg/kg), situându-se printre probele cu niveluri medii-superioare pentru acest element (Tabel 3). Conținutul de Mn se situează la limita superioară a intervalului de 10,3-22,6 mg/kg raportat în literatură (Lidiková și colab., 2024) și este similar cu valoarea de 22,6 mg/kg raportată pentru soiul Blaufränkisch.

Tescovina Fetească albă s-a evidențiat printr-un nivel ridicat de Mn (19,0371 mg/kg) și un nivel ridicat de nichel (0,232 mg/kg), situându-se în zona superioară a acumulării pentru aceste elemente. De asemenea, această tescovină a prezentat valori moderate pentru Cu, Zn și Cr.

Prin analiza comparativă a celor cinci probe s-au evidențiat diferențe semnificative în ceea ce privește aportul de minerale raportat la Valorile Nutriționale de Referință (VNR) pentru adulți, Tescovina Cabernet Sauvignon s-a remarcat prin cea mai mare acumulare de Cu. Aceeași probă a furnizat și un aport considerabil de mangan (81,6%) și crom (117%), depășind nivelurile celorlalte probe pentru aceste elemente.



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Proba Tescovina Riesling a prezentat cel mai ridicat aport de crom (185% din VNR), precum și cel mai mare aport de mangan (101,7%), depășind pragul de 100% și indicând o acumulare superioară pentru aceste două elemente esențiale. Aportul de cupru a fost moderat (91%).

Tescovina Muscat Ottonel a avut aporturile cele mai reduse pentru majoritatea elementelor, însă a furnizat totuși 140,8% din VNR pentru cupru, situându-se peste nivelul de referință. Pentru mangan, aportul a fost de 57%, iar pentru crom de 33%, cele mai scăzute valori dintre toate probele.

Tescovina Fetească Neagră s-a evidențiat prin cel mai ridicat aport de mangan (108% din VNR), depășind pragul de referință, și printr-un aport ridicat de cupru (130,9%). Aportul de crom a fost moderat (59,6%).

Tescovina Feteasca Albă a prezentat un profil echilibrat, cu aporturi ridicate de cupru (98%) și mangan (95%), situându-se în zona superioară a acumulării minerale. Aportul de crom a fost de 63%, iar cel de zinc sub 1%.

4. Evaluarea contaminării cu aflatoxine

Analiza compușilor bioactivi evidențiază potențialul tescovinei ca sursă de antioxidanți naturali, însă valorificarea acestui subprodus nu poate fi gândită fără o evaluare riguroasă a siguranței sale. Strugurii pot fi contaminați cu micotoxine – în special ocratoxina A (produsă de specii de *Aspergillus* și *Penicillium*) și aflatoxine (produse de *Aspergillus flavus* și *A. parasiticus*) – care persistă în tescovină după procesare datorită stabilității termice și chimice ridicate. Aceste toxine sunt hepatotoxice, nefrotoxice și clasificate ca posibil cancerigene umane (Alshannaq și Yu, 2017; Więckowska și colab., 2024), iar prezența lor limitează utilizarea tescovinei în hrana animală sau ca ingredient funcțional. Prin urmare, determinarea aflatoxinelor este esențială pentru a stabili dacă lotul de tescovină poate fi directionat către aplicații sigure (suplimente alimentare, aditivi, cosmetică) sau necesită tratamente de detoxifiere înainte de utilizare.





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

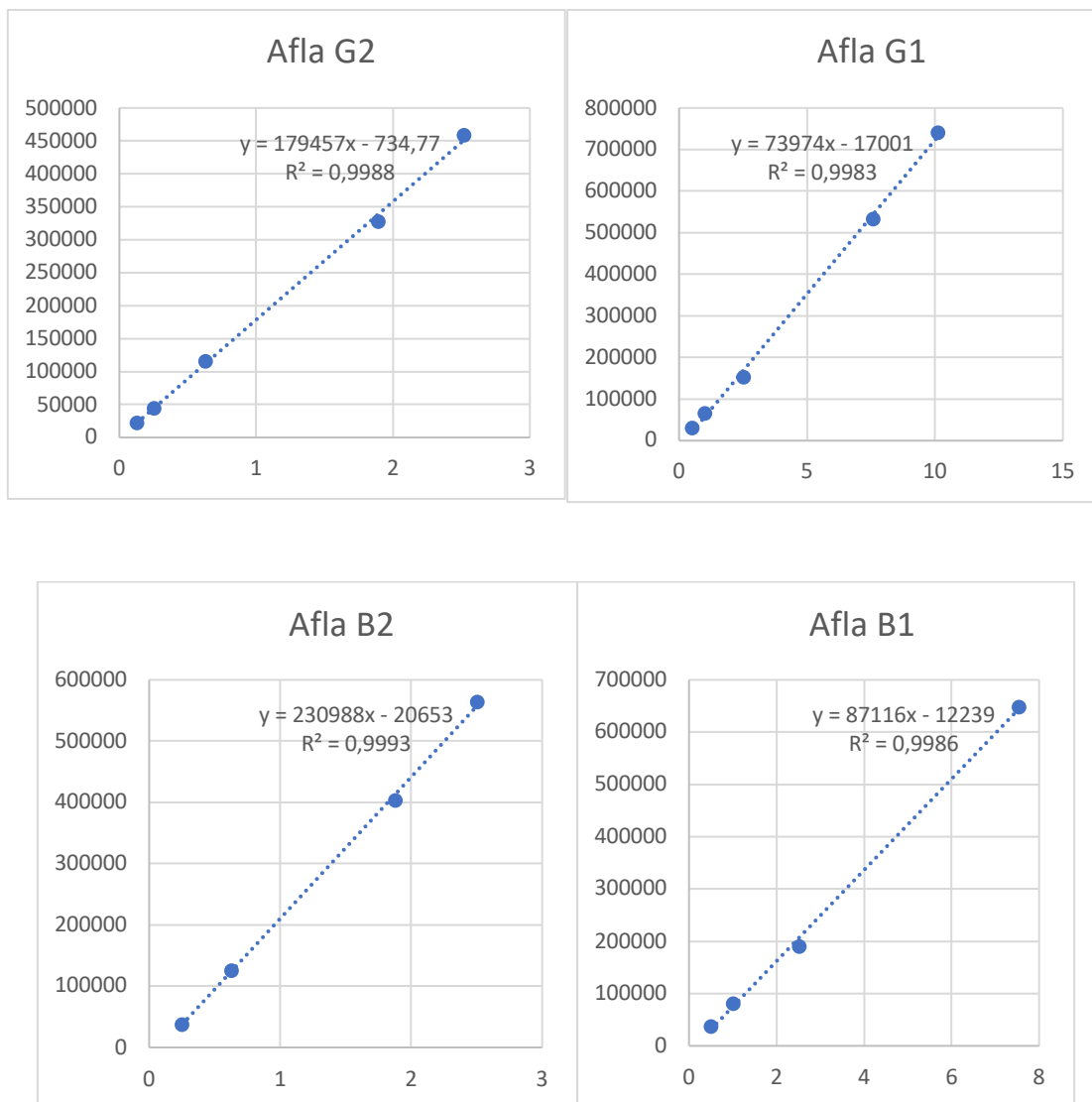
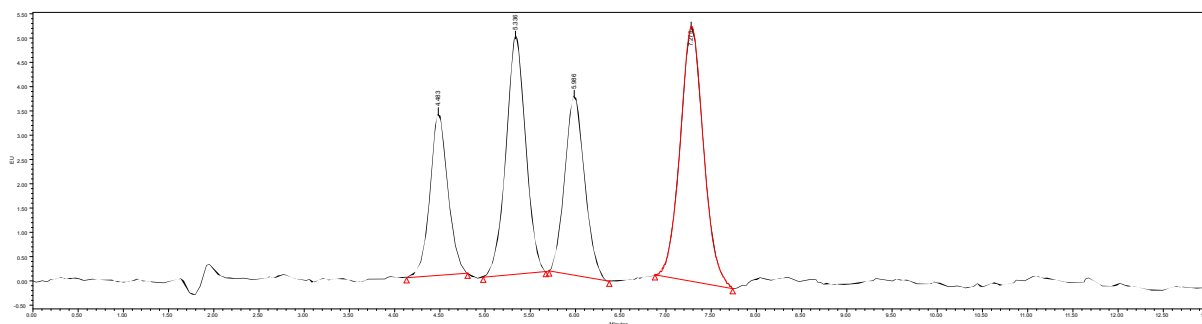


Fig. 8.14. Curbele de etalonare pentru aflatoxine



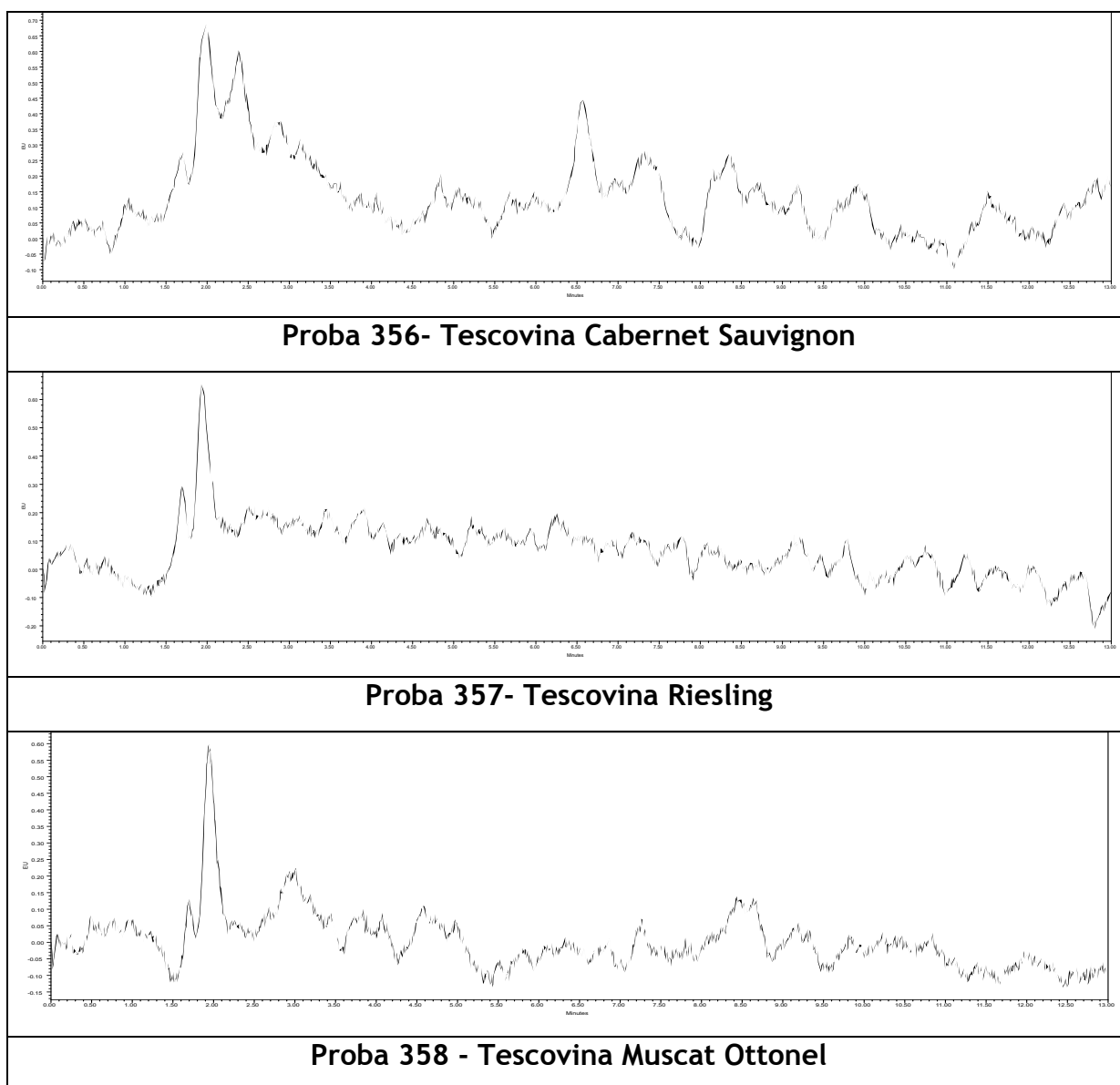


Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Fig. 8.15 Cromatograma materialului de referință certificat AFLATOXINE G2 - 2.52 ng/mL; G1-10.1





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

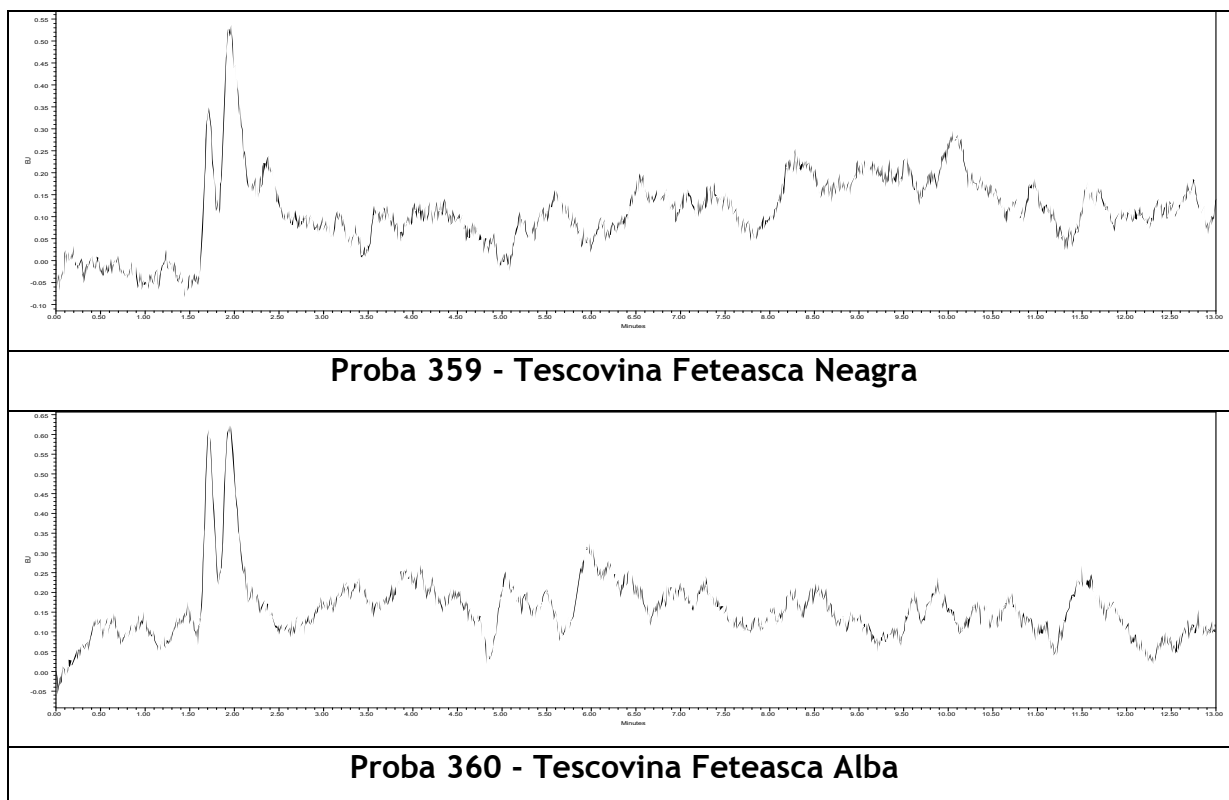


Figura 8.16. Cromatogramele probelor analizate pentru prezenta aflatoxinelor

Rezultatele obținute pentru Aflatoxina B1 și suma de aflatoxine B1, B2, G1 și G2 (figura 8.16) au fost comparate cu reglementările europene privind nivelurile maxime de contaminanți (EC 915/2023). Pentru fructe uscate utilizate ca ingredient unic sau produse prelucrate din fructe uscate introduse pe piață pentru consumatorul final sau utilizate ca ingrediente în produsele alimentare, cu excepția produselor enumerate la 1.1.3 (smochine uscate) limita pentru Aflatoxina B1 este de 2.0 $\mu\text{g/kg}$, suma de aflatoxine este de 4 $\mu\text{g/kg}$. În toate probele nu s-au observat contaminare cu aflatoxine (Tabel 8.7.).

Tabel 8.7. Nivelul de aflatoxine determinat în tescovine

Nr. crt.	Tescovină	Aflatoxina B1 ($\mu\text{g/Kg}$)	Aflatoxina B2 ($\mu\text{g/Kg}$)	Aflatoxina G1 ($\mu\text{g/Kg}$)	Aflatoxina G2 ($\mu\text{g/Kg}$)
1	Fetească Albă	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*
2	Riesling	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*





3	Muscat Ottonel	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*
4	Fetească Neagră	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*
5	Cabernet Sauvignon	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*

Concluzii

Utilizarea metodologiei suprafețelor de răspuns cu design Box-Behnken a permis atât identificarea parametrilor optimi de extracție, cât și evidențierea diferențelor dintre cele două tipuri de tescovină. Pentru tescovina albă (Riesling), optimul a fost atins la un raport de extracție de 1:10, o temperatură de 50°C, un timp de extracție de 50 min și o concentrație a etanolului de 60%, în timp ce pentru tescovina roșie (Cabernet Sauvignon) parametrii optimi au fost 1:15, 55°C, 35 min și 65% etanol acidifiat, diferențe justificate de compoziția fenolică distinctă și de gradul diferit de degradare a pereților celulari rezultat în urma procesului tehnologic de vinificație.

Dintre soiurile de tescovină analizate în acest studiu s-au remarcat soiul Fetească Neagră de struguri roșii și soiul Riesling de struguri albi ca având un conținut mare de compuși bioactivi.

Tescovina provenită din toate soiurile de struguri analizate este o sursă bună de compuși fenolici, recunoscuți ca având efecte tehnologice și benefice pentru sănătate în diferite sisteme alimentare și biologice.

Profilul FT-IR al probelor de tescovină confirmă prezența aceluiași clase de compuși fenolici (flavonoide, acizi fenolici, taninuri), cu diferențe de intensitate ce reflectă variațiile cantitative determinate spectrofotometric. Soiurile roșii (Fetească Neagră, Cabernet Sauvignon) prezintă benzi relativ mai intense în regiunile 1635-1510 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$ aromatic, schelet aromatic) și 1320-1200 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}$ fenolic), în acord cu conținutul lor mai ridicat de flavonoide și cu prezența antocianilor. Soiurile albe (Fetească albă, Riesling) au un profil spectral calitativ similar, dar cu intensități relative mai reduse, reflectând o încărcătură flavonoică mai scăzută.

Concentrațiile determinate pentru elementele toxice (Co, Pb) se situează sub sau la limita inferioară a intervalelor raportate în literatura de specialitate pentru tescovină. Mai mult, având în vedere potențiala utilizare a tescovinei ca ingredient funcțional într-un produs alimentar, toate valorile se încadrează semnificativ sub limitele maxime admise de Regulamentul (UE) 2023/915: pentru plumb, maxim 0,10 mg/kg (fructe, la greutate umedă), iar probele analizate au prezentat concentrații între 0,0258 și 0,0813 mg/kg; cadmiul a fost sub limita de detecție în toate probele, față de limite uzuale de 0,05-0,10 mg/kg pentru fructe și legume. Acest lucru confirmă că tescovina din soiurile studiate îndeplinește criteriile de siguranță impuse de legislația europeană pentru materiile prime alimentare și poate fi considerată o sursă



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

sigură pentru dezvoltarea de produse alimentare fortificate. Din perspectiva micronutrienților, soiurile analizate prezintă o variabilitate genetică semnificativă, iar nivelurile de Cu, Mn și Cr sunt în general comparabile cu cele descrise în studii similare, ceea ce susține potențialul de valorificare a tescovinei ca sursă de minerale esențiale.

Determinarea micotoxinelor în tescovina celor cinci soiuri a arătat absența totală a aflatoxinelor (sub limita de detecție). Faptul că aflatoxinele nu au fost detectate este un semnal favorabil, având în vedere potențialul lor carcinogen ridicat.

Rezultatele obținute sunt importante pentru promovarea marilor cantități de tescovină de struguri ca subproduse care pot fi reutilizate în industria alimentară, farmaceutică și cosmetică. Prin urmare, valorificarea lor ar putea fi o alternativă ieftină de dezvoltare a unor produse funcționale noi, contribuind totodată la rezolvarea problemelor de gestionare a deșeurilor din industria vinicolă.

În ciuda calităților promițătoare ale tescovinei de struguri, dezvoltarea alimentelor îmbogățite cu acest subprodus rămâne unul dintre cele mai provocatoare domenii de cercetare. Sunt necesare cercetări suplimentare în vederea optimizării formulărilor propuse pentru obținerea unor alimente îmbogățite nutritional, de cea mai înaltă calitate și funcționalitate. În cele din urmă, sunt necesare studii, împreună cu evaluări economice, pentru a determina fiabilitatea comercială a fabricării produselor alimentare suplimentate cu tescovina de struguri.

8.5. Analiza microbiologică a făinii de tescovină

8.5.1. Metode de analiza

Metodele utilizate pentru analiza microbiologică a făinii de tescovină sunt:

- **Determinarea bacteriilor aerobe mezofile conform ISO 4833-1:2014** (ISO 4833-2, 2014)

Analiza microbiologică a produselor alimentare. Metoda culturală pentru numărarea microorganismelor. Numărarea coloniilor formate prin termostatare la temperatura de 30 °C prin tehnica de înglobare a suspensiei în masa mediului cu agar. Metoda presupune inocularea unei cantități cunoscute din eșantionul inițial sau din suspensia inițială prin înglobare în suprafața mediului PCA (Plate Count Agar). Plăcile se termostatează în condiții aerobe la temperatura de 30 °C, timp de 72 h. Se calculează unitățile formatoare de colonii pe gram sau mililitru de produs pe baza numărului de colonii obținute din plăcile care conțin mai puțin de 300 de colonii, din două diluții succesive.

- **Determinarea drojdiilor și mucegaiurilor conform ISO 21527-1:2008** (ISO 21527-2, 2008)

Determinarea numărului de drojdii și mucegaiuri a fost realizată conform standardului SR ISO 21527-2:2009, tehnica numărării coloniilor din produse alimentare cu activitatea apei mai mică de 0,95. Mediul utilizat pentru determinarea fungilor este





Dicloran Glicerol Agar (DG 18) incubat la 25 °C timp de șapte zile respectiv 5 zile. Diverse mucegaiuri și drojdii cresc pe aceste medii ce sunt recomandate pentru izolarea selectivă a mucegaiurilor xerofile din probele alimentare. Este un mediu pentru enumerarea ciupercilor xerofile din alimente cu umiditate scăzută.

Într-o pungă de omogenizare cu filtru au fost cântărite 10 g probă, peste care s-au adăugat 90 mL ser fiziologic peptonat (diluția 10-1). Omogenizarea probelor a fost realizată cu omogenizatorul Stomacher SEWARD 400. Au fost realizate diluții decimale, în funcție de încărcătura microbiologică a probelor. Cu o pipetă sterilă 0,1 mL probă inocul se dispersează pe toată suprafața mediului folosind un distribuitor în formă de L. După perioada de incubație, coloniile sunt numerotate și se aplică ecuația (1).

$$N = \frac{\sum c}{V(n_1 + 0,1n_2) \cdot d} \quad (1)$$

unde:

- $\sum c$ - suma coloniilor numărate în toate cutiile reținute de la două diluții succesive, din care cel puțin una conține 15 colonii;
- V - volum de inocul depus în fiecare cutie, 1 mL;
- n_1 - numărul cutiilor reținute la prima diluție;
- n_2 - numărul cutiilor reținute la a doua diluție;
- d - factorul de diluție corespunzător primei diluții reținute.

Rezultatul se exprimă ca un număr cuprins între 1,0 și 9,9 înmulțit cu 10X, în care x este puterea lui 10. Dacă nu există nicio colonie în cutiile corespunzătoare suspensiei inițiale când produsul inițial a fost solid, numărul de drojdii și mucegaiuri pe gram de produs trebuie raportat ca fiind mai mic de 10.

• **Determinarea enterobacteriilor conform ISO 21528-2:2007** (ISO 21528-2, 2017)

Deteția și enumerarea enterobacteriilor a fost realizată conform SR ISO 21528-2:2007. Enterobacteriaceae în general sunt considerate indicatori ai igienei inadecvate în fabrică, cu condiția ca materiile prime să nu fie contaminate. Într-o pungă de omogenizare cu filtru au fost cântărite 10 g probă, peste care s-au adăugat 90 mL ser fiziologic peptonat (diluția 10-1). Omogenizarea probelor a fost realizată cu omogenizatorul Stomacher SEWARD 400. Au fost realizate diluții, în funcție de încărcătura microbiologică a probelor. Un volum de 1 mL probă a fost inoculat prin încorporare în mediul de cultură (agar cu roșu violet bilă glucozat - agar VRBG), urmând ca după solidificarea completă a amestecului să fie adăugat un strat de VRBG de cca. 5 mL. Probele au fost apoi termostătate 24 h la 37 °C. Dintre coloniile caracteristice, de culoare roz spre roșu sau purpuriu (cu sau fără halouri precipitate), au fost alese la întâmplare cinci astfel de colonii pentru reinoculare în vederea testelor de confirmare biochimică. Coloniile selectate pentru confirmare au fost inoculate pe plăci cu agar nutritiv 2% (Biokar Diagnostics, Franța) și termostătate la 37 °C, pentru 24 h, urmând ca o colonie bine izolată să fie selectată pentru realizarea analizei biochimice de confirmare. Confirmarea biochimică a fost realizată prin aplicarea testului de fermentație. Astfel, o porțiune din colonia selectată anterior a fost transferată într-o



eprubetă cu agar cu glucoză și incubată la 37 °C, 24 h. Dacă o culoare galbenă apare în conținutul eprubetei, reacția este considerată pozitivă. Pentru ca rezultatul să fie valabil se consideră, în general, că este necesar să se numere coloniile din cel puțin o cutie care conține minim 15 colonii. Se calculează numărul N de microorganisme prezente în proba luată în lucru, ca medie ponderată, plecând de la două diluții succesive, folosind ecuația (1).

Determinarea activității apei

Valoarea activității apei (a_w) pentru alimente reprezintă un criteriu esențial pentru controlul microbiologic al produselor. Activitatea apei este definită astfel: când un material higroscopic este plasat într-o camera închisă, se va realiza un echilibru între material și aerul de deasupra lui. Umiditatea relativă, ce apare la o temperatură constantă a aerului, corespunde valorii activității apei înmulțită cu 100 (a_w = umiditatea relativă (%) / 100). Citirea valorilor măsurate se face cu trei zecimale.

Tabel 8.8. Medii de diluare și medii de cultură utilizate

Nr. crt.	Denumire mediu/ Acronim	Producător	Utilizări
1.	Ser fiziologic peptonat/SFP	Mediu de diluare realizat în laborator	Realizare diluții decimale
2.	DG - 18, dichloran glicerol	Biokar Diagnostics, Franța	Determinare drojdii și mucegaiuri ($a_w < 0,95$)
3.	VRBG, Violet Red Bile Glucose Agar	Oxoid, Anglia	Enumărare <i>Enterobacteriaceae</i>

8.5.2. Rezultate și discuții

Rezultatele obținute pentru făinurile din tescovină de struguri indică un profil microbiologic specific subproduselor vitivinicole uscate, caracterizat printr-o încărcătură moderată de bacterii aerobe mezofile și un nivel variabil al fungilor, influențat de compoziția matricei și de condițiile de procesare (Tabelul 8.9).

Tabelul 8.9. Rezultatele determinărilor microbiologice

Probe \ Tipul analizei	Bacterii aerobe mezofile (log ufc/g)	Enterobacterii (log ufc/g)	Drojdii și mucegaiuri (log ufc/g)
Făină din tescovină de struguri roșii	4,71	< 1	3,54
Făină din tescovină de struguri albi	4,66	< 1	4,69

În cazul făinii din tescovină de struguri roșii, valoarea determinată pentru bacterii aerobe mezofile a fost de 4,71 log UFC/g, în timp ce pentru făina din tescovină



de struguri albi s-a înregistrat o valoare de 4,66 log UFC/g. Aceste niveluri se încadrează în intervalul de 10^4 - 10^5 UFC/g raportat în literatura de specialitate pentru produse vegetale uscate și subproduse agroindustriale obținute prin deshidratare și măcinare (Jay et al., 2005; Tseng & Zhao, 2013). Valorile reflectă o microbiota reziduală tipică materiilor prime vegetale și nu indică o contaminare excesivă.

Numărul total de drojdii și mucegaiuri prezintă diferențe semnificative între cele două tipuri de făină. Făina din tescovină de struguri roșii a prezentat o valoare de 3,54 log UFC/g, în timp ce făina din tescovină de struguri albi a înregistrat o valoare mai ridicată, de 4,69 log UFC/g. Literatura indică faptul că subprodusele vitivinicole pot prezenta niveluri crescute de fungi, în special datorită conținutului inițial ridicat de drojdii implicate în fermentația mustului și a contactului cu microbiota naturală a strugurilor. Valoarea mai mare observată în cazul tescovinei albe poate fi corelată cu particularitățile tehnologice (durata fermentației, separarea pieților, încărcătura inițială de drojdii) sau cu condițiile de uscare și depozitare.

Pentru Enterobacteriaceae, în ambele probe, valorile au fost raportate ca <10 UFC/g (sub limita de detecție), ceea ce evidențiază o igienă corespunzătoare a procesului tehnologic și absența contaminărilor post-procesare semnificative. Nivelurile Enterobacteriaceae sunt în general moderate (< 10^3 CFU/g), deoarece pH-ul acid și mediul bogat în polifenoli exercită efecte antimicrobiene parțiale (Daglia, 2012).

8.6. Evaluarea încărcăturii microbiene a pulberilor vegetale prin metode standard adaptate, cu raportarea la criteriile Ordinului nr. 27/2011.

Controlul microbiologic al produselor alimentare se bazează pe evaluarea a trei categorii de parametri: (1) indicatori ai calității generale – numărul total de germeni (NTG), drojdii și fungi filamentoși; (2) indicatori de igienă și contaminare fecală – Enterobacteriaceae, E. coli; (3) microorganisme patogene – S. aureus coagulazopozitiv, Salmonella, Listeria monocytogenes (Shafe și colab., 2026). Activitatea apei (aw) sub 0,6 limitează multiplicarea microbială, dar spori bacterieni și fungici supraviețuiesc deshidratării.

La nivel european, Regulamentul (CE) nr. 2073/2005 stabilește criterii de siguranță alimentară și criterii de igienă a procesului pentru produsele alimentare. La nivel național, Ordinul Ministrului Sănătății nr. 27/2011 prevede pentru legumele deshidratate: Enterobacteriaceae (max. 5 UFC/g) și drojdii și mucegaiuri (max. 500 UFC/g). Depășirea acestor limite indică deficiențe de procesare sau contaminare post-procesare.

8.6.1. Metode standard de numărare microbială

Metoda prin încorporare în masă (pour plate) – diluțiile probei sunt incorporate în agarul topit la 45°C și lăsate să solidifice; coloniile se formează în masa agarului. **Metoda prin răspândire la suprafață (spread plate)** – 0,1 ml de suspensie este repartizat uniform cu baghetă Drigalski pe suprafața mediului; utilizată pentru SCP pe Baird-Parker și evaluarea hemolizei pe Geloză-sânge. **Medii selective și diferențiale:** VRBG pentru Enterobacteriaceae; TBX pentru E. coli β-glucuronidază pozitivă (colonii albastre); Baird-Parker cu telur pentru S. aureus (colonii negre



strălucitoare cu halou). **Testul coagulazei** confirmă stafilococii coagulazo-pozitivi prin coagularea plasmei de iepure. Formula de calcul: $N = c / [(n_1 + 0,1n_2) \times d]$.

Probele au fost testate din punct de vedere microbiologic, utilizând metode adaptate după standardele în vigoare pentru controlul alimentelor, iar valorile obținute au fost comparate cu cele prevăzute în Ordinul nr. 27/2011 privind aprobarea criteriilor microbiologice și de igienă care se aplică produselor alimentare.

Valorile obținute au fost raportate la valorile-limită din legislație privind categoria legume deshidratate. Pentru această categorie, Ordinul prevede doar parametrii “*Enterobacteriaceae*” și “Drojdii și mucegaiuri”. Conform rezultatelor obținute, din punct de vedere microbiologic, pulberea analizată se încadrează în parametrii prevăzuți de legislație, fiind sub limita maximă admisă în cazul ambilor parametri testați (tabel 8.10).

Tabel 8.10. Rezultate obținute la parametrii testați conform Ordinului 27/2011

Parametru	Unitate de măsură	Limita maximă	Valori obținute P2 (pulbere de tescovină)
<i>Enterobacteriaceae</i>	cfu/g	5	0
Drojdii și mucegaiuri	cfu/g	500	250

Pulberile a fost testate și pentru alți parametri, care nu sunt reglementați de ordinul respectiv, dar care au permis o evaluare de ansamblu a încărcăturii microbiene și a gradului de contaminare cu diferite microorganisme. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 8.11 și au arătat un număr redus de microorganisme care s-au dezvoltat la 37°C, absenta bacteriilor *Escherichia coli* glucuronidază-pozitivă și a *Staphylococcus aureus* coagulazo-pozitiv.

Tabel 8.11. Încărcătura microbiană a probei testate pentru diferiți parametri

Nr. crt	Parametru	Încărcătura microbiană (UFC/g) P2 (pulbere de tescovină)
1	Număr total de bacterii	7×10^2
2	<i>Escherichia coli</i> glucuronidază-pozitiv	0
3	<i>Staphylococcus aureus</i> coagulazo-pozitiv	0



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

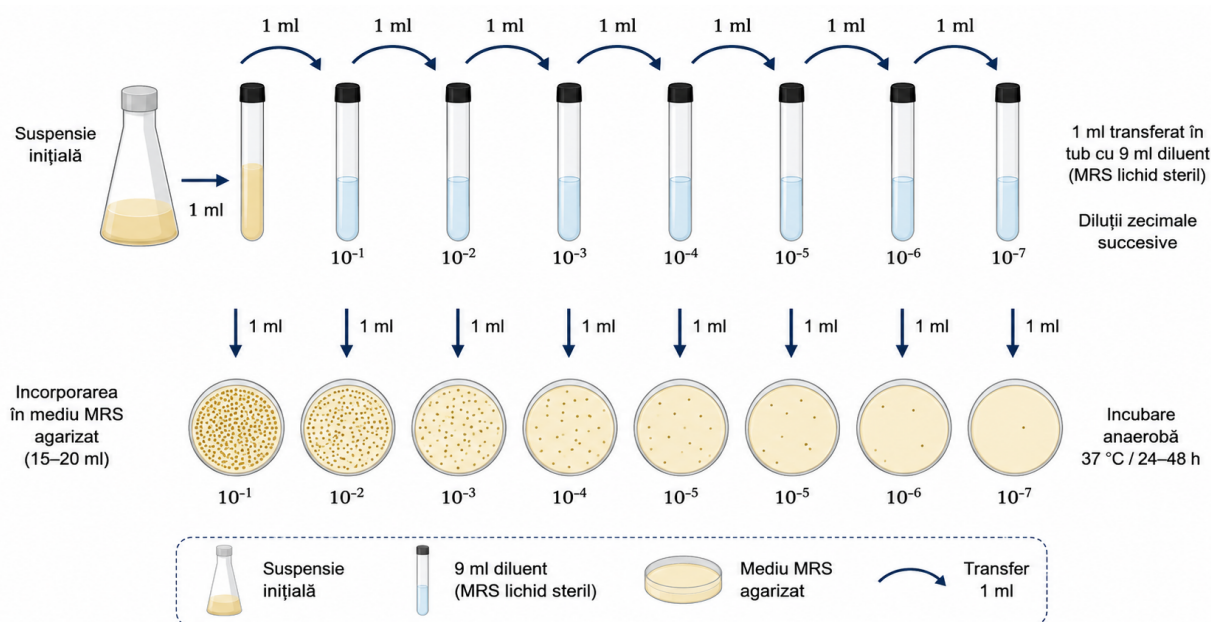


Fig.8.18. Schema de realizare a diluțiilor zecimale și încorporarea acestora în mediu

De asemenea, este de remarcat că, după însămânțarea probei pe suprafața mediului Geloză-sânge, s-a observat un număr scăzut de colonii crescute, niciuna dintre acestea nefiind hemolitică.

Pulberile analizate au prezentat o încărcătură microbiană redusă, absența speciilor patogene și a coloniilor hemolitice. Rezultatele microbiologice obținute demonstrează un profil de siguranță excelent, caracterizat prin absența microorganismelor patogene și o încărcătură microbiană totală redusă. Absența tulpinilor de *E. coli* B-glucuronidază pozitive confirmă faptul că materia primă și procesul tehnologic au respectat standardele de igienă prevăzute de legislația europeană (Ordin 27/2011; Reg. CE 2073/2005). De asemenea, nivelul redus de drojdii și mucegaiuri (150 UFC/g) se încadrează confortabil în limitele admise și reflectă stabilitatea microbiologică a produsului, specifică pulberilor vegetale cu activitate de apă scăzută (Shafe et al., 2026). Această stabilitate este susținută și de literatura de specialitate, care arată că deshidratarea controlată reduce semnificativ riscul de dezvoltare microbiană, menținând în același timp compușii bioactivi (Rios et al., 2023; Perța-Crișan et al., 2024).

Absența *Staphylococcus aureus* coagulazo-pozitiv și rezultatul negativ la testul hemolizei confirmă siguranța alimentară completă, criteriu esențial pentru utilizarea pulberii ca ingredient funcțional. Aceste rezultate sunt în concordanță cu studiile care arată că pulberile vegetale obținute prin deshidratare la temperaturi moderate prezintă un risc microbiologic minim (Shafe et al., 2026).



8.7. Evaluarea potențialului prebiotic al pulberii de tescovină (P2)

Obiectivul activității

În cadrul infrastructurii METROFOOD-RO a fost evaluat potențialul prebiotic al pulberii de tescovină (P2), un subprodus rezultat din procesarea strugurilor, cu scopul identificării posibilităților de valorificare a acesteia ca ingredient funcțional în industria alimentară. Activitatea s-a încadrat în direcția promovării bioeconomiei circulare și a dezvoltării unor ingrediente alimentare cu valoare adăugată, provenite din fluxuri secundare agroalimentare.

Tescovina reprezintă una dintre cele mai importante surse naturale de fibre alimentare insolubile și solubile, polifenoli, antocianine, flavonoli și proantocianidine, compuși recunoscuți pentru proprietățile antioxidante, antiinflamatoare și pentru capacitatea de a modula microbiota intestinală. Valorificarea acestei biomase reziduale contribuie atât la reducerea deșeurilor generate de industria viticolă, cât și la dezvoltarea unor ingrediente sustenabile pentru produse alimentare funcționale.

8.7.1. Materiale și metode

Pentru evaluarea efectului prebiotic, pulberea de tescovină a fost supusă unui tratament de sterilizare la 121°C timp de 20 minute, pentru eliminarea microbiotei reziduale, fără introducerea unor microorganisme exogene în sistemul experimental. Ulterior, pulberea sterilizată a fost suspendată în mediu lichid MRS și utilizată în două concentrații:

- 100 mg/ml
- 10 mg/ml

Având în vedere caracterul insolubil al pulberii, suspensiile au fost menținute în agitare lentă pe parcursul incubării pentru asigurarea contactului permanent dintre particulele vegetale și celulele bacteriene.

