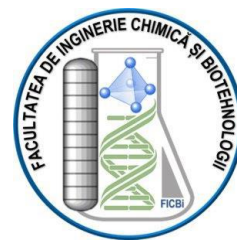




Universitatea POLITEHNICA din București
Școala Doctorală Inginerie Chimică și
Biotehnologii



Extracția cu fluid supercritic a compușilor bioactivi din roșii

Rezumatul Tezei de doctorat

Îndrumător:

Prof. dr. ing. Costin Sorin Bîldea

Student:

Ing. Mihaela Popescu

București

2023

CUPRINS

CAPITOLUL 1 CONTRIBUȚII ORIGINALE ȘI REFERAT DE LITERATURĂ	10
<i>1.1 Motivație</i>	11
<i>1.2 Prezentarea generală a tezei</i>	12
<i>1.3 Contribuții originale și rezultate principale</i>	16
1.3.1 Metode spectrofotometrice UV-VIS pentru cuantificarea simultană a licopenului și β -carotenului	16
1.3.2 Influența parametrilor de uscare asupra recuperării compușilor bioactivi din roșii prin extracție	20
1.3.3 Extracția compușilor bioactivi din roșii	21
<i>1.4 Referat de literatură</i>	26
1.4.1 Carotenoidele	26
1.4.2 Metode de analiză a carotenoidelor.....	27
1.4.3 Uscarea probelor de roșii	30
1.4.4 Metode de extracție a carotenoidelor	32
1.4.5 Aplicațiile carotenoidelor	42
1.4.6 Referințe bibliografice	44
CAPITOLUL 2 METODE SPECTROFOTOMETRICE UV-VIS PENTRU CUANTIFICAREA SIMULTANĂ A LICOPENULUI ȘI β-CAROTENULUI	54
<i>2.1 Introducere</i>	55
<i>2.2 Materiale și metode</i>	56
2.2.1 Reactivi	56
2.2.2 Pregătirea probelor pentru extracție	56
2.2.3 Pregătirea soluțiilor standard.....	56
2.2.4. Pregătirea soluțiilor de amestec	57
2.2.5 Analiza UV–VIS a probelor	57
2.2.6 Algoritm de selecție a solvenților	58
2.2.7 Algoritm de calcul a compoziției carotenoidelor	58
2.2.8 Modele fizice.....	60
2.2.9 Metoda grupurilor de lungimi de undă (WGM).....	62
2.2.10 Metoda factorului de absorbție (AFM)	63
2.2.11 Metoda de scădere a absorbanței (ASM)	64
2.2.12 Metoda punctului izosbestic (IPM)	65
2.2.13 Validarea modelelor	68
2.2.14 Analiza statistică	68
<i>2.3 Rezultate și discuții</i>	69

2.3.1	Selecția solvenților pentru cuantificarea carotenoidelor	69
2.3.2	Curbe de calibrare	70
2.3.3	Factori de absorbție	73
2.3.4	Amestecuri sintetice	73
2.3.5	Grupuri de lungimi de undă	74
2.3.6	Calcularea concentrațiilor folosind metodele WGM	74
2.3.7	Calcularea concentrațiilor folosind metodele AFM, ASM and IPM	77
2.3.8	Validarea metodelor	80
2.3.9	Metode pentru cuantificarea simultană a carotenoidelor	82
2.3.10	Extrakte din reziduu de roșii – cuantificarea carotenoidelor	82
2.4	<i>Concluzii</i>	83
2.5	<i>Referințe bibliografice</i>	84
CAPITOLUL 3 INFLUENȚA PARAMETRILOR DE USCARE ASUPRA RECUPERĂRII		
COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN ROȘII PRIN EXTRACȚIE		86
I. EFECTUL PROCESELOR DE USCARE ASUPRA RECUPERĂRII LICOPENULUI		
DIN COJI DE ROȘII		86
3.1	<i>Introducere</i>	87
3.2	<i>Materiale și metode</i>	89
3.2.1	Reactivi	89
3.2.2	Pregătirea cojilor de roșii	89
3.2.3	Echipeamente și metode de uscare	89
3.2.4	Extracția Soxhlet a licopenului din coji de roșii	90
3.2.5	Cuantificarea licopenului în extrakte din coji de roșii	90
3.3	<i>Rezultate și discuții</i>	90
3.3.1	Influența metodei de uscare asupra conținutului de umiditate	94
3.3.2	Influența temperaturii de uscare asupra conținutului de umiditate	94
3.3.3	Influența timpului de uscare asupra conținutului de umiditate	96
3.3.4	Influența metodei de uscare asupra cantității de licopen recuperate	96
3.3.5	Influența temperaturii de uscare asupra cantității de licopen recuperate	99
3.4	<i>Concluzii</i>	100
3.5	<i>Referințe bibliografice</i>	100
II. MODELAREA MATEMATICĂ A CINETICII DE USCARE ÎN STRAT SUBȚIRE A		
COJILOR DE ROȘII: INFLUENȚA TEMPERATURII DE USCARE ASUPRA		
NECESARULUI DE ENERGIE ȘI A CALITĂȚII EXTRACTELOR		103
3.6	<i>Introducere</i>	104

3.7	<i>Materiale și metode</i>	106
3.7.1	Reactivi	106
3.7.2	Pregătirea cojilor de roșii	106
3.7.3	Metoda de uscare.....	106
3.7.4	Consumul de energie.....	107
3.7.5	Ecuțiile umidității	107
3.7.6	Modelarea uscării cojilor de roșii.....	108
3.7.7	Metoda de extracție a carotenoidelor	113
3.7.8	Metoda de cuantificare a carotenoidelor	113
3.7.9	Analiza statistică	114
3.8	<i>Rezultate și discuții</i>	114
3.8.1	Rezultatele experimentale ale uscării.....	114
3.8.2	Determinarea difuzivității efective a umidității și a energiei de activare.....	115
3.8.3	Parametri cinetici de uscare si validarea modelelor	117
3.8.4	Degradarea carotenoidelor	121
3.9	<i>Concluzii</i>	123
3.10	<i>Referințe bibliografice</i>	124
	CAPITOLUL 4 EXTRAȚIA COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN ROȘII	129
	I. PRODUSE NATURALE ANTIOXIDANTE VALOROASE RECUPERATE DIN ROȘII PRIN METODE DE EXTRAȚIE ECOLOGICE	129
4.1	<i>Introducere</i>	130
4.2	<i>Materiale și metode</i>	133
4.2.1	Reactivi	133
4.2.2	Pregătirea probelor de roșii	133
4.2.3	Metoda de extracție Soxhlet.....	134
4.2.4	Metoda de extracție cu CO ₂ supercritic	134
4.2.5	Metoda de centrifugare a extractelor brute	135
4.2.6	Analiza calitativă și cantitativă UV–VIS a carotenoidelor	135
4.2.7	Analiza calitativă FT–IR a probelor de roșii.....	136
4.2.8	Analiza GC–MS a compușilor FAME	136
4.2.9	Analiza spectrofotometrică a activității antioxidante.....	136
4.2.10	Analiza spectrofotometrică a conținutului total de fenoli	137
4.2.11	Analiza economică	137
4.2.12	Analiza statistică	138
4.3	<i>Rezultate și discuții</i>	138

4.3.1 Pregătirea probelor de roșii	138
4.3.2 Eficiența extracției	139
4.3.3 Extracția Soxhlet	139
4.3.4 Extracția cu CO ₂ supercritic	141
4.3.5 Centrifugarea extractelor	143
4.3.6 Analiza calitativă UV–VIS a carotenoidelor din extractele brute SE și SFE.....	143
4.3.7 Analiza cantitativă a carotenoidelor din extractele brute SE și SFE.....	144
4.3.8 Analiza calitativă UV–VIS a fracțiilor SFE	145
4.3.9 Analiza calitativă FT–IR a carotenoidelor din fracțiile SFE.....	146
4.3.10 Analiza cantitativă a carotenoidelor din fracțiile SFE	148
4.3.11 Analiza calitativă și cantitativă a compușilor FAME.....	149
4.3.12 Conținutul total de fenoli al extractelor brute din roșii	150
4.3.13 Activitatea antioxidantă a probelor de roșii	151
4.3.14 Analiza economică	152
4.4 Concluzii	153
4.5 Referințe bibliografice	154
II. ÎMBUNĂTĂȚIREA RECUPERĂRII CAROTENOIDELOR PRIN EXTRACȚIA CU CO₂ SUPERCRITIC DIN ROȘII FOLOSIND ULEIURI DIN SEMINȚE CA MODIFICATORI	160
4.6 Introducere.....	161
4.7 Materiale și metode.....	164
4.7.1 Reactivi	164
4.7.2 Material vegetal.....	164
4.7.3 Extracția Soxhlet	164
4.7.4 Macerare.....	164
4.7.5 Extracția cu CO ₂ supercritic	165
4.7.6 Analiza GC–MS a uleiurilor vegetale	165
4.7.7 Analiza UV–VIS a extractelor	166
4.7.8 Activitatea antioxidantă a extractelor.....	166
4.7.9 Analiza statistică	166
4.7.10 Proiectarea experimentelor.....	166
4.8 Rezultate și discuții	168
4.8.1 Analiza uleiurilor vegetale	168
4.8.2 Extracția carotenoidelor cu uleiuri vegetale.....	170
4.8.3 Extracția carotenoidelor cu CO ₂ supercritic și uleiuri din semințe ca modificatori	171
4.8.4 Efectul modificatorilor asupra randamentului de extracție în SFE	172

4.8.5 Efectul modificatorilor asupra compoziției extractelor SFE.....	173
4.8.6 Parametri optimi pentru extracția SFE cu uleiuri din semințe ca modificatori.....	175
4.8.7 Calitatea produselor	186
4.9 Concluzii	188
4.10 Referințe bibliografice	189
CAPITOLUL 5 CONCLUZII.....	193
5.1 Concluzii	194
5.2 Perspective de viitor	197
LUCRĂRI PUBLICATE	198
MULȚUMIRI.....	200

Cuvinte cheie: carotenoide, licopen și β -caroten, spectrometrie UV-VIS, punct izosbestic, factor de absorbție, metode de cuantificare simultană, roșii, uscare roșii, cinetica uscării, modelare matematică, degradarea carotenoide, compuși bioactivi, compuși antioxidanți, semințe vegetale, acizi grași- ω , extracția cu fluide supercritice, îmbunătățirea extracției, modificatori, dioxid de carbon supercritic, solvenți verzi, analiză economică.

CAPITOLUL 1 CONTRIBUȚII PRINCIPALE ȘI REFERAT DE LITERATURĂ

1.1 Motivație

În zilele noastre, tendințele globale sunt orientate către un stil de viață sănătos bazat pe un consum crescut de fructe și legume, alimente de calitate superioară și introducerea în alimentație a suplimentelor nutritive pentru prevenirea diferitelor boli și prelungirea vieții. Consumul de alimente nutritive, mai puțin procesate, compuse din aditivi naturali recuperați din plante prin metode ecologice, este necesar pentru un stil de viață sănătos.

Principalii factori care au condus la cercetarea roșiilor sunt producția globală mare de roșii (ocupând locul al doilea dintre toate plantele), cantitatea semnificativă de reziduu de roșii obținută la nivel industrial ca deșeu ce conduce la probleme de eliminare, calitatea acestui subprodus în compuși bioactivi precum carotenoidele (în principal licopenul) și acizii grași (în principal acidul linoleic- $\omega 6$) și valoare adăugată ridicată a licopenului natural cu aplicații vaste în industriile alimentară, farmaceutică și cosmetică. În România, roșiile reprezintă o resursă vegetală disponibilă fiind foarte cultivată, consumată și prelucrată, chiar și în gospodării.

Licopenul este carotenoidul cu cea mai mare activitate antioxidantă care se folosește în alimente, suplimente și cosmetice pentru a preveni reacțiile de oxidare asociate cu apariția multor boli. Acest compus nu poate fi sintetizat de corpul uman și singura sursă din care poate fi obținut este alimentația. Recuperarea din roșii a acestui compus este posibilă prin procesul de extracție. Extracția cu fluid supercritic folosind dioxid de carbon ca și solvent verde este o metodă adecvată pentru recuperarea licopenului din roșii cu scopul folosirii acestuia în industriile alimentară, cosmetică sau farmaceutică, fără a fi nevoie de tratamente ulterioare de purificare sau decontaminare. Totodată, metoda de extracție cu fluid supercritic este o metoda ecologică.

Pe baza acestor considerații, această teză s-a axat pe recuperarea compușilor bioactivi precum licopenul, β -carotenul și acizii grași esențiali din roșii folosind extracția ecologică și optimizarea parametrilor de operare pentru a obține produse de calitate ridicată pentru a fi utilizate în industriile alimentară, cosmetică sau farmaceutică.

1.2 Prezentarea generală a tezei

Teza de doctorat cuprinde cinci capitole care pot fi citite independent. Principalele rezultate au fost deja publicate în 4 articole. Principalele domenii studiate în această teză sunt determinarea cantitativă simultană a licopenului și β -carotenului din extractele de roșii, determinarea condițiilor optime de uscare (metodă și temperatură) a probelor de roșii și determinarea condițiilor optime de

extracție (metodă ecologică, solvent verde, temperatură, timp, presiune, debit solvent, tip de materie primă) pentru a obține extracte cu calitate ridicată, cu degradare redusă a compușilor țintă.

Capitolul 1 prezintă un studiu de literatură axat pe principalele domenii explorate în cadrul acestei teze privind extracția cu fluid supercritic a compușilor bioactivi din roșii. Studiul se referă la sursele și beneficiile compușilor naturali țintă (licopen și β -caroten), analiza calitativă a carotenoidelor din extractele vegetale, etapa de uscare aplicată ca pretratare a probelor de roșii înainte de extracție pentru îndepărtarea umidității pentru a preveni alterarea probei și pentru a crește eficiența extracției, metodele de extracție din roșii pentru recuperarea carotenoidelor și la posibilele aplicații ale carotenoidelor naturale în industriile alimentară cosmetică și farmaceutică.