Activitatea prebiotică a fost investigată prin cocultivarea pulberii cu tulpini de bacterii lactice cu potențial probiotic izolate anterior din produse fermentate tradiționale. Au fost utilizate următoarele tulpini:

T1 - *Lactobacillus delbrueckii*

T2 - *Lentilactobacillus salivarius*

T3 - *Lactocaseibacillus paracasei*

T4 - *Lactiplantibacillus plantarum*

Pentru fiecare condiție experimentală s-au efectuat două replici independente, iar după 24 ore de incubare în anaerobioză s-a determinat numărul de bacterii viabile (UFC/ml) prin metoda diluțiilor seriale și însămânțare pe mediu solid. Valorile obținute au fost exprimate ca medie și deviație standard, iar reprezentarea grafică s-a realizat în scară logaritmică datorită diferențelor mari dintre valorile experimentale.



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

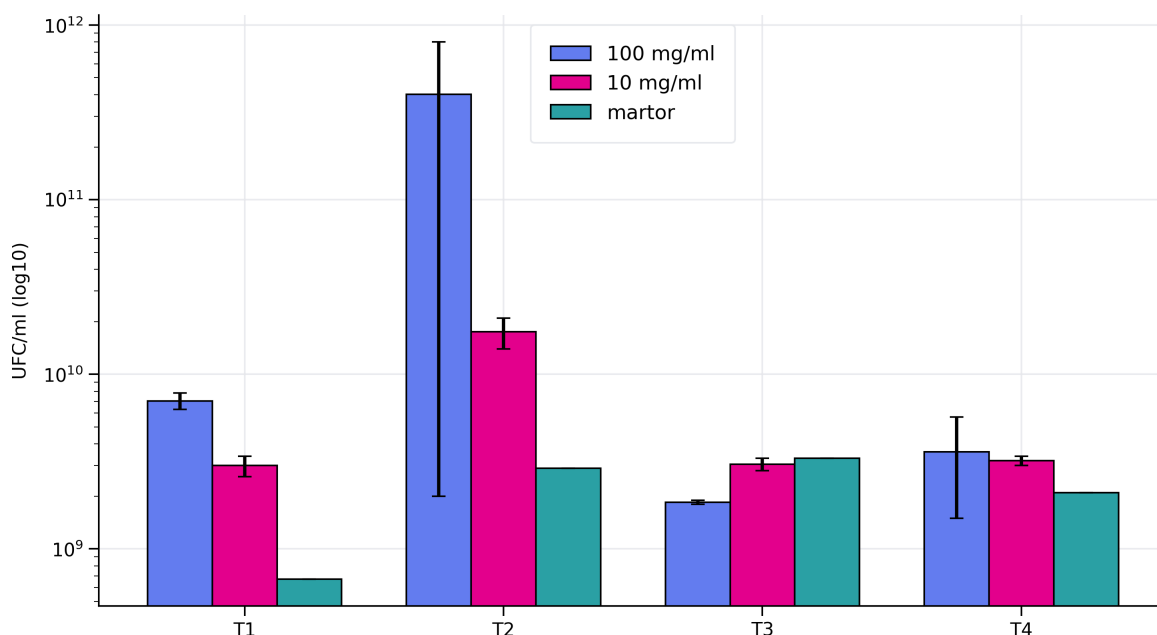


Fig. 8.19. Reprezentarea grafică a valorilor logaritmice ale UFC/ml corespunzătoare cuantificării activității prebiotice a probei P2 (pulbre de tescovină) testate. *Lactobacillus delbrueckii* (T1, izolat din iaurt), *Lentilactobacillus salivarius* (T2, izolat din placă dentară), *Lacticaseibacillus paracasei* (T3, izolat din borș) și *Lactiplantibacillus plantarum* (T4, izolat din smântână).

S-a observat, de asemenea, că tescovina la 10 mg/ml pare să inducă un efect mai uniform și mai echilibrat asupra tuturor tulpinilor testate, în timp ce concentrația de 100 mg/ml generează răspunsuri mai variabile, posibil datorită efectelor de inhibiție parțială sau dezechilibrelor osmotice la concentrații mai mari de compuși organici.

Pulberea de tescovină a determinat o stimulare mai intensă, dar și mai heterogenă a creșterii bacteriene. Valorile înregistrate sunt, în general, mai ridicate decât în cazul P1, în special datorită răspunsului pronunțat al tulpinii *Lentilactobacillus salivarius* (T2), care atinge valori de ordinul 10¹¹-10¹² UFC/ml la concentrația de 100 mg/ml. Această creștere accentuată indică o capacitate metabolică ridicată de valorificare a compușilor bioactivi din tescovină. Tulpinile T1 și T4 prezintă, de asemenea, o stimulare mai evidentă comparativ cu P1, în special la concentrația mai mare, în timp ce T3 manifestă un răspuns relativ constant, fără variații semnificative între condițiile testate.

Pulberea de tescovină (P2) determină o stimulare mai intensă a creșterii bacteriene, datorită conținutului ridicat în polifenoli, fibre și oligozaharide. Tescovina este recunoscută ca un substrat bogat în compuși bioactivi capabili să moduleze microbiota și să stimuleze dezvoltarea bacteriilor benefice (Sinrod et al., 2023). Polifenolii exercită un efect dual asupra microbiotei, contribuind atât la inhibarea bacteriilor patogene, cât și la stimularea selectivă a lactobacililor (Makarewicz et al., 2021). În plus, aceștia pot crea condiții favorabile dezvoltării bacteriilor probiotice prin



reducerea competiției microbiene și remodelarea nișei ecologice (Rodríguez-Daza et al., 2021).

Aceste mecanisme pot explica nivelurile ridicate de creștere observate pentru *Lentilactobacillus salivarius* (T2) în cazul P2, sugerând o capacitate metabolică superioară de adaptare la mediile bogate în compuși fenolici. Rezultate similare au fost raportate în studii privind utilizarea tescovinei în procese fermentative, unde s-a observat stimularea semnificativă a bacteriilor lactice (Dias et al., 2018).

Variabilitatea răspunsului observată între tulpini reflectă diferențele genetice și metabolice ale bacteriilor lactice. Este bine cunoscut faptul că aceste microorganisme prezintă capacități diferite de utilizare a substraturilor și de metabolizare a compușilor bioactivi (Zhang et al., 2020).

În acest context, *L. paracasei* (T3) prezintă o adaptare optimă la substraturi mai simple (P1), *L. salivarius* (T2) valorifică eficient substraturile complexe din P2, *L. plantarum* (T4) și *L. delbrueckii* (T1) prezintă un comportament intermediar. Această variabilitate este asociată cu capacitatea bacteriilor de a transforma compușii fenolici în metaboliți bioactivi, utilizabili în procesele de creștere (Ayar-Sümer et al., 2024). Rezultatele indică faptul că efectul prebiotic este dependent și de concentrația substratului.

Rezultatele obținute demonstrează că pulberea de tescovină reprezintă un substrat funcțional capabil să stimuleze selectiv dezvoltarea bacteriilor lactice.

Efectul observat poate fi explicat prin compoziția biochimică complexă a tescovinei. Aceasta conține cantități importante de:

- fibre alimentare insolubile și solubile;
- celuloză și hemiceluloză;
- pectine;
- polifenoli;
- flavonoli;
- antocianine;
- proantocianidine;
- resveratrol.

Acești compuși sunt utilizați diferențiat de microorganisme, determinând răspunsuri metabolice specifice fiecărei tulpini bacteriene.

Polifenolii nu acționează doar ca antioxidanți, ci și ca molecule capabile să moduleze compoziția microbiotei intestinale. În timpul fermentării lor de către bacterii sunt generați metaboliți bioactivi care pot contribui la reducerea inflamației și la menținerea homeostaziei intestinale.

Diferențele observate între cele patru tulpini confirmă caracterul selectiv al relației dintre prebiotic și probiotic. Acest aspect este esențial în dezvoltarea produselor sinbiotice, unde eficiența biologică depinde de compatibilitatea dintre substratul vegetal și microorganismul utilizat.

Rezultatele obținute în cadrul acestei activități susțin utilizarea tescovinei ca ingredient funcțional provenit din bioeconomie circulară și demonstrează oportunitatea valorificării acestui subprodus agroalimentar în dezvoltarea de alimente funcționale, suplimente alimentare și produse fermentate inovatoare.



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Activitatea contribuie direct la obiectivele METROFOOD-RI privind caracterizarea și valorificarea resurselor agroalimentare prin:

- evaluarea funcțională a unui subprodus agroindustrial;
- dezvoltarea metodologiilor standardizate pentru testarea activității prebiotice in vitro;
- identificarea unor combinații promițătoare prebiotic-probiotic;
- promovarea principiilor economiei circulare și reducerii risipei alimentare;
- susținerea dezvoltării de ingrediente alimentare inovatoare cu aplicabilitate industrială.

Rezultatele obținute constituie baza pentru studii viitoare privind evaluarea fermentației intestinale simulate, analiza producției de acizi grași cu lanț scurt (SCFA), studii metabolomice și validarea efectelor în modele biologice mai complexe.





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

9. Instrumente biotehnologice de modulare a funcționalității subproduselor și ingredientelor obținute

9.1. Funcționalitatea subproduselor rezultate de la prelucrarea strugurilor

Experimentul a vizat investigarea efectului fermentației lactice asupra funcționalității subproduselor rezultate la procesarea strugurilor în vederea obținerii vinului și sucurilor.

În studiu au fost utilizate următoarele două tipuri de subproduse distribuite de S.C. Herbavit S.R.L.: făină din semințe de struguri (SS) și pulbere din coajă de struguri (CS).

SS este un ingredient obținut prin măcinare fină după extracția prin presare la rece a uleiului din semințele de struguri și are proprietăți nutritive excepționale (13,3% proteine, 21,8% glucide, 2,2% grăsimi și 62,8% fibre). Conținutul de lipide al SS este mai mic față de cel raportat de Pesavento *et al.* (2008) pentru pudra de semințe de struguri (22,07%), deoarece sâmburii de struguri au fost supuși extracției de ulei, iar ulterior au fost dirijați spre obținere de făină. Practic, făina utilizată în prezentul studiu reprezintă, la rândul ei, un subprodus de la obținerea uleiului din semințe de struguri, fiind o sursă ieftină și bogată în antioxidanți naturali.

SS conține cantități importante de compuși cu importanță fiziologică: fibre, minerale precum fier, zinc, calciu și potasiu, o serie de vitamine și compuși cu acțiune antioxidantă. Conform French Feed Database, proteina din semințele de struguri are cantități apreciabile de aminoacizi esențiali, leucină, lizină, valina, arginină, fenilalanină, treonină și tirozină, dar mai scăzut de triptofan (<https://feedtables.com/content/grape-seeds>). Având în vedere gustul neutru și valoarea energetică scăzută, SS se pretează pentru integrare în produse alimentare variate, indicate pentru consumatorii interesați de alimentație sănătoasă și diete speciale.

CS este un ingredient cu un conținut ridicat de compuși biologic activi, fiind obținut prin uscarea și mărunțirea fină a cojilor de struguri. Ingredientul CS are 13,3% proteine, 20,6% glucide, 10,3% grăsimi și 50,7% fibre, fiind recomandat pentru suplimentarea băuturilor lactate fermentate și integrarea în formulările diferitelor tipuri de produse de panificație. În acord cu French Feed Database, CS este bogat în vitamina E și minerale precum fier, zinc, potasiu și calciu, iar proteina conține toți aminoacizi esențiali (<https://www.feedtables.com/content/grape-pomace-dried>).

Cele două surse de compuși cu acțiune antioxidantă au fost caracterizate prin determinarea compoziției chimice aproximative, a conținutului de total fenoli (CTF) și a activității antioxidante prin determinarea capacității de captare a radicalilor liberi DPPH (DPPH-RSA) (Li *et al.*, 2008).





Tabelul 9.1. Proprietățile fizico-chimice ale subproduselor rezultate la procesarea strugurilor: făina din semințe de struguri (SS) și pulberea din coajă de struguri (CS)

Caracteristica	SS	CS
pH	4,97±0,01 ^b	5,24±0,06 ^a
Aciditate, °A	25,61±0,47 ^a	16,06±0,15 ^b
CTF, mg acid ferulic/g s.u.	238,97±19,11 ^a	148,74±11,00 ^b
Activitate antioxidantă, μmol Trolox/g s.u.	2,27±0,27 ^a	1,70±0,18 ^b
DPPH-RSA, %	64,15±4,50 ^a	44,81±3,67 ^b

În aceeași linie, valorile medii însoțite de litere mici diferite sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$), conform analizei One-way ANOVA și a testului post-hoc Tukey.

Analizând rezultatele prezentate în Tabelul 9.1. se poate observa că făina din sâmburi de struguri a prezentat valori ale acidității semnificativ mai ridicate ($p < 0,05$) comparativ cu pulberea din coajă de struguri. Valorile de pH înregistrate pentru cele două subproduse din struguri se încadrează în domeniul acid, ușor mai ridicate față de valoare de pH ultim urmărită în vederea stopării fermentării probelor de iaurt. Trebuie precizat însă că nu este de așteptat ca suplimentarea iaurtului cu SS și CS să conducă la modificarea semnificativă a acidității și pH-ului probelor, deoarece adaosul propus este de max. 1%.

SS a prezentat un conținut total de fenoli de 238,97 mg acid ferulic/g s.u., semnificativ mai ridicat ($p < 0,05$) comparativ cu CS (148,74 mg acid ferulic/g s.u.). Pastrana-Bonilla *et al.* (2003) au raportat un conținut de fenoli totali între 351,6 și 2178,8 mg acid galic /g pentru diverse tipuri de extracte obținute din sâmburi și pielețe de struguri. De asemenea, Wang *et al.* (2005) au raportat pentru sâmburii de struguri, supuși extracției prin diferite metode, un conținut total de fenoli în intervalul 27,2-194,2 mg/g. În acord cu aceste rezultate sunt și cele care exprimă activitatea antioxidantă a subproduselor rezultate la procesarea strugurilor. Astfel, SS a prezentat o activitate antioxidantă cu cel puțin 25% superioară celei înregistrată în cazul CS (Tabelul 1). Rezultate similare ale activității de captare a radicalilor liberi de 3,35 - 11,8 mg/ml (EC_{50}) au raportat Li *et al.* (2008) pentru diferite extracte din sâmburi de struguri.

Unele boli degenerative precum bolile cardiovasculare, bolile inflamatorii intestinale, ateroscleroza, cancerul, îmbătrânirea pielii etc. au fost asociate cu prezența radicalilor liberi în celule, unde se formează în timpul reacțiilor metabolice de oxidare. Radicalii liberi posedă un electron nepereche în orbita lor exterioară, fiind extrem de instabili. Antioxidanții acționează prin cedarea și completarea ultimului strat electronic al radicalilor liberi, care, nemaifiind deficitari în electroni, își pierd capacitatea nocivă de acțiune. Astfel, este cunoscut faptul că antioxidanții, care se găsesc în cantități mari în produsele vegetale, au un rol important în prevenirea cancerului și bolilor cardiovasculare (Kris-Etherton *et al.*, 2002; Ferrari & Torres, 2003).

Referitor la struguri și produsele derivate la procesarea acestora, efectele benefice ale compușilor biologic activi cu activitate antioxidantă este deja foarte bine



cunoscut. Resveratrolul este în mod particular cunoscut pentru împiedicarea instalării sindromului metabolic și a afecțiunilor cardiace, prin protecția asigurată vaselor de sânge împotriva inflamațiilor, creșterea toleranței la glucoză și îmbunătățirea funcției de producere a insulinei. Semințele de struguri conțin cantități importante de compuși fenolici precum acid galic, catechine, epicatechine, proantocianidine și procianidine (Ravikanth *et al.*, 2006; Xia *et al.*, 2010), cu puternică activitate antioxidantă. Deși au existat unele întrebări privind biodisponibilitatea procianidelor din extractul de semințe de struguri, studiile *in vivo* au demonstrat că protecția antioxidantă față de radicalii liberi este chiar mai bună decât a altor antioxidanți bine cunoscuți, cum ar fi vitamina C sau E (Fine, 2000). Semințele de struguri sunt bogate și în numeroase substanțe biologic active precum vitaminele E, B1, B2, P, PP, provitamina A, acizi polinesaturați și minerale precum Ca și Na. Pelițele de struguri sunt bogate în proantocianidine, acid elagic, miricetina, quercitina, kaempferol și trans-resveratrol (Xia *et al.*, 2010).

9.2. Efectul fermentației lactice asupra funcționalității subproduselor rezultate de la prelucrarea strugurilor

O alimentație bogată în surse naturale de compuși biologic activi este importantă pentru a asigura un nivel corespunzător de antioxidanți la nivel celular, deoarece antioxidanții endogeni nu sunt suficienți pentru a preveni complet procesele oxidative din organismul uman.

Astfel, suplimentarea cu antioxidanți naturali a diferitelor produse alimentare ce se regăsesc în mod comun în dieta unei categorii largi a populației, reprezintă a manieră eficientă de a asigura o protecție suplimentară organismului. Este important ca alimentele suplimentate cu antioxidanți naturali, să nu sufere modificări senzoriale importante, pentru a putea fi acceptate cu ușurință de către consumatori, putând contribui astfel la prevenirea unor boli. Printre alimentele foarte consumate, ce reprezintă matrici promițătoare pentru suplimentarea cu antioxidanților din surse naturale, se numără produsele lactate, produsele de panificație, sucurile și băuturile, etc. (Valenzuela *et al.*, 2003).

Pentru a verifica efectul fermentației lactice asupra funcționalității subproduselor rezultate la prelucrarea strugurilor, cele două ingrediente au fost utilizate pentru obținerea de produse lactate fermentate funcționale, SS și CS fiind integrate în produs în două momente diferite ale procesului tehnologic (Tabelul 9.2).

Probele de iaurt au fost pregătite la nivel de laborator prin procesare laptelui UHT. Pentru a evidenția modul în care conținutul de grăsime influențează calitatea produsului obținut, în experiment a fost utilizat lapte cu diferite concentrații de grăsime: 1,5% și 0,1% grăsime (Tabelul 9.2).

În vederea pregătirii pentru inocularea cu cultură starter liofilizată de bacterii lactice termofile, laptele a fost întâi temperat la temperatura de 43°C. Fermentația lactică a fost derulată de un amestec de *Streptococcus thermophilus* și *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, recomandat pentru obținerea atât de iaurt cu coagul ferm, cât și de iaurtul fluid.



Pentru a evidenția modul în care activitatea metabolică a bacteriilor influențează eliberarea compușilor cu activitate antioxidantă din ingredientele vegetale, suplimentarea cu SS și CS s-a efectuat în două momente diferite ale procesării:

- varianta 1: imediat după inocularea laptelui cu cultură starter de bacterii lactice (v1),
- varianta 2: după finalizarea fermentării (v2).

În ambele variante de lucru (v1 și v2), după suplimentarea cu SS și CS a mediului supus fermentării/fermentat, s-a efectuat o omogenizare energetică a produselor, astfel încât să se obțină amestecuri omogene.

Nivelul de suplimentare cu SS și CS s-a stabilit în baza unor teste preliminare care au urmărit obținerea unor produse cu proprietăți funcționale superioare, care să nu fie refuzate de consumatori în baza aprecierii vizuale, din cauza aspectului dominat de prezența particulelor indigo dispersate în masa de produs. Astfel, pentru fiecare variantă tehnologică considerată în experiment, au fost testate următoarele două concentrații diferite de SS și CS: 0,5% și 1%. Pentru fiecare tip de lapte supus fermentării, s-a pregătit câte o probă martor nesuplimentată cu ingrediente de origine vegetală obținute la procesarea strugurilor (Tabelul 9.2).

Tabelul 9.2. Codificarea și aspectul probelor de iaurt obținute din lapte de vacă cu conținut diferit de grăsime și cu adaos de făină din sâmburi de struguri (SS) sau pudră din coajă de struguri (CS)

Iaurt cu 0,1% grăsime, suplimentat la începutul operației de fermentare cu făină din sâmburi de struguri (SS) sau pudră din coajă de struguri (CS)					
Cod probă	- M1	0,5% SS P1-05SS-v1	0,5% CS P1-05CS-v1	1% SS P1-1SS-v1	1% CS P1-1CS-v1
Aspect probă					
Iaurt cu 0,1% grăsime, suplimentat la finalul operației de fermentare cu făină din sâmburi de struguri (SS) sau pudră din coajă de struguri (CS)					
Cod probă	- M1	0,5% SS P1-05SS-v2	0,5% CS P1-05CS-v2	1% SS P1-1SS-v2	1% CS P1-1CS-v2



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Aspect probă					
Iaurt cu 1,5% grăsime, suplimentat la începutul operației de fermentare cu făină din sâmburi de struguri (SS) sau pudră din coajă de struguri (CS)					
Cod probă	- M2	0,5% SS P2-05SS-v1	0,5% CS P2-05CS-v1	1% SS P2-1SS-v1	1% CS P2-1CS-v1
Aspect probă					
Iaurt cu 1,5% grăsime, suplimentat la finalul operației de fermentare cu făină din sâmburi de struguri (SS) sau pudră din coajă de struguri (CS)					
Cod probă	- M2	0,5% SS P2-05SS-v2	0,5% CS P2-05CS-v2	1% SS P2-1SS-v2	1% CS P2-1CS-v2
Aspect probă					

Pentru aprecierea impactului suplimentării cu ingredientele investigate (SS și CS), probele de iaurt au fost caracterizate prin determinarea: acidității, sinerezei, activității antioxidante, conținutului total de fenoli și comportamentului reologic.

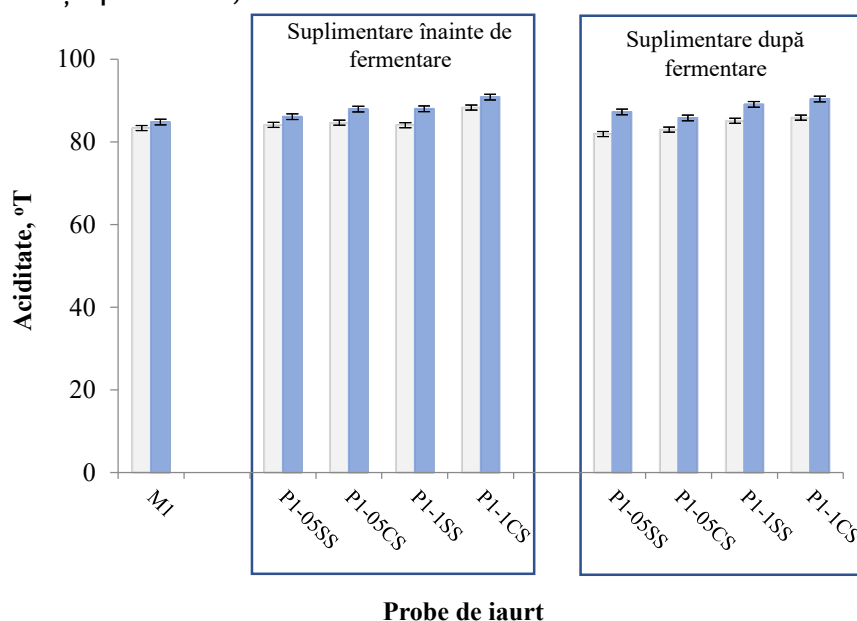
După depozitarea timp de 21 zile la 4°C toate probele de iaurt au fost caracterizate prin aprecierea atributelor senzoriale în baza simțului vizual și tactil, pentru a identifica eventuale defecte de consistență și aspect, sau prezența mirosului străin. Toate probele analizate au prezentat aspect plăcut, miros specific de iaurt și consistență corespunzătoare, cremoasă și omogenă. Probele suplimentate cu ingrediente vegetale au prezentat un miros plăcut, ușor fructat.



9.3. Influența suplimentării cu subproduse rezultate de la prelucrarea strugurilor asupra activității fermentative a bacteriilor lactice

Monitorizarea fermentării probelor de iaurt s-a efectuat prin măsurarea evoluției pH-ului. În acord cu recomandările din literatura de specialitate, fermentarea iaurtului a fost întreruptă prin răcirea probelor la 4°C, în momentul atingerii valorii de pH de aproximativ 4,6. Pentru probele suplimentate cu SS și CS s-a observat o reducere mai rapidă a pH-ului în timpul fermentării comparativ cu probele martor corespunzătoare. Independent de conținutul de grăsime din lapte, pentru reducerea pH-ului până la valoarea 4,6 probele martor au necesitat un timp fermentare cu 30 min superior probelor suplimentate cu făină din sâmburi și coajă de struguri, care au atins pH-ul dorit după 4 ore.

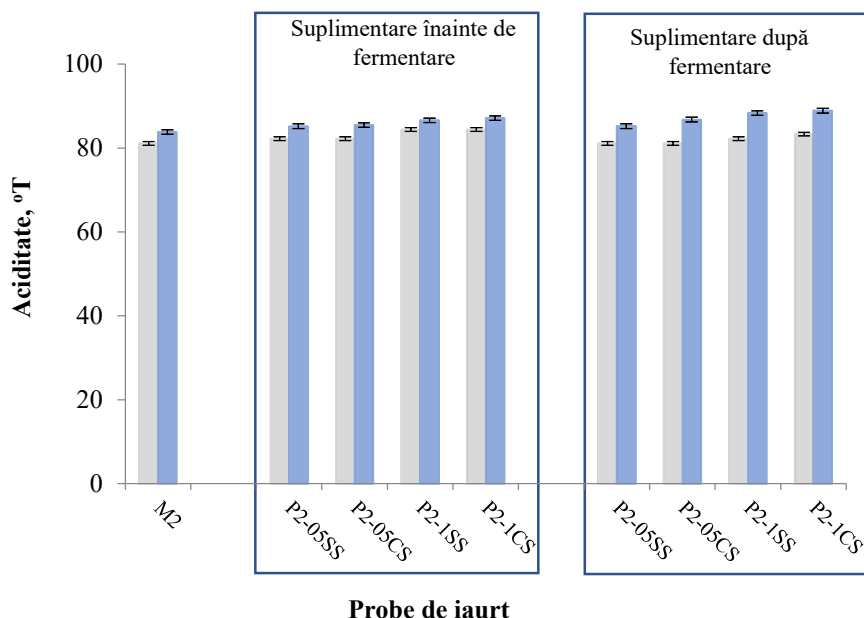
În Figura 9.1 este prezentată aciditatea probelor de iaurt la finalul operației de fermentare și după 24 de ore de depozitare la 4°C. Aciditatea probelor martor pregătite din lapte cu 0,1 și 1,5% grăsime a fost comparabilă (81,1-83°T), crescând cu 1,7-2,4°T după 24 de ore de depozitare (Figura 9.1). Independent de conținutul de grăsime al laptelui, aciditatea probelor suplimentate cu SS sau CS înaintea operației de fermentare a fost 1,1-2,4°T mai mare față de probele corespunzătoare suplimentate cu ingrediente vegetale la finalul operației de fermentare și comparativ cu martorul. Eliberarea graduală a compușilor cu caracter acid din SS și CS în probele de iaurt este responsabilă pentru diferențele înregistrate între probe. Cea mai mare aciditate a fost înregistrată în cazul probelor cu 1 % făină din sâmburi de struguri și făină din coajă de struguri, care au acumulat până la finalul fermentării 0,81 g acid lactic/100 g produs. Studii anterioare efectuate de Karaaslan ș.a. (2011) au indicat faptul că suplimentarea probelor de iaurt cu diferite extracte din sâmburi de struguri, poate determina creșterea acidității până la 0,98 % acid lactic.



(a)



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287



(b)

Fig. 9.1. Influența suplimentării cu 0,5% și 1% făină din semințe de struguri (05SS și respectiv 1SS) și pulbere din coajă de struguri (05CS și respectiv 1CS) asupra acidității probelor de iaurt, la finalul procesului de fermentare (4,5 ore - reprezentate cu gri deschis) și după 24 ore de depozitare (albastru deschis) pentru probele de iaurt obținute din lapte cu 0,1% (a) și 1,5% (a) grăsime

Toate probele de iaurt au fost ulterior depozitate la temperatura de 4°C, monitorizându-se stabilitatea produsului pe parcursul a 21 zile de acidifiere post-fermentare. Activitatea fermentativă a bacteriilor lactice a continuat cu intensitate foarte redusă pe parcursul celor 21 de zile de depozitare la temperatură de refrigerare. Analiza dinamicii acidifierii produsului a indicat o reducere mai accentuată a pH-ului probelor suplimentate cu SS sau CS, comparativ cu probele martor. După 21 zile de depozitare, probele martor au prezentat pH de 4,4, iar iaurturile suplimentate cu 0,5% și 1% SS sau CS au avut valori finale de pH de ~4,3 și respectiv ~4,2, rezultate care sunt în concordanță cu Karaaslan ș.a. (2011). Această tendință ar putea fi explicată de existența unor glucide fermentescibile în subprodusele rezultate la procesarea strugurilor care au fost utilizate pentru suplimentarea iaurturilor, pentru a căror utilizare bacteriile lactice au necesitat o perioadă de adaptare mai lungă. Activitatea fermentativă a bacteriilor lactice în aceste probe ar putea fi stimulată de prezența efectorilor în SS și CS. De asemenea, independent de nivelul SS sau CS, s-a observat o scădere a valorii pH-ului ușor mai mare în cazul probelor suplimentate înainte de fermentare, față de cele suplimentate la finalul fermentării.



9.4. Influența suplimentării iaurtului cu subproduse rezultate de la prelucrarea strugurilor asupra activității antioxidante

Activitatea antioxidantă a probelor de iaurt a fost exprimată ca activitate de captură a radicalilor liberi (DPPH-RSA). Suplimentarea cu SS sau CS a determinat creșterea activității antioxidante a iaurtului de 3,8 până la 5,2 ori comparativ cu probele martor (Figura 9.2). Așa cum era de așteptat, având în vedere conținutul ridicat de compuși biologic activi din subprodusele rezultate la procesarea strugurilor, activitatea DPPH-RSA a fost mai ridicată în cazul iaurturilor cu 1% SS sau CS, indiferent de conținutul de grăsime. Numeroase studii au explorat efectele fiziologice ale compușilor biologic activi cu activitate antioxidantă din subprodusele rezultate la procesarea strugurilor. Activitatea antioxidantă a probelor a fost influențată și de momentul adăugării ingredientelor vegetale în produs. Astfel, suplimentarea cu SS și CS la începutul etapei de fermentare a permis obținerea de iaurturi cu activitate antioxidantă superioară probelor la care subprodusele din struguri au fost adăugate la finalul fermentării (Figura 9.2).

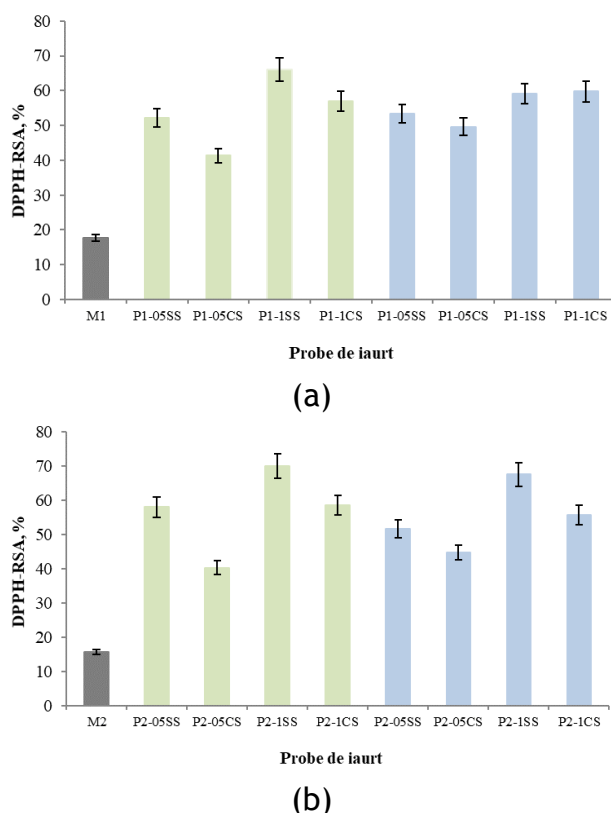
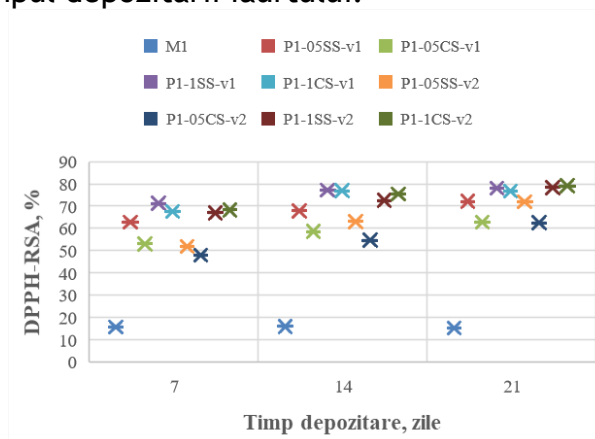


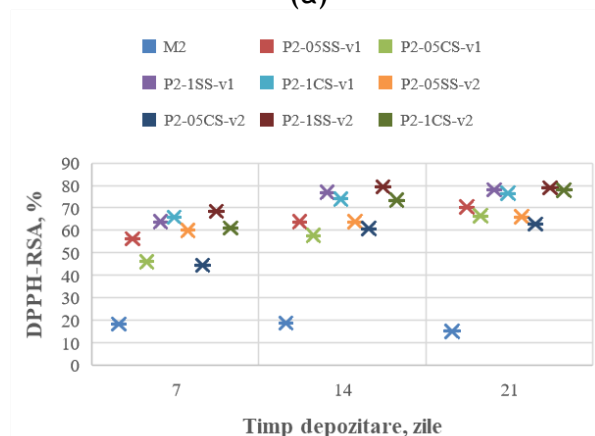
Fig. 9.2. Influența suplimentării cu 0,5% și 1% făină din semințe de struguri (05SS și respectiv 1SS) și pulbere din coajă de struguri (05CS și respectiv 1CS) la începutul (verde deschis) sau la finalul (albastru deschis) operației de fermentare, asupra activității antioxidante (DPPH-RSA) a probelor de iaurt din lapte cu 0,1% (a) și 1,5% (a) grăsime



Referitor la influența concentrației lipidelor, probele de iaurt obținute din lapte cu 1,5% grăsime, au prezentat activitatea antioxidantă ușor inferioară probelor pregătite din lapte cu 0,1% grăsime (Figura 9.2). În iaurtul cu un conținut mai ridicat de grăsime o parte din compușii cu proprietăți antioxidante din SS și CS ar putea fi implicați în neutralizarea radicalilor liberi din probe. Rezultatele obținute în prezentul studiu sunt în acord cu cele raportate de Chouchouli ș.a. (2013), referitoare la activitatea antioxidantă a probelor de iaurt cu grăsime. Compușii cu activitate antioxidantă din probele analizate au prezentat o bună stabilitate pe parcursul depozitării (Figura 3), remarcându-se extracția și solubilizarea graduală a unor molecule biologic active din SS și CS în probele de iaurt. Un comportament diferit a fost raportat de Arenahalli ș.a. (2012), care au observat reducerea activității de captare a radicalilor liberi în timpul depozitării iaurtului.



(a)



(b)

Fig. 9.3. Influența suplimentării cu 0,5% și 1% făină din semințe de struguri (05SS și respectiv 1SS) și pulbere din coajă de struguri (05CS și respectiv 1CS) la începutul (v1) sau la finalul (v2) operației de fermentare, asupra activității de captare a radicalilor liberi DPPH (DPPH-RSA) a probelor de iaurt obținute din lapte cu 0,1% (a) și 1,5% (a) grăsime, pe parcursul depozitării timp de 21 zile la temperatura de 4°C.



9.5. Influența suplimentării iaurtului cu subproduse rezultate de la prelucrarea strugurilor asupra fenomenului de sinereză

Capacitatea produselor lactate fermentate de a permite separarea serul pe parcursul depozitării reprezintă un criteriu important ce influențează acceptarea produselor de către consumatori. Verificarea acestei proprietăți a probelor de iaurt suplimentate cu SS sau CS a fost realizată prin determinarea sinerezei probelor pregătite la nivel de laborator, în condiții de centrifugare timp de 15 min la 3500 rpm (Figura 9.4).

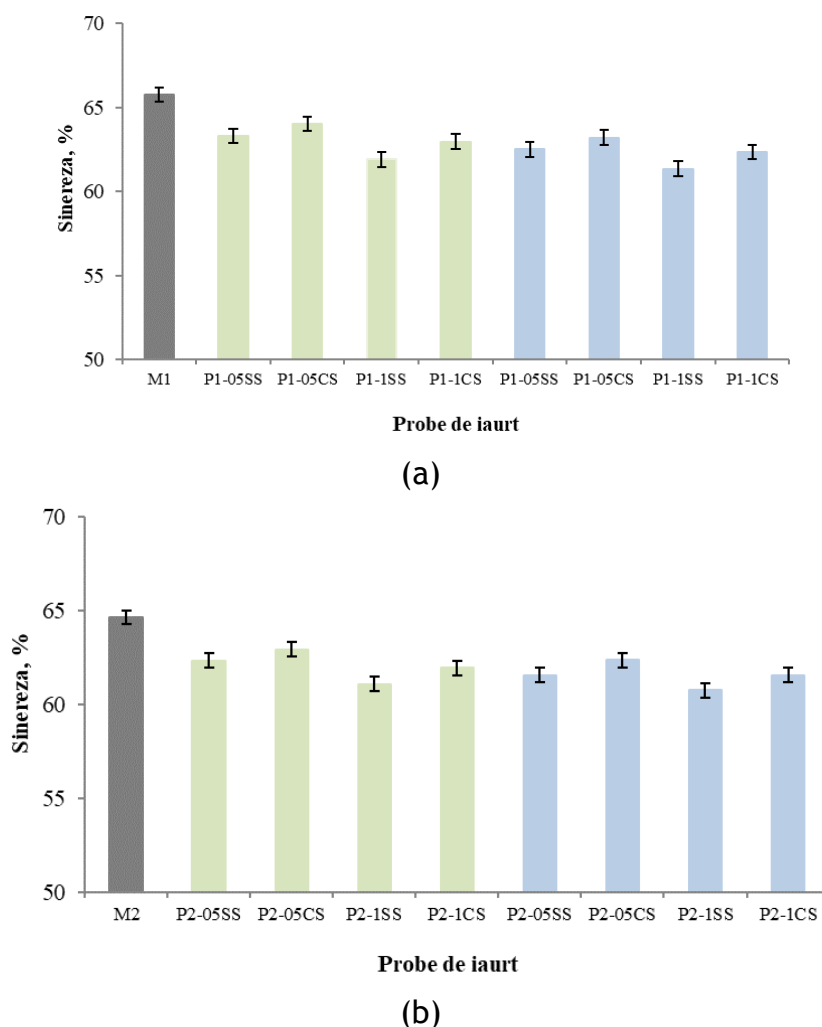


Fig. 9.4. Influența suplimentării cu 0,5% și 1% făină din semințe de struguri (05SS și respectiv 1SS) și pulbere din coajă de struguri (05CS și respectiv 1CS) la începutul (verde deschis) sau la finalul (albastru deschis) operației de fermentare, asupra sinerezei probelor de iaurt din lapte cu 0,1% (a) și 1,5% (a) grăsime

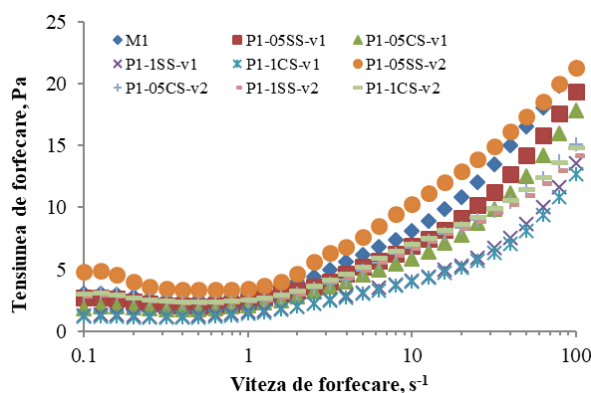


Adaosul de SS și CS a determinat îmbunătățirea semnificativă a capacității de reținere a serului de către probele fermentate. Intensitatea fenomenului de sinereză a fost influențată de tipul și concentrația subprodusului vegetal folosit pentru suplimentarea iaurtului. Deși conținutul de substanță uscată al iaurturilor nu crește semnificativ în cazul suplimentării cu 0,5 sau 1% SS sau CS, cantitatea de zer separată în condiții de centrifugare este semnificativ mai mică la aceste probe, cel mai probabil mulțumită aportului de fibre, atât solubile cât și insolubile, care prezintă o bună capacitate de legare și reținere a apei (Ibrahim și Khalifa, 2015; Damian și Olteanu, 2014).

Probele suplimentate cu SS și CS la finalul fermentării au prezentat un fenomen de sinereză mai puțin intens față de cele suplimentate la începutul operației de fermentare (Figura 9.4). Sub acțiunea enzimelor secretate de bacteriile lactice masa moleculară a unor compușilor din SS și CS este redusă, fiind astfel afectată capacitatea acestora de reținere a serului în matricea de tip gel. Datorită conținutului mai ridicat de fibre (62,8%) SS a prezentat o mai bună abilitate de diminuare a sinerezei iaurturilor în condiții de centrifugare, comparativ cu CS.

9.6. Influența suplimentării iaurtului cu subproduse rezultate la prelucrarea strugurilor asupra proprietăților reologice

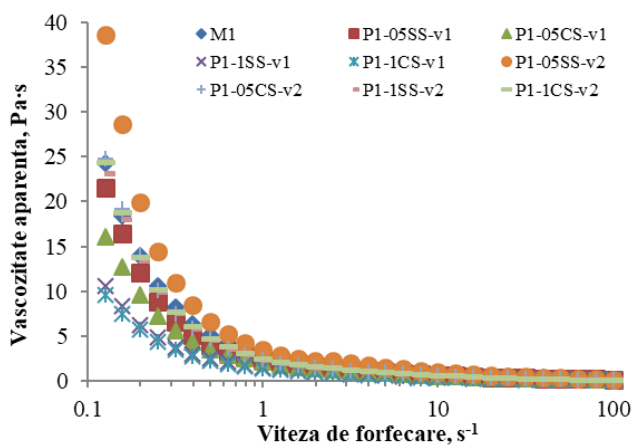
Comportamentul reologic al probelor fermentate suplimentate cu SS și CS a fost determinat la temperatura de 20°C cu ajutorul reometrului cu tensiune controlată AR 2000 (TA Instruments, New Castle, DE). Independent de nivelul de suplimentare cu SS sau CS și de conținutul de grăsime, toate probele obținute la nivel de laborator au prezentat tendință de fluidificare, vâscozitatea probelor modificându-se permanent, datorită modificărilor graduale ale matricei de tip gel și orientării agregatelor moleculare și macromoleculelor în direcția de curgere. Valorile tensiunii de forfecare au crescut, iar cele ale vâscozității aparente au scăzut odată cu creșterea vitezei de forfecare în domeniul 0,1-100 s⁻¹ (Figura 9.5).



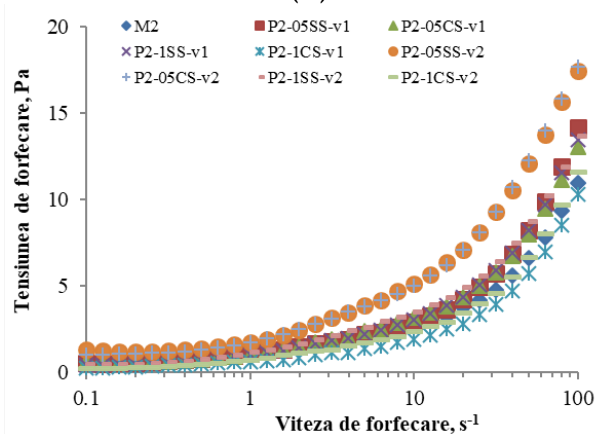
(a)



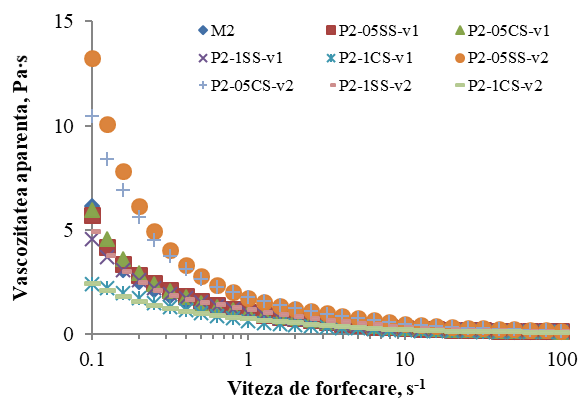
Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287



(b)



(c)



(d)

Fig. 9.5. Influența suplimentării cu 0,5% și 1% făină din semințe de struguri (05SS și respectiv 1SS) și pulbere din coajă de struguri (05CS și respectiv 1CS) la începutul (v1) sau la finalul (v2) operației de fermentare, asupra evoluției tensiunii de forfecare și viscozității aparente în funcție de viteza de forfecare, pentru probe de iaurt din lapte cu 0,1 % (a, b) și 1,5% (c, d) grăsime



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Concluzii

Două subproduse rezultate la prelucrarea strugurilor au fost selectate pentru obținerea de băuturi lactate fermentate cu conținut redus de grăsime și activitate antioxidantă ridicată. S-a urmărit efectul suplimentării cu diferite procente de făina din sâmburi de struguri și pulbere din coajă de struguri asupra derulării fermentației lactice. Indiferent de ingredientul vegetal utilizat și de nivelul de suplimentare, s-a înregistrat o reducere a pH-ului mai accentuată pe parcursul depozitării, comparativ cu probele martor. Creșterea adaosului de făină din sâmburi de struguri și pulbere din coajă de struguri a condus la o acidifiere mai accentuată a probelor de iaurt, valoarea pH-ului final nefiind însă mai mică de 4,2. Intensitatea fenomenului de sinereză a variat în funcție de tipul și concentrația ingredientului vegetal adăugat. Suplimentarea cu făina din sâmburi de struguri sau pulbere din coajă de struguri a determinat diminuarea semnificativă a cantității de ser separat, cele mai bune rezultate fiind înregistrate în cazul suplimentării la finalul operației de fermentare. Activitatea antioxidantă a iaurturilor suplimentate cu subproduse rezultate la procesarea strugurilor a crescut semnificativ odată cu nivelul adaosului.





10. Studiu privind eliberarea aparenta a compusilor fenolici din tescovina de struguri in timpul digestiei *in vitro*

10.1. Material și metodă

S-a analizat tescovina de struguri, definită ca subprodus rezultat în urma procesării strugurilor, compusă din pielițe, semințe și resturi de pulpă. Proba a fost omogenizată anterior analizei pentru asigurarea uniformității. Pentru fiecare test de digestie *in vitro* s-a utilizat o masă de 0,5 g de probă.

10.1.1. Digestia gastrointestinală simulată *in vitro*

Digestia gastrointestinală simulată *in vitro* a fost realizată utilizând un model static standardizat, adaptat după protocoalele dezvoltate de Minekus et al. și Brodtkorb et al., care reproduc condițiile fiziologice ale tractului digestiv uman prin etape succesive orale, gastrice și intestinale. Experimentele au fost efectuate la temperatura fiziologică de 37 °C, sub agitare constantă (100 rpm), pentru a simula mișcările peristaltice. pH-ul a fost ajustat specific fiecărei faze utilizând soluții tampon corespunzătoare, pentru a reflecta mediul enzimatic caracteristic.

Pentru fiecare determinare s-a utilizat o cantitate de 0,5 g de probă de tescovină de struguri, anterior omogenizată pentru asigurarea reprezentativității și reproductibilității analizelor.

Au fost aplicate două abordări experimentale distincte, cu scopul de a evalua diferențele dintre eliberarea fracționată și cea cumulativă a compușilor bioactivi:

a. Protocol R1 digestie secvențială cu colectare pe faze

În acest protocol, fiecare etapă digestivă a fost tratată independent, prin separarea supernatantului după fiecare fază, permițând evaluarea specifică a compușilor solubilizați în fiecare compartiment digestiv.

- **Faza orală:** Proba (0,5 g) a fost amestecată cu 2,5 mL Salivary Simulated Fluid (SSF, pH ≈ 7,0) și incubată timp de 2 minute. După incubare, amestecul a fost centrifugat, iar supernatantul a fost colectat pentru analize ulterioare.
- **Faza gastrică:** Reziduul solid rezultat a fost tratat cu 2,5 mL Gastric Simulated Fluid (SGF, pH 3,0) și incubat timp de 2 ore. După digestie, proba a fost centrifugată și supernatantul gastric a fost separat.
- **Faza intestinală:** Reziduul rămas a fost supus digestiei intestinale prin adăugarea a 2,5 mL Intestinal Simulated Fluid (SIF, pH 7,0), urmată de incubare timp de 2 ore. La final, s-a realizat centrifugarea și colectarea supernatantului intestinal.

Această abordare permite evaluarea distribuției compușilor bioactivi pe parcursul digestiei și evidențierea etapelor dominante de eliberare.

b. Protocol R2 digestie cumulativă fără separare intermediară

În acest caz, digestia a fost realizată în mod continuu, fără separarea fazelor intermediare, pentru a simula mai fidel condițiile fiziologice reale din tractul digestiv.

- **Faza orală:** Proba a fost amestecată cu 2,5 mL SSF și incubată 2 minute la 37°C.
- **Faza gastrică:** Amestecul rezultat a fost completat cu 5 mL SGF și incubat timp de 2 ore.



- **Faza intestinală:** Ulterior, sistemul a fost completat cu 10 mL SIF și incubat încă 2 ore.

La finalul digestiei, reacțiile enzimatică au fost oprite prin răcire rapidă în baie de gheață timp de 10 minute. Amestecul a fost centrifugat la 4500 rpm timp de 30 minute, iar supernatantul final a fost colectat, filtrat prin membrane de 0,45 μm și depozitat la 4 °C până la analiză.

Pentru corectarea contribuțiilor provenite din enzime și mediile de digestie, s-au preparat probe blank în aceleași condiții experimentale, acestea fiind utilizate pentru corecția rezultatelor analitice

10.1.2. Determinarea polifenolilor totali (metoda Folin-Ciocalteu)

Conținutul total de compuși fenolici a fost determinat prin metoda spectrofotometrică Folin-Ciocalteu, bazată pe reacția de oxidare-reducere dintre compușii fenolici și reactivul Folin-Ciocalteu, care conduce la formarea unui complex cromogen de culoare albastră, cuantificabil la lungime de undă specifică. Analiza a fost realizată pe supernatantele obținute în urma digestiei *in vitro*, corespunzătoare fiecărei faze digestive (protocol R1) sau digestiei finale (protocol R2).

În mod tipic, un volum definit de probă a fost amestecat cu reactivul Folin-Ciocalteu, urmat de adăugarea unei soluții alcaline (carbonat de sodiu) pentru dezvoltarea culorii. Amestecul a fost incubat în condiții controlate de timp și temperatură, pentru stabilizarea complexului format. Absorbanța a fost măsurată spectrofotometric la 765 nm, iar concentrația de polifenoli a fost determinată prin raportare la o curbă de calibrare realizată cu acid galic standard. Rezultatele au fost exprimate ca mg echivalenți acid galic (GAE) raportat la volumul de supernatant (mg/L).

Pentru asigurarea acurateții și reproductibilității datelor, toate determinările au fost efectuate în triplicat, iar rezultatele finale au fost exprimate ca medie $\pm$ deviație standard.

Metoda Folin-Ciocalteu, deși larg utilizată pentru evaluarea capacității antioxidante globale, poate prezenta interferențe din partea altor compuși reducători (de exemplu acid ascorbic sau compuși Maillard), motiv pentru care rezultatele trebuie interpretate ca un indicator al capacității reducătoare totale, și nu exclusiv al conținutului fenolic.

10.1.3. Determinarea capacității antioxidante totale

Capacitatea antioxidantă totală a fost determinată prin metoda fotochimiluminiscentei, utilizând aparatul Photochem Analytik Jena (seria 3600344 / N.I. 20302), pe baza excitării fotochimice a radicalilor liberi și a detecției luminometrice a compusilor antioxidanți prezenți în probă. Determinările au fost efectuate pentru fracțiunea hidrosolubilă, iar rezultatele au fost exprimate în echivalenți acid ascorbic. Pentru analiza probei solide de tescovina de struguri s-a utilizat o extracție preliminară. S-a cântărit o masă de probă omogenizată, la care s-a



adaugat solventul de extracție. Amestecul a fost omogenizat manual, apoi centrifugat timp de 5 minute la 10.000 rpm, iar supernatantul obținut a fost utilizat pentru analiză.

Măsurarea s-a realizat conform instrucțiunilor producătorului, folosind kitul ACW pentru antioxidanți hidrosolubili. Rezultatele au fost calculate pe baza valorii citite la aparat, ținând cont de factorul de diluție, masa moleculară a acidului ascorbic, volumul de extracție, volumul pipetat și masa probei, conform relației:
unde: Pentru probe solide se aplică următoarea metodă de calcul:

$$\text{Concentratia} \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mg}} \right] = \frac{Q \times D \times M \times V}{PV \times Mp}$$

Q = valoarea citită la aparat, exprimată în nmoli acid ascorbic,

D = factorul de diluție,

M = masa moleculară a acidului ascorbic, 176,13 ng/nmol,

V = volumul de extracție, mL,

PV = volumul pipetat pentru determinare,

Mp = masa probei, g.

Analizele au fost efectuate în triplicat, iar rezultatele au fost exprimate ca medie.

10.2. Rezultate

10.2.1. Conținutul de polifenoli totali

Determinările efectuate prin metoda Folin-Ciocalteu au evidențiat diferențe semnificative între fazele digestive simulate, reflectând influența condițiilor fiziologice asupra eliberării compușilor fenolici din tescovina analizată. Valorile obținute sunt prezentate în Tabelul 10.1.

Tabel 10.1. Conținutul de polifenoli și capacitatea antioxidantă în funcție de faza digestivă

Proba	Faza digestivă	Polifenoli (mg GAE/L)	Capacitate antioxidantă (μg/mL)
Tescovina	SSF (oral)	967.90 ± 95.47	2.24 ± 0.15
	SGF (gastric)	524.45 ± 64.84	1.25 ± 0.09
	SIF (intestinal)	332.65 ± 29.13	0.81 ± 0.05
	R2 (final)	162.94 ± 16.47	0.39 ± 0.01

Contrar tendinței frecvent raportată în literatură, unde se observă o creștere a polifenolilor în fazele avansate ale digestiei, în cazul de față se evidențiază o scădere progresivă a concentrației de polifenoli de la faza orală către cea intestinală.

Figura 10.1 prezintă variația conținutului de polifenoli totali în funcție de faza digestivă. Se observă o scădere progresivă a concentrației de la faza orală (SSF, 967.9 mg GAE/L) către digestia completă (R2, 162.9 mg GAE/L). Această tendință descrescătoare indică degradarea sau transformarea compușilor fenolici în condițiile



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

mediului gastric și intestinal, precum și posibile interacțiuni cu componentele matricei alimentare care reduc fracția solubilă detectabilă.

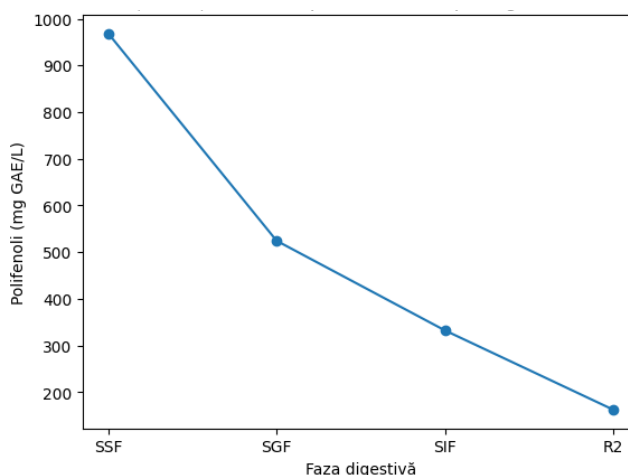


Figura 10.1. Evoluția conținutului de polifenoli totali în timpul digestiei *in vitro*

Distribuția procentuală a polifenolilor între fazele digestive este prezentată în Figura 10.2:

- faza orală: 45,0%
- faza gastrică: 23,2%
- faza intestinală: 31,8%

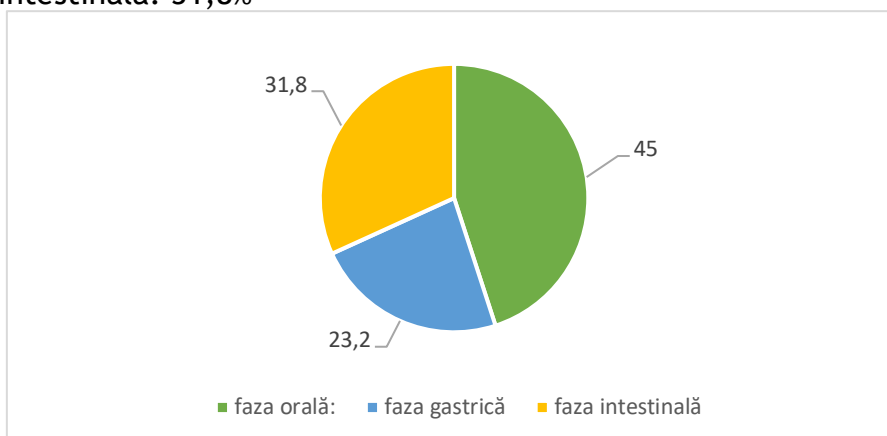


Figura 10.2. Distribuția procentuală a polifenolilor între fazele digestive

Această tendință poate fi atribuită unui cumul de procese, incluzând:

- degradarea compușilor fenolici în condiții acide (faza gastrică)
- transformări structurale și oxidări în timpul digestiei
- interacțiuni cu proteinele și fibrele, care reduc fracția solubilă detectabilă

Studii similare au arătat că stabilitatea polifenolilor depinde puternic de structura chimică, compușii simpli fiind mai susceptibili la degradare în mediul gastric [1-5].



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

10.2.2. Capacitatea antioxidantă totală

Capacitatea antioxidantă urmează aceeași tendință descendentă ca și conținutul de polifenoli:

- maxim în faza orală: 2.24 $\mu\text{g/mL}$
- minim după digestia completă: 0.39 $\mu\text{g/mL}$

Pentru extractul total s-a calculat: 24.08 $\mu\text{g/mg}$ echivalent acid ascorbic

Această valoare indică o activitate antioxidantă relevantă, comparabilă cu subproduse vegetale bogate în compuși bioactivi. Corelația directă între polifenoli și capacitatea antioxidantă confirmă literatura, unde se arată că polifenolii sunt principalii contribuitori la activitatea antioxidantă.

Transformări chimice ale compușilor bioactivi în timpul digestiei

Pe parcursul digestiei *in vitro*, compușii bioactivi din tescovină sunt supuși unui ansamblu complex de transformări chimice și fizico-chimice, determinate de variațiile de pH, temperatură, prezența oxigenului dizolvat și interacțiunile cu componentele matricei alimentare. (Tabel 10.2) Aceste procese conduc la modificări semnificative ale fracției solubile și, implicit, ale concentrațiilor determinate experimental. În faza orală, caracterizată prin pH neutru și timp scurt de contact, predomină procesele de solubilizare rapidă a compușilor fenolici liberi sau slab legați. În aceste condiții, transformările chimice sunt limitate, iar structura compușilor rămâne relativ stabilă, ceea ce explică valorile ridicate observate experimental. Odată cu trecerea în faza gastrică, mediul devine puternic acid, ceea ce determină modificări importante ale echilibrului chimic. Compușii fenolici pot suferi procese de protonare, modificări de ionizare și interacțiuni mai intense cu componentele matricei, în special proteinele și fibrele. Aceste interacțiuni pot conduce la formarea unor complexe mai stabile sau la reținerea compușilor în faza solidă, reducând astfel fracția detectabilă în supernatant [9]. În paralel, condițiile acide pot favoriza degradarea parțială a unor structuri fenolice sensibile. În faza intestinală, creșterea pH-ului spre valori neutre sau ușor alcaline și prezența sărurilor biliare și a enzimelor digestive modifică semnificativ comportamentul sistemului.





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim
METROFOOD-RO Evolve, Cod SMIS 2021+ 309287

Tabel 10.2. Principalele reacții chimice implicate în digestia compușilor fenolici și interacțiunea cu matricea

Tip reacție	Clasa de compuși implicați	Mecanism chimic	Ecuatie generalizată	Condiții favorizante	Efect asupra polifenolilor	Relevanță experimentală
Oxidare fenolică	Acizi fenolici, flavonoide	Transfer de electron și formare radical fenoxil	$\text{ArOH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{ArO}\cdot + \text{HO}_2\cdot$	pH neutru-alcalin, O_2 dizolvat	Scădere concentrație, formare quinone	Scădere în SGF/SIF
Transformare în quinone	Radicali fenoxil	Rearanjare și oxidare secundară	$\text{ArO}\cdot \rightarrow \text{Ar}=\text{O}$ (quinonă)	Mediu oxidant	Pierdere capacitate antioxidantă	Corelat cu scăderea activității
Reacții radicalice (antioxidante)	Polifenoli	Donare de H către radicali	$\text{ArOH} + \text{ROO}\cdot \rightarrow \text{ArO}\cdot + \text{ROOH}$	Prezență radicali lipidici	Consum polifenoli	Corelație cu antioxidant
Hidroliză glicozidică	Flavonoide glicozilate	Clivaj legătură O-glicozidică	$\text{Ar-O-Glc} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ArOH} + \text{Glc}$	pH intestinal, enzime	Creștere polifenoli liberi	Creștere în SIF
Hidroliză esterică	Acizi fenolici legați	Ruptură legături esterice	$\text{Ar-COO-R} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ar-COOH} + \text{R-OH}$	Mediu enzimatic	Eliberare compuși fenolici	Eliberare secundară
Complexare cu proteine	Polifenoli + proteine	Legături H + interacțiuni hidrofobe	$\text{ArOH} + \text{Protein Complex}$	pH acid	Reducere fracție liberă	Scădere în SGF
Adsorbție pe fibre	Polifenoli + fibre	Interacții fizico-chimice	$\text{ArOH} + \text{Matrix ArOH}_{\text{bound}}$	Conținut ridicat de fibre	Retenție în solid	Valori reduse în supernatantul final (R2)





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Precipitare	Taninuri, polifenoli mari	Formare agregate insolubile	$n\text{ArOH} \rightarrow \text{agregate}$	pH acid	Reducerea fracției solubile detectabile	SGF scăzut
Oxidare lipidică (cuplată)	Acizi grași	Inițiere radicalică	$\text{LH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{L}^\bullet + \text{HO}_2^\bullet$	O_2 , temperatură	Generare radicali	Consum polifenoli
Reacții de terminare	Radicali fenolici	Recombinare radicalică	$\text{ArO}^\bullet + \text{ArO}^\bullet \rightarrow$ dimeri	Concentrații mari radicali	Formare compuși inactivi	Scădere antioxidant





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

În aceste condiții, interacțiunile dintre compușii fenolici și matricea solidă pot fi destabilizate, favorizând procese de desorbție și eliberare secundară [10]. De asemenea, reacțiile de hidroliză ale formelor conjugate pot conduce la formarea de compuși fenolici liberi, mai ușor detectabili. Pe tot parcursul digestiei, compușii fenolici sunt implicați într-un echilibru dinamic între procese de eliberare, transformare și retenție [11]. Reacțiile de oxidare, favorizate de prezența oxigenului dizolvat, pot conduce la formarea de produși oxidați și la reducerea capacității antioxidante. În același timp, interacțiunile cu matricea alimentară, în special cu fracția fibroasă, joacă un rol major în limitarea transferului compușilor în faza lichidă. În cazul digestiei cumulative, aceste procese se suprapun și se amplifică [12]. Interacțiunea prelungită între faza lichidă și matricea solidă, asociată cu creșterea volumului total al sistemului, conduce la un efect combinat de diluție și retenție. Astfel, valorile determinate în supernatantul final reflectă doar fracția bioaccesibilă, iar o parte semnificativă a compușilor fenolici rămâne asociată structurii solide. Comportamentul compușilor bioactivi în timpul digestiei este rezultatul interacțiunii dintre proprietățile lor chimice intrinseci și caracteristicile matricei alimentare. Înțelegerea acestor mecanisme este esențială pentru interpretarea corectă a rezultatelor experimentale și pentru fundamentarea etapelor ulterioare de modelare a proceselor implicate.





11. Optimizarea proceselor de obținere extracte polifenolice și ridicare la scară cu valorificarea reziduurilor

11.1. Introducere

Vița de vie (*Vitis vinifera* L.) reprezintă o cultură de importanță economică majoră, peste 80% din producția globală de struguri fiind destinată producției de vin, cu o producție anuală de peste 258 de milioane de hectolitri (OIV, 2024). Procesul de vinificație generează cantități substanțiale de subproduse, în principal tescovină, drojdie de vin și ape uzate, ceea ce creează probleme de mediu și economice (Constantin și colab., 2024). Printre aceste reziduuri, tescovina este cea mai abundentă, reprezentând 20-30% din greutatea totală a strugurilor prelucrați în timpul procesului de vinificație, care constă din piele reziduale, semințe și tulpini (Moutinho și colab., 2023).

În mod tradițional tescovina este considerată ca deșeu agricol și consumată prin practici precum compostarea, depozitarea în depozitele de deșuri sau utilizarea ca hrană pentru animale (Wang și colab., 2024). Deși aceste metode contribuie la gestionarea deșeurilor, ele pot duce și la acidifierea solului, emisii de metan și poluarea apei, ceea ce ridică îngrijorări cu privire la impactul lor asupra mediului (Abreu și colab., 2024). Mai mult, creșterea gradului de conștientizare a provocărilor legate de sustenabilitate a stimulat interesul pentru valorificarea tescovinei ca resursă mai degrabă decât ca produs rezidual. Cu toate acestea, o provocare majoră pentru implementarea strategiilor de procesare pentru valorificarea tescovinei este variația mare a compoziției acesteia, care este atribuită diferitelor soiuri de struguri, locații geografice și proceduri de vinificație.

În acest sens, acest studiu a avut ca scop analizarea unor tescovine provenite din diferite soiuri de struguri albi și roșii din punct de vedere al conținutului în compuși valoroși în vederea selectării ca o potențială materie primă regenerabilă pentru obținerea de produse cu valoare adăugată.

Utilizarea subproduselor din viticultură, și anume tescovina de struguri (coji și semințe), ca sursă de nutrienți, este promițătoare și a fost deja adoptată în viticultura organică (Paradelo și colab., 2011). Pe lângă faptul că este ieftină și accesibilă fermierilor, încorporarea compostului pe bază de tescovină de struguri sau a vermicompostului în fertilizarea solului poate servi ca o soluție durabilă de gestionare a deșeurilor. Compoziția reziduurilor din tescovină de struguri nu numai că răspunde cerințelor nutriționale ale viței de vie, dar introduce și materie organică care aduce beneficii semnificative sănătății solului. Aceasta include îmbunătățiri ale structurii solului, o retenție sporită a apei și o activitate microbiană crescută, promovând un mediu mai echilibrat din punct de vedere ecologic (Cataldo și colab., 2021).

11.2. Material biologic

Au fost selectate probe de tescovină provenind din trei soiuri de struguri albi (Feteasca alba, Riesling și Muscat Ottonel) și două soiuri de struguri roșii (Feteasca



Neagra și Cabernet Sauvignon), având caracteristici diferite din punct de vedere fizic, chimic și senzorial.

11.3. Metode de analiză

Glucidele solubile totale au fost determinate spectrofotometric prin metoda Nelson (Iordăchescu și Dumitru, 1988), care se bazează pe reacția de culoare a glucidelor solubile direct reducătoare cu reactivul alcalin de cupru, la cald. În urma reacției, glucidele se oxidează la acidul aldonic corespunzător, iar cuprul este regăsit în precipitatul de oxid cupros format. În continuare oxidul cupros reduce acidul fosfomolibdenic ducând la formarea unui oxid mixt de molibden, colorat în albastru. Pentru analiza glucidelor solubile totale se face în prealabil și o hidroliză acidă, la cald, a glucidelor nereducătoare din proba. În final, se determină spectrofotometric extincția pentru $\lambda=630$ nm.

Polifenolii au fost determinați printr-o metodă spectrofotometrică ce se bazează pe reducerea fosfotungsticilor și fosfomolibdaților din reactivul Folin-Ciocalteu (Singleton și colab., 1999).

Flavonoidele au fost analizate printr-o metodă spectrofotometrică ce se bazează pe formarea unor complecși galbeni, stabili, între ioni de Al(III) și grupările ceto și hidroxil ale flavonoidelor (Nicolescu și colab., 2025).

Antocianii au fost analizați printr-o metodă spectrofotometrică bazată pe modificarea culorii antocianilor în funcție de pH (Versari și colab., 2007). Se măsoară variația absorbanței culorii antocianilor la două valori de pH (0,6 și 3,5) în raport cu apă distilată. Măsurătorile se fac la lungimea de undă de 520 nm, absorbanta probelor fiind proporțională cu conținutul în antociani.

Activitatea antioxidantă

Acțiunea antioxidantă/antiradicalică a probelor de tescovina a fost evaluată prin două metode bazate pe mecanisme diferite, DPPH și ABTS, folosind un spectrofotometrul Edinburgh DS5 achiziționat din fondurile proiectului METROFOOD.RO Evolve (Figura 11.1).

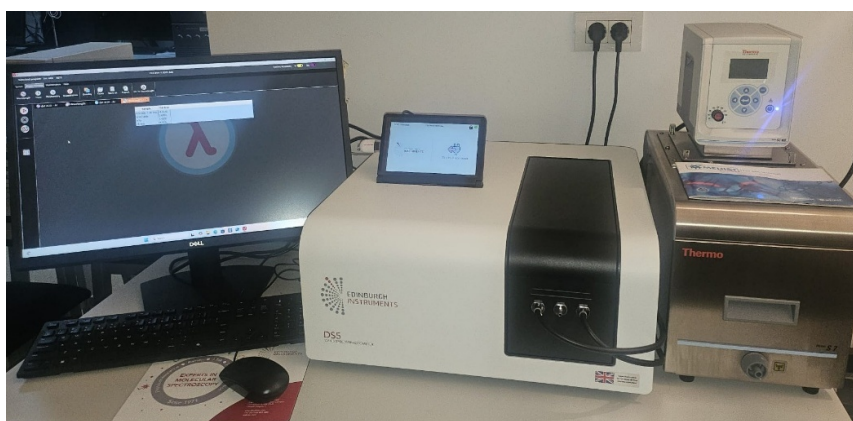


Figura 11.1. spectrofotometru Edinburgh DS5



Prima metodă spectrofotometrică monitorizează reducerea radicalului DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Blois, 1958; Brand-Williams și colab., 1995). DPPH-ul este un radical liber stabil datorită faptului că electronul liber aparține întregii molecule astfel încât molecula nu poate dimeriza ceea ce se întâmplă cu majoritatea radicalilor liberi. Acest tip de structură face ca DPPH-ul să aibe o culoare intensă, violetă cu un maxim de absorbție în jur de 515 nm. Când radicalul este pus în prezența unui donor de hidrogen are loc oxidarea moleculei cu apariția formei reduse a DPPH, care este incoloră. Dispariția culorii violet, deci diminuarea absorbanței depinde linear de concentrația antioxidantului intrat în reacție.

Extrakte de diferite concentrații au fost analizate din punct de vedere al capacității lor de a transforma radicalul DPPH. Pentru fiecare caz s-a calculat parametrul EC_{50} , care reprezintă concentrația probei (mg/ml) pentru care are loc transformarea a 50% din radicalul liber de DPPH). Pentru interpretarea rezultatelor se folosește un standard adecvat, care în funcție de natura probei poate fi: acidul ascorbic, glutatoniul etc.

A doua metodă spectrofotometrică monitorizează reducerea radicalului cationic **ABTS•+** [2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic acid)], conform metodei descrise de Caño și colab. (2023). Radicalul **ABTS•+** este obținut prin oxidarea ABTS în prezența persulfatului de amoniu și prezintă o colorație intensă albastru-verzuie, cu un maxim de absorbție în jurul lungimii de undă de 734 nm. În prezența compușilor antioxidanți, radicalul cationic **ABTS•+** este redus la forma neutră, necolorată, a ABTS, ceea ce determină diminuarea absorbanței soluției.

Extrakte de tescovină cu concentrații diferite au fost analizate din punct de vedere al capacității lor de a reduce radicalul cationic **ABTS•+**. Pentru fiecare extract s-a determinat parametrul IC_{50} , care reprezintă concentrația extractului, exprimată în mg/mL, necesară pentru reducerea cu 50% a radicalului cationic **ABTS•+**. IC_{50} a fost determinat prin interpolarea curbei care exprimă variația inhibiției în funcție de concentrația extractului. Valorile mai mici ale IC_{50} indică o activitate antioxidantă mai mare, deoarece o cantitate mai mică de extract este necesară pentru obținerea inhibiției de 50%.

Conținutul de taninuri a fost determinat prin metoda leucocianidinelor (metoda LA) (Onache și colab., 2022). Metoda se bazează pe proprietatea unor taninuri de a se transforma, în condiții de temperatură ridicată și mediu puternic acid, în compuși de tip antocianidinic, în principal cianidină, care prezintă o colorație roșie. Intensitatea culorii formate este proporțională cu concentrația taninurilor din probă și este evaluată spectrofotometric.

Conținutul total de taninuri condensate a fost determinat prin metoda vanilinei (Rădulescu și colab., 2024). Metoda se bazează pe reacția dintre vanilină și flavanoli, inclusiv monomeri și oligomeri de tip flavan-3-ol, în mediu acid. Reacția conduce la formarea unui compus colorat roșu, a cărui intensitate este proporțională cu concentrația taninurilor condensate din probă.

Metoda leucocianidinelor și metoda vanilinei nu sunt echivalente și nu determină exact aceeași fracție de taninuri. Metoda LA estimează taninurile capabile să formeze



compuși antocianidinici în condiții puternic acide și la temperatură ridicată, în timp ce metoda vanilinei este orientată în special către flavanoli și taninuri condensate cu unități reactive de tip flavan-3-ol.

11.4. Rezultate și discuții

Caracterizarea extractelor de tescovină obținute prin metoda optimizată

a. Conținut în glucide solubile totale

Tescovina de struguri conține glucide reziduale în cantitate de 15-60% raportat la substanță uscată, deși cantitățile variază foarte mult în funcție de soiul de struguri, sol și procesele de vinificație. Acestea sunt reprezentate de glucide simple (cum ar fi glucoza și fructoza reziduală) și polizaharide structurale complexe (în principal fibre alimentare, celuloză și pectină) (Blasi și colab., 2024).

Glucanii (8,04-12,7%) constituie principalele glucide structurale, urmate de xilan, în timp ce glucidele totale solubile au fost între 7,79 și 108 g/kg, fiind cunoscut faptul că strugurii au un conținut de zahăr destul de ridicat. Glucidele prezente în cantitate mare în tescovină sunt glucoza și fructoza. Antoniț și colab. (2020) au raportat că glucoza a variat între 0,21 și 26,34 g/100 g, iar fructoza între 0,38 și 8,91 g/100 g.

Analiza conținutului în glucide solubile totale în probele de tescovină din soiurile selectate pentru acest studiu a indicat un conținut mediu mai mare în tescovina din soiurile de struguri albi (15,91 g%) în raport cu cea din struguri roșii (1,79 g%). Pentru tescovina albă au fost determinate valori cuprinse între 13,87 g% (soiul Riesling) și 17,39 g% (soiul Muscat Ottonel), în timp ce dintre soiurile de struguri roșii analizate, valoarea cea mai mare a fost determinată în tescovina provenită din soiul Cabernet Sauvignon (2,34 g%) (tabel 11.1).

Tabel 11.1. Conținutul în glucide în probele de tescovină

Varietati de tescovină	Glucide solubile totale (g%)
Fetească albă	16,47
Riesling	13,87
Muscat Ottonel	17,39
Fetească Neagră	1,24
Cabernet Sauvignon	2,34

Rezultatele obținute în acest studiu sunt în concordanță cu date din literatură, care arată că tipurile de tescovina albă și roșie diferă în principal prin cantitățile de glucide solubile și fibre alimentare, datorită procesului diferit de vinificație. Tescovina albă este bogată în glucide simple (glucoză și fructoză), înregistrând până la 25%-77% din substanța uscată, deoarece suc de struguri este presat înainte de fermentare, lăsând aceste zaharuri în subprodusele solide rezultate. În schimb, tescovina roșie are un conținut foarte scăzut de zahăr (de obicei 1,3%-2,5% din substanța uscată), deoarece întreaga masă de struguri zdrobită fermentează cu drojdie, care consumă în mod natural majoritatea zaharurilor. Pe de altă parte, tescovina roșie conține semnificativ mai multe



fibre alimentare insolubile (celuloză și hemiceluloză) și polizaharide structurale complexe datorită timpului de contact mai lung cu pielețele și semințele în timpul procesului de macerare și fermentare (Jin și colab., 2019).

b. Evaluarea activității antioxidante

Cercetări recente s-au concentrat pe evaluarea proprietăților funcționale ale tescovinei derivate din diverse soiuri de struguri, în special a capacității sale antioxidante și a activităților biologice.

Testele în vitro, cum ar fi DPPH, ABTS, FRAP și ORAC au demonstrat în mod constant potențialul antioxidant puternic al extractelor de tescovina (Cañadas și colab., 2023; Radulescu și colab., 2024). În plus, modelele biologice au elucidat în continuare efectele antiinflamatorii și protectoare ale acestor extracte (Bocsan și colab., 2022; Calabriso și colab., 2022; Chedea și colab., 2022).

Activitatea antioxidantă a extractelor de tescovina este atribuită în principal conținutului de polifenoli totali, de antociani și flavonoide (Jin și colab., 2019; Karastergiou și colab., 2025).

Tabelul 11.2 prezintă activitățile antioxidante determinate la probele de tescovină analizate, alături de conținutul în polifenoli totali analizați în studiile anterioare la aceleași probe. Analiza datelor obținute indică cea mai mare activitate antioxidantă la soiul Fetească Neagră (evaluată prin ambele metode), care a înregistrat și cel mai mare conținut de polifenoli, confirmând corelația dintre cei doi parametri.

Tabel 11.2. Activitatea antioxidantă a tescovinelor testate

Varietăți de tescovină	Polifenoli (mg GAE/g)	EC ₅₀ (mg/g) - DPPH	IC ₅₀ (mg/g) - ABTS
Fetească albă	27,89 ± 1,05	12,60	4,29
Riesling	33,27 ± 1,76	5,70	2,86
Muscat Ottonel	24,95 ± 0,37	7,20	1,33
Fetească Neagră	47,51 ± 1,07	3,30	1,20
Cabernet Sauvignon	32,51 ± 0,87	15,45	7,46

Prin metoda DPPH, extractul de Fetească Neagră a prezentat cea mai mică valoare EC₅₀, de 3,3 mg/g, ceea ce indică cea mai mare capacitate de neutralizare a radicalului DPPH dintre soiurile analizate. Activitatea antioxidantă a fost urmată de cea a extractelor de Riesling, Muscat Ottonel, Cabernet Sauvignon și Fetească Albă.