Capitolul 2 prezintă cercetările privind analiza simultană a licopenului și β -carotenului. Este prezentat un algoritm de evaluare și îmbunătățire a metodei spectrofotometrice UV-VIS pentru cuantificarea simultană a licopenului și β -carotenului ce se află în amestec, precum extractele de roșii. De asemenea, a fost dezvoltat un algoritm de selecție a solventului pentru a utiliza o cantitate mai mică de solvent toxic, hexan. Acetona a fost amestecată cu hexan (Hx), obținându-se un amestec de acetonă:hexan (1:1, v/v) (Ac:Hx) ca solvent pentru solubilizarea probei. Solventul a fost selectat prin compararea proprietăților de solubilizare a ambilor solvenți Hx și Ac:Hx prin analiza UV-VIS a extractelor din roșii. Rezultatele au arătat că Ac:Hx a condus la absorbanțe ale probei de roșii mai mari decât cele măsurate cu Hx, pentru aceleași extracte de roșii. Eficiența de solubilizare a Ac:Hx este mai mare cu 8 – 13 % comparativ cu Hx. Curbele de calibrare ale licopenului pur și β -carotenului pur în Ac:Hx folosind zece puncte în intervalul de concentrație de 0,5 – 5 mg/L au fost determinate și validate statistic folosind analiza de regresie, omogenitatea varianțelor, repetabilitatea și testele de precizie intermediară. Au fost identificate maxime de absorbție ale licopenului și β -carotenului în Ac:Hx și s-au determinat coeficienții de absorbție ai licopenului pur și β -carotenului pur în acest amestec la lungimile de undă corespunzătoare maximelor lor de absorbție. Folosind soluții stoc de compuși puri în Ac:Hx, au fost preparate treisprezece amestecuri sintetice de licopen și β -caroten cu concentrație cunoscută între 1 – 4 mg/L pentru a fi utilizate ca referință. Pe baza carotenoidelor pure și a analizei datelor spectrale ale amestecului acestora, au fost prezentate patru modele fizice cu ipoteze diferite. Algoritmul de cuantificarea simultană a licopenului și β -carotenului cuprinde patru metode precum *metoda grupurilor de lungimi de undă* (WGM), *metoda factorului de absorbție* (AFM), *metoda de scădere a absorbanței* (ASM) și *metoda punctului izobestic* (IPM), care au fost împărțite în alte versiuni în funcție de ipotezele considerate. Un punct izobestic al licopenului pur, β -carotenului pur și al amestecului lor a fost identificat la 461 nm. Ecuațiile concentrațiilor au fost formulate pe baza ipotezelor considerate privind alegerea grupului de lungimi de undă caracteristic pentru cuantificarea licopenului și β -carotenului (se analizează șase grupuri de lungimi de undă WG₁ –

WG₆), proprietatea de suprapunere a spectrelor, prezența punctului izosbestic sau contribuția fiecărui compus la absorbanta amestecului prin factorii de absorbție propuși pentru a îmbunătăți acuratețea ecuațiilor concentrațiilor. În final, șaptesprezece metode au fost analizate ca WGM-I-WG₁, WGM-I-WG₂, WGM-I-WG₃, WGM-I-WG₄, WGM-I-WG₅, WGM-II-WG₁, WGM-II-WG₂, WGM-II-WG₃, WGM-II-WG₄, AFM-I-WG₃, AFM-II-WG₃, AFM-III-WG₃, ASM-I-WG₆, ASM-II-WG₆, ASM-III-WG₆, IPM-I-WG₆ și IPM-II-WG₆. Validarea metodelor se realizează folosind treisprezece amestecuri sintetice și extracte din reziduu de roșii pe baza datelor de calibrare a carotenoidelor în Ac:Hx, diagramelor de paritate, erorilor procentuale și analizelor statistice prin teste de echivalență pentru seturi de concentrații și metode, testul de omogenitate a varianțelor pentru seturile de concentrații și testul Student. Rezultatele au arătat că una dintre metodele punctului izosbestic (IPM-II-WG₆) oferă cea mai bună corelație din punct de vedere statistic, cu erori de precizie medie, sub 5 %, pentru cuantificarea simultană a licopenului și β-carotenului într-un amestec.

Capitolul 3 prezintă cercetările privind uscarea probelor de roșii aplicată ca pretratament, prin două studii.

Primul studiu denumit „**Efectul proceselor de uscare asupra recuperării licopenului din cojile de roșii**” prezintă evaluarea influenței a trei metode de uscare, a cinci temperaturi de uscare în intervalul 50 – 120 °C și a conținutului de umiditate asupra recuperării licopenului din coji de roșii uscate din soiul Cristal. Cojile de roșii au fost utilizate pentru trei metode de uscare: uscare în cuptor, uscare în cuptor cu vid (la o presiune constantă de 0,9 bar) și uscare cu aer cald la șase temperaturi diferite de 50 °C, 70 °C, 80 °C, 100 °C și 120 °C, folosind același timp de uscare de 5 ore. S-a analizat influența metodei de uscare, a temperaturii de uscare și a timpului de uscare asupra cantității și a conținutului de umiditate al cojilor de roșii și au fost reprezentate și discutate variațiile de umiditate și masă. Metoda de extracție Soxhlet cu Ac:Hx a fost utilizată pentru a recupera licopenul din cojile de roșii uscate. Cuantificarea licopenului din extracte a fost realizată prin metoda spectrometriei UV-VIS. Pe baza aspectului cojilor de roșii uscate, a randamentelor de extracție și a concentrațiilor de licopen calculate în extracte, au fost analizate influența metodei de uscare și a temperaturii de uscare asupra calității produselor uscate. Datele experimentale au fost comparate cu alte rezultate din literatură. Rezultatele au arătat că metoda de uscare cu aer cald este recomandată a fi utilizată pentru uscarea cojilor de roșii din soiul Crystal timp de 5 ore la o temperatură de 80 °C, ceea ce este asociat cu cel mai bun aspect al cojilor de roșii, cel mai scăzut conținut de umiditate de 20,16. % și cea mai mare cantitate de licopen.

Efectul temperaturii de uscare asupra probelor de roșii a fost analizat în continuare în cel de-al doilea studiu intitulat „**Modelarea matematică a cineticii de uscare în strat subțire a cojilor de roșii: influența temperaturii de uscare asupra necesarului de energie și a calității**

extractelor” care prezintă modelarea matematică a cineticii de uscare în strat subțire a cojilor de roșii din soiul Rila, supuse metodei de uscare cu aer cald la șase temperaturi diferite în intervalul 50 – 75 °C pentru a determina temperatura optimă de uscare în ceea ce privește necesarul specific de energie și calitatea probei uscate exprimată prin concentrațiile de licopen și β-caroten din extractele din probele uscate. Cojile de roșii au fost supuse uscării cu aer cald la șase temperaturi diferite de 50 °C, 55 °C, 60 °C, 65 °C, 70 °C și 75 °C până la o umiditate finală similară de 6 – 7 %. Au fost calculate și consumurile specifice de energie pentru procesele de uscare pentru a determina temperatura optimă de uscare din perspectivă economică. Pe baza datelor experimentale de uscare, zece modele matematice diferite în strat subțire precum un model teoretic de difuzie (*a doua lege de difuziei a lui Fick*), trei modele semiteoretice derivate din legea de răcire a lui Newton (*Modelul Newton, Modelul Page și Modelul Modified Page*) și șase modele semiteoretice derivate din a doua lege de difuziei a lui Fick (*Modelul Henderson and Pabis, Modelul Modified Henderson and Pabis, Modelul Midili, Modelul Logarithmic, Modelul Two-term și Modelul Two-term exponential*) au fost utilizate pentru a prezice comportamentul de uscare folosind parametri cinetici de uscare estimați. Validarea modelelor matematice de uscare pentru a evalua acuratețea acestora în fitarea datelor experimentale de uscare a fost efectuată folosind trei parametri statistici precum coeficientul de determinare R^2 , testul chi-pătrat χ^2 și eroarea medie pătratică *RMSE*. Modelul teoretic de difuzie a fost descris folosind un model fizic ilustrat și un model matematic dezvoltat pe baza ipotezelor considerate. Au fost calculați coeficienții efectivi de difuzie a umidității și energia de activare pentru uscarea cu aer cald a cojilor de roșii în intervalul de temperatură 50 – 75 °C. Influența temperaturii de uscare asupra calității probelor a fost determinată pe baza aspectului probelor, randamentelor de extracție și concentrațiilor de carotenoide ale extractelor din probele uscate. Cojile de roșii uscate au fost supuse extracției Soxhlet folosind Ac:Hx ca solvent de extracție și conținutul de carotenoide din extracte a fost calculat folosind metoda UV-VIS. Cu ajutorul datelor experimentale, două modele de degradare a concentrațiilor de licopen și β-caroten cu temperatura de uscare au fost formulate și au fost prezise concentrațiile de carotenoide în intervalul de temperatură 50 – 110 °C. Rezultatele experimentale și cele prezise au fost în concordanță cu datele din literatură. Rezultatele au arătat că prin metoda de uscare cu aer cald, se recomandă o temperatură de uscare de 50 °C pentru cojile de roșii din soiul Rila pentru a obține extracte de calitate ridicată, cu un consum minim de energie și o degradare minimă a probei, pentru un conținut final de umiditate de 6 – 7 %.

Capitolul 4 prezintă cercetările privind extracția carotenoidelor din diferite tipuri de probe de roșii și cuprinde două studii.

Primul studiu denumit „**Produse naturale antioxidante valoroase recuperate din roșii prin metode de extracție ecologice**” prezintă valorificarea roșiilor prin extracție ecologică pentru a

obține produse cu valoare adăugată bogate în carotenoide și acizi grași polinesaturați- ω (ω -PUFA). S-au pregătit trei probe sub formă de felii, reziduu și semințe de roșii folosind roșii din soiul Rila. Extracția Soxhlet cu hexan din semințe s-a realizat pentru a recupera uleiul de roșii. Pentru felii și reziduu de roșii au fost utilizate două procese de extracție ca extracția Soxhlet (SE) și extracția cu fluid supercritic (SFE). Pentru metoda SE au fost analizați doi solvenți verzi, bioetanol și acetat de etil. Pentru metoda SFE, au fost analizate solventul verde, dioxidul de carbon (CO_2) și două seturi de parametri de operare precum (setul 1) la presiune de extracție de 400 bar, temperatură de extracție de 70 °C, debit de CO_2 de 9 kg/h și timp de extracție de 10 ore și (setul 2) la 450 bar, 70 °C, 11 kg/h și 10 ore. Extractele din metoda SFE au fost centrifugate pentru a izola trei fracții ca oleorășină solidă, ulei și lichid. Eficiența de extracție a metodelor SE și SFE a fost determinată prin evaluarea afinității solventului și a influenței conținutului de semințe a probelor, presiunii de extracție și debitului de solvent asupra randamentelor de extracție. Uleiul din semințele de roșii a fost transesterificat folosind o procedură catalizată cu acid pentru a obține esteri metilici ai acizilor grași (FAME). Analizele probelor preparate (FAME, extracte brute SE, extracte brute SFE, oleorășină solidă, ulei și lichid) au fost efectuate folosind cinci metode. Metoda GC-MS a fost utilizată pentru a determina profilul FAME al uleiului din semințe de roșii. Metoda UV-VIS a fost utilizată pentru analiza calitativă și cantitativă a licopenului și β -carotenului din toate extractele. Metoda FT-IR a fost utilizată pentru analiza calitativă a carotenoidelor și uleiurilor din fracțiile SFE centrifugate. Metoda Folin-Ciocalteu a fost aplicată pentru determinarea conținutului total de fenoli în extractele brute SE și SFE din roșii, iar metoda DPPH a fost aplicată pentru a calcula activitatea antioxidantă a tuturor extractelor. În final, a fost efectuată o analiză economică a proceselor SE și SFE la trei capacități de prelucrare (1:10:100 kg reziduu uscat/șarjă) pentru a estima profitabilitatea procesului de extracție în producerea a 4 extracte valoroase folosind reziduu de roșii uscat ca materie primă, precum extractele brute SE și SFE, oleorășină solidă și ulei, datorită conținutului de carotenoide și FAME, al activității antioxidante și a conținutului ridicat de fenoli. Rezultatele au arătat că metoda de extracție cu fluid supercritic la 450 bar, 70 °C și debit de 11 kg/h folosind CO_2 și reziduu de roșii este recomandată pentru a obține 2 produse cu valoare adăugată precum extract solid bogat în licopen și ulei pigmentat bogat în carotenoide (licopen și β -caroten) și ω -PUFA (acid linoleic- ω 6) datorită calității extractelor obținute și al efectelor pozitive atât asupra mediului, cât și asupra sănătății umane. Se obține profit ridicat pentru capacități ale instalației mai mari de 100 kg.

Cercetarea a continuat cu determinarea parametrilor optimi de extracție în procesul supercritic în cel de-al doilea studiu denumit „**Îmbunătățirea recuperării carotenoidelor prin extracția cu CO_2 supercritic din roșii folosind uleiuri din semințe ca modificatori**” care prezintă îmbunătățirea cantității și calității extractelor recuperate din felii de roșii prin adăugarea a 20 %

g/g semințe ca modificatori. Proiectarea experimentelor s-a utilizat pentru a determina parametrii optimi de extracție. S-au preparat roșii din soiul Rila pentru a obține felii de roșii și semințe de roșii. Trei tipuri de semințe au fost folosite ca modificatori, semințe de roșii, camelină și cânepă. Această cercetare s-a bazat pe trei etape: evaluarea solubilității carotenoidelor în uleiuri vegetale, extracția carotenoidelor din probe de roșii cu ajutorul modificatorilor și analiza parametrilor optimi de extracție. Metoda de extracție Soxhlet cu Ac:Hx a fost utilizată pentru a recupera uleiurile vegetale din cele trei tipuri de semințe și pentru a determina randamentele de extracție. Uleiurile vegetale au fost supuse reacțiilor de transesterificare pentru a obține FAME și analiza acestor compuși a fost efectuată folosind metoda GC-MS. Solubilitatea licopenului și β -carotenului din felii de roșii în uleiurile vegetale obținute a fost verificată prin macerare și analiza carotenoidelor din extracte a fost efectuată prin metoda spectrometriei UV-VIS. Metoda SFE cu CO₂ a fost aplicată pentru extracția carotenoidelor din felii de roșii îmbogățite cu semințe ca modificatori și pentru determinarea eficienței extracției, folosind ca parametri de extracție presiunea de 450 bar, temperatura de 70 °C, debit CO₂ de 11 kg/h și timp de extracție de 10 ore. Extractele SFE au fost centrifugate pentru a separa fracțiile solide și uleioase. Influența adăugării semințelor asupra procesului de extracție SFE, randamentele de extracție și compozițiile extractelor au fost investigate pe baza curbelor de extracție, compozițiile extractelor în fracții obținute după centrifugare și compozițiile fracțiilor SFE în licopen și β -caroten determinate prin metoda UV-VIS. În plus, metoda statistică Box-Behnken a fost utilizată pentru a determina parametrii optimi de extracție pentru extracția SFE cu uleiuri de semințe ca modificatori pe baza a 15 experimente de extracție. Factorii aleși au fost presiunea de extracție de 350, 400 și 450 bar, tipul semințelor ca semințe de roșii, camelină și cânepă și debitul de CO₂ de 9, 11 și 13 kg/h. Răspunsurile alese au fost randamentele de extracție ale fracțiilor de ulei și solid separate din extractele SFE, conținutul total de carotenoide din fracția de ulei și conținutul de licopen din fracția solidă. Efectele factorilor selectați asupra răspunsurilor alese au fost determinate folosind patru modele polinomiale de ordinul doi și ilustrate folosind diagrame de suprafețe de răspuns. Modelele matematice au fost validate cu analiză statistică, folosind coeficientul de determinare și testul *Lack of fit*, iar determinarea parametrilor optimi de extracție s-a realizat folosind diagrame de suprafețe de răspuns și funcția de dezirabilitate. În final, calitatea extractelor a fost analizată cu metodele UV-VIS, GC-MS și DPPH pentru a determina conținutul de carotenoide, ω -PUFA și activitatea antioxidantă. Rezultatele au arătat că prin utilizarea SFE ca tehnică de extracție ecologică în condiții optime de 450 bar, 70 °C, 13 kg/h și două probe vegetale cu productivitate mare, precum roșiile și semințele de camelină, se obțin două produse naturale cu valoare adăugată: oleorășină solidă îmbogățită în licopen, care poate fi folosită drept colorant natural sau aditiv în industria

alimentară și ulei de roșii și camelină îmbogățit în carotenoide (licopen și β -caroten) și ω -PUFA (acid linolenic- ω 3, acid linoleic- ω 6) care poate fi folosit ca atare pentru consum.