Rezultatele obținute prin metoda ABTS au evidențiat aceeași superioritate a soiului Fetească Neagră, care a prezentat cea mai mică valoare IC₅₀, de 1,2 mg/g. Muscat Ottonel a ocupat a doua poziție, cu 1,33 mg/g, urmat de Riesling, Fetească Albă și Cabernet Sauvignon. Această distribuție confirmă faptul că Fetească Neagră are cea mai ridicată activitate antioxidantă în condițiile experimentale utilizate, indiferent de metoda aplicată.



Dintre soiurile de struguri albi se remarcă Rieslingul, care a prezentat o activitate antioxidantă ridicată prin metoda DPPH, cu o valoare EC_{50} de 5,7 mg/g, precum și un conținut relativ ridicat de polifenoli, de $33,27 \pm 1,76$ mg GAE/g. Prin metoda ABTS, Muscat Ottonel s-a remarcat prin cea mai mică valoare IC_{50} dintre soiurile albe, de 1,33 mg/g, deși a prezentat cel mai redus conținut total de polifenoli. Acest rezultat arată că activitatea antioxidantă nu este determinată exclusiv de cantitatea totală de polifenoli, ci și de natura și reactivitatea compușilor individuali.

Rezultatele obținute pentru Muscat Ottonel sunt relevante deoarece acest soi a prezentat cel mai mic conținut de polifenoli, de $24,95 \pm 0,37$ mg GAE/g, dar o activitate ABTS mai mare decât Fetească Albă și Riesling. Această situație poate fi explicată prin prezența unor compuși fenolici cu activitate antioxidantă ridicată, chiar dacă aceștia contribuie mai puțin la conținutul total determinat prin metoda Folin-Ciocalteu. De asemenea, este posibil ca metoda ABTS să fie mai sensibilă la anumite clase de compuși prezenți în extractul de Muscat Ottonel (Bordt și colab., 2022).

Cabernet Sauvignon a prezentat un conținut de polifenoli de $32,51 \pm 0,87$ mg GAE/g, apropiat de cel al soiului Riesling, dar activitatea antioxidantă a fost mai redusă prin ambele metode. Valoarea EC_{50} DPPH a fost de 15,45 mg/g, iar valoarea IC_{50} ABTS a fost de 7,46 mg/g. Diferența dintre Cabernet Sauvignon și Riesling sugerează că un conținut similar de polifenoli totali nu implică în mod obligatoriu o activitate antioxidantă similară. Compoziția calitativă a fracției fenolice, proporția flavonoidelor, antocianinelor, taninurilor și acizilor fenolici poate avea un rol mai important decât cantitatea totală de polifenoli (Xu și colab., 2015).

Studii anterioare sunt în concordanță cu aceste rezultate, raportând faptul că tescovina de struguri roșii a prezentat valori ridicate ale compușilor fenolici totali, ale flavonoizilor totali și ale antocianinelor, precum și cea mai mică valoare EC_{50} dintre probele analizate, ceea ce indică o activitate antioxidantă ridicată (Iora și colab., 2015). Cu toate acestea, rezultatele obținute în experimentul de față pentru Cabernet Sauvignon nu au evidențiat cea mai mare activitate antioxidantă, ceea ce poate fi explicat prin diferențele dintre soiuri, condițiile de cultivare, tehnologia de vinificație și metoda de extracție (Iora și colab., 2015; Moutinho și colab., 2023; Prata și colab., 2025).

Guardianelli și colab. (2025) au evidențiat, de asemenea, diferențe importante între soiurile de struguri în ceea ce privește conținutul de polifenoli și activitatea antioxidantă, extractul de Cabernet prezentând valori mai reduse decât extractul de Isabella în condițiile analizate. Aceste observații susțin importanța originii varietale în determinarea potențialului antioxidant al tescovinei și arată că răspunsul antioxidant poate varia semnificativ chiar și între soiuri utilizate pentru vinificație.

Rezultatele obținute pentru Fetească Neagră sunt susținute de cercetările realizate pe soiuri românești. Grosu și colab. (2024) au raportat o activitate antioxidantă mai mare pentru extractele provenite din Fetească Neagră decât pentru cele obținute din Tămâioasă Românească, în special în cazul tescovinei integrale și al semințelor. Această observație este concordantă cu rezultatele prezente, deoarece Fetească Neagră a prezentat simultan cel mai mare conținut de polifenoli, cea mai mică valoare EC_{50} DPPH și cea mai mică valoare IC_{50} ABTS.



Aceste rezultate identifică aceste soiuri ca fiind deosebit de promițătoare pentru explorare și valorificare ulterioară.

c. Conținutul în taninuri

Conținutul de taninuri determinat prin metoda leucocianidinelor a variat considerabil între soiurile analizate, de la 36,27 mg/g pentru Riesling până la 564,02 mg/g pentru Fetească Neagră (Tabel 3). Aceste diferențe evidențiază influența soiului asupra acumulării taninurilor și sugerează că apartenența la grupa soiurilor roșii sau albe nu explică singură variația observată (Guaita și Bosso, 2019; Kammerer și colab., 2004).

Tabel 11.3. Conținutul în taninuri tescovinelor testate

Varietăți de tescovină	Taninuri (mg/g)	Taninuri condensate (mg/g)
Fetească albă	103,62 ± 2,12	39,12 ± 0,15
Riesling	36,27 ± 1,1	35,06 ± 1,21
Muscat Ottonel	107,23 ± 2,01	47,04 ± 1,13
Fetească Neagră	564,02 ± 10,04	92,02 ± 1,56
Cabernet Sauvignon	315,59 ± 3,14	39,83 ± 0,09

Valoarea ridicată obținută pentru Fetească Neagră, de 564,02 mg/g (Tabel 3), indică o acumulare importantă de compuși capabili să formeze produși colorați de tip cianidinic în condițiile acide și termice ale metodei LA. Această tendință este în concordanță cu rezultatele raportate pentru soiurile roșii românești, care au prezentat un conținut fenolic ridicat și o activitate antioxidantă mai mare decât soiurile albe (Rădulescu și colab., 2024). Totuși, în studiul respectiv, Fetească Albă și Fetească Neagră au fost descrise ca fiind relativ apropiate în anumite caracteristici fitochimice, ceea ce arată că diferențele dintre soiuri pot fi mai importante decât simpla separare între struguri roșii și albi.

Compararea cu rezultatele obținute de Onache și colab. (2022), utilizând metoda leucocianidinelor, arată că valorile din experimentul de față se încadrează parțial în intervalele raportate pentru tescovină. În studiul menționat, conținutul de taninuri a variat între 178,70 și 448,15 mg/g, cu valori ridicate pentru Muscat Ottonel și Tămâioasă Românească. Prin comparație, valoarea obținută pentru Muscat Ottonel în experimentul de față, 107,23 mg/g, este mai redusă, iar valoarea pentru Fetească Neagră, 564,02 mg/g, este ușor superioară intervalului raportat.

Fetească Albă a prezentat un conținut de taninuri de 103,62 mg/g (Tabel 3), în timp ce Riesling a avut cea mai mică valoare, de 36,27 mg/g. Diferența dintre aceste două soiuri albe indică faptul că tescovina provenită din struguri albi nu trebuie considerată uniform săracă în taninuri. Într-un studiu asupra mai multor soiuri albe și roșii, Onache și colab. (2022) au observat că unele tescovine albe pot reprezenta surse importante de taninuri, în timp ce tescovinele roșii se remarcă mai ales prin conținutul de antociani. Prin urmare, valoarea ridicată a Muscat Ottonel față de Riesling este compatibilă cu variabilitatea descrisă în literatura de specialitate.



Conținutul total de taninuri condensate determinat prin metoda vanilinei a variat între 35,06 mg/g pentru Riesling și 92,02 mg/g pentru Fetească Neagră (Tabel 3). Rezultatele obținute sunt parțial concordante cu cele obținute prin metoda LA, deoarece Fetească Neagră a prezentat cea mai mare valoare prin ambele metode, iar Riesling una dintre cele mai mici valori. Concordanța pentru aceste două soiuri sugerează că Fetească Neagră are o fracție importantă de compuși fenolici reactivi atât în condițiile metodei LA, cât și în reacția cu vanilina.

Valoarea de 92,02 mg/g obținută pentru Fetească Neagră prin metoda vanilinei este superioară valorilor obținute pentru celelalte soiuri (Tabel 3). Acest rezultat poate fi asociat cu proporția mai mare de semințe și pielțe bogate în flavan-3-oli și proantocianidine. Studiile arată că semințele de strugure sunt, în general, mai bogate în taninuri condensate decât pielțele, iar diferențele dintre soiuri pot fi amplificate de condițiile de vinificație și de gradul de extracție (Guaita și colab., 2023).

Cabernet Sauvignon a prezentat 315,59 mg/g taninuri prin metoda LA și 39,83 mg/g taninuri condensate prin metoda vanilinei (Tabel 3). Rezultatul prin metoda vanilinei este apropiat de valorile obținute pentru Fetească Albă și Riesling și nu pare neobișnuit, având în vedere că acest soi a avut un conținut de polifenoli totali mai mic decât Fetească Neagră (Tabel 2). În schimb, valoarea LA este mult mai mare decât valoarea obținută prin vanilină, ceea ce poate fi explicat prin faptul că cele două metode nu determină aceeași fracție de compuși. Metoda LA cuantifică substanțele capabile să formeze produși de tip cianidinic în condiții acide și la temperatură ridicată, în timp ce metoda vanilinei răspunde în special la flavanoli și la unitățile reactive de tip flavan-3-ol.

Diferența dintre metode este evidentă și pentru Muscat Ottonel, care a prezentat 107,23 mg/g prin metoda LA și 47,04 mg/g prin metoda vanilinei (Tabel 3). În cazul tescovinei de Fetească Neagră, diferența a fost mai pronunțată, respectiv 564,02 mg/g comparativ cu 92,02 mg/g. Aceste rezultate nu trebuie interpretate ca o contradicție, deoarece metoda LA și metoda vanilinei au selectivități diferite și pot răspunde diferit la structura, gradul de polimerizare și reactivitatea taninurilor. Diferențe importante între conținutul de taninuri reactive la vanilină și conținutul de proantocianidine au fost observate și între soiuri, pielțe și semințe în studiile asupra tescovinei de struguri (Guaita și Bosso, 2019).

În ansamblu, Fetească Neagră se evidențiază ca soiul cu cel mai mare potențial pentru acumularea de taninuri și taninuri condensate, deoarece a prezentat cele mai mari valori prin ambele metode. Muscat Ottonel și Fetească Albă au prezentat valori intermediare prin metoda LA, în timp ce Riesling a avut cele mai mici valori. Rezultatele indică faptul că soiul, proporția de semințe și pielțe și condițiile de vinificație au avut probabil o influență mai importantă asupra conținutului de taninuri decât simpla clasificare a tescovinelor în roșii și albe.

Determinarea taninurilor și a taninurilor condensate permite evaluarea potențialului bioactiv, antioxidant și de valorificare a tescovinelor ca sursă de ingrediente funcționale, deoarece acești compuși contribuie la capacitatea antioxidantă și la proprietățile astringente ale extractelor (Xu și colab., 2016; Guaita și colab., 2023).



Analiza lor este utilă și pentru compararea soiurilor și optimizarea extracției, întrucât conținutul de taninuri variază în funcție de soi, proporția de semințe și pielețe și tehnologia de vinificație (Onache și colab., 2022).

11.5. Obținerea prin ridicare la scară și caracterizarea extractelor de tescovina roșie din soiul Cabernet Sauvignon

11.5.1. Stabilirea parametrilor de lucru

Extracția optimizată a compușilor polifenolici stabilită prin experimentele anterioare, viza următorii parametri de lucru pentru tescovina roșie raport solid:lichid de 1:15 g/mL, temperatura de 55 °C, timp de 35 de minute, utilizând etanol 65% acidifiat cu 0,1% HCl. Extracția s-a realizat printr-o metodă asistată de ultrasunete.

Înainte de realizarea extracției la scară mărită, au fost efectuate experimente comparative pentru identificarea unei metode alternative de agitare, care să permită menținerea unor rezultate comparabile cu cele obținute prin extracția optimizată asistată de ultrasunete (Tabel 11.4). Optimizarea metodei a urmărit nu numai obținerea unui conținut ridicat de compuși polifenolici, ci și reducerea consumului de solvent și utilizarea unei cantități mai mari de tescovină, astfel încât procesul să fie mai eficient și mai ușor de transferat către volume de extracție mai mari. Pentru diferitele variante de extracție s-a folosit tescovina provenită de la Cabernet Sauvignon.

Tabel 11,4. Conținutul în polifenoli a variantelor de extracție

Variante de extracție	Raport extracție (g/ml)	Etanol acidifiat cu 0,1% HCl (%)	Perioada extracție (min)	Polifenoli (mg GAE/g)
US	1:15	65	35	32,51 ± 0,87
AG1	1:15	65	35	31,53 ± 0,72
AG2	1:10	65	35	31,48 ± 0,64
AG3	1:5	65	35	17,94 ± 0,58
AG4	1:5	60	50	18,79 ± 0,51
AG5	1:5	55	60	22,69 ± 0,65
AG6	1:5	50	75	19,40 ± 0,57
AG7	1:5	40	75	21,48 ± 0,59
AG8	1:5	40	90	23,15 ± 0,63

*US-ultrasonicare, AG-agitare

Compararea probelor US și AG1, obținute la aceiași parametri de extracție, evidențiază o bună concordanță între extracția asistată de ultrasunete și extracția prin agitare. Conținutul de polifenoli a fost de 32,51 ± 0,87 mg GAE/g pentru US și de 31,53 ± 0,72 mg GAE/g pentru AG1, diferența fiind de numai 0,98 mg GAE/g, respectiv aproximativ 3%. Acest rezultat indică faptul că agitarea poate constitui o alternativă eficientă la ultrasunete, cu rezultate comparabile în condițiile utilizate.

Concordanța dintre US și AG1 este importantă pentru transferul procesului către volume mai mari, deoarece agitarea este mai ușor de aplicat în vase de extracție cu



volum crescut. Diferențele dintre randamentele de extracție obținute prin metode diferite pot fi influențate de transferul de masă, de gradul de contact dintre solvent și matricea vegetală și de caracteristicile soiului (Guaita și Bosso, 2019; Guaita și colab., 2023).

În cadrul variantelor realizate prin agitare, AG1, AG2 și AG3 au fost comparate pentru evaluarea influenței raportului solid:lichid. La raportul 1:15 g/mL, AG1 a prezentat un conținut de $31,53 \pm 0,72$ mg GAE/g, iar reducerea volumului de solvent la raportul 1:10 g/mL, în cazul AG2, a condus la o valoare foarte apropiată, de $31,48 \pm 0,64$ mg GAE/g. Această diferență minimă indică faptul că reducerea raportului de extracție de la 1:15 la 1:10 nu a afectat semnificativ recuperarea polifenolilor.

În schimb, reducerea suplimentară a volumului de solvent la raportul 1:5 g/mL, în cazul AG3, a determinat scăderea conținutului de polifenoli la $17,94 \pm 0,58$ mg GAE/g, cu aproximativ 43% față de AG1 și AG2. Rezultatul sugerează că raportul 1:5 nu a asigurat un contact suficient între solvent și matricea de tescovină sau o solubilizare eficientă a compușilor fenolici. Influența raportului solid:lichid asupra randamentului extracției este raportată și în literatura de specialitate, unde modificarea volumului de solvent poate determina diferențe importante în recuperarea polifenolilor din tescovină (Onache și colab., 2022; Guaita și colab., 2023).

Prin urmare, raportul 1:10 g/mL a fost selectat ca variantă optimă pentru extracția prin agitare, deoarece a permis obținerea unui conținut de polifenoli comparabil cu cel obținut la raportul 1:15, utilizând însă un volum mai redus de solvent și permițând procesarea unei cantități mai mari de tescovină.

Influența concentrației etanolului și a perioadei de extracție a fost analizată concomitent pentru variantele AG3-AG8, toate realizate la raportul de extracție 1:5 g/mL. În această serie, concentrația etanolului a fost redusă progresiv de la 65% la 40%, iar timpul de extracție a fost prelungit de la 35 la 90 de minute. La 65% etanol și 35 de minute, AG3 a prezentat un conținut de $17,94 \pm 0,58$ mg GAE/g, iar reducerea concentrației la 60%, concomitent cu prelungirea timpului la 50 de minute, a determinat o creștere redusă, până la $18,79 \pm 0,51$ mg GAE/g.

O creștere mai evidentă a fost observată pentru AG5, realizată cu etanol 55% și timp de extracție de 60 de minute, care a prezentat $22,69 \pm 0,65$ mg GAE/g. În cazul AG6, reducerea concentrației etanolului la 50% și prelungirea timpului la 75 de minute nu au condus la o creștere suplimentară, valoarea obținută fiind de $19,40 \pm 0,57$ mg GAE/g. Acest rezultat arată că relația dintre concentrația solventului și durata extracției nu este strict liniară și că eficiența procesului depinde de interacțiunea dintre polaritatea solventului, timpul de contact și caracteristicile matricei vegetale.

Cele mai bune rezultate din această serie au fost obținute cu etanol 40%. AG7, realizată timp de 75 de minute, a prezentat $21,48 \pm 0,59$ mg GAE/g, iar prelungirea timpului la 90 de minute, în cazul AG8, a crescut conținutul de polifenoli la $23,15 \pm 0,63$ mg GAE/g. Prin urmare, reducerea concentrației etanolului la 40%, asociată cu prelungirea extracției la 90 de minute, a reprezentat cea mai eficientă combinație dintre variantele AG3-AG8.



Utilizarea unui solvent hidroalcoolic mai diluat și prelungirea timpului de extracție pot favoriza recuperarea unor compuși fenolici cu polaritate diferită, în timp ce un timp mai lung permite desfășurarea progresivă a proceselor de difuzie și solubilizare. Literatura confirmă faptul că randamentul extracției polifenolilor din tescovină depinde de interacțiunea dintre concentrația solventului, timpul de extracție, raportul solid:lichid și natura matricei vegetale (Onache și colab., 2022; Rădulescu și colab., 2024; Guaita și Bosso, 2019).

Rezultatele obținute au permis selectarea parametrilor de lucru pentru extracția prin agitare, și anume: raport de extracție 1:10 g/mL, solvent: etanol 40% acidifiat cu 0,1% HCl, temperatura de 55 °C, timp de 90 de minute. Pentru varianta optimizată conținutul de polifenoli a fost de $37,5 \pm 1,26$ mg GAE/g.

11.5.2. Evaluarea procesului de extracție la scară mărită

Ridicarea la scară a fost realizată exclusiv pentru proba de tescovină de Cabernet Sauvignon, utilizând două volume de lucru. Primul experiment a fost efectuat la flacoane de 100 ml, cu un volum util de 60 mL, iar al doilea la flacoane de 500 ml cu un volum util de 300 mL. Succesiunea etapelor, condițiile de extracție optimizate, metoda de agitare utilizată pentru ridicarea la scară și cele două variante de volum sunt prezentate în Figura 3.

Extracțele obținute la nivel de laborator și la cele două volume de lucru, respectiv 60 mL și 300 mL, au fost caracterizate din punct de vedere al conținutului de polifenoli totali, flavonoide totale și antociani și au fost comparate cu cele obținute la experimentele anterioare derulate la nivel de 10 ml (Tabel 5). Compararea acestor parametri a permis evaluarea influenței creșterii volumului de extracție asupra compoziției fitochimice a extractului de tescovină de Cabernet Sauvignon.

Rezultatele indică o diminuare progresivă a conținutului compușilor bioactivi odată cu creșterea volumului de extracție. Polifenolii totali au prezentat cea mai redusă scădere relativă, de aproximativ 5% la volumul intermediar de 60ml și 9,5% la volumul de 300ml (Tabel 11.5), ceea ce sugerează menținerea unei eficiențe generale relativ bune a procesului de extracție.

Tabel 11.5. Conținutul în polifenoli a variantelor de extracție

Tescovină Cabernet Sauvignon	Polifenoli (mg GAE/g)	Antociani (mg/g)	Flavonoide (mg/g)
10ml	$37,5 \pm 1,26$	$21,50 \pm 1,61$	$1,60 \pm 0,09$
60ml	$35,63 \pm 1,2$	$19,00 \pm 1,42$	$1,30 \pm 0,07$
300ml	$33,92 \pm 1,14$	$16,50 \pm 1,23$	$1,02 \pm 0,06$

Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

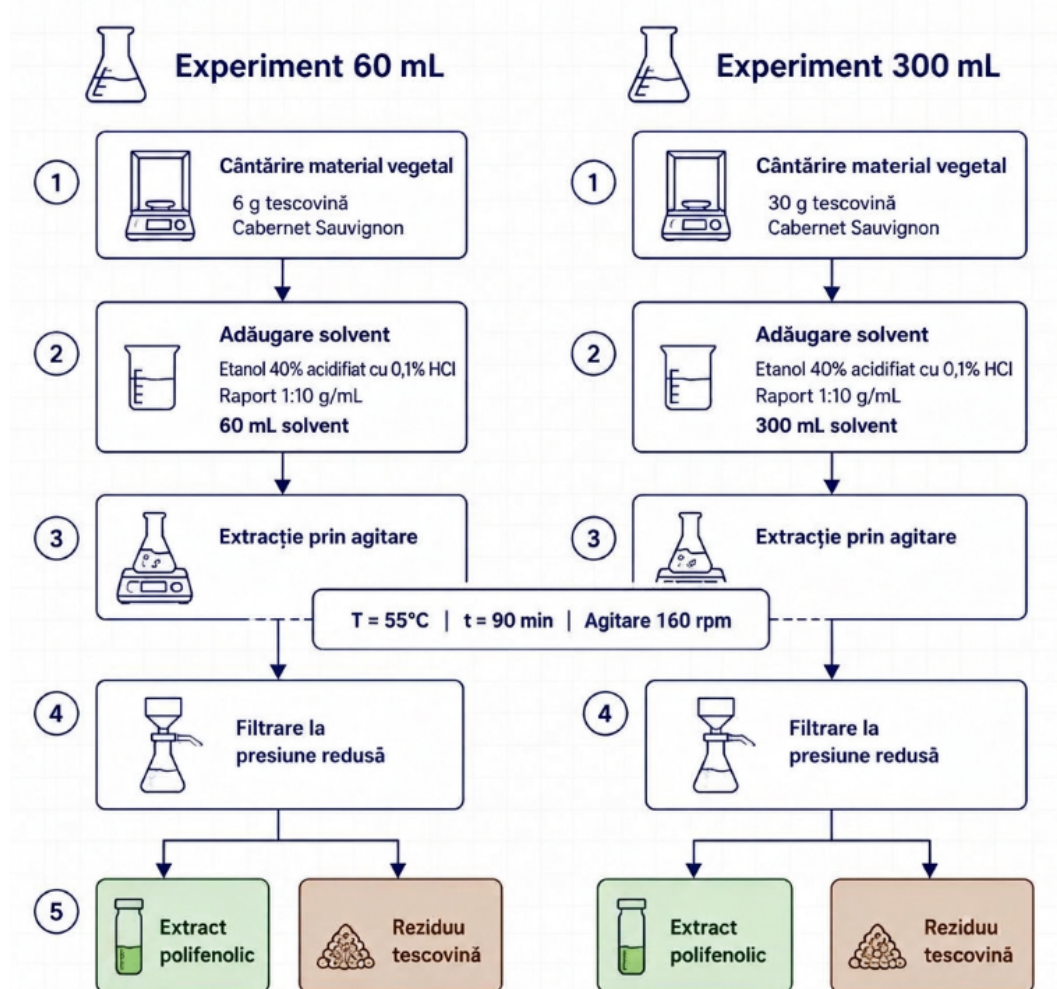


Figura 11.3. Schema experimentală a extracțiilor de tescovină la scară mărită

Reducerea moderată a polifenolilor totali indică faptul că procesul de ridicare la scară nu a compromis complet transferul compușilor fenolici din matrice în solvent. Totuși, creșterea volumului poate modifica omogenizarea sistemului, circulația solventului și contactul dintre particulele de tescovină și faza lichidă, ceea ce explică diminuarea progresivă a randamentului.

Flavonoidele au prezentat o scădere mai accentuată decât polifenolii totali, de aproximativ 11,6% la volumul intermediar și 23,3% la volumul cel mai mare, comparativ cu nivelul de laborator (Tabel 11.5). Această tendință sugerează că fracția flavonoidică a fost mai sensibilă la modificarea condițiilor de procesare decât conținutul fenolic total. Reducerea poate fi asociată cu o extracție mai puțin uniformă și cu o expunere mai îndelungată la agitare, care poate favoriza degradarea unor compuși flavonoidici (Chaves și colab., 2020).



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Antocianii au prezentat cea mai pronunțată diminuare, pierderea relativă ajungând la aproximativ 18,8% pentru volumul intermediar de 60ml și 36,3% pentru volumul de 300ml (Tabel 11. 5). Sensibilitatea mai ridicată a acestei clase de compuși este în concordanță cu literatura, care indică faptul că antocianii pot atinge rapid un platou de extracție, iar prelungirea tratamentului nu conduce neapărat la o recuperare suplimentară. În anumite condiții, timpul extins de extracție și încălzirea prelungită pot favoriza degradarea antocianilor (Dranca și Oroian, 2019; Panić și colab., 2024).

11.5.3. Bilanțul material al procesului de extracție la 300ml

După caracterizarea extractelor obținute la nivel de laborator și prin ridicarea succesivă la 60 ml și 300 ml, etapa următoare a urmărit evaluarea bilanțului material al procesului la volumul de 300 ml, realizat într-un incubator cu agitare Heidolph 1000 (Figura 11.4).



Figura 11.4. Realizarea extracțiilor la flacoane de 500 ml, cu volum util de 300 ml

În acest scop, au fost înregistrate diverse date ce permit aprecierea randamentului practic al extracției și identificarea pierderilor de material asociate etapelor de amestecare, filtrare și recuperare a extractului (Figura 11.5).

Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

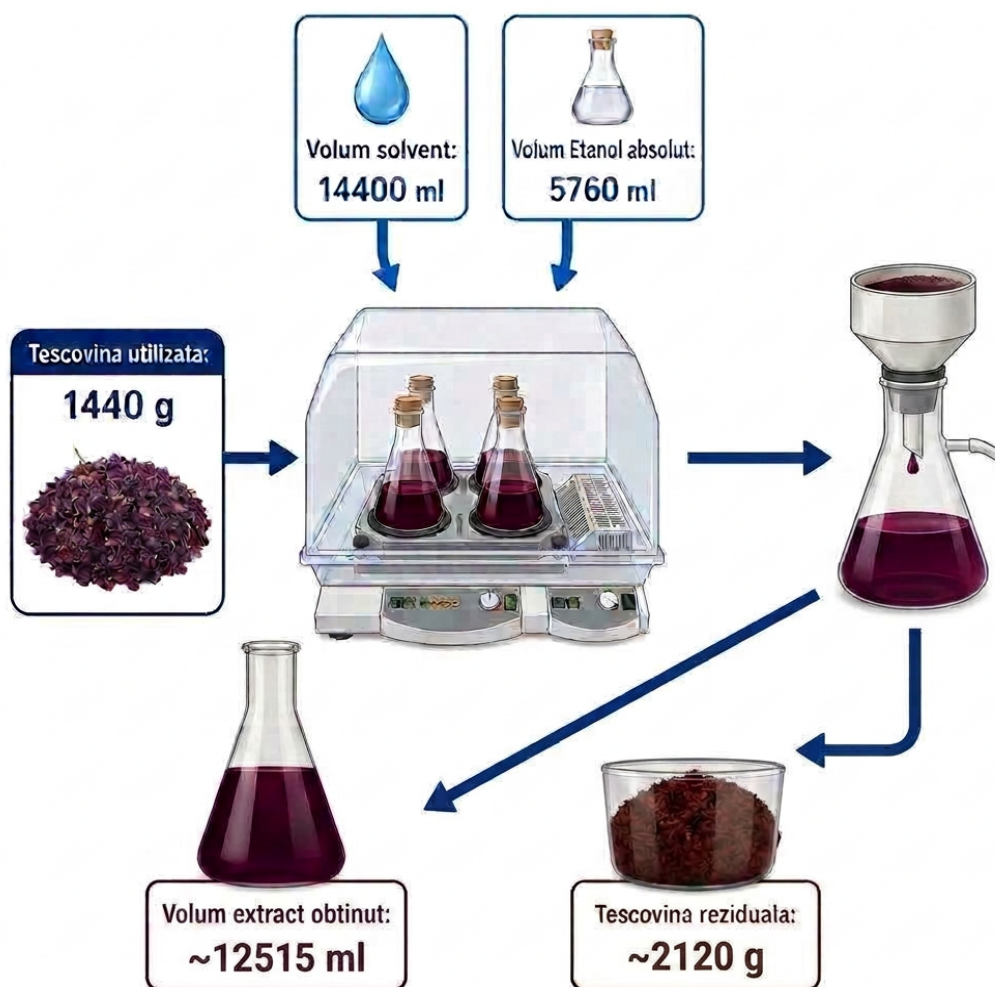


Figura 11.5. Bilanțul material al extracției la scară mărită

Aproximativ 86,91% din volumul inițial de solvent a fost recuperat sub formă de extract (Figura 11.5). Diferența reprezentând aproximativ 13,09% din volumul inițial, poate fi atribuită solventului reținut în tescovina reziduală, pierderilor din timpul filtrării și transferului, precum și evaporării parțiale sau variațiilor de volum determinate de temperatura procesului.

11.6. Valorificarea tescovinei reziduale

Tescovina reziduală umedă (Figura 11.7) obținută după separarea extractului a fost direcționată către compostare, transformând un flux secundar al procesului într-o resursă valorificabilă.

Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

În acest sens, cca 1670g tescovină reziduală a fost adăugată în aparat de compostare Oklin GG02 (Figura 6), împreună cu 200g starter (compost provenit din compostări anterioare din cireșe, dovleac, pepene galben și banane).



Figura 11.6. Compostarea tescovinei reziduale

În final, după compostare, s-au obținut cca 650g compost (Figura 11.7), ceea ce a însemnat o reducere a amestecului tescovină + starter de 71,7%.

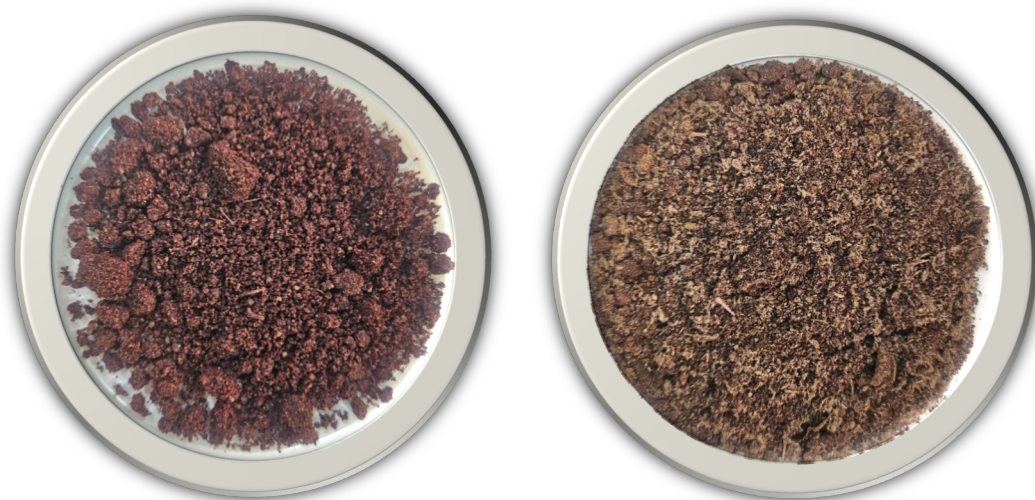


Figura 11.7. Tescovină reziduală (stânga) și compost din tescovină (dreapta)

Această abordare de valorificare a tescovinei reziduale se înscrie în principiile bioeconomiei circulare, prin care subprodusele agroalimentare sunt reintegrate în ciclurile biologice și utilizate pentru obținerea unor produse sau servicii cu valoare adăugată, în loc să fie eliminate ca deșeuri. Compostarea contribuie astfel la reducerea cantității de reziduuri generate, la recuperarea materiei organice și la diminuarea consumului de resurse externe, completând procesul de valorificare a tescovinei prin utilizarea succesivă a fracției lichide pentru obținerea compușilor bioactivi și a fracției solide pentru producerea compostului (Constantin și colab., 2024).

Utilizarea directă a tescovinei reziduale ca amendament organic poate fi limitată de compoziția sa, de gradul de biodegradabilitate al materiei organice, de echilibrul raportului C/N și de prezența polifenolilor reziduali. Aplicarea tescovinei netratate poate induce efecte fitotoxice asupra plantelor, deoarece anumiți compuși fenolici pot inhiba germinarea și dezvoltarea rădăcinilor (Domínguez et al., 2016). Prin urmare, compostarea reprezintă o etapă de stabilizare biologică prin care compușii ușor biodegradabili sunt transformați, iar materialul rezidual poate dobândi caracteristici mai favorabile pentru utilizarea agronomică. Studiile asupra compostării tescovinei au evidențiat obținerea unor materiale mature și stabile, cu potențial de utilizare ca amendamente organice pentru sol (Pinto et al., 2023).

În cazul tescovinei rezultate după extracția compușilor polifenolici, compostarea permite valorificarea în cascadă a biomasei. Astfel, fracția lichidă este utilizată inițial pentru recuperarea compușilor bioactivi, iar biomasa solidă epuizată este ulterior transformată prin compostare într-un material organic stabil, în loc să fie eliminată ca deșeu. Aplicarea succesivă a extracției și compostării a fost propusă ca strategie integrată pentru valorificarea tescovinei, fără compromiterea procesului de compostare și cu îmbunătățirea stabilității materialului final (Perra et al., 2022). Această abordare



contribuie la reducerea fluxului rezidual și la recuperarea materiei organice, fiind în concordanță cu principiile bioeconomiei circulare și ale utilizării eficiente a resurselor.

11.7. Concluzii

Pe lângă abordarea provocărilor legate de gestionarea deșeurilor, recuperarea compușilor bioactivi din tescovina oferă un potențial semnificativ pentru dezvoltarea de extracte de înaltă valoare, bogate în compuși bioactivi, cu potențiale aplicații în diferite industrii.

Analiza conținutului de glucide solubile a indicat o valoare medie de 9 ori mai mare în tescovina provenită din struguri albi comparativ cu cea din struguri roșii, fapt explicabil prin diferențele în ceea ce privește procesul de obținere a vinului din cele două tipuri de struguri. Dintre soiurile de tescovină analizate în acest studiu s-a remarcat soiul Muscat Ottonel de struguri albi ca având cel mai mare conținut de glucide solubile reziduale.

În ceea ce privește activitatea antioxidantă, s-a remarcat tescovina de Fetească neagră, prin ambele metode folosite. Activitatea antioxidantă a depins atât de cantitatea totală de polifenoli, cât și de compoziția extractului.

Soiul și proporția de semințe și pielețe au influențat acumularea taninurilor și a taninurilor condensate. În ansamblu, Fetească Neagră se evidențiază ca soiul cu cel mai mare potențial pentru acumularea de taninuri și taninuri condensate, deoarece a prezentat cele mai mari valori prin ambele metode. Muscat Ottonel și Fetească Albă au prezentat valori intermediare prin metoda LA, în timp ce Riesling a avut cele mai mici valori. Rezultatele indică faptul că soiul, proporția de semințe și pielețe și condițiile de vinificație au avut probabil o influență mai importantă asupra conținutului de taninuri decât simpla clasificare a tescovinelor în roșii și albe.

Agitarea a reprezentat o alternativă adecvată la extracția asistată de ultrasunete pentru transferul la scară mărită, însă creșterea volumului a determinat o diminuare progresivă, dar redusă a recuperării compușilor bioactivi. Rezultatele indică o diminuare progresivă a conținutului compușilor bioactivi odată cu creșterea volumului de extracție. Polifenolii totali au prezentat cea mai redusă scădere relativă, de aproximativ 5% la volumul intermediar de 60ml și 9,5% la volumul de 300ml, ceea ce sugerează menținerea unei eficiențe generale relativ bune a procesului de extracție.

În ansamblu, compostarea tescovinei reziduale a redus semnificativ masa amestecului și a transformat fracția solidă epuizată într-un compost valorificabil, confirmând eficiența unei strategii integrate de recuperare a compușilor bioactivi și de valorificare circulară a biomasei.

Rezultatele obținute sunt importante pentru promovarea marilor cantități de tescovină de struguri ca subproduse care pot fi reutilizate în diferite industrii ca o alternativă ieftină de obținere a unor produse funcționale noi.



12. Extracția compușilor polifenolici din tescovină prin percolare asistată de ultrasunete și valorificarea acestora în formularea de biopesticide

12.1. Oportunitatea valorificării tescovinei în contextul economiei circulare și al agriculturii sustenabile

Tescovina, subprodus rezultat din procesarea strugurilor în industria vinicolă, reprezintă o sursă importantă de compuși bioactivi, în special polifenoli (flavonoide, acizi fenolici, taninuri). Acești compuși prezintă activitate antioxidantă, antimicrobiană și potențial pesticid natural, fiind de interes pentru dezvoltarea biopesticidelor ecologice.

Utilizarea tescovinei de struguri în formularea biopesticidelor reprezintă o oportunitate strategică ce răspunde provocărilor actuale de mediu și economice. Din punct de vedere ecologic, acest proiect transformă un subprodus agricol masiv, care adesea poluează solul prin depozitare necontrolată din cauza acidității și a conținutului ridicat de fenoli, într-o resursă valoroasă pentru agricultura ecologică. Valorificarea sa reduce dependența de pesticidele de sinteză, diminuând astfel fenomenul de rezistență a dăunătorilor și acumularea de reziduuri toxice în lanțul alimentar.

Din perspectivă tehnică, tescovina este un rezervor natural de molecule bioactive (resveratrol, quercitină, taninuri) care au evoluat natural pentru a proteja planta de stresul biotic. Extracția acestora prin metode avansate, precum percolarea asistată de ultrasunete, permite obținerea unor extracte concentrate cu stabilitate ridicată și spectru larg de acțiune (antifungic, insecticid și bactericid).

Sub aspect economic, materia primă este extrem de ieftină și disponibilă în cantități industriale în regiunile viticole, oferind un avantaj competitiv major în producția de inputuri agricole sustenabile. Astfel, proiectul nu doar că optimizează gestionarea deșeurilor în industria vinicolă, dar propune și o soluție de tip economie circulară, transformând un cost de eliminare într-o sursă de profit, sprijinind în același timp tranziția către o agricultură "verde" și sigură pentru sănătatea umană.

Metodele convenționale de extracție sunt adesea consumatoare de timp, solvent și energie. Utilizarea ultrasunetelor în procesul de extracție poate crește eficiența prin fenomenul de cavitație acustică, care determină ruperea pereților celulari și creșterea transferului de masă.

Scopul studiului este optimizarea extracției polifenolilor din tescovină prin percolare asistată ultrasonic și evaluarea potențialului extractului obținut ca biopesticid.

12.2. Obiectiv general

Obiectivul general constă în dezvoltarea, optimizarea și caracterizarea avansată a unor extracte bioactive obținute din subproduse viticole (tescovină), prin implementarea unei metodologii inovatoare de percolare asistată de ultrasunete (UAE).



Cercetarea vizează transformarea unei matrice lignocelulozice reziduale într-un produs cu dublă funcționalitate – biopesticid și biofertilizant – integrabil în sistemele de agricultură sustenabilă și economie circulară.