Capitolul 5 prezintă principalele concluzii ale cercetării experimentale desfășurate în această teză și prezintă câteva perspective de viitor în domeniul extracției cu CO_2 supercritic a compușilor bioactivi din roșii. Cercetările viitoare sunt orientate pe două direcții. Prima direcție este analiza ridicării la scară și simularea procesului de extracție supercritică pentru a separa produsele cu valoare adăugată din roșiile amestecate cu semințe ca modificatori. A doua direcție este orientată spre analiza experimentală a extracției cu CO_2 supercritic din reziduu de roșii îmbogățit cu semințe și modelarea matematică a procesului de extracție.

CAPITOLUL 2 METODE SPECTROFOTOMETRICE UV-VIS PENTRU CUANTIFICAREA SIMULTANĂ A LICOPENULUI ȘI β -CAROTENULUI

Rezumat

Analiza spectrofotometrică UV-VIS este una dintre cele mai ieftine și mai la îndemână metode utilizate pentru cuantificarea carotenoidelor în soluții. Conform legii lui Lambert-Beer, concentrațiile de carotenoide dintr-un amestec sunt calculate cu absorbanțele amestecului și coeficienții de absorbție ai compușilor puri. Această lucrare propune patru metode pentru cuantificarea simultană a două carotenoide folosind date spectrale ale amestecului, modele fizice bazate pe spectre de compuși puri și amestecuri folosind amestecul acetonă-hexan (Ac:Hx), diferite grupuri de lungimi de undă pentru absorbanta fiecărui carotenoid, suprapunerea spectrelor și prezența punctului izosbestic. Sunt luați în considerare doi factori de absorbție definiți pentru a îmbunătăți acuratețea ecuațiilor de concentrație și ipoteze diferite privind grupurile de lungimi de undă și contribuția fiecărui carotenoid la absorbanta amestecului. Aceste metode sunt validate folosind amestecuri sintetice de licopen și β -caroten și două extracte din reziduuri de roșii. Metoda IPM-II-WG₆ oferă cea mai bună corelație din punct de vedere statistic, cu erori de precizie medie pentru cuantificarea simultană a licopenului și β -carotenului într-un amestec.

2.2.8 Modele fizice

Modelele fizice sunt bazate pe spectrele carotenoidelor pure (X , Y) și al amestecului lor (M) obținute prin analiza soluțiilor stoc cu compoziții diferite. Absorbanțele maxime ale carotenoidelor X și Y ($A^{Y_{\text{pur}}}_{\lambda_1}$, $A^{X_{\text{pur}}}_{\lambda_2}$) sunt identificate la lungimile de undă λ_1 și λ_2 . Absorbanțele amestecurilor ($A^M_{\lambda_1}$, $A^M_{\lambda_2}$) sunt măsurate la aceleași lungimi de undă. Spectrele pentru X , Y și M se pot suprapune parțial sau total.

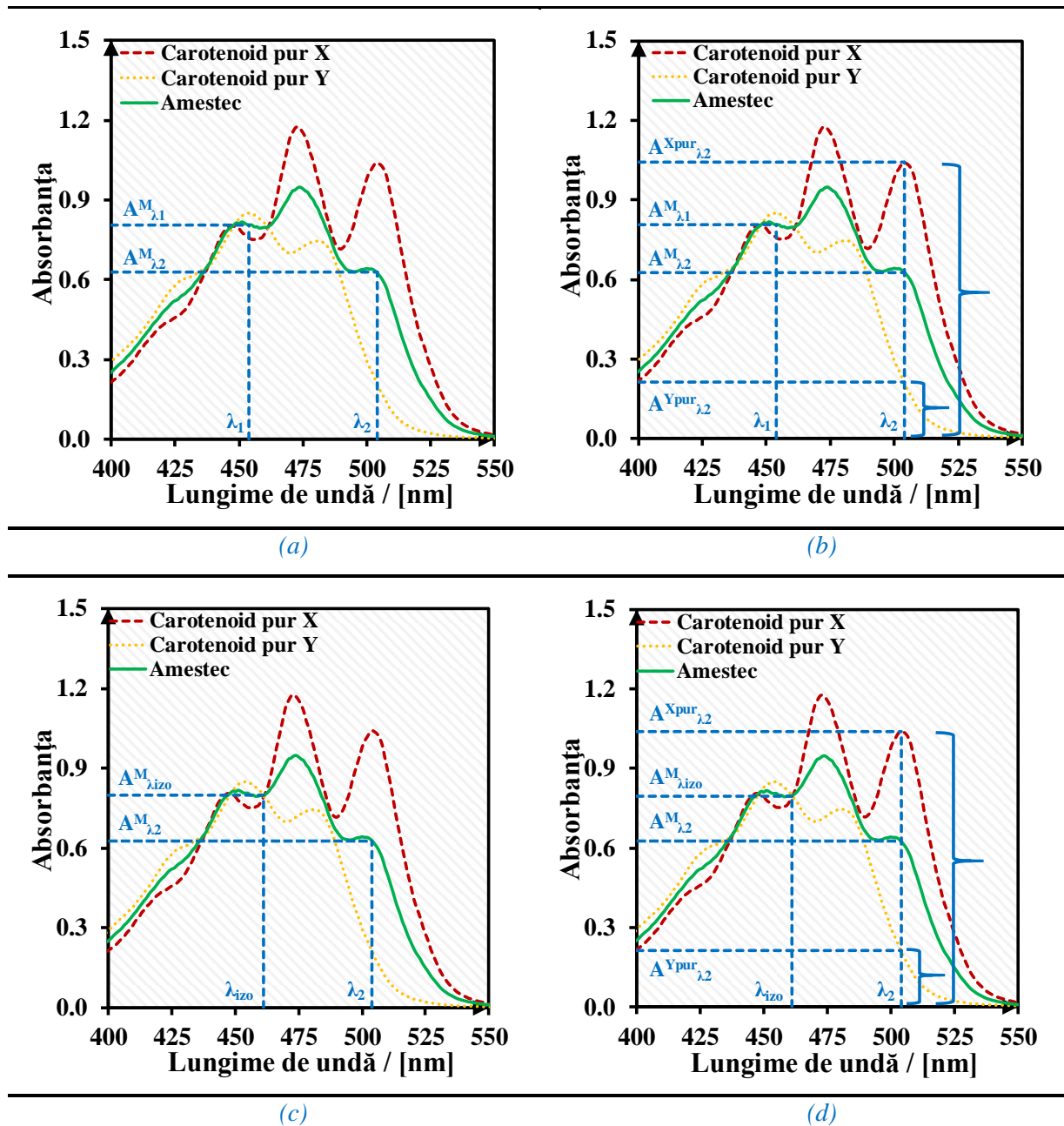


Figura 2.4 Modele fizice pentru: (a) metodele WGM-I, WGM-II și AFM-I; (b) metodele AFM-II și AFM-III; (c) metodele ASM-I și IPM-I; (d) metodele ASM-II, ASM-III și IPM-II; (concentrația lui X – 4 mg/L, concentrația lui Y – 4 mg/L, concentrația Amestecului – 4 mg/L)

Patru modele fizice sunt prezentate în *Figurile 2.4a–d*, în funcție de suprapunerea spectrelor: parțială (*Figura 2.4a*), totală (*Figura 2.4b*), parțială cu punct izosbestic (*Figura 2.4c*), totală cu punct izosbestic (*Figura 2.4d*). Un raport al absorbanțelor compușilor puri poate fi definit și utilizat pentru calcularea concentrațiilor amestecului dacă există o suprapunere a spectrelor la o lungime de undă. Sunt identificate grupuri de lungimi de undă și maxime de absorbție și sunt formulate diferite ipoteze folosind aceste modele fizice.

2.3.2 Curbe de calibrare

Pentru curbele de calibrare, au fost pregătite soluțiile stoc L₁ – L₁₀ (licopen solubilizat în Ac:Hx) și B₁ – B₁₀ (β-caroten solubilizat în Ac:Hx) în domeniul de concentrații 0,5 – 5 mg/L. Cinci replicate pentru fiecare probă la zece nivele de concentrație pentru fiecare compus au fost analizate cu spectrometrul UV–VIS. Spectrele de absorbție prezintă benzi cu absorbanțe maxime la lungimile de undă 426 nm, 454 nm, 480 nm pentru β-caroten și la 447 nm, 473 nm, 504 nm pentru licopen. În plus, acești compuși puri prezintă un punct izosbestic la lungimea de undă 461 nm.

Tabelul 2.8 Rezultatele analizei de regresie pentru calibrarea licopenului și β-carotenului

Carotenoid	λ / [nm]	Panta b ± SD _b	Ordonata la origine a ± SD _a	Coefficientul de determinare, R ²	Abaterea standard a raspunsului, SD _y	Testul F; F semnificativ
Licopen	447	0,198 ± 0,002	0,012 ± 0,004	0,9996	0,287	**, <0,05
β-caroten		0,188 ± 0,001	0,020 ± 0,003	0,9999	0,356	**, <0,05
Licopen	473	0,294 ± 0,002	0,009 ± 0,013	0,9992	0,233	**, <0,05
β-caroten		0,173 ± 0,000	0,009 ± 0,002	0,9999	0,453	**, <0,05
Licopen	504	0,261 ± 0,002	0,011 ± 0,004	0,9998	0,186	**, <0,05
β-caroten		0,051 ± 0,000	0,005 ± 0,001	0,9997	0,078	**, <0,05
Licopen	461	0,194 ± 0,001	0,012 ± 0,002	0,9999	0,293	**, <0,05
β-caroten		0,194 ± 0,001	0,013 ± 0,002	0,9999	0,294	**, <0,05
Licopen	426	0,113 ± 0,001	0,009 ± 0,002	0,9998	0,163	**, <0,05
β-caroten		0,142 ± 0,001	0,010 ± 0,003	0,9996	0,133	**, <0,05
Licopen	454	0,187 ± 0,001	0,012 ± 0,004	0,9997	0,270	**, <0,05
β-caroten		0,205 ± 0,005	0,014 ± 0,013	0,9996	0,316	**, <0,05
Licopen	480	0,253 ± 0,002	0,012 ± 0,007	0,9994	0,368	**, <0,05
β-caroten		0,182 ± 0,001	0,011 ± 0,003	0,9998	0,170	**, <0,05

SD – deviația standard, F – Testul Snedecor F, F semnificativ – probabilitate pentru nivelul de semnificație α = 0,05. ** nu poate fi observată nicio diferență semnificativă statistic în valorile seturilor de absorbanțe. Analiza de regresie a fost utilizată pentru a determina dependența liniară a absorbanței cu concentrația analitului pentru șapte lungimi de undă diferite pentru fiecare carotenoid. Parametrii de regresie calculați pentru fiecare curbă de calibrare (panta și ordonata la origine) sunt prezentați în *Tabelul 2.8*. Pentru toate curbele de calibrare au fost identificate pante între 0,051 și 0,294, coeficienți de determinare între 0,9992 și 0,9999 și valori pentru F semnificativ mai mici de 0,05. Curbele de calibrare pentru licopen și β-caroten la punctul izosbestic (461 nm) au aceeași valoare pentru pantă și ordonata la origine. Pentru celelalte grupuri de lungimi de undă sunt diferențe între pante.

2.3.3 Factori de absorbție

Folosind curbele de calibrare ale compușilor puri au fost definiți doi factori de absorbție F^{λ_1, λ_2} la lungimile de undă 454 – 504 nm și 461 – 504 nm. Valorile calculate ale acestora sunt folosite în metodele ASM și AFM pentru a descrie contribuția licopenului în amestec (*Tabelul 2.9*).

Tabelul 2.9 Factori de absorbție calculați pentru cuantificarea licopenului și β -carotenului

Tipul factorului	Lungimi de undă / [nm]		Amestecurile țintă	Valoare \pm SD
	λ_1	λ_2		
Factor de	454	504	M ₁ – M ₁₃	0,716 \pm 0.003
absorbție (F^{λ_1, λ_2})	461	504	M ₁ – M ₁₃	0,741 \pm 0.003

Factorul raport de absorbanțe $R^{X/Y}_{\lambda_2}$ este evaluat folosind ecuația (2.2), ca raport al absorbanțelor probelor sintetice de licopen și β -caroten pure solubilizate în Ac:Hx, pe domeniul de concentrație 0,5 – 5 mg/L și la lungimea de undă de 504 nm.

$$R^{X/X}_{\lambda_2} = \frac{A_{\lambda_2}^{X_{\text{pur}}}}{A_{\lambda_2}^{Y_{\text{pur}}}} \quad (2.2)$$

Folosind analiza de regresie, panta de regresie liniară a acestor valori în raport cu rapoartele concentrațiilor C_X/C_Y este calculate ca $r^{X/Y}_{\lambda_2} = 4,813$. Acest factor raport poate fi calculat pentru orice probă solubilizată în Ac:Hx, considerând panta $r^{X/Y}_{\lambda_2}$ în ecuația (2.4).

$$R^{X/X}_{\lambda_2} = r^{X/X}_{\lambda_2} \cdot \frac{A_{\lambda_1}^M \cdot a_{\lambda_2}^Y - A_{\lambda_2}^M \cdot a_{\lambda_1}^Y}{A_{\lambda_2}^M \cdot a_{\lambda_1}^X - A_{\lambda_1}^M \cdot a_{\lambda_2}^X} \quad (2.4)$$

2.3.6 Calculul concentrațiilor folosind metodele WGM

Concentrațiile compușilor X și Y sunt estimate pe baza ipotezelor metodei și a grupurilor de lungimi de undă (WG). Ecuațiile conțin doar date din spectrele carotenoidelor pure și absorbanțele amestecurilor. Concentrațiile estimate vs. concentrațiile de referință sunt reprezentate grafic ca diagrame de paritate în *Figurile 2.9a,b* și *Figurile 2.10a,b* pentru metodele WGM–I și WGM–II. Aplicând ambele forme ale metodei WGM cu grupurile de lungimi de undă WG₁ – WG₅, concentrațiile carotenoidelor estimate sunt mai mari decât concentrațiile de referință. Indiferent de metoda aplicată, erorile pentru β -caroten sunt semnificativ mai mari decât cele obținute pentru cuantificarea licopenului. Cu toate acestea, erorile procentuale sunt mai mari de 10 %, ceea ce înseamnă că ipotezele acestor metode nu se justifică, deși rezultate bazate pe aceste ipoteze sunt raportate de unii autori [5,10,14]. Doar o metodă, WGM–II–WG₃ a dus la obținerea de erori procentuale acceptabile între 1,51 – 5,15 % pentru licopen și între 7,25 – 11,28 % pentru β -caroten. Această metodă consideră grupul de lungimi de undă WG₃ ($\lambda_1 = 454$ nm, $\lambda_2 = 504$ nm), utilizat de obicei pentru cuantificarea licopenului și β -carotenului.

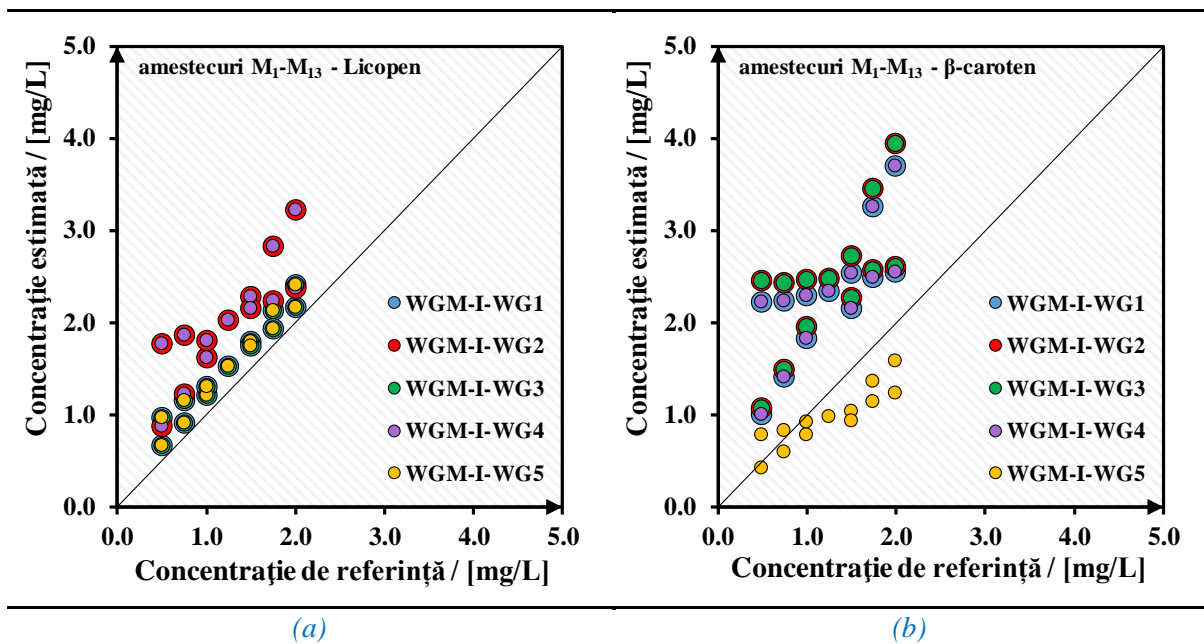


Figura 2.9 Concentrații estimate vs. concentrații de referință determinate cu metodele WGM-I pentru cuantificarea simultană a: (a) licopenului; (b) β -carotenului

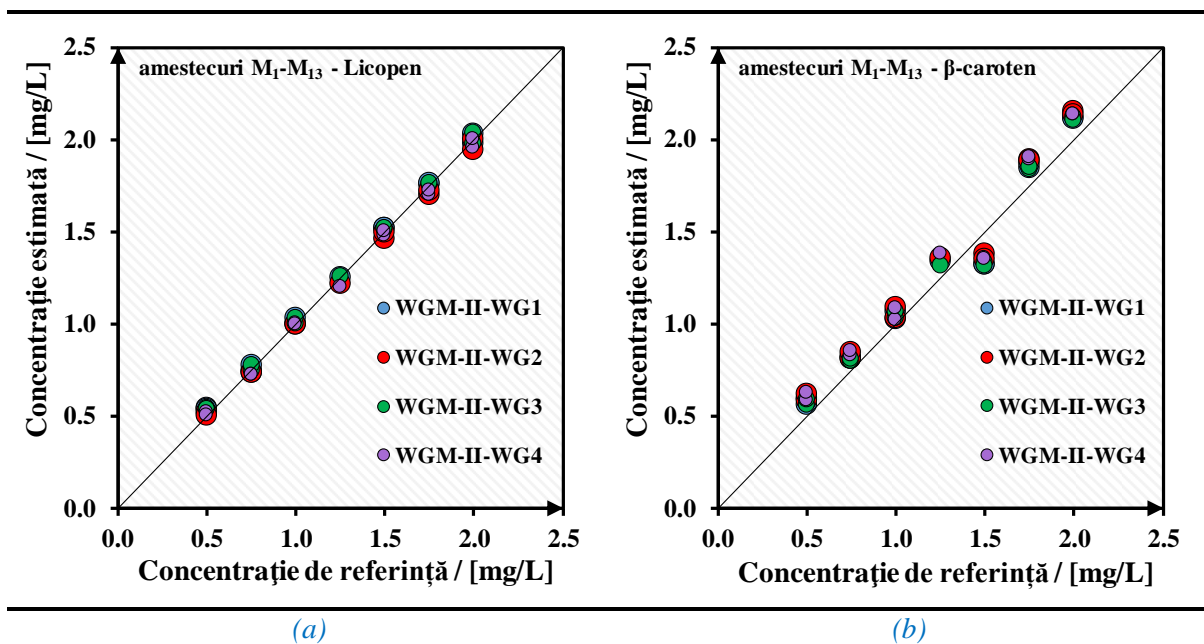


Figura 2.10 Concentrații estimate vs. concentrații de referință determinate cu metodele WGM-II pentru cuantificarea simultană a: (a) licopenului; (b) β -carotenului

2.3.7 Calcularea concentrațiilor folosind metodele AFM, ASM și IPM

În *Figurile 2.12–2.14* sunt prezentate graficele de paritate pentru concentrațiile estimate folosind metodele propuse (AFM, ASM și IPM) vs. concentrațiile de referință pentru treisprezece amestecuri sintetice. Se observă abateri mari pentru prima formă a fiecărei metode. Concentrațiile calculate cu a doua și a treia formă pentru metodele AFM, ASM și IPM prezintă abateri mai mici față de valorile de referință, în special cele estimate pe baza factorului $R^{X/Y}_{\lambda_2}$. În plus, există o

bună corelație pentru concentrațiile de licopen față de valorile de referință, în comparație cu cele ale β -carotenului. Prima formă a fiecărei metode, cu ipotezele simplificate a dus la obținerea de erori mai mari (erori procentuale peste 10 % pentru ambii compuși). Dintre metodele AFM, cele mai mici erori sub 3.63 % pentru licopen și sub 6,72 % pentru β -caroten au fost obținute utilizând metoda AFM-III-WG₃. Pentru metodele ASM, cele mai mici erori au fost obținute cu metoda ASM-III-WG₆, cu valori sub 3,74 % pentru licopen și sub 6,50 % pentru β -caroten.

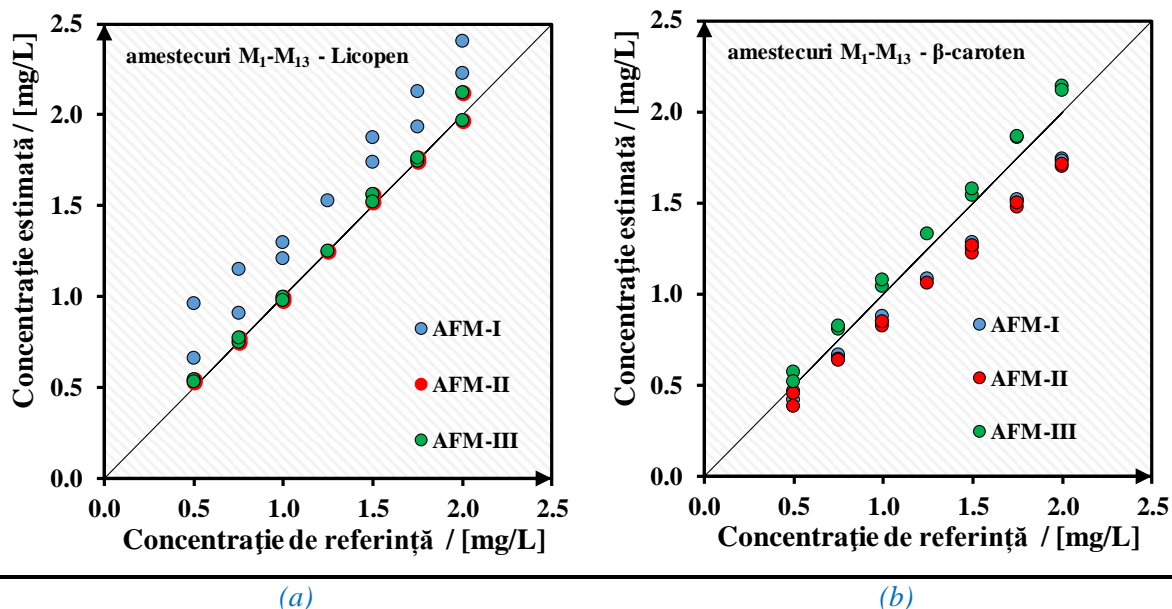


Figura 2.12 Concentrații estimate vs. concentrații de referință determinate cu metodele AFM pentru cuantificarea simultană a: (a) licopenului; (b) β -carotenului

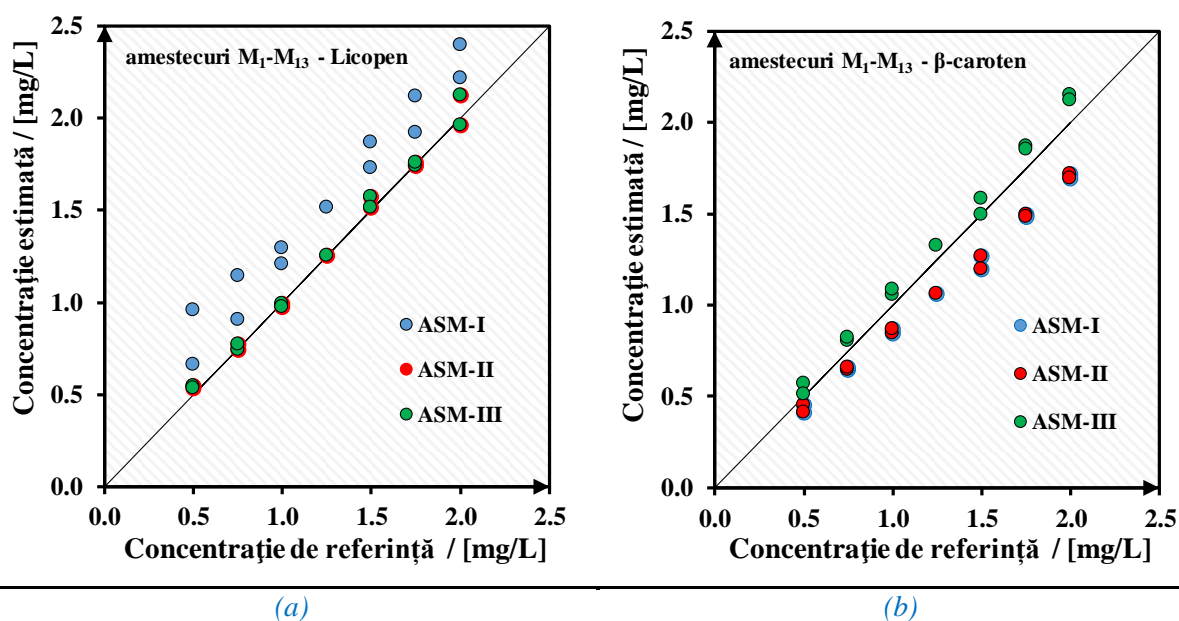


Figura 2.13 Concentrații estimate vs. concentrații de referință determinate cu metodele ASM pentru cuantificarea simultană a: (a) licopenului; (b) β -carotenului

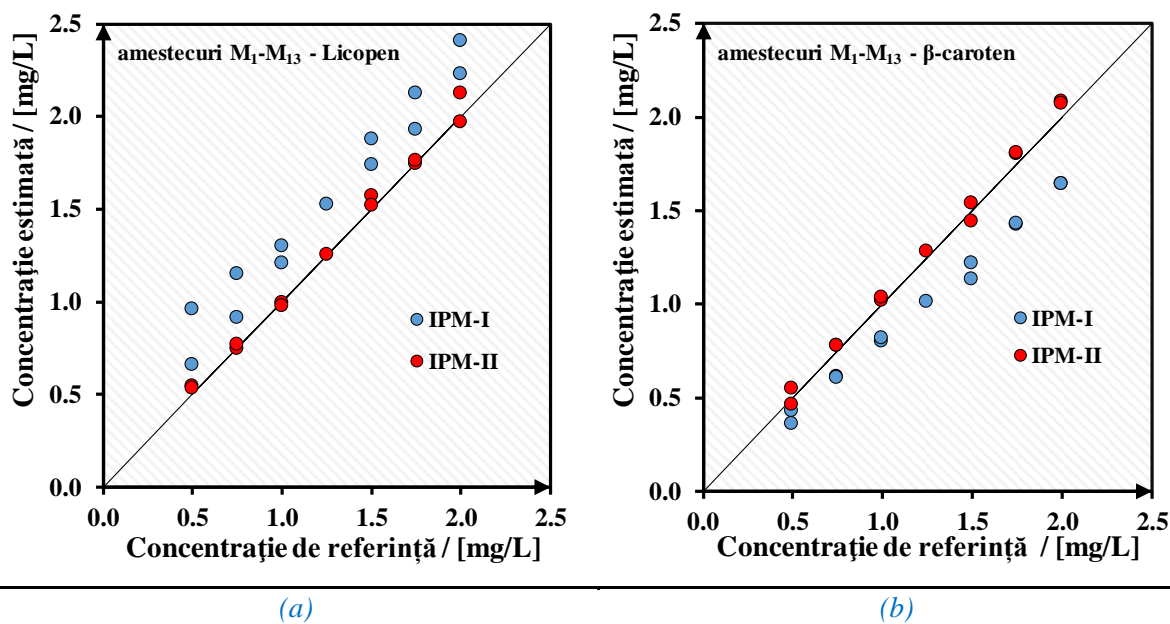


Figura 2.14 Concentrații estimate vs. concentrații de referință determinate cu metodele IPM pentru cuantificarea simultană a: (a) licopenului; (b) β -carotenului

În final, erori procentuale acceptabile sub 5 % (3,74 % pentru licopen și 4,79 % pentru β -caroten) s-au obținut cu metoda IPM-II-WG₆ care consideră pentru estimarea simultană a concentrațiilor de licopen și β -caroten valoarea lui $R^{X/Y}_{\lambda_2}$ și valorile absorbanțelor la 461 nm și 504 nm.