12.3. Direcții strategice și obiective specifice

Pentru atingerea obiectivului general, cercetarea este structurată pe trei piloni fundamentali care vizează eficiența transferului de masă, stabilitatea chimică și performanța biologică a extractelor.

12.3.1. Optimizarea procesului de extracție prin percolare asistată de ultrasunete

Principalul focus tehnic constă în exploatarea fenomenului de cavitație acustică pentru a maximiza randamentul de extracție a compușilor termolabili. Se urmărește determinarea parametrilor cinetici optimi prin variația controlată a următoarelor variabile:

- ✓ Intensitatea câmpului ultrasonic: Stabilirea pragului de cavitație necesar pentru distrupția peretelui celular al exocarului și semințelor de struguri, fără degradarea structurii stilbenilor și flavonoidelor.
- ✓ Dinamica solventului în regim de percolare: Analiza influenței debitului de solvent și a raportului solid-lichid asupra gradientului de concentrație, asigurând o epuizare superioară a matricei vegetale comparativ cu metodele convenționale.
- ✓ Temperatura și timpul de contact: Minimizarea consumului energetic și prevenirea oxidării polifenolilor prin menținerea unui regim termic moderat (30-45°C).

12.3.2. Caracterizarea fitochimică și profilarea bioactivă

Obiectivul vizează analiza calitativă și cantitativă a „ampretei” polifenolice. Această etapă utilizează tehnici analitice pentru:

- ✓ Cuantificarea fracțiilor polifenolice: Determinarea concentrației de polifenoli totali (TPC), flavonoide totale (TFC) și taninuri condensate.
- ✓ Identificarea elictorilor cheie: Monitorizarea prezenței resveratrolului și a acizilor fenolici (galic, ferulic), compuși cu rol determinant în inducerea rezistenței sistemice a plantelor.
- ✓ Evaluarea capacității antioxidante: Determinarea potențialului de captare a radicalilor liberi, indicator direct al stabilității extractului în condiții de expunere la radiații UV post-aplicare.

12.3.3. Evaluarea potențialului dual: bioprotecție și biostimulare

Ultima etapă a obiectivului general presupune fundamentarea teoretică și experimentală a aplicabilității extractului în fitotehnie:

- ✓ Funcția biopesticidă: Analiza mecanismelor prin care complexul de proantocianidine și flavonoli exercită presiune selectivă asupra fungilor fitopatogeni (ex. Botrytis cinerea) și dăunătorilor entomologici, prin inhibarea enzimatică și perturbarea integrității membranare.
- ✓ Funcția biofertilizantă: Investigarea rolului extractului în facilitarea absorbției nutrienților minerali și stimularea metabolismului azotului. Se urmărește demonstrarea capacității produsului de a acționa ca biostimulator al creșterii vegetative, îmbunătățind vigoarea plantelor și reziliența acestora la stresul abiotic.



12.3.4. Evaluarea impactului

Prin realizarea acestui obiectiv, lucrarea propune o soluție tehnologică de tip "zero deșeuri", demonstrând că percolarea asistată de ultrasunete reprezintă o metodă superioară de valorificare a tescovinei, ca subprodus. Rezultatul final este un prototip de extract, capabil să substituie parțial pesticidele de sinteză, reducând amprenta chimică asupra agroecosistemelor și promovând sănătatea solului prin aportul de materie organică bioactivă.

12.4. Profilul fitochimic al tescovinei asociat potențialul biopesticid al compușilor polifenolici

Tescovina de struguri reprezintă o sursă complexă de metaboliți secundari, în special compuși polifenolici, care sunt sintetizați de vița-de-vie ca mecanism de apărare împotriva stresului abiotic și a agenților patogeni (fungi, bacterii, insecte). În contextul formulării de biopesticide, interesul se concentrează asupra următoarelor clase de compuși:

Flavonoidele: Quercitina și Kaempferolul

Flavonoidele sunt cei mai abundenți polifenoli din tescovină. Dintre aceștia, flavonolii (quercitina) și flavan-3-olii (catechina, epicatechina) joacă un rol crucial:

- Mecanism de acțiune: Acești compuși pot inhiba enzimele digestive ale insectelor și pot perturba procesul de hrănire.
- Activitate antifungică: Quercitina demonstrează capacitatea de a altera integritatea membranei celulare a fungilor fitopatogeni, precum *Botrytis cinerea*.

Pe lângă rolul lor antioxidant binecunoscut, quercitina și kaempferolul acționează ca veritabile bariere chimice împotriva stresului biotic. La nivel molecular, acești flavonoli intervin în metabolismul energetic al dăunătorilor prin inhibarea fosforilării oxidative, proces care privează insectele de energia necesară supraviețuirii. Mai mult, prezența lor în formulările de biopesticide induce o stare de stres oxidativ în celulele patogene, generând specii reactive de oxigen (ROS) care degradează proteinele și acizii nucleici ai fungilor.

Efectul de perturbare al procesului de hranire menționat anterior este completat de capacitatea acestor molecule de a complexa metalele esențiale din dieta insectelor, făcându-le indisponibile pentru procesele fiziologice normale. În ceea ce privește activitatea antifungică, s-a observat că quercitina nu doar distruge membrana celulară, ci interferează și cu sinteza de ergosterol, o componentă vitală a peretelui celular fungic, similar modului de acțiune al multor fungicide de sinteză moderne. Această dublă acțiune – perturbarea nutriției insectelor și distrugerea structurală a fungilor – transformă extractul de tescovină bogat în flavonoide într-un agent de biocontrol polivalent, capabil să limiteze răspândirea coloniilor de *Botrytis cinerea* și a altor patogeni virulenți fără a lăsa reziduuri toxice pe culturi.

Fungicidele de sinteză conventionale, din clasa azolilor sunt extrem de eficiente în agricultura intensivă, însă utilizarea lor ridică probleme majore legate de rezistența dobândită a patogenilor și toxicitatea reziduurilor. În acest context, flavonoidele precum quercitina și kaempferolul oferă o alternativă sustenabilă prin mecanisme de acțiune



distincte și complementare. În timp ce azolii țintesc o singură cale metabolică specifică, flavonoidele din tescovină poate ataca patogenul pe mai multe fronturi simultan: perturbă integritatea membranei, blochează transportul de electroni în mitocondrii și inhibă enzimele extracelulare. Acest mecanism multi-țintă face ca probabilitatea ca fungii (precum *Botrytis cinerea*) să dezvolte rezistență mai mică comparativ cu produsele de sinteză. Spre deosebire de fungicidele convenționale, care pot persista în sol și în pânza freatică luni de zile, flavonoidele sunt molecule organice care se degradează natural, servind ulterior ca nutrienți pentru microbiota solului.

Stilbenii: resveratrolul

Resveratrolul este considerat o fitoalexină – o substanță produsă de plantă special ca răspuns la atacul patogen. Rolul în biopesticide: Este extrem de eficient în inhibarea germinării sporilor fungici. Concentrația sa în tescovină (mai ales în pielea) îl face un candidat ideal pentru extractele destinate combaterii manei sau făinării.

Sinergie: Deși prezent în cantități mai mici decât flavonoidele, resveratrolul acționează sinergic cu acestea, potențând toxicitatea extractului total asupra dăunătorilor, fără a afecta fauna utilă.

Resveratrolul ocupă un loc central în potentialul chimic al tescovinei, fiind sintetizat de vița-de-vie prin calea fenilpropanoidelor ca răspuns direct la infecții fungice sau radiații UV. În formulările de biopesticide, acesta funcționează ca un inhibitor puternic al proceselor de transport electronic mitocondrial în celulele fungice, blocând producția de ATP și, implicit, stopând elongarea hifelor și formarea coloniilor. Această capacitate de a "îngheța" dezvoltarea patogenului în stadii incipiente îl face extrem de valoros pentru controlul preventiv al manei (*Plasmopara viticola*) și al făinării (*Uncinula necator*). Eficacitatea sa este îmbunătățită de fenomenul de sinergie biochimică: în prezența flavonoidelor (precum quercitina), permeabilitatea membranelor celulare ale dăunătorilor crește, permițând resveratrolului să pătrundă mai rapid în citoplasmă. Mai mult, spre deosebire de pesticidele sintetice care pot fi neurotoxice pentru albine sau prădători naturali, resveratrolul prezintă o selectivitate biologică remarcabilă, fiind degradat enzimatic de către organisme superioare, dar rămânând toxic pentru microflora patogenă.

Acizii Fenolici (Galic, Cafeic, Ferulic)

Acești compuși contribuie la rigidizarea peretelui celular al plantei tratate și au un efect direct toxic asupra microorganismelor prin:

- Denaturarea proteinelor microbiene
- Scăderea pH-ului intracelular al patogenului, ducând la moartea celulară.

Acizii fenolici extrași din tescovină (regăsit în special din semințe și resturi de ciorchini) prezintă capacitatea de a acționa atât ca toxine directe pentru patogeni, cât și ca elemente de îmbunătățire a imunității vegetale. Acidul ferulic, de exemplu, joacă un rol structural; odată aplicat pe cultura țintă, acesta se poate încorpora prin legături esterice în polimerii peretelui celular al plantei, sporind rezistența mecanică a acesteia în fața penetrării hifelor fungice. Această "rigidizare" transformă suprafața frunzei într-un mediu ostil pentru instalarea patogenilor. La nivel celular, efectul toxic direct este declanșat prin mecanisme de perturbare homeostatică. Acizii fenolici sunt molecule



lipofile care pot traversa membrana plasmatică a bacteriilor și fungilor. Odată ajunși în citoplasmă, aceștia disociază, eliberând protoni care scad drastic pH-ul intracelular. Această acidifiere forțează celula patogenă să consume cantități mari de energie (ATP) pentru a pompa protonii înapoi în exterior, ducând în final la epuizare metabolică și moarte. Mai mult, acidul galic prezintă o afinitate ridicată pentru proteinele de suprafață și enzimele extracelulare ale microorganismelor, provocând denaturarea ireversibilă a acestora și blocând astfel capacitatea patogenului de a digera țesutul vegetal. Integrarea acestor acizi într-un extract complex obținut prin ultrasunete asigură o barieră chimică multifuncțională, stabilă și cu un efect rezidual protector de lungă durată.

Taninurile (Proantocianidinele)

Taninurile sunt polimeri ai flavan-3-olilor și sunt responsabili pentru astringența tescovinei.

- Efect insecticid: Taninurile se leagă de proteinele din tractul digestiv al insectelor fitofage, formând complexe insolubile care împiedică absorbția nutrienților.
- Efect repelent: Gustul amar și proprietățile chimice descurajează depunerea ouălor de către anumite specii de lepidoptere.

Taninurile condensate, sau proantocianidinele, reprezintă fracțiunea polimerică cea mai stabilă din tescovină, fiind localizate cu precădere în semințe și ciorchini. Din punct de vedere biopesticid, aceste macromolecule funcționează ca un sistem complex de "anti-nutriție". Principalul lor mecanism de acțiune este capacitatea de a forma legături de hidrogen și interacțiuni hidrofobe extrem de puternice cu proteinele. Atunci când o insectă fitofagă consumă țesut tratat cu extract de tescovină, taninurile precipită enzimele digestive (precum amilazele și proteazele) din intestinul mediu al acesteia, transformându-le în complexe insolubile și inactive biologic.

Acest proces nu doar că înfometează dăunătorul prin blocarea absorbției nutrienților, dar provoacă și leziuni fizice la nivelul mucoasei intestinale, facilitând pătrunderea altor compuși toxici (cum sunt stilbenii) în hemolimfa insectei. Pe lângă efectul metabolic, proantocianidinele exercită un control comportamental riguros prin proprietățile lor organoleptice. Astringența și gustul amar caracteristic, percepute de receptorii gustativi ai insectelor, declanșează un semnal de respingere instantaneu. Acest efect repelent este crucial în prevenirea ovipozitării (depunerea ouălor); femelele de lepidoptere și coleoptere evită suprafețele foliare bogate în taninuri pentru a asigura supraviețuirea larvelor, reducând astfel drastic densitatea populațiilor de dăunători pe unitatea de suprafață fără a utiliza substanțe neurotoxice sintetice.

12.5. Proprietățile biostimulatoare și biofertilizante ale extractelor polifenolice din tescovină

Integrarea extractelor de tescovină în tehnologiile de cultură moderne depășește rolul convențional de protecție fitosanitară, acționând ca un modulator fiziologic complex. Această dualitate funcțională este susținută de compoziția chimică eterogenă a tescovinei, care include nu doar metaboliți secundari cu rol biocid, ci și o serie de



compuși cu înaltă biodisponibilitate ce stimulează metabolismul primar al plantelor tratate.

12.5.1. *Mecanisme de biostimulare și inducerea rezilienței*

La nivel celular, polifenolii extrași funcționează ca elictori exogeni, interacționând cu receptorii de suprafață ai celulelor vegetale. Această interacțiune declanșează o cascadă de semnalizare intracelulară care activează genele implicate în Rezistența Sistemică Dobândită (SAR) și în Rezistența Sistemică Indusă (ISR). Prin aplicarea poate apărea o reglare a activității enzimelor antioxidante, care neutralizează speciile reactive de oxigen generate în condiții de stres termic sau hidric, menținând integritatea aparatului fotosintetic și prevenind peroxidarea lipidelor membranare. Astfel, biopesticidul devine un agent de fortificare, permițând plantei să își aloce resursele energetice către producție, în loc să le consume exclusiv pentru mecanisme de supraviețuire.

12.5.2. *Biofertilizarea și dinamica nutrienților în rizosferă*

Din perspectivă nutrițională, tescovina reprezintă un rezervor de macroelemente esențiale, în special potasiu și magneziu, a căror solubilitate este amplificată de procesul de percolare asistată de ultrasunete. Potasiul joacă un rol determinant în reglarea potențialului osmotic și în controlul deschiderii stomatelor, optimizând eficiența utilizării apei. Concomitent, prezența acizilor organici (precum acidul tartric și malic) în extract facilitează procesul de chelare naturală a microelementelor metalice din sol, transformându-le în forme asimilabile de către perisorii absorbanti ai rădăcinii. Mai mult, extractele pot exercita un efect prebiotic asupra microbiotei rizosferice. Frațiunile glucidice reziduale și compușii fenolici simpli servesc ca substrat energetic pentru bacteriile din genul *Rhizobium* și *Azotobacter*, precum și pentru ciupercile micorizice. Stimularea acestor populații microbiene benefice induce o simbioză mai eficientă, care îmbunătățește fixarea azotului și solubilizarea fosforului blocat în complexe minerale insolubile. În consecință, aplicarea acestor extracte nu doar că protejează cultura împotriva patogenilor, dar restabilește echilibrul biochimic al solului, promovând o creștere viguroasă, o înflorire uniformă și, în final, o calitate superioară a recoltei prin creșterea conținutului de substanță uscată și zaharuri în fructe.

12.6. *Materiale si metodă*

Succesul procesului de percolare asistată de ultrasunete este condiționat critic de proprietățile fizico-chimice ale matricei vegetale utilizate. În cadrul acestei cercetări, materia primă este reprezentată de tescovina rezultată din procesarea soiurilor de viță-de-vie, colectată imediat după etapa de presare pentru a preveni procesele fermentative nedorite care ar putea degrada profilul polifenolic sensibil (în special resveratrolul și antocianii).

Metodologia experimentală a fost concepută pentru a evalua eficiența transferului de masă al compușilor polifenolici din matricea solidă a tescovinei în fază lichidă, utilizând un sistem hibrid de percolare sub acțiunea câmpului ultrasonic



12.6.1. Pregătirea materiei prime

Pentru a asigura o conservare optimă și o eficiență sporită a transferului de masă, tescovina este supusă unui proces de uscare controlată. Menținerea unei temperaturi moderate este imperativă pentru a evita degradarea termică a flavonoidelor și polimerizarea ireversibilă a taninurilor. Reducerea conținutului de umiditate la o valoare sub 10-12% stabilizează materia primă din punct de vedere microbiologic și slăbesc structurile lignocelulozice, facilitând penetrarea ulterioară a solventului.

Măcinarea și granulometria controlată

Etapă de măcinare și sortare granulometrică presupune ca materia primă să fie procesată până la atingerea unei dimensiuni controlate a particulelor. Această etapă urmărește două obiective tehnice majore:

- Creșterea suprafeței specifice de contact: O dimensiune mai mică a particulelor mărește aria de interfață solid-lichid, permițând undelor ultrasonice să genereze cavitație mult mai aproape de vacuolele celulare unde sunt stocați polifenolii.
- Optimizarea hidrodinamicii în coloana de percolare: O granulometrie uniformă previne formarea canalelor preferențiale de curgere a solventului și evită colmatarea patului de extracție, asigurând o distribuție omogenă a presiunii acustice în întreaga masă de tescovină.

Materia primă luată în lucru în prezentul studiu este tescovina de *Vitis vinifera*, uscată la o temperatură mai mică de 45°C și măcinarea la 0.5 - 2.0 mm pentru optimizarea suprafeței specifice.

Compoziția matricei și selecția fracțiilor

Tescovina utilizată este o matrice heterogenă formată din exocarp (pielețe), semințe și fragmente de ciorchini. În vederea obținerii unui biopesticid cu spectru larg, se utilizează tescovina integrală, profitând astfel de distribuția diferențiată a metaboliților: pielile furnizează majoritatea antocianilor și a resveratrolului, în timp ce semințele reprezintă principala sursă de proantocianidine și acizi grași esențiali. Această compoziție complexă asigură extractului final o stabilitate chimică superioară și o activitate biologică sinergică, elemente esențiale pentru eficiența sa ca biofertilizant și agent de protecție fitosanitară.

12.6.2. Instalația Experimentală de Percolare Asistată de Ultrasunete (UAE)

Sistemul utilizat în cadrul INMA integrează o unitate de extracție în flux continuu (percolator) cu un generator de ultrasunete echipat cu sondă imersibilă (sonotrodă).

Configurația sistemului: tescovina măcinată este plasată într-o coloană de extracție termostatăă. Solventul este recirculat prin patul fix de materie primă cu ajutorul unei pompe peristaltice, asigurând un gradient de concentrație constant.

Parametrii ultrasonici: Se utilizează un generator cu frecvență fixă și putere variabilă. Undele ultrasonice induc fenomenul de cavitație acustică, generând micro-jeturi care bombardează suprafața particulelor de tescovină, provocând micro-fracturi în peretele celular lignocelulozic.

Procesul a fost optimizat pentru a maximiza disponibilitatea nutrienților utilizând o metodă este ecologică, fără inputuri chimice periculoase și respectând standardele



europene pentru agricultura organică. Prin utilizarea acestor extracte, sănătatea solului și rezistența plantelor sunt îmbunătățite, contribuind la reducerea dependenței de inputurile sintetice. Selecția parametrilor de proiectare pentru procesul de percolare asistată de ultrasunete s-a bazat pe teste preliminare de screening și pe constrângerile operaționale ale echipamentelor utilizate.

Designul experimental și procedura de extracție

Procesul de optimizare urmează o metodologie de tip Metodologia suprafeței de răspuns (MSR) pentru a identifica interacțiunile dintre variabile:

- Încărcarea coloanei: O cantitate precisă de tescovină este compactată omogen pentru a evita drumurile preferențiale ale solventului.
- Activarea câmpului ultrasonic: Sonda este imersată în rezervorul de solvent sau cuplată direct la fluxul de percolare. Se aplică impulsuri ultrasonice (regim pulsatil pentru a preveni supraîncălzirea).
- Activarea presiunilor: Se induc regimuri pulsatorii de presiuni ridicate și joase pentru a stimula transferul polifenolilor în solvent.
- Prelevarea probelor: Extractele sunt colectate la intervale de timp prestabilite pentru a monitoriza cinetica de extracție a compușilor țintă.

Metoda de extracție: percolarea asistată ultrasonic

Metoda de extracție selectată reprezintă o abordare hibridă ce combină avantajele percolării dinamice cu efectele mecanice și termice ale cavitației acustice. Această sinergie tehnologică este concepută pentru a depăși limitările extracției convenționale, oferind un randament superior în recuperarea polifenolilor termolabili și a biostimulatorilor minerali din matricea densă a tescovinei.

Dinamica procesului de percolare

Percolarea se bazează pe fluxul continuu al solventului (amestec hidroetanolic) printr-un pat fix de tescovină măcinată. Spre deosebire de macerarea statică, unde sistemul tinde rapid spre un echilibru de concentrație care limitează extracția ulterioară, percolarea menține un gradient de concentrație maxim la interfața solid-lichid. Solventul proaspăt, cu o concentrație zero de solute, intră în contact permanent cu matricea vegetală, forțând difuzia metaboliților secundari din interiorul vacuolelor către exterior conform legii lui Fick. Această circulație forțată asigură o epuizare mult mai rapidă și mai completă a tescovinei, reducând volumul total de solvent necesar.

Fenomenul de cavitație acustică și distrucția celulară

Elementul inovator este reprezentat de integrarea undelor ultrasonice în acest flux de extracție prin percolare la presiuni alternante. Atunci când undele ultrasonice traversează mediul lichid, ele generează cicluri alternative de compresie și rarefiere. În faza de rarefiere, presiunea locală scade sub presiunea de vapori a solventului, creând milioane de bule microscopice (bule de cavitație).

Implozia violentă a acestor bule la suprafața particulelor de tescovină produce micro-jeturi de lichid cu viteze și presiuni extrem de mari. Acest proces, numit eroziune cavitațională, provoacă:



Ruptura mecanică a pereților celulari: Distrugerea barierelor de lignină și celuloză care, în mod normal, limitează accesul solventului la polifenoli.

Sonoporația: Formarea de pori temporari în membranele celulare, facilitând eliberarea rapidă a moleculelor de dimensiuni mari, precum taninurile.

Difuzia accelerată și efectul termic local

Ultrasunetele acționează și prin fenomenul de micro-mixing (micro-turbulențe), care reduce grosimea stratului limită stagnant din jurul particulelor de tescovină. Aceasta accelerează dramatic transferul de masă prin difuzie, permițând extracția unor cantități semnificative de resveratrol și acizi fenolici în doar câteva zeci de minute, comparativ cu timpul foarte mare necesar în metodele clasice.

Deși procesul are loc la o temperatură controlată (ex. 40°C), implozia bulelor generează perturbări microscopice pentru fracțiuni de secundă. Acestea sunt suficiente pentru a rupe legăturile chimice dintre polifenoli și proteinele sau polizaharidele de care sunt legați în matricea solidă, fără a afecta însă stabilitatea termică a întregului extract. Rezultatul final este un extract standardizat, cu o densitate nutritivă și biocidă mult mai ridicată, optim pentru formularea biopesticidelor de înaltă performanță.

Optimizarea parametrilor de proces

Eficiența percolării asistate de ultrasunete nu este o funcție liniară, ci depinde de interacțiunea complexă a mai multor variabile operaționale. Pentru a maximiza concentrația de polifenoli și elictori, fără a compromite stabilitatea chimică a biopesticidului, se impune optimizarea următoarelor ferestre de lucru:

Densitatea de putere ultrasonică și frecvența

Puterea aplicată determină intensitatea fenomenului de cavitație. O putere prea mică este insuficientă pentru a penetra matricea lignocelulozică a semințelor de struguri, în timp ce o putere excesivă poate induce degradarea oxidativă a moleculelor sensibile (precum resveratrolul) prin generarea de radicali hidroxil.

Regimul pulsatil

Se utilizează un raport de activare de tipul 1:1 sau 1:2 (ex. 5 secunde activ / 5 secunde pauză). Această strategie permite disiparea căldurii acumulate și previne supraîncălzirea locală a extractului, protejând integritatea flavonoidelor.

Spre deosebire de metodele convenționale de extracție (precum recircularea simplă sau Soxhlet) care utilizează temperaturi apropiate de punctul de fierbere al solventului, percolarea asistată de ultrasunete permite operarea într-un regim termic moderat sau scăzut. Această abordare, denumită adesea „extracție la rece”, este esențială pentru menținerea potențialului biopesticid și biofertilizant al extractului.

Polifenolii, în special flavonolii și stilbenii, posedă sisteme de legături duble conjugate care le conferă proprietățile antioxidante, dar îi fac și extrem de vulnerabili la termoxidare. Deci se dorește ca procesul să îndeplinească cerințele:

- Evitarea polimerizării: La temperaturi înalte, taninurile pot suferi procese de polimerizare necontrolată, transformându-se în complexe macromoleculare insolubile, ceea ce reduce biodisponibilitatea lor în formularea finală.



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Stabilitatea resveratrolului: Resveratrolul poate trece din forma trans (activă biologic) în forma cis (mult mai puțin activă) sub influența căldurii și a luminii. Operarea la temperaturi joase blochează această izomerizare, garantând un extract cu activitate antifungică maximă.

Efectul de răcire prin cavitație controlată

Deși ultrasunetele generează fricțiuni microscopice în timpul imploziei bulelor de cavitație, durata acestora este de ordinul microsecundelor, ceea ce nu permite creșterea temperaturii masice a solventului dacă sistemul este corect termostatat.

Deoarece solventul circulă continuu prin coloană, acesta acționează și ca un agent de răcire, preluând căldura generată de sonda ultrasonică și transportând-o către exterior. Acest flux dinamic previne acumularea de energie termică în patul de tescovină, protejând moleculele eliberate imediat ce au părăsit matricea celulară.

Beneficiile extracției asupra calității biopesticidului

Extracția la temperaturi joase asigură un profil fitochimic superior, cât mai apropiat de cel prezent în planta vie. Din punct de vedere tehnic, acest lucru se traduce prin:

- *Activitate enzimatică reziduală*: Păstrarea anumitor enzime vegetale care pot contribui la stimularea sistemului imunitar al plantei tratate.
- *Solubilitate selectivă*: Temperaturile joase reduc co-extracția grăsimilor și a cerurilor vegetale din semințele de struguri, rezultând un extract mai limpede, mai stabil și mai ușor de pulverizat fără a înfunda duzele echipamentelor agricole.
- *Eficiență energetică*: Reducerea necesarului de energie pentru încălzirea unor volume mari de solvent, aliniind procesul la principiile chimiei verzi.

Debitul de percolare și timpul de rezidență

Debitul solventului prin coloană reglează viteza cu care compușii extrași sunt îndepărtați din zona de acțiune a ultrasunetelor.

Gradientul de concentrație: Un debit optim asigură reînnoirea stratului limită de la suprafața particulei de tescovină. Dacă debitul este prea mare, timpul de contact dintre solvent și matrice este prea scurt pentru o difuzie eficientă; dacă este prea mic, poate apărea saturarea locală a solventului, încetinind transferul de masă.

Timpul de extracție: Spre deosebire de metodele clasice care necesită 12-24 ore, sistemul UAP vizează atingerea randamentului maxim în 30-60 de minute. După acest interval, curba de extracție atinge un platou, iar continuarea procesului poate duce la co-extracția unor compuși nedoriti (mucilagii, pectine) care ar îngreuna filtrarea ulterioară a biopesticidului.

Raportul Solid-Lichid și polaritatea solventului

Alegerea raportului între masa de tescovină și volumul de solvent influențează direct vâscozitatea mediului și, implicit, propagarea undelor ultrasonice.

Atenuarea acustică: Într-un mediu prea dens, undele ultrasonice sunt absorbite rapid, reducând raza de acțiune a cavitației.



Sistemul hidroetanolic: Ajustarea proporției de etanol este crucială pentru selectivitate. Un conținut mai ridicat de etanol favorizează extracția flavonoidelor lipofile și a stilbenilor, în timp ce o fază apoasă mai mare facilitează recuperarea acizilor fenolici și a mineralelor biofertilizante.

Prin controlul acestor parametri, metoda de percolare asistată ultrasonic transformă extracția dintr-un proces empiric într-unul dirijat tehnologic. Rezultatul este un extract standardizat, cu un profil fitochimic reproductibil, gata pentru a fi formulat sub formă de concentrat emulsionabil sau soluție apoasă pentru tratamentele agricole.

Valorificarea tescovinei ca resursă de compuși bioactivi se fundamentează pe principiul economiei circulare, transformând un subprodus de vinificație într-un input agricol cu valoare adăugată. Din punct de vedere teoretic, procesul urmărește transferul selectiv al metaboliților secundari (polifenoli, stilbeni, acizi minerali) dintr-o matrice solidă lignocelulozică într-un solvent lichid biocompatibil. Provocarea majoră constă în izolarea acestor molecule termolabile fără a le compromite structura chimică, esențială pentru funcțiile de biopesticid și biofertilizant.

Din punct de vedere tehnic, soluția optimă adoptată este percolarea asistată de ultrasunete (UAP), un proces hibrid ce rulează în flux continuu. Sistemul utilizează o coloană de extracție unde solventul hidroetanolic este recirculat prin patul de tescovină măcinată, menținând un gradient de concentrație constant. Această dinamică este potențată de integrarea unei sonde ultrasonice care generează fenomenul de cavitație acustică. Implozia micro-bulelor de gaz la suprafața particulelor vegetale produce unde de șoc care fragilizează pereții celulari, forțând eliberarea rapidă a polifenolilor prin porii nou creați. Operarea la temperaturi scăzute și controlul riguros al puterii acustice asigură obținerea unui extract standardizat, caracterizat printr-o integritate structurală maximă și o eficacitate biologică superioară metodelor clasice de extracție la cald.

Caracterizarea fitochimică a extractelor obținute

Evaluarea eficienței procesului de percolare asistată de ultrasunete se realizează prin coroborarea datelor cantitative (conținut total) cu cele calitative (profilul individual al compușilor).

Determinarea conținutului total de polifenoli (TPC)

Cuantificarea globală a fracțiunii fenolice se realizează prin metoda spectrofotometrică Folin-Ciocalteu, adaptată pentru microplăci sau cuve de cuarț. Principiul metodei: Reactivul Folin-Ciocalteu (un amestec de fosfomolibdat și fosfowolframmat) reacționează cu grupările hidroxil fenolice în mediu bazic, generând un complex de culoare albastră.

Procedura: O alicotă de extract este amestecată cu reactivul, iar după o perioadă de incubare (de regulă 30-60 minute la întuneric), se măsoară absorbanta la lungimea de undă de 765 nm.

Exprimarea rezultatelor: Concentrația este calculată pe baza unei curbe de calibrare utilizând acidul galic ca standard de referință. Rezultatele se exprimă în miligrame echivalent acid galic per gram de substanță uscată (mg GAE/g d.w.). Această



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

valoare reprezintă indicatorul primar al potențialului antioxidant și biocid al biopesticidului.

Identificarea și cuantificarea compușilor principali prin HPLC-DAD

Deoarece activitatea biologică (antifungică sau biostimulatoare) depinde de structura chimică specifică, identificarea compușilor individuali este obligatorie. Se utilizează Cromatografia Lichidă de Înaltă Performanță cu detecție prin Șir de Diode (HPLC-DAD). Se utilizează o coloană de fază inversă, iar eluția se realizează într-un regim de gradient. Prin compararea timpilor de retenție și a spectrelor de absorbție UV cu standardele de referință, se monitorizează compușii de interes. Integrarea ariilor picurilor cromatografice permite determinarea exactă a dozei de substanță activă prezentă în extract, pas esențial pentru standardizarea biopesticidului în vederea aplicării uniforme în culturi.

Analiza prin Spectroscopie FT-IR (Opțional/Complementar)

Pentru a confirma protecția polifenolilor în timpul extracției la temperaturi joase, se poate utiliza spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR). Aceasta permite identificarea grupurilor funcționale caracteristice, oferind o "amprentă digitală" a extractului și confirmând absența produselor de degradare oxidativă ce ar putea rezulta din procesul ultrasonic.

Compuși de interes major și relevanța lor funcțională

Implementarea percolării asistate de ultrasunete urmărește obținerea unui extract standardizat, în care compușii bioactivi sunt recuperați în forme native, non-degradate. Analizele sunt proiectate să confirme prezența și concentrația următoarelor clase de metaboliți:

Resveratrolul este compusul-țintă principal pentru funcția antifungică. Ca fitoalexină naturală a viței-de-vie, resveratrolul extras din piele acționează prin inhibarea germinării sporilor și stoparea elongării hifelor fungice. Prezența sa în concentrații ridicate în extract conferă produsului o capacitate de protecție sistemică, fiind extrem de eficient împotriva manei și a putregaiului cenușiu (*Botrytis cinerea*).

Catechinele și epicatechinele (Flavan-3-oli): acești compuși reprezintă monomerii taninurilor și sunt responsabili pentru activitatea antioxidantă ridicată a extractului. În contextul bioprotecției, catechinele intervin în mecanismele de semnalizare ale plantelor, acționând ca elictori care „alertează” metabolismul secundar al culturii tratate, pregătind-o pentru eventuale atacuri patogene.

Quercetina: prezența quercetinei este esențială pentru efectul insecticid și repelent. Aceasta acționează ca un inhibitor enzimatic puternic în tractul digestiv al insectelor fitofage. Totodată, quercetina oferă protecție fotobiologică frunzelor tratate, absorbând radiațiile UV excesive și reducând stresul oxidativ la nivel foliar.

Acizii fenolici (Galic, Cafeic, Ferulic): acești acizi cu moleculă mică sunt eliberați rapid sub acțiunea cavitației. În timp ce acidul galic asigură o barieră antibacteriană, acizii ferulic și cafeic joacă rolul de biofertilizanți și stimulatori de creștere. Aceștia





contribuie la lignificarea pereților celulari ai plantei gazdă și stimulează dezvoltarea radiculară prin îmbunătățirea absorbției micronutrienților din sol.

Antocianii: deși sunt cunoscuți în principal pentru pigmentii colorați din pielea strugurilor negri, antocianii sunt antioxidanți extrem de viguroși. În formularea biopesticidului, aceștia contribuie la stabilitatea produsului sub acțiunea luminii solare (efect de fotoprotecție a celorlalți compuși) și prezintă o activitate sinergică cu resveratrolul în inhibarea agenților fitopatogeni.

12.7. Evaluarea activității pesticide și a spectrului de acțiune

Validarea eficacității extractului polifenolic obținut prin percolare asistată de ultrasunete presupune determinarea capacității acestuia de a inhiba dezvoltarea organismelor țintă. Testele sunt concepute pentru a evalua trei direcții principale: antifungică, antibacteriană și insecticidă.

Activitatea asupra fungilor fitopatogeni

Fungii reprezintă principala țintă a biopesticidului datorită concentrației ridicate de resveratrol și taninuri. Testarea se realizează pe patogeni model precum *Botrytis cinerea* (putregaiul cenușiu) sau *Fusarium oxysporum*.

Metoda încorporării în agar: Extractul este adăugat în mediul de cultură PDA în diferite concentrații. Se măsoară reducerea creșterii radiale a coloniei față de martor.

Mecanismul vizat: Se urmărește capacitatea stilbenilor de a induce peroxidarea lipidelor în membrana fungică și inhibarea germinării sporilor prin blocarea transportului electronic mitocondrial.

Activitatea asupra bacteriilor fitopatogene

Testarea vizează bacterii gram-negative și gram-pozitive care afectează culturile horticole (ex. *Erwinia amylovora* sau *Pseudomonas syringae*).

Metoda difuzimetrică (Kirby-Bauer): Discuri de hârtie de filtru impregnate cu extract sunt plasate pe medii inoculate bacterian. Diametrul zonei de inhibiție oferă o măsură directă a potențialului bactericid.

Mecanismul vizat: Acizii fenolici (galic și cafeic) acționează prin destabilizarea peretelui celular bacterian și denaturarea proteinelor enzimatic esențiale metabolismului procariot.

Activitatea asupra afidelor

Efectul insecticid este evaluat utilizând afidele (*Aphis sp.*) ca organism model, datorită sensibilității acestora la compușii antifeedant.

Bioeseul prin contact și ingestie: Plantele gazdă sunt pulverizate cu extract, iar mortalitatea afidelor este monitorizată la intervale de 24, 48 și 72 de ore.

Efectul de deterență: Se calculează indicii de repelență, observând dacă prezența quercetinei și a taninurilor descurajează fixarea insectelor pe țesutul vegetal tratat.



Mecanismul vizat: Taninurile condensate formează complexe ireversibile cu proteinele digestive ale insectei, provocând inaniția prin blocarea absorbției nutrienților la nivelul intestinului mediu.

Analiza statistică și determinarea dozei letale

Rezultatele obținute în urma testelor pe fungi, bacterii și insecte sunt prelucrate prin analiză pentru a determina:

- LC₅₀ (Concentrația Letală Medie): Concentrația de extract necesară pentru a elimina 50% din populația de dăunători sau pentru a inhiba 50% din creșterea fungică.
- MIC (Concentrația Minimă Inhibitorie): Cea mai mică doză de extract care oprește vizibil creșterea microorganismelor patogene.

Aceste valori sunt esențiale pentru stabilirea recomandărilor de aplicare în condiții reale de câmp, asigurând un echilibru între eficacitatea biocidă și conservarea faunei utile.

12.8. Formularea biopesticidului și biofertilizantului

Variante de formulare propuse

Pentru a maximiza biodisponibilitatea compușilor extrași (resveratrol, quercetină, taninuri), au fost evaluate patru strategii de formulare, adaptate cerințelor agriculturii ecologice:

- Extract hidroalcoolic concentrat: Reprezintă forma primară de utilizare. Deși este cea mai simplă metodă, necesită stabilizatori de pH pentru a preveni precipitarea polifenolilor la diluție și antioxidanți pentru a limita degradarea rapidă sub acțiunea oxigenului atmosferic.
- Microîncapsularea: Utilizarea unor polimeri naturali (precum alginatul de sodiu sau maltodextrina) pentru a crea bariere protectoare în jurul moleculelor de resveratrol. Această metodă protejează compușii împotriva degradării enzimatică și permite o eliberare controlată (slow-release), prelungind durata de protecție pe frunză.
- Nanoemulsii (Sisteme de tip Ulei în Apă): Prin reducerea dimensiunii picăturilor de solvent la scară nanometrică, se obține o penetrare mult mai eficientă a cuticulei vegetale. Nanoemulsiile cresc solubilitatea compușilor lipofili (quercetina) în medii apoase, oferind o acoperire foliară superioară.
- Formularea cu adjuvanți naturali (Uleiuri esențiale): Integrarea unor uleiuri esențiale (ex. cimbru sau rozmarin) acționează sinergic cu extractul de tescovină. Uleiurile esențiale funcționează ca surfactanți naturali (reduc tensiunea superficială) și agenți de fixare, împiedicând spălarea produsului de către ploaie.

Parametrii de calitate și stabilitate ai formulării

Eficiența unui biopesticid este direct dependentă de stabilitatea sa fizico-chimică în perioada de depozitare și post-aplicare.

Stabilitatea chimică și pH-ul: Polifenolii sunt extrem de sensibili la variațiile de pH. Formularea trebuie menținută la un pH ușor acid (4.5 - 5.5), optim pentru



stabilitatea antocianilor și a resveratrolului. Un pH necorespunzător poate duce la auto-oxidarea compușilor fenolici, vizibilă prin schimbarea culorii extractului.

Fotostabilitatea: Deoarece biopesticidele sunt aplicate în plin soare, protecția împotriva radiațiilor UV este critică. Antocianii extrași din tescovină acționează ca ecrane solare naturale, însă formularea poate fi îmbunătățită cu agenți fotoprotectori naturali pentru a preveni fotoliza rapidă a substanțelor active.

Eficacitatea biologică reziduală: Se testează remanența produsului pe frunză. O formulare optimă trebuie să își mențină activitatea biocidă minim 7-10 zile de la aplicare, asigurând în același timp o eliberare constantă de micronutrienți (ŞK, MgŞ) pentru funcția biostimulatoare.

12.9. Sinteza analitică a stadiului actual al cercetării în valorificarea tescovinei

Fundamentarea științifică a aceste cercetari se sprijină pe un corpus de cercetări recente care redefinesc tescovina de struguri dintr-un reziduu industrial într-o resursă complexă de biosinteză a unor molecule cu înaltă valoare biologică. Cercetările fundamentale coordonate de Chemat și colaboratorii au elucidat mecanismele fizice profunde prin care ultrasunetele revoluționează transferul de masă, demonstrând că fenomenul de cavitație acustică nu este doar o metodă de agitare mecanică, ci un proces de micro-inginerie celulară. Prin implozia bulelor de cavitație la suprafața particulelor de tescovină, se generează micro-jeturi de solvent care ating viteze de ordinul sutelor de metri pe secundă, provocând o eroziune de suprafață și o macroporare a structurilor lignocelulozice. Această distrupție controlată a peretelui celular facilitează o difuzie accelerată, permițând recuperarea unor cantități de polifenoli cu până la 50% mai mari față de metodele clasice, reducând în același timp dramatic timpul de extracție și consumul de energie.

În planul compoziției biochimice, studiile conduse de Teixeira și Fontana au stabilit profilul fitochimic al acestor extracte, evidențiind prezența critică a elictorilor rezilienței vegetale. Resveratrolul, identificat în concentrații semnificative în special în exocarpu strugurilor negri, este recunoscut de comunitatea științifică drept una dintre cele mai puternice fitoalexine naturale. Autorii au demonstrat că stabilitatea acestui stilben, alături de cea a antocianilor sensibili, este direct dependentă de menținerea unei temperaturi de extracție sub pragul de 40°C, condiție pe care tehnologia UAE o îndeplinește nativ. Prin utilizarea amestecurilor hidroetanoliche optimizate, s-a observat că se poate obține un extract cu o amprentă chimică neschimbată față de starea naturală a fructului, prevenind polimerizarea nedorită a taninurilor care ar diminua biodisponibilitatea produsului în momentul aplicării foliare.

Performanța biocidă a acestor extracte, documentată riguros de Pezet și Ferri, reprezintă probabil cea mai valoroasă descoperire pentru agricultura sustenabilă. Autorii au evidențiat un mecanism de acțiune multisite, în care polifenolii nu doar că atacă direct membrana fungică, provocând dezintegrarea conidiilor de *Botrytis cinerea*, dar intervin și în procesele enzimatice ale bacteriilor fitopatogene. Acest atac pe multiple fronturi reduce riscul de dezvoltare a rezistenței din partea agenților patogeni, o problemă majoră a pesticidelor de sinteză. Mai mult, s-a demonstrat că acizii fenolici



simpli, precum acidul ferulic și cel cafeic, acționează ca modulatori ai metabolismului plantei gazdă, stimulând depunerea de lignină în pereții celulari și crescând astfel bariera fizică a culturii împotriva atacurilor viitoare.

Dincolo de funcția de protecție, cercetările coordonate de Mazzarino au adus dovezi clare privind capacitatea acestor extracte de a funcționa ca biostimulatori și biofertilizanți. Rezultatele lor indică faptul că prezența magneziului și a potasiului solubilizat, alături de fracțiunile glucidice reziduale, stimulează activitatea metabolică în rizosferă și crește concentrația de clorofilă în frunze. Această sinergie între nutriție și protecție transformă extractul de tescovină într-un instrument ideal pentru economia circulară, așa cum subliniază Arvanitoyannis. Prin reintroducerea acestor nutrienți în ciclul productiv, nu doar că se reduce amprenta de carbon a podgoriilor, dar se restabilește și un echilibru biochimic natural al solului, demonstrând că tehnologia de percolare asistată de ultrasunete este pilonul central al unei tranziții către o bioeconomie rezilientă și eficientă.

O direcție inovatoare identificată în literatura recentă, susținută de cercetările lui Bustamante, se concentrează pe capacitatea tescovinei de a acționa ca un agent de chelatare naturală pentru micronutrienții esențiali. Autorul a demonstrat că grupurile hidroxil prezente în structura flavonoidelor din tescovină formează complexe stabile cu ioni de fier și zinc, facilitând transportul acestora prin bariera cuticulară a frunzei. Acest mecanism de biodisponibilitate îmbunătățită explică de ce extractele ultrasonice nu funcționează doar ca biopesticide, ci și ca soluții de corecție a deficiențelor nutriționale, oferind o vigoare vegetativă superioară în perioadele de creștere intensă. Astfel, biostimularea nu este un efect secundar, ci o consecință directă a arhitecturii moleculare a polifenolilor care stabilizează mineralele într-o formă ușor asimilabilă de către plante.

În paralel, studiile coordonate de Xia asupra cineticii de extracție au evidențiat un aspect tehnic crucial denumit „fragmentarea selectivă a semințelor”. Cercetătorul a observat că ultrasunetele de înaltă frecvență induc o delignificare parțială a semințelor de struguri, eliberând o fracțiune specifică de proantocianidine cu grad mic de polimerizare. Aceste molecule mici au o capacitate de penetrare superioară în țesuturile fungice față de taninurile polimerizate extrase prin metode termice. Această descoperire fundamentează superioritatea metodei de percolare asistată ultrasonic, deoarece permite obținerea unui extract cu o masă moleculară medie scăzută, ceea ce se traduce printr-o activitate biocidă mult mai rapidă și o aderență superioară pe suprafețele hidrofoabe ale frunzelor și fructelor.

O altă contribuție semnificativă vine din partea lui Sánchez-Gómez, care a investigat potențialul extractelor de tescovină în controlul stresului oxidativ provocat de radiațiile ultraviolete intense. Autorul a identificat că amestecul complex de antociani și flavonoli funcționează ca un ecran fotoprotector exogen, capabil să disipeze energia fotonilor UV înainte ca aceștia să genereze specii reactive de oxigen în celulele vegetale. Acest rol de „protector solar” biologic este esențial pentru menținerea ratei fotosintetice în condiții de caniculă. Mai mult, cercetările sale sugerează că microîncapsularea acestor extracte în matrice de biopolimeri poate prelungi remanența



**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

lor pe frunză de la câteva zile la câteva săptămâni, transformând un extract lichid volatil într-un sistem de protecție de lungă durată, rezistent la spălarea prin precipitații.

În final, lucrările recente din domeniul agro-biotehnologiei subliniază importanța sinergiei dintre extractele de tescovină și microbiota utilă a solului. S-a demonstrat că anumiți compuși fenolici simpli eliberați prin procesul ultrasonic funcționează ca molecule de semnalizare pentru bacteriile din genul *Bacillus*, stimulând formarea biofilmelor protectoare în jurul rădăcinilor. Această interacțiune complexă demonstrează că aplicarea extractului de tescovină nu vizează doar distrugerea patogenilor, ci și reconstrucția unui ecosistem rizosferic rezistent.

Prin urmare, integrarea acestor descoperiri în proiectul tău confirmă că utilizarea ultrasunetelor pentru procesarea deșeurilor viticole reprezintă o soluție de avangardă, capabilă să răspundă simultan cerințelor de productivitate, protecție ecologică și sustenabilitate economică în agricultura modernă.

12.10. Impact și aplicabilitate

Implementarea sistemului de percolare asistată de ultrasunete pentru procesarea tescovinei generează un impact multidimensional, articulat pe pilonii dezvoltării durabile și ai bioeconomiei moderne.

Valorificarea superioară a deșeurilor agroalimentare

Industria vitivinicolă generează anual cantități masive de tescovină (aproximativ 20-25% din masa strugurilor procesați), care, nevalorificată, poate reprezenta o problemă de mediu din cauza încărcăturii organice ridicate și a fitotoxicității polifenolilor în stare brută. Proiectul propune o paradigmă de "zero deșeuri", în care resturile lignocelulozice nu sunt doar eliminate, ci sunt rafinate tehnologic pentru a extrage molecule cu înaltă valoare biologică. Această abordare transformă un cost de gestionare a deșeurilor într-o sursă de profit pentru unitățile de vinificație.

Reducerea dependenței de pesticide chimice de sinteză

Prin oferirea unei alternative viabile, bazate pe fitoalexine (resveratrol) și taninuri, biopesticidul obținut contribuie direct la atingerea obiectivelor europene de reducere a utilizării pesticidelor chimice periculoase. Impactul este dublu:

Asupra sănătății umane: Eliminarea reziduurilor toxice de pe fructe și legume, oferind consumatorilor produse mai sigure.

Asupra biodiversității: Spre deosebire de insecticidele sistemice care afectează polenizatorii (albinele), compușii fenolici din tescovină prezintă o toxicitate selectivă, vizând patogenii fără a perturba fauna utilă.

Promovarea agriculturii sustenabile și a economiei circulare

Proiectul integrează conceptul de economie circulară în circuit închis: tescovina produsă în vie se reîntoarce în aceeași vie sub formă de extract protector și fertilizant. Refacerea sănătății solului: Funcția de biofertilizant a extractului stimulează microbiota benefică, prevenind degradarea solurilor cauzată de fertilizarea excesivă cu azot și fosfor de sinteză.





Reziliența climatică: Elicitorii extrași fortifică plantele împotriva stresului abiotic (secetă, radiații UV), un aspect critic în contextul schimbărilor climatice actuale.

Aplicabilitate și transfer tehnologic

Tehnologia de percolare asistată de ultrasunete este ușor de scalat și poate fi implementată direct în cadrul cooperativelor viticole sau al centrelor de cercetare agricolă. Extractul standardizat poate fi utilizat nu doar în viticultură, ci și în pomicultură, legumicultură sau pentru tratarea semințelor, având o arie de aplicabilitate vastă care susține tranziția către un sistem agroalimentar verde și reziliență economică.

12.11. Concluzii

Cercetarea prezentată demonstrează că tescovina de struguri, departe de a fi un simplu deșeu al industriei vinicole, reprezintă o matrice biologică de înaltă complexitate, capabilă să furnizeze soluții inovatoare pentru provocările actuale ale agriculturii durabile.

Tescovina: O resursă strategică pentru fitoprotecție

Analizele efectuate confirmă faptul că tescovina este un rezervor dens de metaboliți secundari cu proprietăți biocide și biostimulatoare remarcabile. Prezența stilbenilor (resveratrol), a flavonoidelor (quercetină) și a taninurilor condensate conferă extractului obținut o capacitate multifuncțională. Această resursă nu doar că inhibă dezvoltarea agenților fitopatogeni prin mecanisme de toxicitate directă, dar induce și rezistența sistemică a plantelor tratate, oferind o alternativă naturală, biodegradabilă și sigură pentru sănătatea consumatorului.

Superioritatea tehnologică a extracției asistate de ultrasunete

Implementarea percolării asistate de ultrasunete (UAE) s-a dovedit a fi factorul critic în atingerea unui randament de extracție superior.

Fenomenul de cavitație acustică a permis distrupția eficientă a barierelor lignocelulozice ale tescovinei, facilitând eliberarea compușilor intracelulari în perioade de timp semnificativ reduse față de metodele clasice. Mai mult, capacitatea acestui sistem de a opera la temperaturi scăzute a garantat integritatea structurală a polifenolilor termolabili, rezultând un extract cu o activitate antioxidantă și biocidă nealterată.

Validarea potențialului de substituție a pesticidelor de sinteză

Concluziile studiului susțin ipoteza conform căreia extractele polifenolice standardizate pot înlocui cu succes, parțial sau total, anumite pesticide sintetice în strategiile de combatere integrată.

Prin utilizarea unui mecanism de acțiune multisite (perturbarea membranei, inhibarea enzimatică și repelența), aceste biopesticide reduc riscul apariției rezistenței la dăunători. Integrarea acestor extracte în cadrul economiei circulare închide fluxul de resurse în sectorul viticol, demonstrând că sustenabilitatea ecologică și viabilitatea economică pot fuziona într-un produs tehnologic performant, adaptat cerințelor actuale.



13. Identificarea subproduselor din viticultură și vinificație în contextul bioeconomiei circulare

13.1. Perspective asupra bioeconomiei

Utilizarea și înțelegerea termenului bioeconomie (și a economiei bazate pe bio) a subliniat diferite aspecte și a evoluat în domeniul său de aplicare de-a lungul timpului. Prin urmare, este dificil de definit exact ce este (sau ce ar trebui să fie) o bioeconomie. De fapt, mulți autori folosesc termenul bioeconomie ca un concept general sau așa cum afirmă Levidow și colab. (2012) ca o narațiune principală, al cărei sens este încă în continuă schimbare (vezi și Bugge și colab., 2016; Pülzl și colab., 2014; Staffas și colab., 2013). În cadrul acestei narațiuni, găsim adesea interpretări care se suprapun, dar și divergente și chiar uneori contradictorii, care se bazează pe bogata istorie a conceptelor subiacente și reflectă diversele medii academice ale autorilor (Bugge și colab., 2016; Vivien și colab., 2019).

Originile conceptului de bioeconomie pot fi urmărite încă de la începutul secolului al XIX-lea, când termenul de bioeconomie a fost introdus pentru prima dată pentru a descrie economia pescuitului și extins rapid pentru a include toată economia resurselor regenerabile (Allain și colab., 2022; Gordon, 1954; Vivien și colab., 2019). O primă semnificație normativă strictă a fost introdusă de Nicholas Georgescu-Roegen, un intelectual erudit al lui Joseph Schumpeter (Georgescu-Roegen, 1975; vezi și Gowdy & Mesner, 1998; Vogelpohl & Töller, 2021). Georgescu-Roegen a folosit termenul „bioeconomie” pentru a recunoaște bazele biologice ale întregii activități economice și incompatibilitatea dintre creșterea nelimitată și legile fundamentale ale naturii. El a abordat în mod explicit nevoia de decreștere structurată în jurul unor noi valori societale, a unei noi organizări sociale, precum și a inovațiilor low-tech. Impulsată de inovații revoluționare, de exemplu în domeniul tehnologiei ADN-ului recombinant la sfârșitul anilor 1970 și 1980, așa-numita biotehnologie a primit multă atenție, ceea ce a dus la dezvoltarea unor politici specifice în domeniul biotehnologiei, cum ar fi programul german „Biotehnologia 2000” sau „Comitetul de Program pentru Biotehnologie” olandez, care vizau stimularea creșterii economice și îmbunătățirea competitivității internaționale a sectorului biotehnologic german și olandez (Allain et al., 2022; Buchholz & Collins, 2013; Rip & Nederhof, 1986; Warmuth, 1991). Astfel de progrese în științele biologice și biotehnologie i-au inspirat pe cercetători și oameni de știință precum geneticienii Juan Enriquez Cabot și Rodrigo Martinez să descrie potențialul acestora de a transforma procesele comerciale și industriale și, procedând astfel, au contribuit la definirea în continuare a rădăcinii conceptului de bioeconomie (Birner, 2018, p. 19). Rădăcinile impulsului contemporan al conceptului de bioeconomie pot fi urmărite în eforturile UE și OCDE, precum și ale altor instituții politice, care au început formalizarea conceptului de bioeconomie în cadrul lor politic la începutul anilor 2000 (McCormick & Kautto, 2013). Deși termenul a fost introdus pentru prima dată de oamenii de știință preocupați de consecințele industriale ale progreselor în biologie, a devenit un concept politic cheie în Europa abia după ce Comisia Europeană a promovat conceptul de



„bioeconomie bazată pe cunoaștere” bazată pe progresele din științele vieții în 2005. Sub președinția germană a UE, „Documentul de la Köln” (UE, 2007) a subliniat pentru prima dată conceptul la conferința „În drumul spre bioeconomia bazată pe cunoaștere” din 2007 (Lang, 2022). Această (re)interpretare motivată politic a conceptului de bioeconomie a fost declanșată de epuizarea tot mai mare a rezervelor, creșterea prețurilor combustibililor fosili și importanța tot mai mare a utilizării resurselor biologice ca materie primă principală și a biorafinării ca instalații de producție și a dus la o conceptualizare a bioeconomiei ca o economie bazată pe biomasă, care evidențiază utilizarea biomasei și a bioprocесelor eficiente pentru a realiza o producție durabilă (OCDE, 2009).

Înlocuirea resurselor neregenerabile cu alternative biologice regenerabile s-a dovedit însă a fi problematică, iar compromisurile și impacturile negative ale unei bioeconomii nesustenabile axate pe substituirea inputurilor au devenit mai evidente de-a lungul anilor (McCormick & Kautto, 2013; Pedersen și colab., 2020; Pfau și colab., 2014; Stegmann și colab., 2020; Zander și colab., 2022). În consecință, atât peisajul politic, cât și cel academic au dezvoltat definiții și înțelegeri mai cuprinzătoare ale conceptului de bioeconomie, de exemplu... bioeconomie circulară și bioeconomie durabilă (a se vedea, de exemplu, strategia actualizată privind bioeconomia a Consiliului Uniunii Europene, 2023; vezi și Kardung și colab., 2021), unde termenul de bioeconomie a fost reinterpretat și extins nu doar pentru a se concentra pe înlocuirea resurselor nesustenabile cu unele durabile, ci și pentru a contribui la un viitor durabil din punct de vedere social, economic și ecologic (Geels, 2011; Losacker și colab., 2023; Pfau și colab., 2014; vezi și Quental și colab., 2011 pentru o discuție despre durabilitate).

Deși o interpretare substitutivă a bioeconomiei poate fi cel mai bine abordată prin inovații tehnologice care permit utilizarea eficientă a resurselor biologice (Friedrich și colab., 2022; Lüthmann și Vogelpohl, 2023), o bioeconomie durabilă sau circulară necesită o transformare mai profundă. Această transformare depășește progresele tehnologice și cuprinde schimbări sistemice în mecanismele economice, organizarea și incluziunea socială și comportamentul consumatorilor. Cu alte cuvinte, ceea ce este necesar este antreprenoriatul social care să conducă la inovație socială, adică noi moduri de gândire, organizare și interacțiune ca societate, care impulsionează practici durabile și remodelează normele societale.

Reziduurile agroalimentare cu conținut organic ridicat reprezintă pericole pentru mediu, dar, în același timp, sunt surse de compuși cu valoare adăugată, cum ar fi polifenolii, carbohidrații, proteinele etc. În contextul economiei circulare și conform conceptului de reducere, reciclare și reutilizare, valorificarea acestor tipuri de reziduuri a devenit o prioritate în ultimul deceniu. Strategiile de valorificare a reziduurilor alimentare includ utilizarea lor pentru producerea de energie și reprocesarea deșeurilor pentru fabricarea de materiale funcționale, produse noi și extracte.

Datele statistice arată că la nivel mondial în 2024, suprafața totală din viticultură, de 7.1 mha, a produs o cantitate de 77.7 de milioane de tone de struguri, cu o producție medie de 10.9 tone/ha. Circa jumătate din struguri sunt în general utilizați pentru producția de vin, must și sucuri pe plan mondial (33.3 milioane de tone de struguri în



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

2024), iar restul este valorificat pentru struguri de masă și struguri uscați [1]. România se află pe locul 8 în lume între țările cu suprafețe cultivate cu vie (tabel 13.1):

TABLE 1 - Vineyard surface area of major vine-growing countries (kha)

Country	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2024 % world
Spain	974	975	968	972	966	961	963	955	945	930	13%
France	785	786	788	792	794	799	795	796	788	773	11%
China	770	770	760	779	781	766	754	758	756	753	11%
Italy	682	693	699	705	714	719	722	721	720	722	10%
Türkiye	497	468	448	448	436	431	419	413	406	402	6%
USA	446	439	434	408	407	402	393	391	388	385	5%
Argentina	225	224	221	218	215	215	211	207	205	200	3%
Romania	191	191	191	191	191	190	189	188	187	187	3%
India	129	131	147	149	151	161	167	175	182	185	3%
Portugal	204	195	194	192	195	195	194	193	182	173	2%
Other countries	2 544	2 506	2 474	2 493	2 523	2 514	2 439	2 401	2 382	2 357	33%
World	7 446	7 379	7 324	7 348	7 373	7 352	7 246	7 198	7 140	7 066	100%

Figure in Italics: OIV estimate

Cu toate acestea, România nu se regăsește printre primele 10 țări cu cea mai mare producție de struguri proaspeți. Producția de struguri proaspeți se referă la struguri pentru toate tipurile de utilizări, cum ar fi struguri de masă, struguri uscați și struguri de vin.

TABLE 2 - Fresh grape production in major countries (mt)

Country	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2024 % world
China	13.2	12.6	13.1	13.7	14.2	14.3	15.0	15.4	16.2	17.0	22%
Italy	8.2	8.4	6.9	8.6	7.1	7.4	7.4	7.6	5.9	7.3	9%
USA	6.9	7.0	6.7	6.9	6.2	5.4	6.1	6.0	5.9	6.4	8%
Spain	6.0	6.3	5.0	6.9	5.4	5.9	5.6	5.8	4.7	5.3	7%
France	6.3	6.0	5.0	6.3	5.5	5.9	5.1	6.2	6.2	5.0	6%
India	2.6	2.6	2.9	2.9	3.0	3.2	3.4	3.4	3.7	3.9	5%
Türkiye	3.7	4.0	4.2	3.9	4.1	4.2	3.7	4.2	3.4	3.5	4%
South Africa	2.0	2.0	2.0	1.9	1.9	2.0	2.0	2.1	2.0	2.1	3%
Argentina	2.5	1.9	2.1	2.7	2.6	2.1	2.4	2.1	1.6	2.0	3%
Chile	2.8	2.5	2.4	2.8	2.7	2.4	2.9	2.7	2.6	2.0	3%
Other countries	23.1	22.1	23.1	24.0	23.4	22.4	23.6	23.5	22.8	23.3	30%
World	77.2	75.4	73.4	80.6	76.2	75.3	77.0	78.7	74.9	77.7	100%

Figure in Italics: OIV estimate

Conform Institutului Național de Statistică, în România, de pe suprafața totală de 163430 hectare de vie, s-a obținut o totală producție de struguri în 2023 de 773711 tone și de 707441 tone în 2004. În România, majoritatea cantității de struguri sunt livrați pentru producția de vin: 671753 tone în 2024, reprezentând 95% din producția totală. Aceeași sursă de date arată că, producția de vin în anul 2023 a fost de 4590146 hectolitri,



iar în 2024 de 3380824 hectolitri. În timpul procesului de vinificație se generează diferite deșeuri care reprezintă aproximativ 30% din totalul strugurilor utilizați. Aceste deșeuri includ tăierile de viță de vie, ciorchini, tescovina și drojdia. Primul deșeu generat în procesul de vinificație este biomasa rezultată după tăierea viței de vie, care este calculată la aproximativ 5 t/ha. Ciorchinii sunt deșeurile provenite din desciorchinarea strugurilor și reprezintă între 2,5 și 7,5% din greutatea totală a strugurilor. Tescovina de struguri (amestec de pielțe, semințe și părți de codițe) rezultă din presarea strugurilor și poate reprezenta între 25 și 45% din greutatea totală a strugurilor. Drojdia este masa reziduală la sfârșitul procesului de fermentație care se sedimentează pe fundul vasului de fermentație. Este un amestec de drojdie moartă, pielțe, semințe și codițe și reprezintă între 3,5 și 8,5% din totalul deșeurilor generate.

Dacă luăm în considerare un raport mediu de 30% tescovină din greutatea totală a strugurilor, se poate estima că anual, în România s-a produs în jur de 230.000 tone de tescovină. De asemenea, în același an se poate estima o cantitate similară de circa 230.000 sedimente din vinificație dacă luăm în considerare că acestea reprezintă 5% din vinul produs în ultimii ani.

În mod normal, o mare parte din deșeurile de lemnoase rezultate din tăieri sunt incinerate, un proces care are costuri operaționale ridicate și generează gaze periculoase, particule în suspensie și cenușă. Acestea pot fi utilizate și pentru hrana animalelor sau lăsate pe câmp. Reziduurile de vin nu sunt periculoase prin natura lor, dar faptul că producția de vin este concentrată într-o anumită perioadă a anului prezintă potențiale probleme și implicații de poluare.

Există diferite studii care vizează posibile soluții pentru valorificarea și reutilizarea ulterioară a acestor deșeuri, conform conceptelor economiei circulare.

Tescovina de struguri este procesată în prezent la scară industrială largă în mai multe sectoare consacrate și moderne. Cele mai mature aplicații sunt distilarea și extracția uleiului, în timp ce biorafinării specializate apar pentru nutraceutice de mare valoare.

Operațiuni industriale consacrate

Mai multe instalații la scară largă funcționează în prezent prin centralizarea deșeurilor de la cramele regionale:

- Distilare și băuturi spirtoase (scară industrială standard): Aceasta este cea mai comună aplicație la scară largă. Grupuri precum Grap'Sud din Franța procesează volume masive de tescovină de struguri și drojdie de vin pentru a produce alcoolii vinicoli brute (distilați la 92°) și băuturi spirtoase tradiționale, cum ar fi grappa sau brandy de struguri.
- Biorafinării integrate: Companii precum Derivados Vínicos S.A. din Argentina operează ca centre masive, procesând anual peste 150.000 de tone de tescovină de struguri pentru a produce acid tartric, ulei din semințe de struguri și alcool vinicol. [38]
- Extracția uleiului din semințe: Instalațiile utilizează echipamente specializate, cum ar fi separatoarele de la P.C.M. Srl, care pot procesa până la 2.000 kg pe oră pentru a izola semințele pentru ulei de mare valoare utilizat în industria alimentară și cosmetică. [39-41]



Procese industriale emergente

Dincolo de distilarea tradițională, noi instalații ating scară comercială pentru produse specifice de mare valoare:

- **Nutraceutice și sănătate:** Compania australiană Viridi Innovations, în parteneriat cu Swisse Wellness, a extins scala la o instalație pilot industrială pentru a extrage polifenoli din semințele de struguri. Această operațiune își propune să înlocuiască extractele importate cu materiale trasabile, provenite din surse locale, pentru suplimente de sănătate
- **Ambalaje sustenabile:** Companiile încorporează din ce în ce mai mult fibre de tescovină de struguri în bioplastice la scară largă. De exemplu, clemele bioplastice de viță de vie fabricate din tescovină sunt testate în podgorii mari din Noua Zeelandă pentru a crea o buclă circulară de deșeuri.
- **Generarea de energie:** Instalațiile industriale de digestie anaerobă utilizează tescovina de struguri pentru a produce biogaz. Deși sezoniere, aceste instalații pot furniza energie regenerabilă substanțială pentru operațiunile procesatorului de struguri sau pentru rețelele locale.

Provocări operaționale la scară largă

Pentru a menține aceste operațiuni industriale, instalațiile trebuie să gestioneze:

- **Pretratare rapidă:** Deoarece tescovina umedă se degradează rapid, sistemele industriale precum Onmak utilizează linii continue de uscare și curățare pentru a stabili materialul imediat după sezonul de recoltare.
- **Logistică:** Industrializarea cu succes necesită de obicei centre centralizate de colectare pentru a gestiona volumul mare (aproximativ 20-25% din greutatea totală a strugurilor zdrobiți) generat pe parcursul scurtei perioade de recoltare de 1-3 luni.

13.2. Stabilirea potențialului metanogen al deșeurilor organice

Deșeurile organice sunt fost eșantionate și investigate în Laboratorul de Biotehnologie și Microbiologie Industrială din cadrul USV "Regele Mihai I" din Timișoara. Primele analize sunt realizate pentru stabilirea conținutului de substanță uscată și a încărcăturii organice. Pe baza rezultatelor, se calculează rețetele adecvate pentru digestia anaerobă (AD). Amestecurile de substrat și inocul sunt supuse procesului AD folosind echipamente de laborator de ultimă generație, pentru stabilirea Potențialului Metanogen Biochimic (BMP) al materialelor organice eșantionate. Conversia biomasei în biogaz și calculul potențialului metanogen sunt efectuate în conformitate cu standardul german VDI 4630 [4], acceptat pe scară largă în laboratoarele din lume în care se fac astfel de analize.

13.2.1. Prelevarea de probe și analiza acestora

Prelevarea probelor, transportul și conservarea acestora, precum și pregătirea probelor sunt aspecte importante și parte integrantă din metodologia de laborator de determinare a potențialului metanogen al materiilor organice și au o influență decisivă asupra calității rezultatelor. Toate procedurile de prelevare a probelor de materii organice investigate (substraturi) sunt efectuate conform metodelor standard. Pentru amorsarea procesului biologic de digestie anaerobă și producere de biogaz se utilizează



ca inocul un nămol activ, prelevat dintr-un digestor de la o instalație de biogaz care procesează materii organice din agricultură.

Înainte de începerea procesului AD, este necesar să se investigheze conținuturile în substanță uscată (SU) și substanță uscată organică (SUo) ale materialelor supuse analizei (denumite în continuare substraturi).

Substanța uscată, reprezentând toți compușii anorganici și organici, este exprimată ca SU și măsurată conform metodelor standard, prin încălzirea probelor timp de 24 h la 105°C pentru a elimina conținutul de apă.

Substanța uscată organică SUo reprezintă compușii organici din probă. Se obține prin încălzirea probei până la 550°C timp de 2 ore, realizându-se astfel arderea materiei organice și obținerea cenușii, sau a materiei minerale. Diferența de greutate dintre eșantioanele încălzite la 105°C și 550°C indică conținutul în substanță organică (SUo) al substratului.

Echipamentul de laborator utilizat în Laboratorul de Biotehnologie și Microbiologie Industrială din Timișoara este un sistem automat de testare a potențialului de metan - AMPTS II, produs de Bioprocess Control AB Suedia (BPC), care are 15 digestoare de câte 600 ml volum total. Pentru o mai mare siguranță a preciziei datelor generate, BMP este investigat în triplicat pentru fiecare probă, conform protocolului BPC.

Prezentarea generală a echipamentului de laborator este redată în figura 12.1.

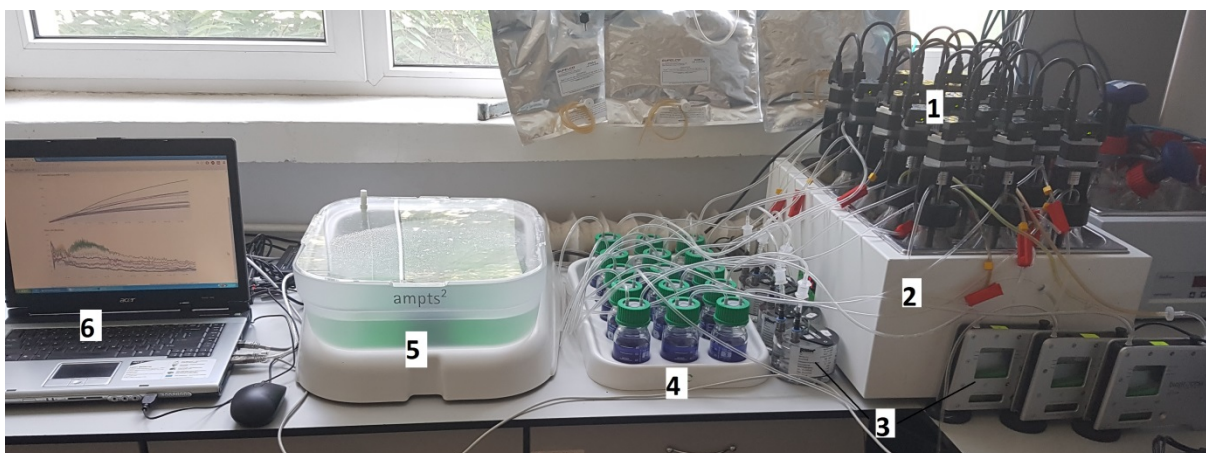


Figura 13.1: Vedere general a sistemului AMPTS: 1- bioreactoare/digestoare, 2- incubator, 3- contoare de gaz, 4- unitate de absorbție CO₂, 5- unitate de măsură a metanului, 6- laptop cu soft procesare date.

Probele investigate și cantitățile utilizate în prezentul experiment sunt preparate conform protocolului standard VDI4630 și BPC.

Loturile experimentale sunt supuse digestiei anaerobe în regim mezofil, la temperatura de incubare de 37°C. Înainte de începerea incubării, în toate cele 15 bioreactoare se insuflă timp de aproximativ 60 sec un amestec de gaze format din 40%



CO₂ și 60% N₂. Procesul de digestie este oprit atunci când producția de biogaz din ultimele 24 de ore este sub 1% din producția totală de biogaz.

13.2.2. Rezultate și discuții

Studiile efectuate în Laboratorul de Biotehnologie și Microbiologie Industrială din cadrul USV "Regele Mihai I" din Timișoara au arătat că tescovina de struguri, dacă este supusă digestiei anaerobe, degradarea în condiții de anaerobioză, similare cu condițiile din depunerile de deșeuri, se pot emite cantități importante de metan.

Analizele de laborator au fost efectuate comparativ pentru tescovină rezultată din următoarele tipuri struguri de recoltați din vestul României:

1. Cabernet Sauvignon - Miniș;
2. Cabernet Sauvignon - Silagiu
3. Pinot Noir - Ineu
4. Muscat Otonel

Pe lângă probele de tescovină de struguri, s-au luat în studiu și mostre de grăsimi rezultate de la rafinarea uleiului vegetal și tescovină de tomate. Acest design experimental a fost ales pentru a realiza o analiză comparativă a potențialului metanogen al tescovinei de struguri față de alte tipuri de subproduse sau deșeuri organice rezultate din industria alimentară.



Figura 13.2. Mostre de tescovină de struguri și grăsimi rezultate din industria uleiului luate în studiu

În tabelul 13.3. sunt redate conținuturile de substanță uscată și substanță uscată organică a tipurilor de biomasă rezultate sub formă de subproduse sau deșeuri din procesele din industria alimentară. Aceleași analize au fost efectuate și pentru probe de digestat prelevate din digestoarele stației de biogaz a USV "Regele Mihai I" din Timișoara. Digestatul este necesar pentru a fi folosit ca inocul în procesul de digestie anaerobă a celor trei tipuri de materie organică analizate în sistemul AMPTS II, descris anterior.



Tabel 13.3. Conținutul în substanță uscată și substanță uscată organică a biomasei analizate

Indice analizat	U.M.	Tip de biomasă						
		Tesc. Cabernet Saugvinon	Tesc. cu sămburi Cabernet Minis	Pinot Noir Ineu	Muscat	Grăsimi	Tomate presate	Digestat Fermentator
Substanță uscată S.U.	(%)	46.29	45.34	46.64	93.41	64.94	20.20	3.63
Cenușa, % din S.U.	(%)	5.89	4.01	5.18	3.69	9.18	3.45	30.00
SUo, % din S.U.	(%)	94.11	95.99	94.82	96.31	90.82	96.55	70.00
SUo, % din total probă	(%)	43.56	43.52	44.23	89.96	58.97	17.87	2.54

Datele obținute indică faptul că tescovina de struguri obținută după presarea strugurilor din soiul Muscat Otonel are concentrații de substanță uscată și de substanță uscată organică mult mai ridicate în comparație cu celelalte tipuri de materiale organice rezultate de la procesarea uleiului alimentar ("grăsimi") și de la storcerea strugurilor. Concentrația de substanță uscată organică scăzută a digestatului indică un material cu reziduuri organice foarte scăzute, ceea ce este de dorit la un inocul care trebuie să vină cu aport de bacterii metanogene și nu cu alt tip de materie organică.

Pe baza conținuturilor obținute în analizele din etapa anterioară au fost calculate cantitățile de materiale cu care sunt încărcate bioreactoarele din sistemul AMPTS II, conform datelor din tabelul 13.4. Fiecare tip de biomasă a fost încărcată în câte trei bioreactoare (vezi figura 13.3), astfel analiza potențialului metanogen a fost realizată în triplicat pentru fiecare tip de biomasă.

Tabel 13.4. Conținutul în substanță uscată și substanță uscată organică a biomasei analizate

Indicator	U.M.	400.00	400.00	400.00	400.00	400.00	400.00
Volum Total	(g)	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Raport I/S (0 pentru martor)	(VS*/VS)	2.54	2.54	2.54	2.54	2.54	2.54
Conc. Inocul	(% VS)	58.97	43.56	43.52	44.23	89.96	17.87
Conc. Substrat	(% VS)	392	389	389	389	394	373
Cantitate Inocul	(g)	8.4	11.3	11.3	11.2	5.6	26.5
Cantitate Substrat	(g)	400.00	400.00	400.00	400.00	400.00	400.00

*VS reprezintă fracția organică din material (VS = volatile solids, sau substanță uscată organică).

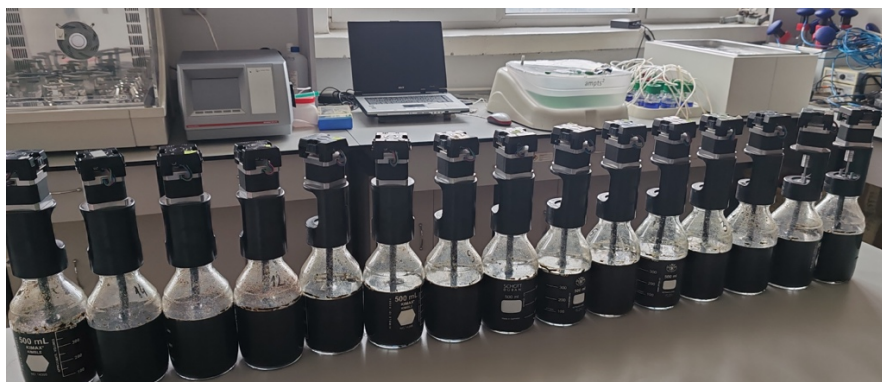


Figura 13.3: Bioreactoarele sistemului AMPTS II pregătite pentru începerea digestiei anaerobe

Procesul de digestie anaerobă pentru determinarea Potențialului Metanogen Biochimic (BMP) al materialelor organice este monitorizat în general pe perioade cuprinse între 20 și 40 de zile. Decizia încheierii analizei BMP se ia atunci când producția de biogaz din ultimele 24 de ore este sub 1% din producția totală de biogaz. În cazul de față, probele de tescovină de struguri și de tomate au fost digerate în mare parte în prima săptămână a bioprocesului, în timp ce grăsimile rezultate de la fabricarea uleiului alimentar, au fost digerate într-un timp mai îndelungat, producția principală de metan începând din săptămâna a doua a digestiei anaerobe. Grăsimile încă sunt folosite ca substrat de către bacteriile metanogene chiar și după 25 de zile. Totuși, analiza în acest caz este realizată pentru a determina potențialul metanogen al probelor de tescovină de struguri, biomasă care a ajuns la finalul potențialului metanogen. De aceea, analiza a fost oprită după 25 de zile de digestie.

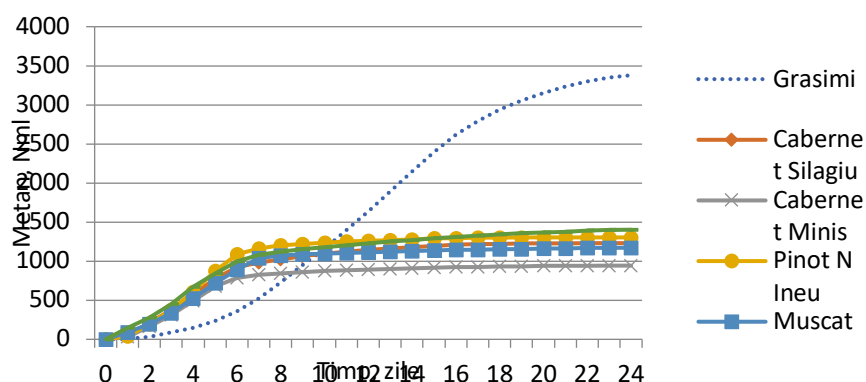


Figura 13.4: Evoluția acumulării de metan în procesul de digestie anaerobă în sistemul AMPTS II pentru determinarea Potențialului Metanogen Biochimic (BMP) al materialelor organice eșantionate



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Media cantității de metan rezultată din bioreactoarele încărcate cu tescovină de struguri este de 1163 ml. Acest volum de metan este eliberat de 26.5 grame cantitate biomasă brută încărcată în bioreactor, conținând în medie 5 grame substanță uscată organică supusă digestiei anaerobe.