2.2.12 Metoda punctului izosbestic (IPM)

Această metodă poate fi aplicată pentru a determina concentrațiile de carotenoide dacă sunt îndeplinite două condiții. Spectrele carotenoidelor pure cu aceeași concentrație (X , Y) și amestecul lor (M) prezintă un punct izosbestic, iar spectrul lui X este extins mai mult decât Y . Modelele fizice sunt prezentate în *Figurile 2.4c,d*, în timp ce modelele matematice sunt prezentate în *Tabelul 2.5*. Concentrațiile sunt calculate folosind doar date spectrale pentru soluții pure și amestecuri de carotenoide. Sunt prezentate două forme dacă se consideră sau nu contribuția lui Y la λ_2 .

2.2.12.1 Metoda punctului izosbestic (IPM-I)

Această metodă se bazează pe calcularea concentrațiilor totale de carotenoide (TC) la punctul izosbestic (λ_{izo}), a lui X la un maxim de absorbție pentru licopen la care β -carotenul nu are contribuție (λ_2) și a lui Y ca diferență dintre concentrațiile de TC și X . Ipotezele acestei metode sunt aceleași cu ale metodei ASM-I.

2.2.12.2 Metoda punctului izosbestic modificată (IPM-II)

Această metodă consideră aceleași ipoteze ca și metodele AFM-III și ASM-III și concentrația lui X în amestec este calculată folosind $R^{X/Y}_{\lambda_2}$, absorbanta amestecului și coeficientul de absorbție al lui X la λ_2 . Ecuațiile pentru concentrațiile X și Y în amestec sunt prezentate în *Tabelul 2.5*.

Tabelul 2.5 Modele IPM pentru cuantificarea simultană a carotenoidelor într-un amestec

IPM-I	IPM-II
<p><i>Ipotezele modelului:</i></p> $\lambda_1 = \lambda_{izo} \rightarrow (X + Y)$ $\lambda_2 = \lambda_{\max, X} \rightarrow (X)$ $A_{\lambda_{izo}}^M = A_{\lambda_{izo}}^{Xpur} = A_{\lambda_{izo}}^{Ypur}$ $a_{\lambda_{izo}}^M = a_{\lambda_{izo}}^{Xpur} = a_{\lambda_{izo}}^{Ypur} = a_{\lambda_{izo}}^{X=Y}$ $A_{\lambda_{izo}}^M = A_{\lambda_{izo}}^X + A_{\lambda_{izo}}^Y$ $A_{\lambda_2}^M = A_{\lambda_2}^X$	<p><i>Ipotezele modelului:</i></p> $\lambda_1 = \lambda_{izo} \rightarrow (X + Y)$ $\lambda_2 = \lambda_{\max, X} \rightarrow (X + Y)$ $A_{\lambda_{izo}}^M = A_{\lambda_{izo}}^{Xpur} = A_{\lambda_{izo}}^{Ypur}$ $a_{\lambda_{izo}}^M = a_{\lambda_{izo}}^{Xpur} = a_{\lambda_{izo}}^{Ypur} = a_{\lambda_{izo}}^{X=Y}$ $A_{\lambda_{izo}}^M = A_{\lambda_{izo}}^X + A_{\lambda_{izo}}^Y$ $A_{\lambda_2}^M = A_{\lambda_2}^X + A_{\lambda_2}^Y$ $R_{\lambda_2}^{X/X} = r_{\lambda_2}^{X/X} \cdot \frac{A_{\lambda_1}^M \cdot a_{\lambda_2}^Y - A_{\lambda_2}^M \cdot a_{\lambda_1}^Y}{A_{\lambda_2}^M \cdot a_{\lambda_1}^X - A_{\lambda_1}^M \cdot a_{\lambda_2}^X}$
<p><i>Ecuțiile modelului:</i></p> $C_{TC}^M = A_{\lambda_{izo}}^M / a_{\lambda_{izo}}^{X=Y}$ $C_X^M = A_{\lambda_2}^M / a_{\lambda_2}^X$ $C_Y^M = C_{TC}^M - C_X^M$	<p><i>Ecuțiile modelului:</i></p> $C_{TC}^M = A_{\lambda_{izo}}^M / a_{\lambda_{izo}}^{X=Y}$ $C_X^M = (A_{\lambda_2}^M \cdot R_{\lambda_2}^{X/Y}) / [a_{\lambda_2}^X \cdot (R_{\lambda_2}^{X/Y} + 1)]$ $C_Y^M = C_{TC}^M - C_X^M$

CAPITOLUL 3 INFLUENȚA PARAMETRILOR DE USCARE ASUPRA RECUPERĂRII COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN ROȘII PRIN EXTRACȚIE

I. EFECTUL DIFERITELOR PROCESE DE USCARE ASUPRA RECUPERĂRII LICOPENULUI DIN COJI DE ROȘII

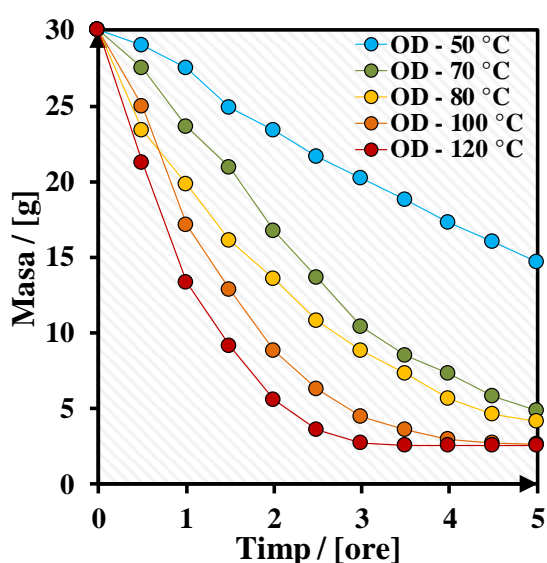
Rezumat

Scopul acestei lucrări este de a analiza efectul a trei procese de uscare (uscarea în cuptor OD, uscare în cuptor cu vid VOD și uscare cu aer cald HAD) a cojilor de roșii din soiul Cristal în ceea ce privește conținutul de umiditate și recuperarea licopenului. Procesul de uscare se realizează timp de 5 ore, la temperaturi cuprinse între 50 °C și 120 °C. Influența temperaturii de uscare se observă în cazul aspectului cojilor de roșii uscate care se modifică de la roșu aprins la maro închis la temperaturi de uscare mai mari de 80 °C, precum și în conținutul de umiditate al probelor care scade odată cu creșterea temperaturii. Cea mai mare umiditate se observă la cojile de roșii uscate în cuptor, iar cea mai mică valoare se observă la cojile de roșii uscate cu aer cald. Cea mai mare cantitate de licopen, 34 mg/100 g coji de roșii proaspete (329 mg/100 g coji de roșii uscate), se extrage din cojile de roșii uscate prin metoda de uscare cu aer cald, la temperatura de 80 °C care este asociată cu cel mai scăzut conținut de umiditate de 20,16 %.

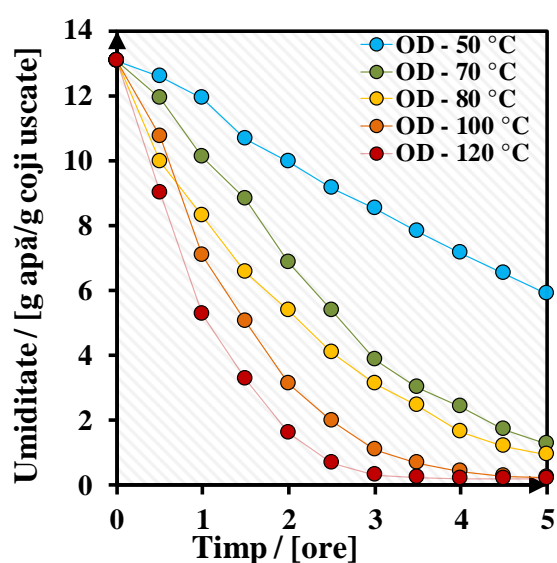
3.3.1 Influența metodei de uscare asupra conținutului de umiditate

Figurile 3.2a,c,e arată modificarea masei probei în timpul procesului de uscare realizat în uscătoare de diverse tipuri (OD – Figura 3.2a; VOD – Figura 3.2c; HAD – Figura 3.2e) și la diferite temperaturi. Masa inițială a probei a fost de 30 g.

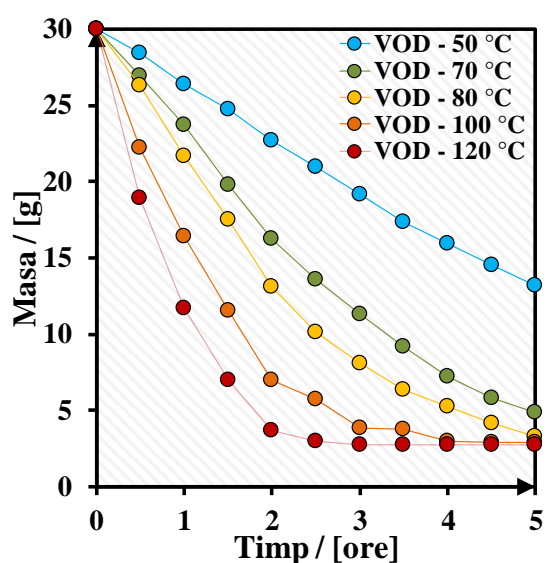
În OD transferul de masă al apei din starea solidă în starea de vapori are loc prin convecție naturală. Astfel, uscarea completă este atinsă în 3,5 ore la 120 °C și în 5 ore la 100 °C. În VOD, potențialul de evaporare este crescut datorită vidului, deci uscarea completă se realizează într-un timp mai scurt și anume 3 ore (la 120 °C) sau 4 ore (la 100 °C). În HAD, aerul circulă peste materialul solid și antrenează vaporii de apă, îmbunătățind rata de transfer de masă. Ca rezultat, metoda este mai eficientă, uscarea completă necesită doar 2 ore la 120 °C sau 3.5 ore la 100 °C.



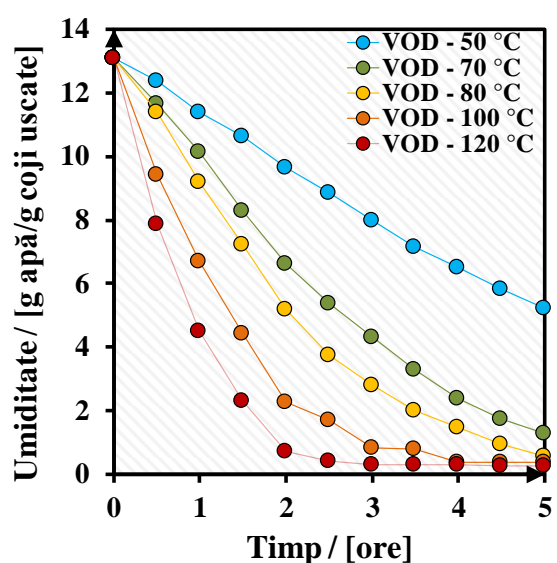
(a)



(b)



(c)



(d)

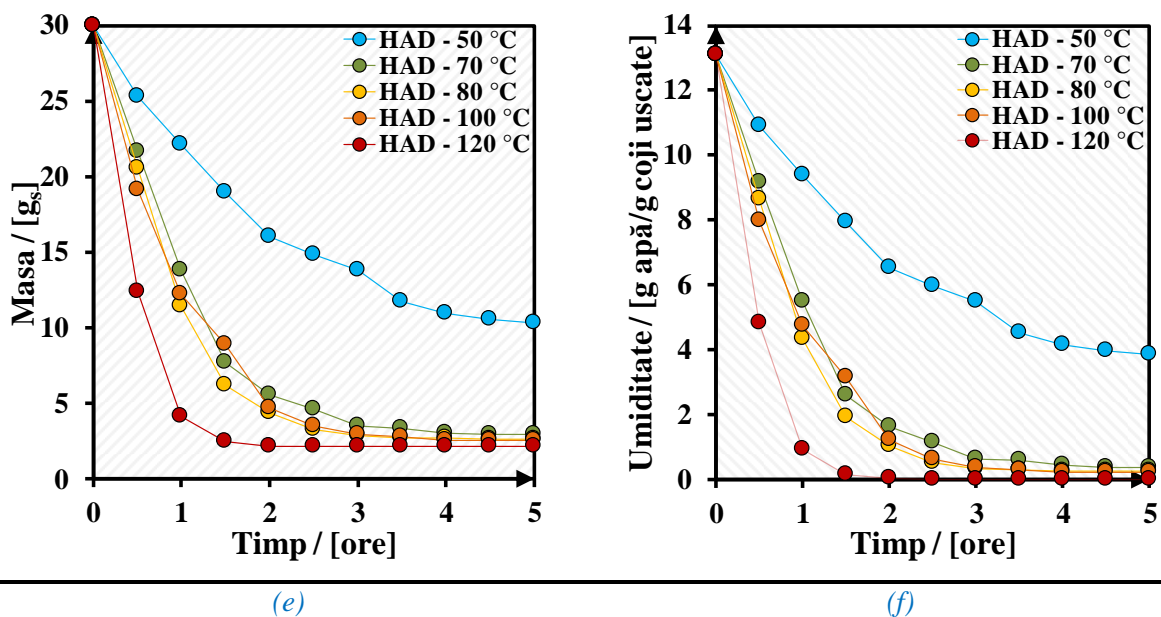


Figura 3.2 Variația masei și conținutului de umiditate a probelor de roșii: (a) variația masei în procesul OD; (b) variația umidității în procesul OD; (c) variația masei în procesul VOD; (d) variația umidității în procesul VOD; (e) variația masei în procesul HAD; (f) variația umidității în procesul HAD

Așa cum era de așteptat, uscarea este mai rapidă la temperaturi mai mari. Când uscarea are loc la temperatură joasă (50 °C), după 5 ore, masa de coji uscate este aprox. 13 – 14 g (OD și VOD) și 10 g (HAD). În timpul perioadei inițiale (aprox. o oră la 120 °C), rata de îndepărtare a apei este constantă. *Figurile 3.2b,d,f* arată conținutul de umiditate (M_{DB}) folosind cele trei metode de uscare precum OD – *Figura 3.2b*, VOD – *Figura 3.2d* și HAD – *Figura 3.2f*. După 5 ore de uscare la 50 °C, conținutul de umiditate (M_{DB}) este 5,88 g/g (OD), 5,20 g/g (VOD) și 3,85 g/g (HAD). Aceste valori corespund unei îndepărtări a cantității inițiale de apă de 55 % (OD), 60 % (VOD) și 70 %. O tendință similară este observată și la alte temperaturi.