Aceste rezultate indică un Potencial Metanogen Biochimic (BMP) al materiei organice din tescovina de tomate eșantionată în cadrul proiectului METROFOOD de **232.6 m³CH₄/tVS**. (VS reprezintă fracția organică din material (VS = volatile solids, sau substanță uscată organică). Aceste rezultate indică un potențial ridicat de producere a metanului, dacă comparăm cu rezultatele obținute pe același tip de substrat de către Teodorita Al Seadi et al. (2008), care raportează valori ale BMP pentru tescovina de tomate de până la 430 m³CH₄/tVS. Dacă comparăm aceste valori ale BMP cu valorile obținute pentru alte tipuri de substrat, vedem că tescovina de struguri emite cantități mai mici de metan în comparație cu grăsimile analizate în același lot experimental, caz în care BMP este de 698 m³CH₄/tVS, și comparabil cu tescovina de struguri analizată în același lot experimental, caz în care BMP este de circa 304 m³CH₄/tVS.

Dacă calculăm producția de metan raportată la masa de material brut, umed, așa cum rezultă din procesul de stoarcere a mustului, care are un conținut de SUo (VS) între 44 și 90%, putem estima că **fiecare tonă de tescovină de struguri aruncată la gunoi poate produce între 100 și 210 m³ de metan**.

Dacă luăm în considerare cantitatea de 230000 de tone de tescovină de struguri generată în România, se poate deduce o cantitate cuprinsă între **23 de milioane și 48.3 milioane m³ de metan eliberat în atmosferă** prin procesele de degradare anaerobă a materiei organice din tescovina de struguri cu conținut de SUo între 44 și 90%. Luând în considerare efectul de seră al metanului, care este estimat la aproximativ de 28 de ori mai mare decât al CO₂, se poate calcula amprenta de carbon în acest scenariu în care s-au luat în considerare cantități și fracții minime. Știind că densitatea metanului la temperatura standard (STP) este de aproximativ 0.7156 kg/m³ [10], masa emisiilor de metan exprimate mai sus (23 - 48.3 milioane m³) este cuprinsă între 16458 și 34563 tone, ceea ce tradus în efect de seră mai mare de 28 de ori decât CO₂, rezultă că resturile rezultate din procesarea tomatelor din România au un **efect de seră echivalent** cuprins între **461000 și 967000 tone CO₂**.





14. Concluzii

Activitatea de cercetare desfășurată în cadrul IM3.6 a demonstrat, printr-o abordare integrată și multidisciplinară, potențialul real al tescovinei de struguri de a fi valorificată ca ingredient alimentar funcțional, obținut prin principiile bioeconomiei circulare. Rezultatele obținute acoperă întregul lanț de valorificare – de la caracterizarea materiei prime, până la optimizarea proceselor de extracție, testarea aplicațiilor alimentare și explorarea unor direcții complementare de utilizare.

Din punct de vedere al materiei prime, caracterizarea tescovinei provenite din mai multe soiuri de struguri (Fetească albă, Riesling, Muscat Ottonel, Fetească neagră, Cabernet Sauvignon) a confirmat un conținut ridicat de compuși bioactivi – polifenoli, flavonoide și antociani – cu variații semnificative în funcție de soi și de condițiile tehnologice de procesare. Optimizarea procesului de uscare a fost un aspect central al acestei etape: rezultatele au arătat că temperatura de 50°C reprezintă un compromis eficient între durata de procesare și păstrarea integrității compușilor fenolici, în timp ce creșterea temperaturii la 55°C determină pierderi de până la 11% din conținutul fenolic inițial. Aceste constatări susțin recomandarea unor parametri de uscare moderați pentru păstrarea calității nutriționale a materiei prime.

În ceea ce privește extracția compușilor bioactivi, au fost testate și comparate mai multe tehnologii – percolarea asistată de ultrasunete, extracția asistată de microunde și metodele convenționale – fiecare fiind optimizată în funcție de parametri precum raportul solid:lichid, concentrația de solvent, temperatura și durata de extracție. Abordările moderne au permis obținerea unor randamente ridicate de compuși bioactivi, reducând totodată consumul de solvenți, în acord cu principiile chimiei verzi. Testele desfășurate la scară mărită au confirmat că tehnologiile optimizate la nivel de laborator pot fi transferate spre condiții mai apropiate de aplicarea industrială, chiar dacă randamentul înregistrează o reducere moderată, dar acceptabilă, pe măsura creșterii volumului de lucru.

Componenta de autenticitate și siguranță alimentară a adus un aport important prin dezvoltarea unor instrumente de trasabilitate: amprentarea elementală și izotopică a tescovinei permite diferențierea originii materiei prime și constituie un mijloc robust de prevenire a fraudelor alimentare. În paralel, analizele microbiologice au confirmat că probele analizate se încadrează în limitele admise de legislație, fără o contaminare relevantă cu microorganisme patogene, ceea ce susține siguranța utilizării tescovinei ca ingredient alimentar.

Testele de valorificare alimentară au vizat în principal suplimentarea iaurtului cu subproduse din prelucrarea strugurilor. Rezultatele au arătat efecte notabile asupra activității antioxidante, aceasta crescând de 3,8 până la 5,2 ori față de probele martor, în timp ce influențele asupra sinerezei și proprietăților reologice s-au menținut în limite



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

controlate, fără a compromite acceptabilitatea produsului. Complementar, studiul digestiei in vitro a confirmat că o parte semnificativă a compușilor fenolici din tescovină este eliberată progresiv pe parcursul tranzitului gastrointestinal simulat, cu păstrarea unei proporții importante a capacității antioxidante inițiale – un indiciu favorabil în privința biodisponibilității acestor compuși.

Dincolo de aplicațiile alimentare, au fost explorate și direcții complementare de valorificare, care extind aria de utilitate a acestor subproduse:

formularea de biopesticide și biofertilizanți din extractele polifenolice, cu potențial dual, atât în protecția culturilor, cât și în stimularea creșterii plantelor;

evaluarea potențialului metanogen al subproduselor din viticultură și vinificație, ca resursă pentru valorificare energetică.

Aceste rezultate susțin fezabilitatea unui model de tip „zero deșeuri” pentru industria vitivinicolă, în care subprodusele sunt reintroduse în circuitul economic sub formă de produse cu valoare adăugată.

În ansamblu, rezultatele obținute confirmă faptul că tescovina de struguri reprezintă o resursă secundară valoroasă și sustenabilă, iar tehnologiile dezvoltate și optimizate în cadrul acestei activități oferă o bază solidă pentru dezvoltarea celui de-al doilea ingredient alimentar funcțional propus prin proiect. Dincolo de rezultatul tehnic imediat, activitatea contribuie la reducerea impactului asupra mediului și la promovarea principiilor economiei circulare în lanțul valoric al industriei vitivinicole.





15. Echipa de experti care a participat la elaborarea documentului

Nume, prenume	Funcția în proiect	Contribuția la activitate
IBA		
Anghel Mihaela	Cercetător - expert	Determinări privind fezabilitatea utilizării tescovinei de struguri ca materie primă pentru dezvoltarea produselor alimentare funcționale și sustenabile
Susman Iulia	Cercetător - expert	Determinări privind fezabilitatea utilizării tescovinei de struguri ca materie primă pentru dezvoltarea produselor alimentare funcționale și sustenabile
Nicolcioiu Bogdan	Cercetător - expert	Determinări privind fezabilitatea utilizării tescovinei de struguri ca materie primă pentru dezvoltarea produselor alimentare funcționale și sustenabile
Criveanu Stamatie Gabriela	Cercetător - expert	Determinări privind fezabilitatea utilizării tescovinei de struguri ca materie primă pentru dezvoltarea produselor alimentare funcționale și sustenabile
Cucu Șerban	Cercetător - expert	Determinări privind fezabilitatea utilizării tescovinei de struguri ca materie primă pentru dezvoltarea produselor alimentare funcționale și sustenabile, redactare material
ICIA		
Becze Anca	Cercetător - expert	Studiu privind eliberarea aparentă a compușilor fenolici din tescovina de struguri în timpul digestiei <i>in vitro</i>
Tudor Blaga	Cercetător - expert	Studiu privind eliberarea aparentă a compușilor fenolici din tescovina de struguri în timpul digestiei <i>in vitro</i>
Oana Cadar	Cercetător - expert	Studiu privind eliberarea aparentă a compușilor fenolici din tescovina de struguri în timpul digestiei <i>in vitro</i>



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Socaciu Nicoleta Bianca	Cercetător - expert	Studiu privind eliberarea aparentă a compușilor fenolici din tescovina de struguri în timpul digestiei in vitro Evaluarea stabilității tescovinei de struguri
Simedru Dorina	Cercetător - expert	Evaluarea stabilității tescovinei de struguri
ITIM		
Dehelean Adriana	Cercetător - expert	Analize instrumentale avansate analiza elementala si amprentare izotopica
Puscas Romulus	Cercetător - expert	Analize instrumentale avansate analiza elementala si amprentare izotopica
David Maria	Cercetător - expert	Analize instrumentale avansate analiza elementala si amprentare izotopica
Magdas Ariana	Cercetător - expert	Analize instrumentale avansate analiza elementala si amprentare izotopica
Cristea Gabriela	Cercetător - expert	Analize instrumentale avansate analiza elementala si amprentare izotopica
Petrica Nicoleta	Cercetător - expert	Analize instrumentale avansate analiza elementala si amprentare izotopica
Magdas Dana Alina	Cercetător - expert	Analize instrumentale avansate analiza elementala si amprentare izotopica, redactare material
USVT		
Tulcan Camelia	Cercetător - expert	Coordonare activitate A3.2. pregătirea livrabilului I.M.3.6 Organizare workshop 28.05.2025
Radulov Isidora	Cercetător - expert	Contribuții la derularea procedurii de achiziție a celor 2 echipamente necesare realizării activităților proiectului, conform Strategiei de achiziție (analiză din punct de vedere tehnic a ofertelor de echipamente și a răspunsurilor la clarificările solicitate);





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

		Contributii la cercetări privind optimizarea procesului de uscare a tescovinei. Obținerea extractului din făină de tescovină prin extracție asistată de microunde
Dobrei Alin	Cercetător - expert	Asigurare subprodus tescovina. Contributii la condiționarea ingredientului tescovina de struguri Redactare IM3.6- Raport experimental de obținere a unui ingredient alimentar
Tripon Roberta	Asistent de cercetare	Uscare si macinare tescovina. Pregatire material pentru stocare si livrare catre partener. Elaborare IM3.6 Obținerea extractului din făină de tescovină prin extracție asistată de microunde Contribuții la derularea procedurii de achiziție a celor 2 echipamente necesare realizării activităților proiectului, conform Strategiei de achiziție (participare la receptie, instalare, instruire);
Berbecea Adina	Cercetător - expert	Contributii la condiționarea ingredientului tescovina de struguri Obținerea extractului din făină de tescovină prin extracție asistată de microunde Redactare material IM 3.6.
Vintila Teodor	Cercetător - expert	Contributie capitol Identificarea subproduselor din viticultură și vinificație si evaluare potential metanogen Identificarea de apeluri pentru valorificarea ingredientelor alimentare obținute în cadrul bioeconomiei circulare
INMA		
Vladut Valentin	Cercetător - expert	Extracția compușilor polifenolici din tescovină prin percolare asistată de ultrasunete și valorificarea acestora în formularea de biopesticide





**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Matache Andreea	Cercetător - expert	Extracția compușilor polifenolici din tescovina de struguri și analiza potențialului de utilizare în dezvoltarea de soluții bioactive
Mircea Costin	Cercetător - expert	Extracția compușilor polifenolici din tescovina de struguri și analiza potențialului de utilizare în dezvoltarea de soluții bioactive
Nae Gheorghe	Cercetător - expert	Extracția compușilor polifenolici din tescovina de struguri și analiza potențialului de utilizare în dezvoltarea de soluții bioactive
Oprescu Remus	Cercetător - expert	Extracția compușilor polifenolici din tescovina de struguri și analiza potențialului de utilizare în dezvoltarea de soluții bioactive
Persu Catalin	Cercetător - expert	Extracția compușilor polifenolici din tescovina de struguri și analiza potențialului de utilizare în dezvoltarea de soluții bioactive
Pruteanu Augustina	Cercetător - expert	Extracția compușilor polifenolici din tescovina de struguri și analiza potențialului de utilizare în dezvoltarea de soluții bioactive
Sorica Cristian	Cercetător - expert	Extracția compușilor polifenolici din tescovina de struguri și analiza potențialului de utilizare în dezvoltarea de soluții bioactive
USAMVB		
Israel-Roming Florentina	Cercetător - expert	Contribuții la derularea procedurii de achiziție a celor 3 echipamente necesare realizării activităților proiectului, conform Strategiei de achiziție (analiză din punct de vedere tehnic a ofertelor de echipamente și a răspunsurilor la clarificările solicitate); stabilirea schemei de prelucrare a tescovinei pentru obținerea celui de al doilea ingredient alimentar și analiza rezultatelor obținute





**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Bălan Daniela	Cercetător - expert	Contribuții la derularea procedurii de achiziție a celor 3 echipamente necesare realizării activităților proiectului, conform Strategiei de achiziție (analiză din punct de vedere tehnic a ofertelor de echipamente și a răspunsurilor la clarificările solicitate); Cercetări privind optimizarea procesului de uscare a tescovinei din struguri din soiul Fetească Albă, în vederea stabilirii schemei de prelucrare a acesteia pentru obținerea celui de al doilea ingredient alimentar Caracterizarea fitochimică, elementală și toxicologică a tescovinei de struguri în vederea selecției ca ingredient alimentar funcțional
Gherghina Evelina	Cercetător - expert	Cercetări privind optimizarea procesului de uscare a tescovinei din struguri din soiul Riesling, în vederea stabilirii schemei de prelucrare a acesteia pentru obținerea celui de al doilea ingredient alimentar Caracterizarea fitochimică, elementală și toxicologică a tescovinei de struguri în vederea selecției ca ingredient alimentar funcțional Optimizarea proceselor de obținere extracte polifenolice și ridicare la scară cu valorificarea reziduurilor
Popa Aglaia	Cercetător - expert	Cercetări privind optimizarea procesului de uscare a tescovinei din struguri din soiul Fetească Neagră, în vederea stabilirii schemei de prelucrare a acesteia pentru obținerea celui de al doilea ingredient alimentar Caracterizarea fitochimică, elementală și toxicologică a tescovinei de struguri în vederea selecției ca ingredient alimentar funcțional
Pascariu Oana Elena	Cercetător - expert	Adaptarea și testarea metodei de dozare a compusilor fenolici totali din tescovina de struguri albi și roșii; Teste privind relizarea de pulbere din piețițe de struguri din tescovina din soiul Fetească Albă și Riesling, în vederea stabilirii schemei de prelucrare a





Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

		acesteia pentru obținerea celui de al doilea ingredient alimentar
Ion Violeta Alexandra	Cercetător - expert	Analiza prezentei pesticidelor în tescovina de tomate, în vederea caracterizării primului ingredient alimentar Caracterizarea fitochimică, elementală și toxicologică a tescovinei de struguri în vederea selecției ca ingredient alimentar functional Optimizarea proceselor de obținere extracte polifenolice și ridicare la scară cu valorificarea reziduurilor
Lixandru Dragoș	Cercetător - expert	Preparare reactivi pentru testarea metodei de dozare a compusilor fenolici totali din tescovina de struguri
Dănilă Elena	Cercetător - expert	Pregătire probe și spălare sticlărie pentru testarea metodei de dozare a compusilor fenolici totali din tescovină de struguri; Separare piețițe de struguri din tescovină; Măcinarea și ambalarea tescovinei integrale și a piețițelor de struguri după uscare Optimizarea proceselor de obținere extracte polifenolice și ridicare la scară cu valorificarea reziduurilor
Dobrin Aurora	Cercetător - expert	Caracterizarea fitochimică, elementală și toxicologică a tescovinei de struguri în vederea selecției ca ingredient alimentar functional Optimizarea proceselor de obținere extracte polifenolice și ridicare la scară cu valorificarea reziduurilor
Bujor Nenita Oana	Cercetător - expert	Caracterizarea fitochimică, elementală și toxicologică a tescovinei de struguri în vederea selecției ca ingredient alimentar functional Optimizarea proceselor de obținere extracte polifenolice și ridicare la scară cu valorificarea reziduurilor
Zugravu Mihaela	Cercetător - expert	Caracterizarea fitochimică, elementală și toxicologică a tescovinei de struguri în vederea selecției ca ingredient alimentar funcțional



**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Danaila Elena	Cercetător - expert	Caracterizarea fitochimică, elementală și toxicologică a tescovinei de struguri în vederea selecției ca ingredient alimentar funcțional
Casian Hellene	Cercetător - expert	Optimizarea proceselor de obținere extracte polifenolice și ridicare la scară cu valorificarea reziduurilor
UDJG		
Turtoi Maria	Cercetător - expert	Pregătire livrabil parțial din partea P6-UDJG (corectură, integrare documente, verificare) Instrumente biotehnologice de modulare a funcționalității subproduselor și ingredientelor obținute Verificarea și integrarea, în Raportul de progres RP7-UDJG, a studiului „Analiza bioinformatică a compușilor biologic activi din tescovină” Comunicare cu responsabil de activitate USVT
Aprodu Iuliana	Cercetător - expert	Instrumente biotehnologice de modulare a funcționalității subproduselor și ingredientelor obținute Coordonarea realizării studiului „Analiza bioinformatică a compușilor biologic activi din tescovină”
Constantin Oana Emilia	Cercetător - expert	Instrumente biotehnologice de modulare a funcționalității subproduselor și ingredientelor obținute Analiza microbiologică a probelor de făină de tescovină din struguri albi și struguri roșii primite de la partenerul P3-USV Timișoara
Patrașcu Livia	Cercetător - expert	Instrumente biotehnologice de modulare a funcționalității subproduselor și ingredientelor obținute
Vasilean Ina	Cercetător - expert	Instrumente biotehnologice de modulare a funcționalității subproduselor și ingredientelor obținute
Bari Daniela	Asistent de cercetare	Realizarea studiului „Analiza bioinformatică a compușilor biologic activi din tescovină”
UB		





**Cofinanțat de
Uniunea Europeană**



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Curutiu Carmen	Cercetător - expert	Caracterizarea tescovinei (parametri fizico-chimici); analize bioactive (polifenoli, antociani); contribuții la evaluarea efectelor asupra sănătății Evaluarea încărcăturii microbiene a pulberilor vegetale prin metode standard adaptate, cu raportarea la criteriile Ordinului nr. 27/2011.
Ispas Bogdan	Cercetător - expert	Caracterizarea tescovinei (parametri fizico-chimici); analize bioactive (polifenoli, antociani); contribuții la evaluarea efectelor asupra sănătății Evaluarea încărcăturii microbiene a pulberilor vegetale prin metode standard adaptate, cu raportarea la criteriile Ordinului nr. 27/2011.
Gradisteanu Gratiela	Cercetător - expert	Caracterizarea tescovinei (parametri fizico-chimici); analize bioactive (polifenoli, antociani); contribuții la evaluarea efectelor asupra sănătății





Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287





16. Bibliografie

- Abouelenein D., Giovanni Caprioli A.M, Ricciutelli M, Sagratini G., Vittori S., (2023). Phenolic and nutritional profiles, and antioxidant activity of grape pomaces and seeds from Lacrima di Morro d'Alba and Verdicchio varieties. *Food Bioscience*, 53:102808
- Abreu, T., Luís, C., Câmara, J. S., Teixeira, J., & Perestrelo, R. (2025). Unveiling potential functional applications of grape pomace extracts based on their phenolic profiling, bioactivities, and circular bioeconomy. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-16.
- Abreu, T., Sousa, P., Gonçalves, J., Hontman, N., Teixeira, J., Câmara, J. S., & Perestrelo, R. (2024). Grape pomace as a renewable natural biosource of value-added compounds with potential food industrial applications. *Beverages*, 10(2), 45.
- Alecú, G. C., Olteanu, R. L., Radulescu, C., Stirbescu, R. M., Necula, C., & Boboaca-Mihaescu, D. N. (2020). Characterization of red grapes skin extracts using vibrational spectroscopy and chemometrics. *Journal of Science and Arts*, 20(2), 475-490.
- Alibante, A.; Lakka, A.; Bozinou, E.; Chatzilazarou, A.; Lalas, S.; Makris, D.P. Integrated Green Process for the Extraction of Red Grape Pomace Antioxidant Polyphenols Using Ultrasound-Assisted Pretreatment and β -Cyclodextrin. *Beverages* 2021, 7, 59.
- Allain, S., Ruault, J.-F., Moraine, M., & Madelrieux, S. (2022). The 'bioeconomics vs bioeconomy' debate: Beyond criticism, advancing research fronts. *Environmental Innovation and Societal Transitions*, 42, 58-73. <https://doi.org/10.1016/j.eist.2021.11.004>
- Almanza-Oliveros A., Bautista-Hernández I., Castro-López C., Aguilar-Zárate P., Meza-Carranco Z., Rojas R., Michel MR., Martínez-Ávila GCG., 2024. Grape Pomace-Advances in Its Bioactivity. Health Benefits, and Food Applications. *Foods*, 14;13(4):580
- Alonso, D.A.; Baeza, A.; Chinchilla, R.; Gómez Lucas, C.; Guillena, G.; Marset, X.; Pastor, I.M.; Ramón, D.J.; Ros Níguez, D.; Saavedra, B. Mezclas eutécticas como alternativa sostenible a los disolventes convencionales en Química Orgánica. *An. Química* 2018, 114, 79-87.
- Alshannaq, A., & Yu, J. H. (2017). Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International journal of environmental research and public health*, 14(6), 632.
- Annunziata, G., Maisto, M., Schisano, C., Ciampaglia, R., Daliu, P., Narciso, V., Tenore, G.C. and Novellino, E., 2018. Colon bioaccessibility and antioxidant activity of white, green and black tea polyphenols extract after in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Nutrients*, 10(11), p.1711.
- Antonić B, Jančíková S, Dordević D, Tremlová B. (2020). Grape Pomace Valorization: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Foods*, 7;9(11):1627.
- Antoniolli A., Fontana A.R., Piccoli P., Bottini R., 2015. Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec. *Food Chemistry*, 178:172-178
- Antoniolli, A.; Fontana, A.R.; Piccoli, P.; Bottini, R. Characterization of Polyphenols and Evaluation of Antioxidant Capacity in Grape Pomace of the Cv. Malbec. *Food Chem.* 2015, 178, 172-178.
- AOAC Official Method 934.06: Moisture in Dried Fruits, published: 2013-09-03
- Arvanitoyannis, I. S., Ladas, D., & Mavromatis, A. (2006). Potential uses and applications of treated wine waste: a review, *International Journal of Food Science and Technology*, Volume 41, Issue 5, May 2006, Pages 475-487, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01111.x>
- Aura, A.M., 2005. *In vitro digestion models for dietary phenolic compounds*. VTT Technical Research Centre of Finland.
- Ayuda-Durán B., González-Manzano S., Gil-Sánchez I., Moreno-Arribas M., B. Bartolomé, Sanz-Buenhombre M., 2019. Antioxidant characterization and biological effects of grape pomace extracts supplementation in *Caenorhabditis elegans*. *Foods*, 8 (2):75
- Balea, Ș. S., Parvu, A. E., Pop, N., Marín, F. Z., & Parvu, M. (2018). Polyphenolic compounds, antioxidant, and cardioprotective effects of pomace extracts from Fetească neagră cultivar. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018(1), 8194721.
- Bayana, D., & İçier, F. (2024). Effects of process conditions on drying of tomato pomace in a novel daylight simulated photovoltaic-assisted drying system. *Food and Bioprocess Technology*, 17(12), 5000-5022.



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Beres C., G.N. Costa, I. Cabezudo, N.K. da Silva-James, A.S. Teles, Cruz A.P., 2017. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68:581-594
- Bica, A., Sánchez, R., & Todolí, J. L. (2020). Evolution of the multielemental content along the red wine production process from tempranillo and grenache grape varieties. *Molecules*, 25(13), 2961.
- Binsuwaidan, R., Sultan, A. A., Negm, W. A., Attallah, N. G., Alqahtani, M. J., Hussein, I. A., Shaldam, M.A., El-Sherbeni, S.A., Elekhawwy, E. (2022). Bilosomes as nanopatform for oral delivery and modulated in vivo antimicrobial activity of lycopene. *Pharmaceuticals*, 15(9), 1043.
- Birner, R. (2018). Bioeconomy Concepts. In I. Lewandowski (Ed.), *Bioeconomy* (pp. 17-38). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-68152-8_3
- Blasi F, Trovarelli V, Mangiapelo L, Ianni F, Cossignani L. (2024). Grape Pomace for Feed Enrichment to Improve the Quality of Animal-Based Foods. *Foods*. 2024 Nov 6;13(22):3541.
- Blois, M.S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, vol 181, 1199-1200;
- Bocsan, I. C., Măgureanu, D. C., Pop, R. M., Levai, A. M., Macovei, Ș. O., Pătrașca, I. M., ... & Buzoianu, A. D. (2022). Antioxidant and anti-inflammatory actions of polyphenols from red and white grape pomace in ischemic heart diseases. *Biomedicine*, 10(10), 2337.
- Bocsan, I. C., Măgureanu, D. C., Pop, R. M., Levai, A. M., Macovei, Ștefan O., Pătrașca, I. M., Chedea, V. S., și Buzoianu, A. D. (2022). Antioxidant and Anti-Inflammatory Actions of Polyphenols from Red and White Grape Pomace în Ischemic Heart Diseases. *Biomedicine*, 10(10), 2337.
- Bonfigli, M.; Godoy, E.; Reinheimer, M.A.; Scenna, N.J. Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. *Experimental results and mathematical modeling. J. Food Eng.* 2017, 207, 56-72.
- Bordt, E. A., Zhang, N., Waddell, J., și Polster, B. M. (2022). The non-specific Drp1 inhibitor Mdivi-1 has modest biochemical antioxidant activity. *Antioxidants*, 11(3), 450.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. și Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie/Food Science and Technology*, vol 28, pp: 25-30;
- Bravo, L., Abia, R. and Saura-Calixto, F., 1994. Polyphenols as dietary fiber associated compounds. Comparative study on in vivo and in vitro properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(7), pp.1481-1487.
- Brown, E.M., Nitecki, S., Pereira-Caro, G., McDougall, G.J., Stewart, D., Rowland, I., Crozier, A. and Gill, C.I., 2014. Comparison of in vivo and in vitro digestion on polyphenol composition in lingonberries: Potential impact on colonic health. *Biofactors*, 40(6), pp.611-623.
- Brunner, G. Supercritical fluids: Technology and application to food processing. *Food Eng.* 2005, 67, 21-33.
- Buchholz, K., & Collins, J. (2013). The roots--a short history of industrial microbiology and biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(9), 3747-3762. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4768-2>
- Bugge, M., Hansen, T., & Klitkou, A. (2016). What Is the Bioeconomy? A Review of the Literature. *Sustainability*, 8(7), 691. <https://doi.org/10.3390/su8070691>
- Calabriso, N., Massaro, M., Scoditti, E., Verri, T., Barca, A., Gerardi, C., Giovinazzo, G., și Carluccio, M. A. (2022). Grape Pomace Extract Attenuates Inflammatory Response în Intestinal Epithelial and Endothelial Cells: Potential Health-Promoting Properties în Bowel Inflammation. *Nutrients*, 14(6), 1175.
- Caldas, T.W.; Mazza, K.E.L.; Teles, A.S.C.; Mattos, G.N.; Brígida, A.I.S.; Conte-Junior, C.A.; Borguini, R.G.; Godoy, R.L.O.; Cabral, L.M.C.; Tonon, R.V. Phenolic Compounds Recovery from Grape Skin Using Conventional and Non-Conventional Extraction Methods. *Ind. Crops Prod.* 2018, 111, 86-91.
- Cañadas, R., Sáenz de Miera, B., Méndez, P., González, E. J., și González-Miquel, M. (2023). Enhanced Recovery of Natural Antioxidants from Grape Waste Using Natural Eutectic Solvents-Based Microwave-Assisted Extraction. *Molecules*, 28(3), 1153.
- Caño, A., Maestre-Hernández, A.-B., Hernández-Ruiz, J., și Arnao, M. B. (2023). ABTS/TAC methodology: Main milestones and recent applications. *Processes*, 11(1), 185.



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Caponio, G. R., Minervini, F., Tamma, G., Gambacorta, G., & De Angelis, M. (2023). Promising application of grape pomace and its agri-food valorization: source of bioactive molecules with beneficial effects. *Sustainability*, 15(11), 9075.
- Caponio, G.R., Noviello, M., Calabrese, F.M., Gambacorta, G., Giannelli, G. and De Angelis, M., 2022. Effects of grape pomace polyphenols and in vitro gastrointestinal digestion on antimicrobial activity: Recovery of bioactive compounds. *Antioxidants*, 11(3), p.567.
- Carvalho, G. C., de Camargo, B. A. F., de Araújo, J. T. C., & Chorilli, M. (2021). Lycopene: From tomato to its nutraceutical use and its association with nanotechnology. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 447-458.
- Casazza, A.A.; Aliakbarian, B.; Mantegna, S.; Cravotto, G.; Perego, P. Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. *J. Food Eng.* 2010, 100, 50-55.
- Castellanos-Gallo, L.; Ballinas-Casarrubias, L.; Espinoza-Hicks, J.C.; Hernández-Ochoa, L.R.; Muñoz-Castellanos, L.N.; Zermeno-Ortega, M.R.; Borrego-Loya, A.; Salas, E. Grape Pomace Valorization by Extraction of Phenolic Polymeric Pigments: A Review. *Processes* 2022, 10, 469. <https://doi.org/10.3390/pr10030469>
- Castellanos-Gallo L., Ballinas-Casarrubias L., Espinoza-Hicks J., Hernández-Ochoa L.R., Muñoz-Castellanos L.N., Zermeno-Ortega M.R., 2022. Grape pomace valorization by extraction of phenolic polymeric pigments: A review. *Processes*, 10 (3):469
- Castro, L.E.N.; Sganzerla, W.G.; Silva, A.P.G.; John, O.D.; Barroso, T.L.C.T.; Rostagno, M.A.; Forster-Carneiro, T. Sustainable Extraction Methods for the Recovery of Polyphenolic Compounds from Grape Pomace and Its Biological Properties: A Comprehensive Review. *Phytochem. Rev.* 2024, 1-28. <https://doi.org/10.1007/s11101-024-09991-3>
- Castro, L.E.N.; Sganzerla, W.G.; Silva, A.P.G.; John, O.D.; Barroso, T.L.C.T.; Rostagno, M.A.; Forster-Carneiro, T. Sustainable extraction methods for the recovery of polyphenolic compounds from grape pomace and its biological properties: a comprehensive review. *Phytochem Rev.* 2024, <https://doi.org/10.1007/s11101-024-09991-3>.
- Casu, A., Camardo Leggieri, M., Toscano, P., & Battilani, P. (2024). Changing climate, shifting mycotoxins: A comprehensive review of climate change impact on mycotoxin contamination. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 23(2), e13323.
- Cataldo, E.; Fucile, M.; Mattii, G.B. (2021). A Review: Soil Management, Sustainable Strategies and Approaches to Improve the Quality of Modern Viticulture. *Agronomy*, 11, 2359.
- Caterino, S., Caniola, I. M., Sterflinger, K., Pignitter, M., & Cappa, F. (2025). Non-destructive analyses of iron-polyphenolic complexes for reconstructing iron-gall inks historical recipes. *npj Heritage Science*, 13(1), 371.
- Chabi, I. B., Zannou, O., Dedehou, E. S., Ayegnon, B. P., Odouaro, O. B. O., Maqsood, S., Galanakis, C.M., Kayodé, A. P. P. (2024). Tomato pomace as a source of valuable functional ingredients for improving physicochemical and sensory properties and extending the shelf life of foods: A review. *Heliyon*, 10(3).
- Chaves, J. O., Souza, M. C., Silva, L. C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P. C., Machado, A. P. da F., Forster-Carneiro, T., Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A. V., Barbero, G. F., și Rostagno, M. A. (2020). Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. *Frontiers in Chemistry*, 8, 507887.
- Chedea, V. S., Macovei, Ș. O., Bocsan, I. C., Măgureanu, D. C., Levai, A. M., Buzoianu, A. D., & Pop, R. M. (2022). Grape pomace polyphenols as a source of compounds for management of oxidative stress and inflammation—A possible alternative for non-steroidal anti-inflammatory drugs?. *Molecules*, 27(20), 6826.
- Chedea, V.S.; Macovei, Ș.O.; Bocsan, I.C.; Măgureanu, D.C.; Levai, A.M.; Buzoianu, A.D.; Pop, R.M. Grape Pomace Polyphenols as a Source of Compounds for Management of Oxidative Stress and Inflammation—A Possible Alternative for Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs? *Molecules* 2022, 27, 6826.
- Chedea, V. S., Macovei, Ștefan O., Bocsan, I. C., Măgureanu, D. C., Levai, A. M., Buzoianu, A. D., și Pop, R. M. (2022). Grape Pomace Polyphenols as a Source of Compounds for Management of Oxidative Stress



- and Inflammation—A Possible Alternative for Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs? *Molecules*, 27(20), 6826.
- Chedea, V. S., Tomoiagă, L. L., Ropota, M., Marc, G., Ranga, F., Comșa, M., Muntean, M.D., Sîrbu, A.D., Giurca, I.S., Răcoare, H.S., Bocsan, C.I., Buzoianu, A.D., Kisher, H., Pop, R. M. (2025). Phenolic Profile, Fatty Acid Composition, and Antioxidant Activity of Italian Riesling Grape Pomace from Two Transylvanian Microclimates. *Plants*, 14(12), 1809.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products: Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Karvela, E., Makris, D. P., & Karathanos, V. T. (2013). Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 53(2), 522-529.
- compounds from grape pomace. *Industrial Crops and Products*, 111, 379-390.
- Constantin, O. E., Stoica, F., Rațu, R. N., Stănciuc, N., Bahrim, G., și Râpeanu, G. (2024). Bioactive components, applications, extractions, and health benefits of winery by-products from a circular bioeconomy perspective: A review. *Antioxidants*, 13(1), 100.
- Córdova, A., Catalán, S., Carrasco, V., Oliveira Farias, F., Trentin, J., López, J., Salazar, F., și Mussagy, C. U. (2024). Sustainable assessment of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins with bio-based solvents for upgrading grape pomace Cabernet Sauvignon derived from a winemaking process. *Ultrasonics Sonochemistry*, 112, 107201.
- Cosme, F., Inês, A., Silva, D., Filipe-Ribeiro, L., Abrunhosa, L., & Nunes, F. M. (2021). Elimination of ochratoxin A from white and red wines: Critical characteristics of activated carbons and impact on wine quality. *LWT*, 140, 110838.
- Council of the European Union. (2023). Conclusions on the Opportunities of the Bioeconomy in the Light of Current Challenges with Special Emphasis on Rural Areas. Council of the European Union. <https://data.consilium.europa.eu/doc/document/ST-8406-2023-INIT/en/pdf>
- Crescente, G.; Cascone, G.; Petruzzello, A.; Bouymajane, A.; Volpe, M.G.; Russo, G.L.; Moccia, S. A Comparative Study between Microwave Hydrodiffusion and Gravity (MHG) and Ultrasound-Assisted Extraction (UAE): Chemical and Biological Characterization of Polyphenol-Enriched Extracts from Aglianico Grape Pomace. *Foods* 2023, 12, 2678.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174-181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>
- Damian, C. and Olteanu, A., 2014. Influence of dietary fiber from pea on some quality characteristics of yoghurts. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 20(2), pp.156-160.
- Da Porto, C., & Natolino, A. (2026). Sustainable Valorisation of Red and White Grape Pomace Via Sequential Supercritical Fluid Extraction for Selective Recovery of High-value Bioactives. *Waste and Biomass Valorization*, 1-10.
- Da Porto, C.; Natolino, A.; Decorti, D. The Combined Extraction of Polyphenols from Grape Marc: Ultrasound Assisted Extraction Followed by Supercritical CO₂ Extraction of Ultrasound-Raffinate. *LWT-Food Sci. Technol.* 2015, 61, 98-104.
- da Silva, R.F.; Carneiro, C.N.; de Sousa, C.B.d.C.; Gomez, F.J.; Espino, M.; Boiteux, J.; de los Á. Fernández, M.; Silva, M.F.; de S. Dias, F. Sustainable Extraction Bioactive Compounds Procedures in Medicinal Plants Based on the Principles of Green Analytical Chemistry: A Review. *Microchem. J.* 2022, 175, 107184.
- Dias, J. F., Simbras, B. D., Beres, C., dos Santos, K. O., Cabral, L. M. C., & Miguel, M. A. L. (2018). *Acid Lactic Bacteria as a Bio-Preservant for Grape Pomace Beverage*. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2, 58. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00058>
- Ding, L., Han, M., Wang, X., & Guo, Y. (2023). Ochratoxin A: Overview of prevention, removal, and detoxification methods. *Toxins*, 15(9), 565.