3.3.4 Influența metodei de uscare asupra cantității de licopen recuperate

Figurile 3.6a,b prezintă cantitatea de licopen recuperată din cojile de roșii în raport cu probele uscate (*Figura 3.6a*) și proaspete (*Figura 3.6b*), care variază cu metoda de uscare între 17 – 329 mg/100 g coji uscate.

Pentru cojile de roșii uscate cu OD, cea mai mare cantitate de licopen de 264 mg /100 g coji uscate a fost obținută din coji de roșii uscate la 80 °C, în timp ce cea mai scăzută cantitate de 17 mg/100 g coji de roșii uscate a fost obținută din coji uscate la 50 °C. Pentru cojile de roșii uscate cu VOD, cea mai mare cantitate de licopen de 207 mg/100 g coji uscate a fost obținută din coji uscate la 80 °C, în timp ce cea mai scăzută cantitate de 21 mg/100 g coji uscate a fost observată în cojile uscate la 50 °C. Pentru cojile de roșii uscate cu HAD cea mai mare cantitate de licopen de 329 mg/100 g

coji uscate a fost obținută din coji uscate la 80 °C, în timp ce cea mai scăzută cantitate de 51 mg/100 g coji uscate a fost observată în cojile de roșii uscate la 120 °C.

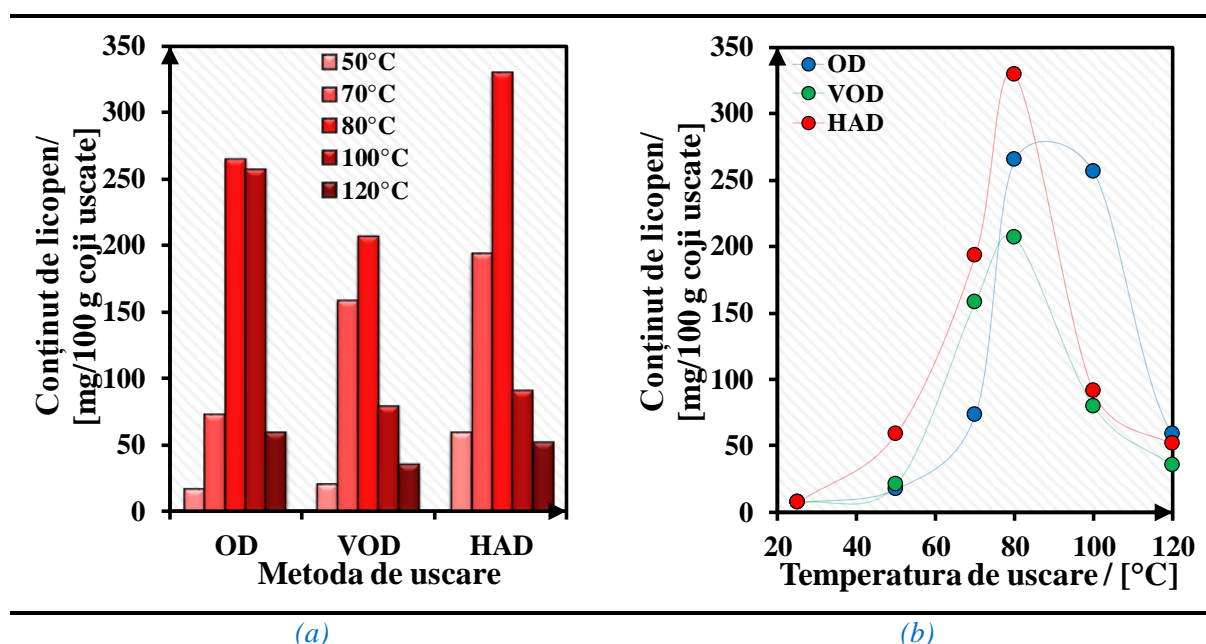


Figura 3.6. Conținutul de licopen în timpul uscării cojilor de roșii: (a) variația cu metoda de uscare; (b) variația cu temperatura de uscare

II. MODELAREA MATEMATICĂ A CINETICII DE USCARE ÎN STRAT SUBȚIRE A COJILOR DE ROȘII: INFLUENȚA TEMPERATURII DE USCARE ASUPRA NECESARULUI DE ENERGIE ȘI A CALITĂȚII EXTRACTELOR

Rezumat

Uscarea este cea mai populară tehnică utilizată la nivel industrial ca etapă de pretratere a probelor supuse procesului de extracție pentru valorificarea produselor naturale precum carotenoidele din roșii, cu importanță nutraceutică ridicată. Uscarea roșiilor presupune un consum mare de energie datorită conținutului ridicat de umiditate și este necesară limitarea temperaturilor de uscare pentru a evita degradarea carotenoidelor. Pentru a ridica la scară procesul de uscare a cojilor de roșii Rila, zece modele matematice în strat subțire derivate din legea a doua de difuziei a lui Fick sunt formulate pe baza datelor experimentale pentru șase temperaturi diferite (50 – 75 °C) și validate prin analiză statistică. Pe baza R^2 , χ^2 și eroarea medie pătratică ($RMSE$), cele mai bune valori prezise au fost calculate utilizând modelul Two term în comparație cu modelul Fick, care prezintă abateri mici la temperaturi mai scăzute. Datele experimentale privind calitatea extractului (conținutul de carotenoide) au fost utilizate pentru a prezice efectul temperaturii de uscare asupra conținutului de licopen și β -caroten și au fost formulate două modele de degradare. Prin creșterea

temperaturii de uscare de la 50 °C la 110 °C a fost prezisă o degradare de 94 % pentru licopen și 83 % pentru β-caroten. Folosind usarea cu aer cald, temperatura de uscare recomandată pentru cojile de roșii Rila este de 50 °C pentru a evita degradarea carotenoidelor cu un consum specific de energie de 56,60 kWh/kg coji de roșii.

3.7.6.1 Modelul teoretic de difuzie al uscării

Model fizic de difuzie. Pentru proba de coji de roșii, modelul fizic de difuzie a umidității este ilustrat în *Figura 3.8*. Patul de coji de roșii sub forma unei plăci paralelipipedice regulate cu caracteristici geometrice ca aria secțiunii transversale A și grosimea L este plasată într-un mediu cu aer cald, în condiții izoterme ($T = ct$). Umiditatea difuzează din centrul plăcii către suprafață, atât către partea de sus cât și către partea de jos (axa z). În momentul inițial ($t = t_0$) raportul de umiditate (M_0) este maxim, apoi când începe difuzia ($t > t_0$), apa se concentrează la suprafață și miezul plăcii devine uscat. În interiorul patului de coji de roșii se consideră un element de volum cu grosimea Δz . Fluxul de umiditate care intră în acest volum este $J|_z$, în timp ce fluxul de umiditate care iese din volum este $J|_{z+\Delta z}$. Difuzia este unidimensională deoarece există un gradient de concentrație doar de-a lungul axei z .

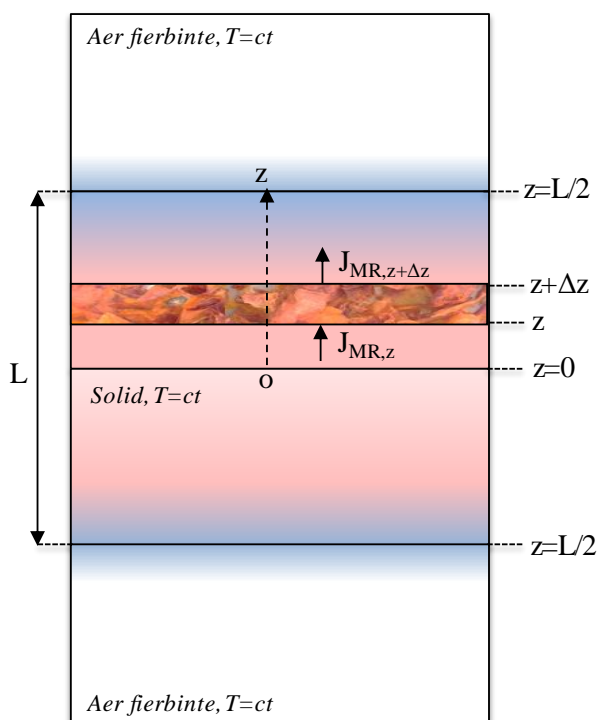


Figura 3.8 Modelul fizic de difuzie la timpul $t > t_0$ (L – grosimea plăcii / [m], J – fluxul de umiditate / $[kg/(m^2 \cdot s)]$, z – direcția de difuzie, T – temperatura de uscare [°C])

Modelul matematic de difuzie. Ipotezele modelului consideră că a) umiditatea este distribuită uniform în proba solidă; b) rezistență externă e neglijabilă pentru transferul de masă; c) condiții

izoterme pentru uscare convectivă cu aer cald; d) efectul de contracție al solidului în timpul uscării este neglijat e) concentrația de umiditate la ambele suprafețe ale plăcii este egală. Soluția analitică pentru difuzie, ecuația (3.20), este dată pentru condițiile inițiale și la limită și pentru ipotezele considerate în perioada de scădere a ratei de uscare și geometria plăcii propusă a cojilor de roșii ca o sumă infinită a seriei Fourier [34]:

$$MR = \frac{8}{\pi^2} \left[e^{-\frac{\pi^2 \cdot D_{\text{eff}} \cdot t}{4(L/2)^2}} + \frac{1}{9} \cdot e^{-\frac{9 \cdot \pi^2 \cdot D_{\text{eff}} \cdot t}{4(L/2)^2}} + \frac{1}{25} \cdot e^{-\frac{25 \cdot \pi^2 \cdot D_{\text{eff}} \cdot t}{4(L/2)^2}} + \dots \right] \quad (3.20)$$

unde $\frac{D_{\text{eff}} \cdot t}{(L/2)^2}$ este numărul Fourier. Pentru timp de uscare mare, numărul Fourier este mai mare de

0.2 și doar primul termen este semnificativ, astfel ecuația (3.20) poate fi simplificată în forma (3.21), fără a afecta acuratețea modelului [32]:

$$MR = \frac{8}{\pi^2} \cdot e^{-\frac{\pi^2 \cdot D_{\text{eff}} \cdot t}{4(L/2)^2}} \quad (3.21)$$

3.7.6.2 Modele semi-teoretice de uscare

Pentru fitarea datelor experimentale de uscare au fost alese și modele semi-teoretice pentru a descrie comportamentul la uscare al cojilor de roșii.

Tabelul 3.3 Modele matematice în strat subțire pentru uscarea cojilor de roșii

Numele modelului	Ecuția modelului*
Modelul Teoretic de Difuzie	
Legea a doua de difuziei a lui Fick	$MR = 8/\pi^2 \cdot \exp(-(\pi^2 D_{\text{eff}} t)/4/(L/2)^2)$
Modele STM–N	
Newton	$MR = \exp(-kt)$
Page	$MR = \exp(-kt^n)$
Modified Page	$MR = \exp(-(kt)^n)$
Modele STM–F	
Henderson and Pabis	$MR = a \cdot \exp(-kt)$
Modified Henderson and Pabis	$MR = a \cdot \exp(-kt) + b \cdot \exp(-gt) + c \cdot \exp(-ht)$
Midilli	$MR = a \cdot \exp(-kt^n) + b \cdot t$
Logarithmic	$MR = a \cdot \exp(-kt) + b$
Two-term	$MR = a \cdot \exp(-k_1 t) + b \cdot \exp(-k_2 t)$
Two-term exponential	$MR = a \cdot \exp(-kt) + (1 - a) \cdot \exp(-kat)$

* MR este raportul de umiditate adimensional; $D_{\text{eff}} / [m^2/s]$ este coeficientul efectiv de difuzie; $L / [m]$ este grosimea plăcii; $k, k_1, k_2, g, h / [s^{-1}]$ sunt constant de uscare; a, b, c, n sunt constante adimensionale ale modelului; $t / [s]$ este timpul de uscare.

Modelele semi-teoretice sunt împărțite în două categorii precum modele semi-teoretice derivate din legea de răcire a lui Newton (STM-N) și modele semi-teoretice derivate din legea a doua de difuziei a lui Fick (STM-F), așa cum este prezentat în *Tabelul 3.3*.

3.8.1 Rezultatele experimentale ale uscării

În *Figura 3.9a* este ilustrată variația conținutului de umiditate al cojilor de roșii în timpul uscării cu aer cald (HAD) la șase temperaturi diferite în intervalul 50 – 75 °C, până când fiecare probă atinge o umiditate finală medie de aproximativ $6,42 \pm 0,30$ %, care corespunde unui raport de umiditate final de $0,014 \pm 0,001$. Pentru a evita degradarea carotenoidelor în timpul procesului de uscare a roșiilor, umiditatea probei trebuie să fie mai mică de 10 % [46] și mai mare de 4,6 % [47]. Valoarea medie a umidității cojilor de roșii folosite a fost de $82,63 \pm 1,51$ %, fiind în intervalul raportat de alți autori ca 79,13 % [8], 80 % [25] sau 80 – 85 % [48]. După cum se poate observa, timpul de uscare crește de la 6 la 11 ore cu o creștere a temperaturii HAD de 5 grade în intervalul 50 – 75 °C, pentru o umiditate finală similară a probelor de coji de roșii uscate.

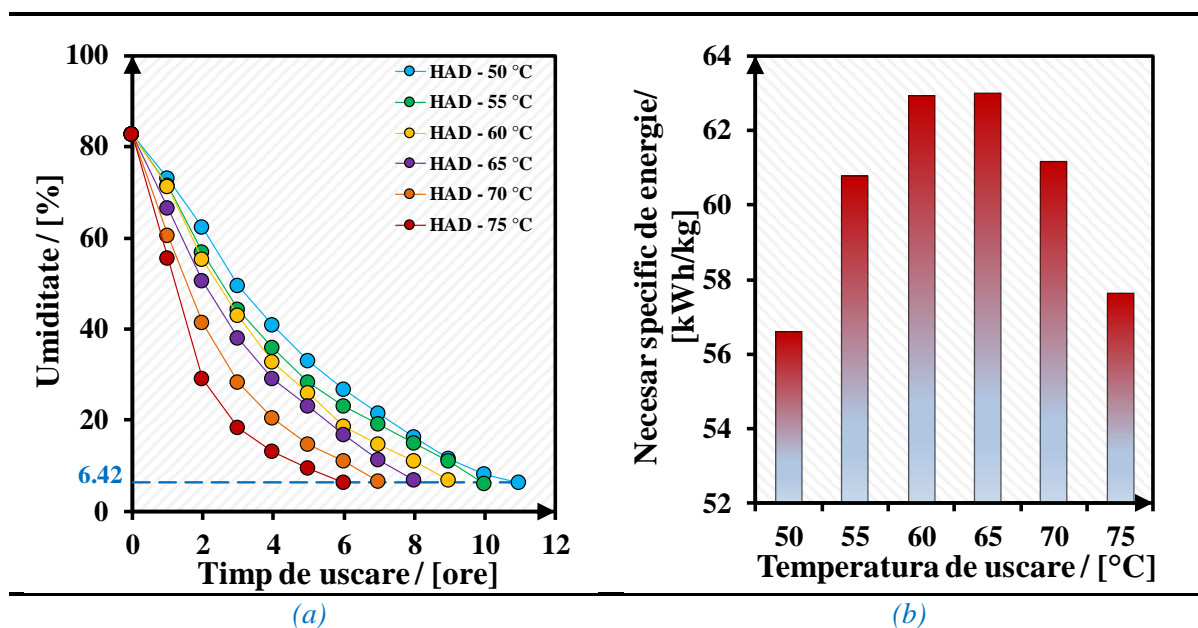


Figura 3.9 Variația caracteristicilor uscării cu aer cald (HAD) a cojilor de roșii cu temperatura de uscare: (a) umiditatea; (b) necesarul specific de energie

În *Figura 3.9b* este prezentată variația necesarului specific de energie pentru uscarea cu aer cald a cojilor de roșii cu temperatura de uscare. Valorile necesarului specific de energie au variat între 56,60 – 63,00 kWh/kg coji, cu valoare minimă pentru 50 °C. Energia specifică de uscare este influențată de combinația temperatură-timp. Scăderea necesarului specific de energie după temperatura de 65 °C poate fi asociată cu scăderea timpului de uscare, deoarece la temperaturi de 70 °C și 75 °C timpul de uscare este de 7, și respectiv 6 ore.

3.8.2 Determinarea difuzivității efective a umidității și a energiei de activare

Valorile coeficientului efectiv de difuzie a umidității D_{eff} au fost determinate prin fitarea datelor experimentale la șase temperaturi de uscare diferite din panta regresiei liniare a datelor de raport de umiditate din perioada de scădere a ratei de uscare și grosimea plăcii de 10 mm. Pentru uscarea cojilor de roșii, valorile calculate ale lui D_{eff} au variat între $1,01 \cdot 10^{-9} - 1,53 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ în intervalul de temperaturi de uscare de 50 – 75 °C, crescând odată cu temperatura de uscare. Au fost determinate factorul pre-exponențial și energia de activare (E_a) pentru coeficientul de difuzie la diferite temperaturi. În *Figura 3.10* este prezentată variația liniară dintre $\ln(D_{\text{eff}})$ și inversa temperaturii de uscare ($1/T$) care prezintă o corelație ridicată, cu o valoare a lui R^2 de 0.9706 și valori scăzute pentru χ^2 și $RMSE$ precum 0.0010 și 0.0259. Valoarea estimată a E_a pentru uscarea cu aer cald a cojilor de roșii este de 16,27 kJ/mol și se încadrează în intervalul general de 14,42 – 43,26 kJ/mol raportat pentru uscarea fructelor și legumelor [28].

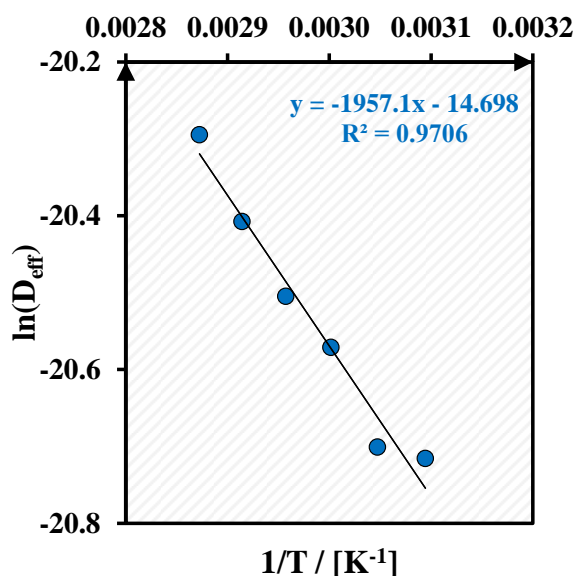
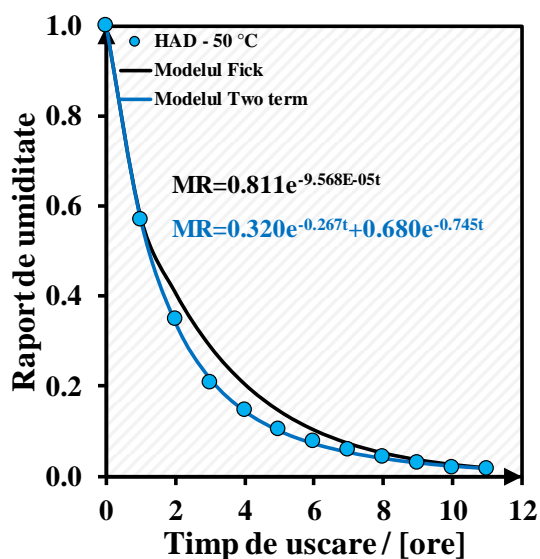


Figura 3.10 Estimarea factorului preexponențial D_0 și a energiei de activare E_a pentru coeficientul de difuzie a umidității.

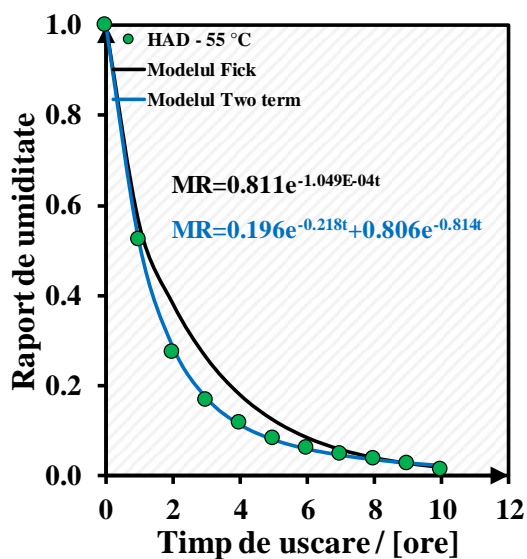
3.8.3 Parametri cinetici de uscare și validarea modelelor

Datele obținute din experimentele de uscare la diferite temperaturi privind raportul de umiditate au fost fitate cu zece modele matematice de uscare în strat subțire pentru a determina care model se potrivește cel mai bine cu datele experimentale de uscare a cojilor de roșii cu metoda HAD, pentru a obține probe cu umiditate finală similară. În *Figurile 3.11a-f* sunt ilustrate variațiile cu timpul de uscare ale rapoartelor de umiditate experimentale și ale valorilor prezise cu modelele legea a doua de difuziei a lui Fick și Two-term, pentru temperaturi între 50 – 75 °C. Cel mai potrivit model a fost ales pe baza celor mai mari valori ale lui R^2 și celor mai mici valori ale lui χ^2 și $RMSE$. Valorile R^2 arată o predicție bună pentru toate modelele (R^2 între 0,9590 – 0,9999). O

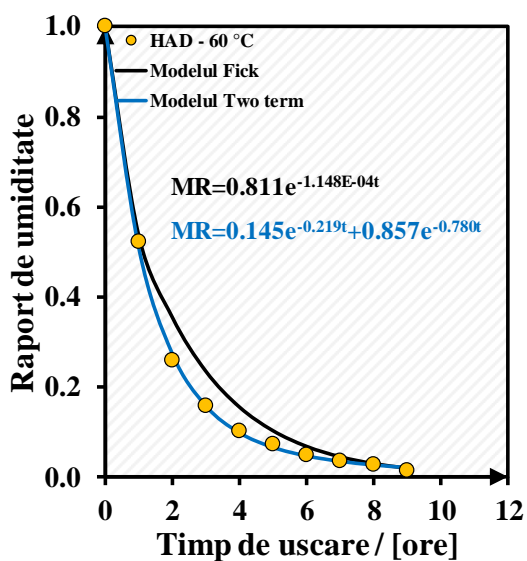
abatere mică a fost observată în zona temperaturilor de uscare mai ridicate (75 °C) pentru modelul legea a doua de difuziei a lui Fick care ia în considerare coeficientul de difuzie (R^2 între 0,9432 – 0,9999). Pentru acest model, χ^2 este mai mic de 0,01 pentru temperaturi sub 70 °C și pentru modelele semi-teoretice (STM-N și STM-F) χ^2 este mai mic de 0,002 pentru toate temperaturile de uscare. Pe baza valorilor statistice, modelul semiteoretic Two-term prezintă o fitare ridicată a datelor experimentale (R^2 între 0,9995 – 0,9999, χ^2 între $9,4655 \cdot 10^{-6}$ – $7,7173 \cdot 10^{-5}$ și $RMSE$ între 0,0013 – 0,0068) pentru cinetica de uscare a cojilor de roșii în intervalul de temperatură 50 – 75 °C. Curbele de uscare au o tendință similară cu funcțiile exponențiale care descreșc odată cu timpul de uscare. Graficele arată că modelul Two-term prezintă cea mai mare potrivire a rapoartelor de umiditate experimentale pentru toate temperaturile de uscare. Modelul legea a doua de difuziei a lui Fick prezintă abateri față de datele experimentale, mai ales la temperaturi ridicate.



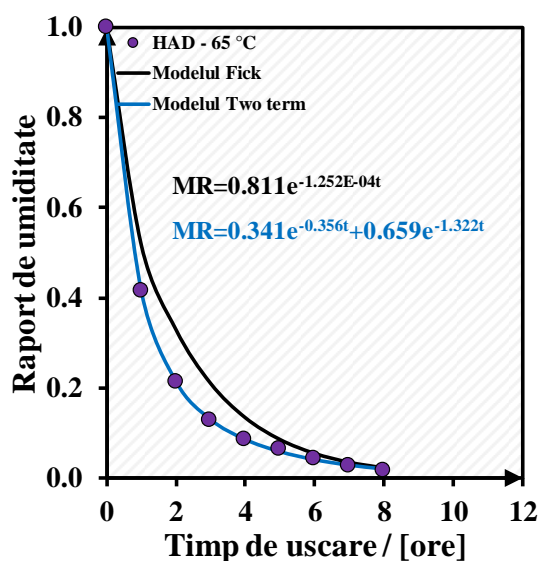
(a)



(b)



(c)



(d)

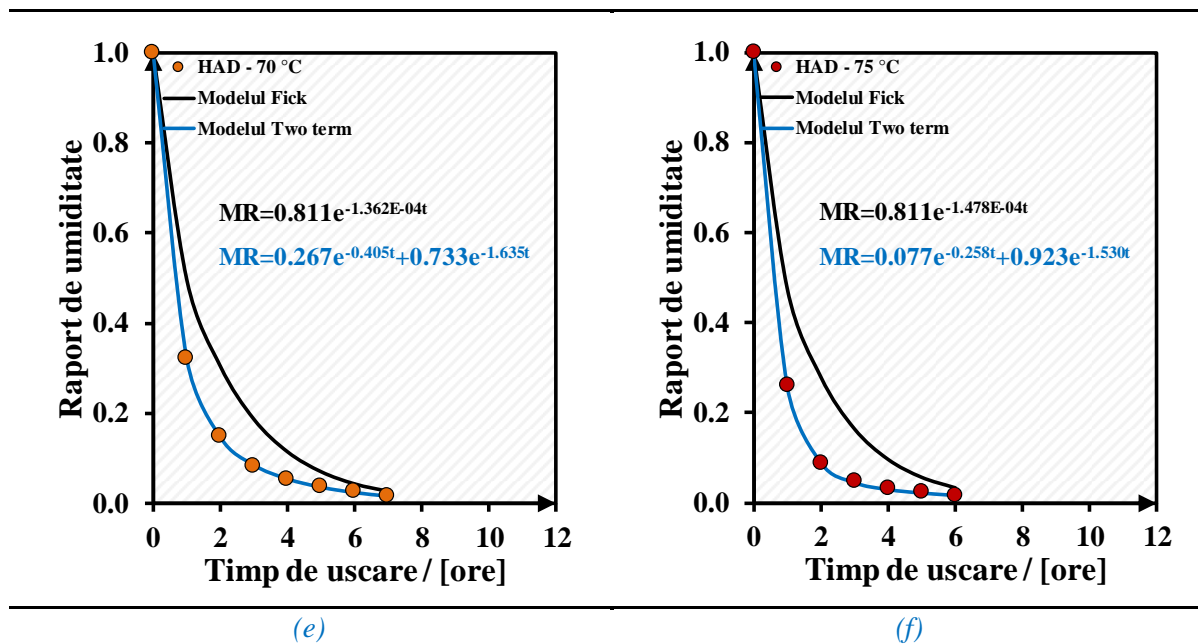


Figura 3.11 Date de uscare experimentale vs. prezise cu modelele legea a doua de difuzie a lui Fick și Two-term la diferite temperaturi: (a) 50 °C; (b) 55 °C; (c) 60 °C; (d) 65 °C; (e) 70 °C; (f) 75 °C

3.8.4 Degradarea carotenoidelor

În Figura 3.13a este prezentată variația cantităților de licopen și β-caroten din cojile de roșii uscate în funcție de temperatura de uscare. Ambii compuși prezintă concentrații mari de aproximativ 96 mg/100 g coji uscate la 50 °C și valori scăzute de 31 mg licopen și 47 mg β-caroten/100 g coji uscate la 75 °C. O degradare mică de 5 % are loc până la 55 °C, indiferent de compus. Între 60 – 75 °C degradarea licopenului și β-carotenului crește de la 21 % la 67 % și, respectiv, de la 16 % la 51 %.