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Di Stefano, V., Buzzanca, C., Melilli, M. G., Indelicato, S., Mauro, M., Vazzana, M., Arizza, V., Lucarini, M., Durazzo, A. & Bongiorno, D. (2022). Polyphenol characterization and antioxidant activity of grape seeds and skins from Sicily: a preliminary study. *Sustainability*, 14(11), 6702.
- Domínguez, J., Martínez-Cordeiro, H., & Lores, M. (2016). Earthworms and grape marc: Simultaneous production of a high-quality biofertilizer and bioactive-rich seeds. In *Vermicomposting management*. IntechOpen.
- Dranca, F., și Oroian, M. (2019). Kinetic improvement of bioactive compounds extraction from red grape (*Vitis vinifera* Moldova) pomace by ultrasonic treatment. *Foods*, 8(8), 353.
- Drosou, C.; Kyriakopoulou, K.; Bimpilas, A.; Tsimogiannis, D.; Krokida, M. A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts. *Ind. Crops Prod.* 2015, 75, 141-149.
- Escorcio, R., Bento, A., Tome, A. S., Correia, V. G., Rodrigues, R., Moreira, C. J., ... & Silva Pereira, C. (2022). Finding a needle in a haystack: Producing antimicrobial cutin-derived oligomers from tomato pomace. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 10(34), 11415-11427.
- Eskilsson, C.S.; Bjorklund, E. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J. Chromatogr. A* 2000, 902, 227-250.
- Farinon, B., Felli, M., Sulli, M., Diretto, G., Savatin, D. V., Mazzucato, A., ... & Costantini, L. (2024). Tomato pomace food waste from different variants as a high antioxidant potential resource. *Food Chemistry*, 452, 139509.
- Ferrari, C. K. B., & Torres, E. D. S. (2003). Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(5-6), 251-260.
- Ferreira, S., Torres-Palazzolo, C., Bottini, R., Camargo, A. and Fontana, A., 2021. Assessment of in-vitro bioaccessibility and antioxidant capacity of phenolic compounds extracts recovered from grapevine bunch stem and cane by-products. *Food Chemistry*, 348, p.129063.
- Ferri M., Vannini M., M. Ehrnell, L. Eliasson, E. Xanthakis, Monari S., 2020. From winery waste to bioactive compounds and new polymeric biocomposites: A contribution to the circular economy concept. *Journal of Adv. Research*, 24:1-11
- Fine, A. M. (2000). Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Alternative medicine review*, 5(2), 144-151.
- Fontana, A.; Antonioli, A.; Fernández, M.A.D.; Bottini, R. Phenolics Profiling of Pomace Extracts from Different Grape Varieties Cultivated in Argentina. *RSC Adv.* 2017, 7, 29446-29457. <https://doi.org/10.1039/C7RA04681B>
- Fontana, A.; Antonioli, A. Phenolics profiling of pomace extracts from different grape varieties cultivated in Argentina. *RSC Adv.* 2017, 7, 29446-29457.
- Fontana, A.R.; Antonioli, A.; Bottini, R. Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: Extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61, 8987-9003.
- Friedrich, J., Najork, K., Keck, M., & Zscheischler, J. (2022). Bioeconomic fiction between narrative dynamics and a fixed imaginary: Evidence from India and Germany. *Sustainable Production and Consumption*, 30, 584-595. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2021.12.026>
- Garrido, T.; Gizdavic-Nikolaidis, M.; Leceta, I.; Urdanpilleta, M.; Guerrero, P.; de la Caba, K.; Kilmartin, P.A. Optimizing the Extraction Process of Natural Antioxidants from Chardonnay Grape Marc Using Microwave-Assisted Extraction. *Waste Manag.* 2019, 88, 110-117.
- Gazzola D., Vincenzi S., Gastaldon L., Tolin S., Pasini G., Curioni A., 2014. The proteins of the grape (*Vitis vinifera* L.) seed endosperm: Fractionation and identification of the major components. *Food Chemistry*, 155:132-139
- Geels, F. W. (2011). The multi-level perspective on sustainability transitions: Responses to seven criticisms. *Environmental Innovation and Societal Transitions*, 1(1), 24-40. <https://doi.org/10.1016/j.eist.2011.02.002>



- Ghafoor, K.; Park, J.; Choi, Y. Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2010, 11, 485-490.
- Gómez-Albarrán, C., Melguizo, C., Patiño, B., Vázquez, C., & Gil-Serna, J. (2021). Diversity of mycobiota in Spanish grape berries and selection of *Hanseniaspora uvarum* U1 to prevent mycotoxin contamination. *Toxins*, 13(9), 649.
- González-Centeno, M.R.; Comas-Serra, F.; Femenia, A.; Rosselló, C.; Simal, S. Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): Experimental kinetics and modeling. *Ultrason. Sonochem.* 2015, 22, 506-514.
- Gonzalez-Centeno, M. R., Jourdes, M., Femenia, A., Simal, S., Rossello, C., & Teissedre, P. L. (2013). Characterization of polyphenols and antioxidant potential of white grape pomace byproducts (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(47), 11579-11587.
- Gordon, H. S. (1954). The Economic Theory of a Common-Property Resource: The Fishery. *Journal of Political Economy*, 62(2), 124-142. <https://doi.org/10.1086/257497>
- Gowdy, J., & Mesner, S. (1998). The Evolution of Georgescu-Roegen's Bioeconomics. *Review of Social Economy*, 56(2), 136-156. <https://doi.org/10.1080/003467698000000016>
- Grosu, A. C., Diguță, C., Pristavu, M.-C., Popa, A., Badea, F., Cudălbeanu, M., Orțan, A., Dopcea, I., și Băbeanu, N. (2024). Exploring the phytochemical profiles, and antioxidant and antimicrobial activities of the hydroethanolic grape pomace extracts from two Romanian indigenous varieties. *Fermentation*, 10(9), 470. doi:10.3390/fermentation10090470
- Grosu, A. C., Diguță, F. C., Pristavu, M. C., Popa, A., Badea, F., Dragoi Cudalbeanu, M., Orțan, A., Dopcea, I., Băbeanu, N. (2024). Exploring the Phytochemical Profiles, and Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Hydroethanolic Grape Pomace Extracts from Two Romanian Indigenous Varieties. *Fermentation*, 10(9), 470.
- Guaita, M., Motta, S., Messina, S., Casini, F., și Bosso, A. (2023). Polyphenolic profile and antioxidant activity of green extracts from grape pomace skins and seeds of Italian cultivars. *Foods*, 12(20), 3880.
- Guardianelli, L. M., Salinas, M. V., Puppo, M. C., Hidalgo, A., & Pasini, G. (2025). Nutritional and Antioxidant Valorization of Grape Pomace from Argentinian Vino De La Costa and Italian Cabernet Wines. *Foods*, 14(13), 2386.
- Guardianelli, L. M., Salinas, M. V., Puppo, M. C., Hidalgo, A., și Pasini, G. (2025). Nutritional and antioxidant valorization of grape pomace from Argentinian Vino de la Costa and Italian Cabernet wines. *Foods*, 14(13), 2386.
- Gumienna, M., Lasik, M. and Czarnecki, Z., 2011. Bioconversion of grape and chokeberry wine polyphenols during simulated gastrointestinal in vitro digestion. *International journal of food sciences and nutrition*, 62(3), pp.226-233.
- Gurgenidze, L., Kanchaveli, T., & Kvartskhava, G. (2022). Selecting optimal parameters for obtaining the extract of red grape pomace. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 75(1), 9831-9837.
- Gutiérrez-Escobar R., Aliaño-González M.J., Cantos-Villar E., 2021. Wine polyphenol content and its influence on wine quality and properties: A review. *Molecules*, 26 (3):718
- Heimler, D., Romani, A., & Ieri, F. (2017). Plant polyphenol content, soil fertilization and agricultural management: A review. *European Food Research and Technology*, 243(7), 1107-1115.
- He, Z.; Yang, C.; Yuan, Y.; He, W.; Wang, H.; Li, H. Basic Constituents, Bioactive Compounds and Health-Promoting Benefits of Wine Skin Pomace: A Comprehensive Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2023, 64, 8073-8090.
- Hornedo-Ortega, R.; González-Centeno, M.R.; Chira, K.; Jourdes, M.; Teissedre, P.-L.; Hornedo-Ortega, R.; González-Centeno, M.R.; Chira, K.; Jourdes, M.; Teissedre, P.-L. Phenolic Compounds of Grapes and Wines: Key Compounds and Implications in Sensory Perception. In *Chemistry and Biochemistry of Winemaking, Wine Stabilization and Aging*; IntechOpen: London, UK, 2020.
- Ibrahim, A. H., & Khalifa, S. A. (2015). Improve sensory quality and textural properties of fermented camel's milk by fortified with dietary fiber. *Journal of American Science*, 11(3), 42-54.



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Ignat, I.; Volf, I.; Popa, V.I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.* 2011, 126, 1821-1835.
- International Organisation of Vine and Wine (OIV). ANNUAL ASSESSMENT OF THE WORLD VINE AND WINE SECTOR IN 2024 (chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/OIV_Statistical_Brief-Wine_Table_Grapes_and_Dried_Grapes_in_2024.pdf)
- Ioannidou SP, Margellou AG, Petala MD, Triantafyllidis KS. Pretreatment/fractionation and characterization of winery waste streams within an integrated biorefinery concept. *Sustainable Chemistry and Pharmacy.* 2022;27:100670. DOI: 10.1016/j.scp.2022.100670
- Iora, S. R. F., Maciel, G. M., Zielinski, A. A. F., Silva, M., Pontes, P. V. A., Haminiuk, C. W. I., și Granato, D. (2015). Evaluation of the bioactive compounds and the antioxidant capacity of grape pomace. *International Journal of Food Science și Technology*, 50(1), 62-69.
- Iordăchescu, D., Dumitru, I. F. (1988) *Biochimie practică*, Universitatea București
- ISO 21527-2. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds—Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95. Preluat din <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:21527:-2:ed-1:v1:en>
- ISO 21528-2. (2017). Microbiology of the food chain—Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae—Part 2: Colony-count technique. Preluat din <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:21528:-2:ed-2:v2:en>
- ISO 4833-2. (2014). Microbiology of the food chain—Horizontal method for the enumeration of microorganisms—Part 2: Colony count at 30 degrees C by the surface plating technique. Preluat din <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:4833:-2:ed-1:v1:en>
- Jamaledine, A., De Caro, P., Bouajila, J., Evon, P., Haddad, J. G., El-Kalamouni, C., Hijazi, A., Merah, O. (2022). In vitro bioactivities of extracts from tomato pomace. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 27(9), 259.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern Food Microbiology*. Boston, MA: Springer.
- Jeong, K.M.; Zhao, J.; Jin, Y.; Heo, S.R.; Han, S.Y.; Yoo, D.E.; Lee, J. Highly efficient extraction of anthocyanins from grape skin using deep eutectic solvents as green and tunable media. *Arch. Pharm. Res.* 2015, 38, 2143-2152.
- Jin, Q.; O'Hair, J.; Stewart, A.C.; O'Keefe, S.F.; Neilson, A.P.; Kim, Y.-T.; McGuire, M.; Lee, A.; Wilder, G.; Huang, H. (2019). Compositional Characterization of Different Industrial White and Red Grape Pomaces în Virginia and the Potential Valorization of the Major Components. *Foods*, 8, 667.
- Kammerer, D., Claus, A., Carle, R., și Schieber, A. (2004). Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(14), 4360-4367.
- Karaaslan, M., Ozden, M., Vardin, H., & Turkoglu, H. (2011). Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 44(4), 1065-1072.
- Karastegiou A., Gancel A. L., Jourdes M., Teissedre P.L., 2025. Transforming winemaking waste: grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds. *OENO One*, vol. 59:2
- Karastergiou, A., Gancel, A. L., Jourdes, M., & Teissedre, P. L. (2024). Valorization of grape pomace: A review of phenolic composition, bioactivity, and therapeutic potential. *Antioxidants*, 13(9), 1131.
- Karastergiou, A.; Gancel, A.-L.; Jourdes, M.; Teissedre, P.-L. Valorization of Grape Pomace: A Review of Phenolic Composition, Bioactivity, and Therapeutic Potential. *Antioxidants* 2024, 13, 1131. <https://doi.org/10.3390/antiox13091131>
- Kardung, M., Cingiz, K., Costenoble, O., Delahaye, R., Heijman, W., Lovrić, M., van Leeuwen, M., M'Barek, R., van Meijl, H., Piotrowski, S., Ronzon, T., Sauer, J., Verhoog, D., Verkerk, P. J., Vracholi, M., Wesseler, J. H. H., & Zhu, B. X. (2021). Development of the Circular Bioeconomy: Drivers and Indicators. *Sustainability*, 13(1), 413. <https://doi.org/10.3390/su13010413>
- Kokkinomagoulos, E.; Kandylis, P. Grape Pomace, an Undervalued by-Product: Industrial Reutilization within a Circular Economy Vision. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2023, 22, 739-773. <https://doi.org/10.1007/s11157-023-09665-0>



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Koochakzaei, A., & Sabaghian, M. (2023). Tannin characterization and sourcing in historical leathers through FTIR spectroscopy and PCA analysis. *Collagen and leather*, 5(1), 21.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., ... & Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, 113(9), 71-88.
- Ky, I., și Teissède, P.-L. (2015). Characterisation of Mediterranean grape pomace seed and skin extracts: Polyphenolic content and antioxidant activity. *Molecules*, 20(2), 2190-2207.
- Lachman J., Hejtmánková, K. Hejtmánková, Š. Horníčková, V. Pivec, Skala O., 2013. Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocopherols and essential elements content as a by-product of winemaking. *Industrial Crops and Products*, 49:445-453
- Lang, C. (2022). Bioeconomy - from the Cologne paper to concepts for a global strategy. *EFB Bioeconomy Journal*, 2, 100038. <https://doi.org/10.1016/j.bioeco.2022.100038>
- Levidow, L., Birch, K., & Papaioannou, T. (2012). EU agri-innovation policy: two contending visions of the bio-economy. *Critical Policy Studies*, 6(1), 40-65. <https://doi.org/10.1080/19460171.2012.659881>
- Li, C., Liu, R., Meng, L., Meng, Y., Xu, S., Wang, X., Wang, L., Lan, T. & Zhou, T. (2026). Response Surface Methodology-Optimized Ultrasonic-Assisted Extraction Combined with Folin-Ciocalteu Assay for Total Polyphenol Determination in Grape Seeds: Development and Application. *Applied Sciences*, 16(7), 3306.
- Lidíková, J., Čeryová, N., Musilová, J., Bobko, M., Bobková, A., Demianová, A., ... & Grygorieva, O. (2024). Biogenic and Risk Elements in Grape Pomace of Different Cultivars. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 14(1), e11096-e11096.
- Li, H., Wang, X., Li, P., Li, Y., & Wang, H. (2008). Comparative study of antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) seed powder assessed by different methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 16(6), 12.
- Lingua, M.S., Theumer, M.G., Kruzynski, P., Wunderlin, D.A. and Baroni, M.V., 2019. Bioaccessibility of polyphenols and antioxidant properties of the white grape by simulated digestion and Caco-2 cell assays: Comparative study with its winemaking product. *Food Research International*, 122, pp.496-505.
- Loarce, L.; Oliver-Simancas, R.; Marchante, L.; Díaz-Maroto, M.C.; Alañón, M.E. Implementation of Subcritical Water Extraction with Natural Deep Eutectic Solvents for Sustainable Extraction of Phenolic Compounds from Winemaking By-Products. *Food Res. Int.* 2020, 137, 109728.
- Lopes, J. D. C., Madureira, J., Margaça, F. M., & Cabo Verde, S. (2025). Grape pomace: A review of its bioactive phenolic compounds, health benefits, and applications. *Molecules*, 30(2), 362.
- Losacker, S., Heiden, S., Liefner, I., & Lucas, H. (2023). Rethinking bioeconomy innovation in sustainability transitions. *Technology in Society*, 74, 102291. <https://doi.org/10.1016/j.techsoc.2023.102291>
- Lühmann, M., & Vogelpohl, T. (2023). The bioeconomy in Germany: A failing political project? *Ecological Economics*, 207, 107783. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2023.107783>
- Lukić I., S. Radeka, I. Budić-Leto, M. Bubola, Vrhovsek U., 2019. Targeted UPLC-QqQ-MS/MS profiling of phenolic compounds for differentiation of monovarietal wines and corroboration of particular varietal typicity concepts. *Food Chemistry*, 300, Article 125251
- Lu, Z., Wang, J., Gao, R., Ye, F., & Zhao, G. (2019). Sustainable valorisation of tomato pomace: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 172-187.
- Machado, T. O., Portugal, I., de AC Kodel, H., Droppa-Almeida, D., Lima, M. D. S., Fathi, F., ... & Souto, E. B. (2024). Therapeutic potential of grape pomace extracts: A review of scientific evidence. *Food Bioscience*, 60, 104210.
- Madhu, A. N., Amrutha, N., & Prapulla, S. G. (2012). Characterization and antioxidant property of probiotic and synbiotic yogurts. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 4(2), 90-97.
- Makris D.P., S. Kallithraka, Kefalas P., 2006. Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (5):396-404
- McCormick, K., & Kautto, N. (2013). The Bioeconomy in Europe: An Overview. *Sustainability*, 5(6), 2589-2608. <https://doi.org/10.3390/su5062589>
- Mendes J.A., Xavier A.M., Evtuguin D.V., Lopes L.P., 2013. Integrated utilization of grape skins from white grape pomaces, *Industrial Crops and Products*, 49:286-291



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Mérillon, J.-M.; Arora, J.; Ramawat, K.G. *Agricultural Waste: Environmental Impact, Useful Metabolites and Energy Production; Sustainable Development and Biodiversity*; Springer Nature: Singapore, 2023; Volume 31. <https://doi.org/10.1007/978-981-19-8774-8>
- Merkytė V., E. Longo, G. Windisch, Boselli E., 2020. Phenolic compounds as markers of wine quality and authenticity. *Foods*, 9 (12):1785
- Milinčić, D.D., Stanisavljević N.S., Kostić A.Z., Bajić S.S., Kojić M.O., Gašić U.M., 2021. Phenolic compounds and biopotential of grape pomace extracts from Prokupac red grape variety. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 138 (2021), Article 110739
- Milinčić, D.D.; Stanisavljević, N.S.; Kostić, A.Ž.; Soković Bajić, S.; Kojić, M.O.; Gašić, U.M.; Barać, M.B.; Stanojević, S.P.; Lj Tešić, Ž.; Pešić, M.B. Phenolic Compounds and Biopotential of Grape Pomace Extracts from Prokupac Red Grape Variety. *LWT* 2021, 138, 110739. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110739>
- Moldovan, M., Iurian, S., Pușcaș, C., Silaghi-Dumitrescu, R., Hanganu, D., Bogdan, C., Vlase, L., Oniga, I., și Benedec, D. (2019). A design of experiments strategy to enhance the recovery of polyphenolic compounds from *Vitis vinifera* by-products through heat reflux extraction. *Biomolecules*, 9(10), 529.
- Moutinho, J., Gouvinhas, I., Domínguez-Perles, R., și Barros, A. (2023). Optimization of the Extraction Methodology of Grape Pomace Polyphenols for Food Applications. *Molecules*, 28(9), 3885.
- Muncaciu, M. L., MARIN, F. Z., & BABEȘ, A. C. (2017). Comparative polyphenolic content of grape pomace flours from 'Fetească neagră' and 'Italian Riesling' Cultivars. *Notulae botanicae horti agrobotanici cluj- napoca*, 45(2), 532-539.
- Mustafa A., Abouelenein D., Acquaticci L., Alessandroni L., AbdAllah R., Borsetta G., 2021. Effect of roasting, boiling, and frying processing on 29 polyphenolics and antioxidant activity in seeds and shells of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Plants*, 10 (10):2192
- Naomi, R.; Yazid, M.D.; Teoh, S.H.; Balan, S.S.; Shariff, H.; Kumar, J.; Bahari, H.; Embong, H. Dietary Polyphenols as a Protection against Cognitive Decline: Evidence from Animal Experiments; Mechanisms and Limitations. *Antioxidants* 2023, 12, 1054. <https://doi.org/10.3390/antiox12051054>
- Nechifor, M., & Radulescu, C., Buruleanu, L.C., Olteanu, R.L., Stanescu, S.G. (2024). Grape variety and extraction methods effect on phenolic compounds and antioxidant activity of white grapes pomace, U.P.B. Sci. Bull., Series B, Vol. 86, Iss. 4, 2024
- Negro C., A. Aprile, A. Luvisi, L. De Bellis, Miceli A., 2021. Antioxidant activity and polyphenols characterization of four monovarietal grape pomaces from Salento (Apulia, Italy). *Antioxidants*, 10 (9):1406
- Nicolescu, A., Bunea, C. I., & Mocan, A. (2025). Total flavonoid content revised: An overview of past, present, and future determinations in phytochemical analysis. *Analytical Biochemistry*, 700, 115794.
- Nicolescu, C. M., Bumbac, M., Olteanu, R. L., Alecu, G. C., Boboaca-Mihaescu, D. N., Necula, C., & Radulescu, C. (2019). Influence of extraction method on chemical composition from red grapes skin extract. *Journal of Science and Arts*, 19(1), 201-208.
- N., Lesjak, M. (2018). Solvent selection for efficient extraction of bioactive
- OECD. (2009). The Bioeconomy to 2030. OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264056886-en>
- OECD. (2025, January 29). Social economy and social innovation. <https://www.oecd.org/en/topics/social-economy-and-social-innovation.html>
- OIV (2024). State of the world vine and wine sector în 2023. International Organisation of Vine and Wine
- Oliver, L., Ramió-Pujol, S., Amoedo, J., et al. (2021). A Novel Grape-Derived Prebiotic Selectively Enhances Abundance and Metabolic Activity of Butyrate-Producing Bacteria in Faecal Samples. *Frontiers in Microbiology*, 12, 639948. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.639948>
- Onache, P. A., Geană, E.-I., Ciucure, C. T., Florea, A., Sumedrea, D. I., Ionete, R. E., și Tița, O. (2022). Bioactive phytochemical composition of grape pomace resulted from different white and red grape cultivars. *Separations*, 9(12), 395
- Onache, P. A., Geana, E. I., Ciucure, C. T., Florea, A., Sumedrea, D. I., Ionete, R. E., & Tița, O. (2022). Bioactive phytochemical composition of grape pomace resulted from different white and red grape cultivars. *Separations*, 9(12), 395.



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Onache, P.A.; Geana, E.-I.; Ciucure, C.T.; Florea, A.; Sumedrea, D.I.; Ionete, R.E.; Tița, O. Bioactive Phytochemical Composition of Grape Pomace Resulted from Different White and Red Grape Cultivars. *Separations* 2022, 9, 395.
- Onache P.A., Geana E.I., C.T. Ciucure, A. Florea, D.I. Sumedrea, Ionete R.E., 2022. Bioactive phytochemical composition of grape pomace resulted from different white and red grape cultivars. *Separations*, 9 (12):395
- Ortega, N., Reguant, J., Romero, M.P., Macià, A. and Motilva, M.J., 2009. Effect of fat content on the digestibility and bioaccessibility of cocoa polyphenol by an in vitro digestion model. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(13), pp.5743-5749.
- Panić, M., Damjanović, A., Radošević, K., Cvjetko Bubalo, M., Dujmić, F., Škegro, M., Radojčić Redovniković, I., și Brnčić, M. (2024). Enhanced preparative-scale extraction from Graševina grape pomace using ultrasound-assisted extraction and natural deep eutectic solvents. *Applied Sciences*, 14(14), 6185
- Panić, M.; Radić, M.; Kraljić, K.; Škevin, D.; Radojčić, I. Ready-to-use green polyphenolic extracts from food by-products. *Food Chem.* 2019, 283, 628-636.
- Paradelo, R.; Moldes, A.B.; Barral, M.T. (2011). Carbon and Nitrogen Mineralization in a Vineyard Soil Amended with Grape Marc Vermicompost. *Waste Manag. Res.*, 29, 1177-1184.
- Pastrana-Bonilla, E., Akoh, C.C., Sellappan, S. and Krewer, G., 2003. Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), pp.5497-5503.
- Pedersen, S., Gangås, K. E., Chetri, M., & Andreassen, H. P. (2020). Economic Gain vs. Ecological Pain—Environmental Sustainability in Economies Based on Renewable Biological Resources. *Sustainability*, 12(9), 3557. <https://doi.org/10.3390/su12093557>
- Peixoto, C.M.; Dias, M.I.; Alves, M.J.; Calhella, R.C.; Barros, L.; Pinho, S.P.; Ferreira, I.C.F.R. Grape Pomace as a Source of Phenolic Compounds and Diverse Bioactive Properties. *Food Chem.* 2018, 253, 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.163>
- Peixoto, C. M., Dias, M. I., Alves, M. J., et al. (2018). *Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties.* *Food Chemistry*, 253, 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.163>
- Pereira, D.T.V.; Tarone, A.G.; Cazarin, C.B.B.; Barbero, G.F.; Martínez, J. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc. *J. Food Eng.* 2019, 240, 105-113.
- Perra, M., Cuenca-Lombrana, A., Bacchetta, G., Manca, M. L., Manconi, M., Maroun, R. G., Muntoni, A., Tuberoso, C. I. G., Gil, K. A., & De Gioannis, G. (2022). Combining different approaches for grape pomace valorization: Polyphenols extraction and composting of the exhausted biomass. *Sustainability*, 14(17), 10690.
- Pesavento, I. C., Bertazzo, A., Flamini, R., Vedova, A. D., De Rosso, M., Seraglia, R., & Traldi, P. (2008). Differentiation of Vitis vinifera varieties by MALDI-MS analysis of the grape seed proteins. *Journal of Mass Spectrometry*, 43(2), 234-241.
- Pešić, M.B., Milinčić, D.D., Kostić, A.Ž., Stanisavljević, N.S., Vukotić, G.N., Kojić, M.O., Gašić, U.M., Barać, M.B., Stanojević, S.P., Popović, D.A. and Banjac, N.R., 2019. In vitro digestion of meat-and cereal-based food matrix enriched with grape extracts: How are polyphenol composition, bioaccessibility and antioxidant activity affected?. *Food chemistry*, 284, pp.28-44.
- Pfau, S., Hagens, J., Dankbaar, B., & Smits, A. (2014). Visions of Sustainability in Bioeconomy Research. *Sustainability*, 6(3), 1222-1249. <https://doi.org/10.3390/su6031222>
- Pintać, D., Majkić, T., Torović, L., Orčić, D., Beara, I., Simin, N., Mimica-Dukić, N., Lesjak, M. (2018). Solvent selection for efficient extraction of bioactive compounds from grape pomace. *Industrial Crops and Products*, 111, 379-390.
- Pinto, R., Correia, C., Mourão, I., Moura, L., & Brito, L. M. (2023). Composting waste from the white wine industry. *Sustainability*, 15(4), 3454.
- Polyphenol characterization and antioxidant activity of grape seeds and skins from sicily: A preliminary study. *Sustainability*, 14 (11):6702



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Popescu, M., Iancu, P., Plesu, V., Todasca, M. C., & Bildea, C. S. (2019). Effect of different drying processes on lycopene recovery from tomato peels of Crystal variety. *UPB Sci. Bull. Ser. B*, 81, 46-58.
- Prata, C., Zalambani, C., Rossi, F., Rossello, S., Cerchiara, T., Cappadone, C., și Malucelli, E. (2025). Nutrients and nutraceuticals from *Vitis vinifera* L. pomace: Biological activities, valorization, and potential applications. *Nutrients*, 17(3), 583.
- Pülzl, H., Kleinschmit, D., & Arts, B. (2014). Bioeconomy - an emerging meta-discourse affecting forest discourses? *Scandinavian Journal of Forest Research*, 29(4), 386-393. <https://doi.org/10.1080/02827581.2014.920044>
- Quental, N., Lourenço, J. M., & Da Silva, F. N. (2011). Sustainability: Characteristics and scientific roots. *Environment, Development and Sustainability*, 13(2), 257-276. <https://doi.org/10.1007/s10668-010-9260-x>
- Radulescu, C., Buruleanu, L. C., Olteanu, R. L., Nicolescu, C. M., Bumbac, M., Gorghiu, L. M., & Nechifor, M. D. (2023). Grape by-Products: potential sources of phenolic Compounds for novel functional foods. In *Functional Food-Upgrading Natural and Synthetic Sources*. IntechOpen.
- Radulescu, C., Olteanu, R. L., Buruleanu, C. L., Dulama, I. D., Stirbescu, R. M., Bucurica, I. A., ... & Banica, A. L. (2024). Polyphenolic screening and the antioxidant activity of grape pomace extracts of Romanian white and red grape varieties. *Antioxidants*, 13(9), 1133.
- Radulescu, C., Olteanu, R. L., Buruleanu, C. L., Dulama, I. D., Stirbescu, R. M., Bucurica, I. A., Stanescu, S.G., Banica, A. L. (2024). Polyphenolic screening and the antioxidant activity of grape pomace extracts of Romanian white and red grape varieties. *Antioxidants*, 13(9), 1133.
- Rădulescu, C., Olteanu, R. L., Buruleanu, C. L., Nechifor, M. D., Dulamă, I. D., Știrbescu, R. M., Bucurică, I. A., Stănescu, S. G., și Banica, A. L. (2024). Polyphenolic screening and the antioxidant activity of grape pomace extracts of Romanian white and red grape varieties. *Antioxidants*, 13(9), 1133.
- Radulescu, C., Olteanu, R. L., Nicolescu, C. M., Bumbac, M., Buruleanu, L. C., & Holban, G. C. (2021). Vibrational spectroscopy combined with chemometrics as tool for discriminating organic vs. conventional culture systems for red grape extracts. *Foods*, 10(8), 1856.
- Rajha, H. N., El Darra, N., Hobai, Z., Boussetta, N., Vorobiev, E., Maroun, R. G., & Louka, N. (2014). Extraction of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannins from grape byproducts by response surface methodology. Influence of solid-liquid ratio, particle size, time, temperature and solvent mixtures on the optimization process. *Food and Nutrition Sciences*, 5(4), 397.
- Rashmi, H.B.; Negi, P.S. Phenolic Acids from Vegetables: A Review on Processing Stability and Health Benefits. *Food Res. Int.* 2020, 136, 109298.
- Ravikanth, V., Rana P.Singh, Zhengjie Liu, John A.Thompson, Rajesh Agarwal, Chapla Agarwal (2006). Fractionation of grape seed extract and identification of gallic acid as one of the major active constituents causing growth inhibition and apoptotic death of DU145 human prostate carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 27(7), 1445-1453.
- REGULAMENTUL (UE) 2023/915 AL COMISIEI din 25 aprilie 2023, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/RO/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R0915>
- REGULAMENTUL (UE) NR. 1169/2011 AL PARLAMENTULUI EUROPEAN ȘI AL CONSILIULUI din 25 octombrie 2011, privind informarea consumatorilor cu privire la produsele alimentare, de modificare a Regulamentelor (CE) nr. 1924/2006 și (CE) nr. 1925/2006 ale Parlamentului European și ale Consiliului și de abrogare a Directivei 87/250/CEE a Comisiei, a Directivei 90/496/CEE a Consiliului, a Directivei 1999/10/CE a Comisiei, a Directivei 2000/13/CE a Parlamentului European și a Consiliului, a Directivelor 2002/67/CE și 2008/5/CE ale Comisiei și a Regulamentului (CE) nr. 608/2004 al Comisiei, 02011R1169 – RO – 01.04.2025 – 004.001.
- Ren, S., Li, K. and Liu, Z., 2019. Research on the influences of five food-borne polyphenols on in vitro slow starch digestion and the mechanism of action. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(31), pp.8617-8625. <https://www.researchgate.net>



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Rip, A., & Nederhof, A. J. (1986). Between dirigism and laissez-faire: Effects of implementing the science policy priority for biotechnology in the Netherlands. *Research Policy*, 15(5), 253-268. [https://doi.org/10.1016/0048-7333\(86\)90025-9](https://doi.org/10.1016/0048-7333(86)90025-9)
- Rockenbach, I.I.; Rodrigues, E.; Gonzaga, L.V.; Caliar, V.; Genovese, M.I.; Gonçalves, A.E.d.S.S.; Fett, R. Phenolic Compounds Content and Antioxidant Activity in Pomace from Selected Red Grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) Widely Produced in Brazil. *Food Chem.* 2011, 127, 174-179.
- Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliar, V., Genovese, M. I., Gonçalves, A. E. S. S., și Fett, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*, 127(1), 174-179.
- Rodriguez-Daza, M. C., Pulido-Mateos, E. C., Lupien-Meilleur, J., Guyonnet, D., Desjardins, Y., & Roy, D. (2021). *Polyphenol-Mediated Gut Microbiota Modulation: Toward Prebiotics and Further*. *Frontiers in Nutrition*, 8, 689456. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.689456>
- Scaglia, B., Squillace, P., Abbasi-Parizad, P., Papa, G., De Nisi, P., & Tambone, F. (2023). Valorization of the tomato pomace to obtain lycopene, carbohydrates-rich fraction and oil by applying a hydrolytic enzyme-based approach. *Bioresource Technology Reports*, 24, 101693.
- Shao, D., Bartley, G. E., Yokoyama, W., Pan, Z., Zhang, H., & Zhang, A. (2013). Plasma and hepatic cholesterol-lowering effects of tomato pomace, tomato seed oil and defatted tomato seed in hamsters fed with high-fat diets. *Food chemistry*, 139(1-4), 589-596.
- Singleton V.L, Orthofer R., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol.* 299, 152-178
- Sousa E.C., Uchôa-Thomaz A.M., Carioca J., S.M.d. Moraes, Lima A., Martins C.G., 2014. Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera* L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. *Food Science and Technology*, 34:135-142
- Soytong, M., Guevarra, P. R., Mateo, J. M. C., & Galvez, H. F. (2021). Evaluation of tomatoes fruits flesh colour, beta-carotene and lycopene content.
- Spigno, G.; de Faveri, D.M. Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *J. Food Eng.* 2007, 78, 793-801.
- Spinei, M., & Oroian, M. (2021). The potential of grape pomace varieties as a dietary source of pectic substances. *Foods*, 10(4), 867.
- SR EN ISO 712-1:2024. Cereale și produse din cereale. Determinarea umidității.
- Staffas, L., Gustavsson, M., & McCormick, K. (2013). Strategies and Policies for the Bioeconomy and Bio-Based Economy: An Analysis of Official National Approaches. *Sustainability*, 5(6), 2751-2769. <https://doi.org/10.3390/su5062751>
- Stegmann, P., Londo, M., & Junginger, M. (2020). The circular bioeconomy: Its elements and role in European bioeconomy clusters. *Resources, Conservation & Recycling: X*, 6, 100029. <https://doi.org/10.1016/j.rcrx.2019.100029>
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D. and Conte, A., 2010. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food chemistry*, 120(2), pp.599-606.
- Taladrid, D., Rebollo-Hernanz, M., Martin-Cabrejas, M. A., Moreno-Arribas, M. V., & Bartolomé, B. (2023). Grape pomace as a cardiometabolic health-promoting ingredient: activity in the intestinal environment. *Antioxidants*, 12(4), 979.
- Teodorita Al Seadi, Dominik Rutz, Heinz Prassl, Michael Kottner, Tobias Finsterwalder, Silke Volk, Rainer Janssen, Augustin Ofițeru, Mihai Adamescu, Florian Bodescu, Dan Ionescu, Biogas Practical Guide - elaborat în cadrul Proiectului Big East- „Programul Energie Inteligentă pentru Europa”, octombrie 2008.
- Trombino, S., Cassano, R., Procopio, D., Di Gioia, M. L., & Barone, E. (2021). Valorization of tomato waste as a source of carotenoids. *Molecules*, 26(16), 5062.
- Tseng, A., & Zhao, Y. (2013). Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. *Food Chemistry*, 138(1), 356-365. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.148>



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

- Valenzuela, A., Sanhueza, J., & Nieto, S. (2003). Natural antioxidants in functional foods: from food safety to health benefits. *Grasas y aceites*, 54(3), 295-303.
- VDI 4630-Fermentation of Organic Materials: Characterization of the Substrate, Sampling, Collection of Material Data, Fermentation Test, The Association of German Engineers, (2006).
- Versari A., Parpinello G., Mattioli A., 2007. Characterisation of Colour Components and Polymeric Pigments of Commercial Red Wines by Using Selected UV-Vis Spectrophotometric Methods. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 28:6-10
- Versari A., Parpinello G. P., Mattioli A. U., Characterisation of Colour Components and Polymeric Pigments of Commercial Red Wines by Using Selected UV-Vis Spectrophotometric Methods. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 2007, 28, p. 610.
- Vivien, F.-D., Nieddu, M., Befort, N., Debref, R., & Giampietro, M. (2019). The Hijacking of the Bioeconomy. *Ecological Economics*, 159, 189-197. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2019.01.027>
- Vogelpohl, T., & Töller, A. E. (2021). Perspectives on the bioeconomy as an emerging policy field. *Journal of Environmental Policy & Planning*, 23(2), 143-151. <https://doi.org/10.1080/1523908X.2021.1901394>
- Vojáčková K., J. Mlček, S. Škrovánková, A. Adámková, M. Adámek, Orsavová J., 2020. Biologically active compounds contained in grape pomace. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14
- Vorobyova, V., Skiba, M., & Vasyliov, G. (2022). Extraction of phenolic compounds from tomato pomace using choline chloride-based deep eutectic solvents. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(2), 1087-1104.
- Wang, C., You, Y., Huang, W., și Zhan, J. (2024). The high-value and sustainable utilization of grape pomace: A review. *Food Chemistry: X*, 24, 101845.
- Wang, C.; You, Y.; Huang, W.; Zhan, J. The high-value and sustainable utilization of grape pomace: A review. *Food Chemistry*, 2024, 24.
- Wang, C.Z., Fishbein, A., Aung, H.H., Mehendale, S.R., Chang, W.T., Xie, J.T., Li, J. and Yuan, C.S., 2005. Polyphenol contents in grape-seed extracts correlate with antipica effects in cisplatin-treated rats. *Journal of Alternative & Complementary Medicine: Research on Paradigm, Practice, and Policy*, 11(6), pp.1059-1065.
- Warmuth, E. (1991). Biotechnology 2000: a new German R&D programme. *Research Evaluation*, 1(2), 79-88. <https://doi.org/10.1093/rev/1.2.79>
- Więckowska, M., Cichon, N., Szelenberger, R., Gorniak, L., & Bijak, M. (2024). Ochratoxin A and its role in cancer development: A comprehensive review. *Cancers*, 16(20), 3473.
- Xia, E. Q., Deng, G. F., Guo, Y. J., & Li, H. B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2), 622-646.
- Xue, M., Qu, Z., Moretti, A., Logrieco, A. F., Chu, H., Zhang, Q., ... & Zhu, Y. G. (2025). Aspergillus mycotoxins: The major food contaminants. *Advanced Science*, 12(9), 2412757.
- Xu, Y., Burton, S., Kim, C., și Sismour, E. (2015). Phenolic compounds, antioxidant, and antibacterial properties of pomace extracts from four Virginia-grown grape varieties. *Food Science și Nutrition*, 4(1), 125-133.
- Xu Y., S. Burton, C. Kim, Sismour E., 2016. Phenolic compounds, antioxidant, and antibacterial properties of pomace extracts from four Virginia-grown grape varieties. *Food Science and Nutrition*, 4 (1):125-133
- Yammine, S.; Delsart, C.; Vitrac, X.; Peuchot, M.M.; Ghidossi, R. Characterisation of Polyphenols and Antioxidant Potential of Red and White Pomace By-Product Extracts Using Subcritical Water Extraction. *OENO One* 2020, 54, 263-278.
- Zagoskina, N.V.; Zubova, M.Y.; Nechaeva, T.L.; Kazantseva, V.V.; Goncharuk, E.A.; Katanskaya, V.M.; Baranova, E.N.; Aksenova, M.A. Polyphenols in Plants: Structure, Biosynthesis, Abiotic Stress Regulation, and Practical Applications (Review). *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 13874. <https://doi.org/10.3390/ijms241813874>
- Zander, K., Will, S., Göpel, J., Jung, C., & Schaldach, R. (2022). Societal Evaluation of Bioeconomy Scenarios for Germany. *Resources*, 11(5), 44. <https://doi.org/10.3390/resources11050044>
- Zhang S., Zhu M., 2015. Characterization of polyphenolics in grape pomace extracts using ESI Q-TOF MS/MS. *Food Science and Nutrition*, 1 (1)



Cofinanțat de
Uniunea Europeană



Consolidarea integrării nodului românesc METROFOOD-RO în infrastructura europeană de cercetare METROFOOD-RI, acronim METROFOOD-RO Evolve
Cod SMIS 2021+ 309287

Zheng, L.; Qihong, P.; Cui, X.; Duan, C. Optimization on anthocyanins extraction from wine grape skins using orthogonal test design. Food Sci. Biotechnol. 2010, 19, 1047-1053

ZMUNCILĂ, A., PĂUCEAN, A., MAN, S. M. and CHIȘ, S.-M. (2024) "Grape Pomace Valorisation: Nutritional Properties and Sustainable Applications in Agriculture and Food Technology", Hop and Medicinal Plants, 32(1-2), pp. 185-203. doi: 10.15835/hpm.v32i1-2.15025.

https://www.cbe.europa.eu/news/eu1707-million-call-project-proposals-launched?pk_source=email&pk_medium=newsletter&pk_campaign=Call%202026%20launch

<https://www.changeclimate.org/faq#:~:text=tCO2e%20stands%20for%20tonnes%20>

<https://endfoodwaste.com.au>

<https://www.feedtables.com/content/grape-pomace-dried>

<https://feedtables.com/content/grape-seeds>

<https://www.grapsud.com>

<https://i4be.eu/grappa/>

<https://ives-openscience.eu>

<http://statistici.insse.ro:8077/tempo-online/#/pages/tables/insse-table>

Responsabil activitate A3.2.

Prof.dr. Tulcan Camelia