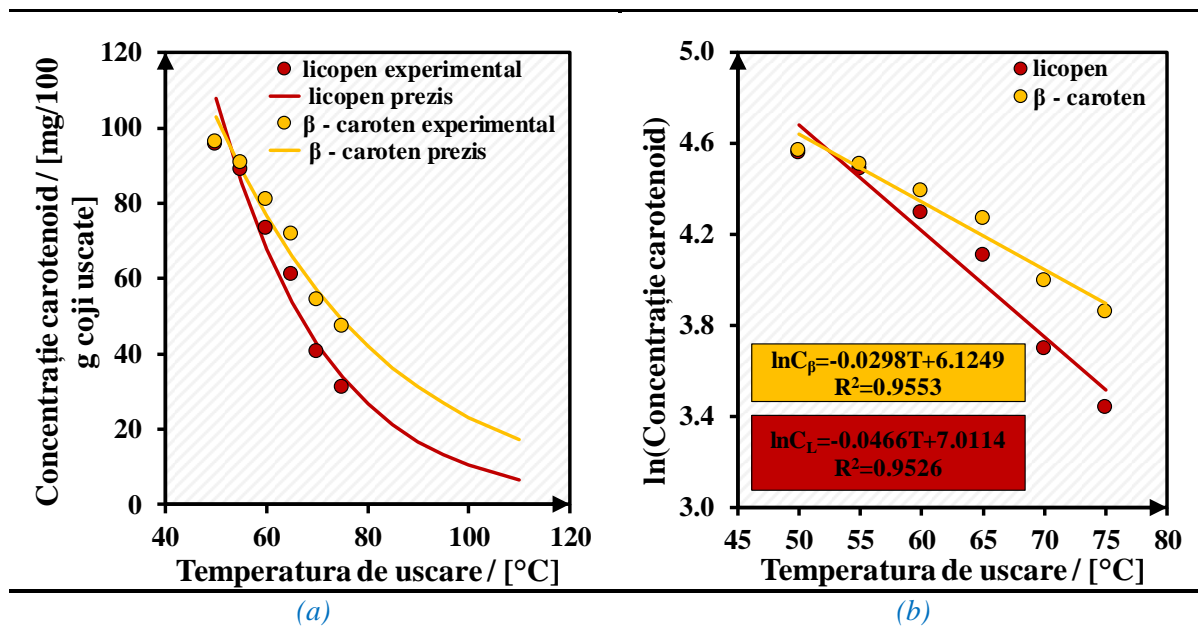


Figura 3.13 Concentrațiile de carotenoide vs. temperatura de uscare: (a) concentrațiile de carotenoide experimentale/prezise; (b) modele de degradare ale carotenoidelor

Pe baza datelor experimentale privind conținutul de licopen și β -caroten din cojile de roșii uscate la diferite temperaturi, s-au formulat două modele de degradare folosind analiza de regresie cu valori bune ale parametrilor statistici ca R^2 mai mare de 0,95 și valori scăzute ale χ^2 și $RMSE$. Folosind ecuațiile modelelor, ilustrate în *Figura 3.13b*, cantitățile de licopen și β -caroten din cojile uscate au fost prezise pentru intervalul de temperatură 50 – 110 °C, așa cum se poate observa în *Figura 3.13a*. Urmărind curbele de degradare, se observă că la 110 °C cantitățile finale de licopen și β -caroten au fost de 6,59 mg/100 g coji uscate și, respectiv, 17,23 mg/100 g coji uscate, obținându-se o degradare de 94 % pentru licopen și de 83 % pentru β -caroten. Degradarea β -carotenului este cu aproximativ 10 % mai mare decât a licopenului, acest comportament fiind observat și în alte studii [57,60].

CAPITOLUL 4 EXTRAȚIA COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN ROȘII

I. PRODUSE NATURALE ANTIOXIDANTE VALOROASE RECUPERATE DIN ROȘII PRIN METODE DE EXTRAȚIE ECOLOGICE

Rezumat

Licopenul, β -carotenul și acizii grași- ω sunt compuși majoritari din roșii cunoscuți pentru activitatea lor antioxidantă, fiind capabili să prevină bolile. Identificarea potențialelor surse naturale de antioxidanți, eficienței de extracție și evaluarea activității antioxidante sunt esențiale pentru a promova astfel de produse pentru a fi utilizate în industriile alimentară, farmaceutică sau cosmetică. Această lucrare prezintă patru produse cu valoare adăugată recuperate din roșii: oleorășină solidă pigmentată, ulei pigmentat și două extracte brute din extracția supercritică și Soxhlet. Au fost variați diferiți parametri, inclusiv probele de roșii, metodele de extracție, solvenți verzi și parametrii de funcționare pentru a obține extracte cu calități diferite. Analiza extractelor a fost efectuată folosind metodele UV-VIS, FT-IR, GC-MS, Folin-Ciocalteu și DPPH. Extractul cu cea mai bună calitate a fost oleorășina solidă obținută din reziduu de roșii prin extracție cu CO_2 supercritic la 450 bar, 70 °C și 11 kg/h: 1016,94 \pm 23,95 mg licopen/100 g extract, 154,87 \pm 16,12 mg β -caroten/100 g extract, 35,25 \pm 0,14 mg GAE/g extract și 67,02 \pm 5,11 % inhibiție DPPH. Fezabilitatea celor trei procese de extracție a fost evaluată din punct de vedere economic (1:10:100 kg reziduu uscat/șarjă drept criteriu de scalabilitate). Cel mai profitabil a fost procesul de extracție supercritic la cea mai mare capacitate, care produce oleorășină solidă pigmentată și ulei cu cantități ridicate de licopen cu preț ridicat, folosind deșeuri alimentare naturale (reziduu de roșii).

4.3.3 Extracția Soxhlet

Eficiența metodei de extracție Soxhlet (SE) a fost verificată prin analiza a doi factori, afinitatea solventului și conținutul de semințe din probele de roșii. Solvenții verzi analizați sunt bioetanolul (1) și acetatul de etil (2), iar probele de roșii folosite sunt felii (TS) și reziduu (TP). Din *Figurile 4.3a,b* se poate observa că extractele brute obținute cu bioetanol din ambele tipuri de probe (TS-1-SE, TP-1-SE) au fost mai puțin pigmentate, având culoare portocalie, față de extractele brute obținute cu acetat de etil (TS-2-SE, TP-2-SE), de culoare roșie, indiferent de tipul de probă. Culoarea roșie intensă este asociată cu un conținut ridicat de carotenoide [31]. Pentru ambele tipuri de probe de roșii extracția a fost îmbunătățită cu 40 % pentru TS și 8 % pentru TP atunci când s-a utilizat acetat de etil (2). Din cauza conținutului diferit de semințe din probele de roșii și a afinităților diferite ale solvenților, eficiențele de extracție calculate au fost între $5,92 \pm 0,69$ și $13,23 \pm 1,14$ g extract/100 g felii de roșii uscate folosind solventul (1) și $8,72 \pm 0,93$ – $14,33 \pm 1,19$ g extract/100 g reziduu de roșii uscate folosind solventul (2). Rezultatele sunt similare cu alte studii: 8,46 % din TP și 4,41 % din coji [1] sau 6,5 – 19,3 % din TP [7].

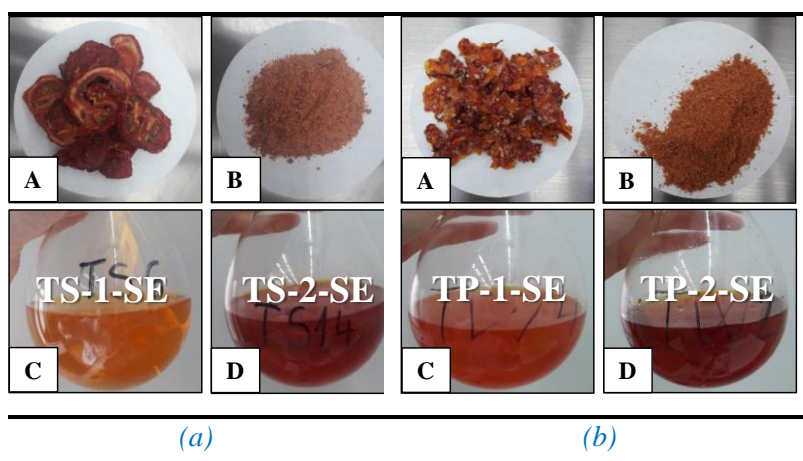


Figura 4.3 Probe de roșii și extracte brute obținute cu extracția Soxhlet (SE) cu solvenții de extracție (1) bioetanol și (2) acetat de etil, A – probele înainte de măcinare, B – probele după măcinare, C – extract cu bioetanol (1), D – extract cu acetat de etil (2): (a) felii de roșii (TS); (b) reziduu de roșii (TP)

4.3.4 Extracția cu CO₂ supercritic

Conținutul de semințe al probelor, presiunea de extracție și debitul de solvent au fost considerate ca factori care pot afecta calitatea extractului brut obținut cu SFE. Două seturi de parametri de operare au fost analizate, setul (1) la 400 bar, 70 °C și 9 kg/h și setul (2) la 450 bar, 70 °C și 11 kg/h. Folosind setul de parametri de operare (2) la valori mari ale presiunii (450 bar) și debitului de CO₂ (11 kg/h), extracția a fost mai eficientă față de setul de parametri de operare (1), indiferent de proba de roșii. Probele de roșii supuse SFE și extractele sunt prezentate în *Figurile 4.4*.

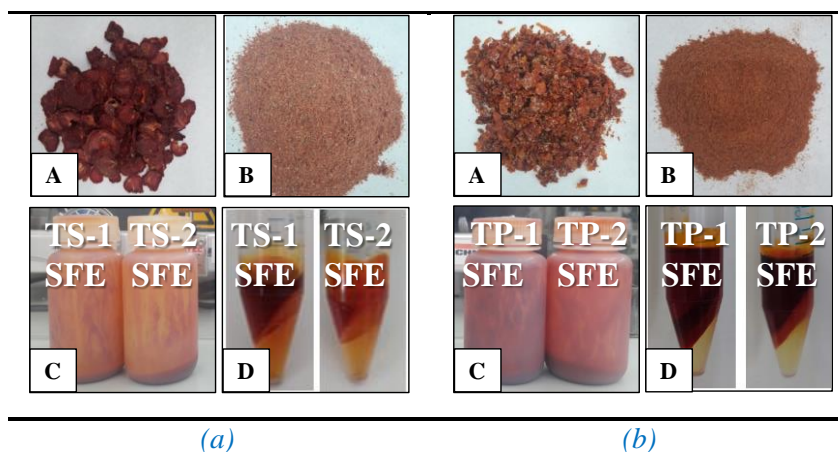


Figura 4.4 Probe de roșii, extracte brute și fracții centrifugate obținute cu extracția cu CO₂ supercritic (SFE) cu seturile de parametri de operare set (1) la 400 bar, 70 °C, 9 kg/h și set (2) la 450 bar, 70 °C, 11 kg/h. A – înainte de măcinare, B – după măcinare, C – extractele brute obținute cu seturile (1,2), D – extractele centrifugate obținute cu seturile (1,2): (a) felii de roșii (TS); (b) reziduu de roșii (TP)

Extractele brute SFE sunt roșii, iar extractele obținute din TP sunt mai pigmentate. Pentru parametrii de operare, extractele brute obținute cu setul (2) au avut culori mai intense. Randamentele au fost îmbunătățite cu 21 % pentru TS și 19 % pentru TP. Randamentele obținute au fost între $5,25 \pm 0,79$ și $6,64 \pm 1,12$ g extract/100 g TS uscat și între $10,02 \pm 1,14$ și $12,35 \pm 1,55$ g extract/100 g TP uscat. Valorile sunt în concordanță cu rezultatele raportate de alți autori: 10,3 – 13,4 % din TP [23], 11,4 – 24,6 % din TP [7], 12,51 % din TP și 2,5 % din coji [1]. O creștere de 100 % a eficienței de extracție a fost obținută pentru probele de TP, indiferent de seturile de parametri de operare.

4.3.5 Centrifugarea extractelor

Consistența extractelor brute SFE este similară cu o oleorășină lichidă. Pentru o analiză precisă a fost necesară separarea fazelor extractelor brute pentru a evalua calitatea lor. Trei fracții s-au obținut cu metoda de centrifugare. Frația superioară (SFE-A) a fost roșie și uleioasă, fracția din mijloc a fost o olerășină solidă de culoare roșu închis (SFE-B), iar fracția inferioară a fost un lichid galben (SFE-C) (*Figura 4.4*). Consistența fracțiilor SFE-B a fost similară cu cea a extractelor brute SE. Extractele brute din TS au avut 66 – 73 % SFE-A, 5 – 7 % SFE-B și 20 – 30 % SFE-C, în timp ce extractele brute TP au avut 73 – 77 % SFE-A, 13 – 15 % SFE-B și 11 – 13 % SFE-C. Extractele brute din TP au fost mai pigmentate și au avut cantități mai mari de fracții SFE-A și SFE-B decât extractele brute din TS.

4.3.7 Analiza cantitativă a carotenoidelor din extractele brute SE și SFE

Cantitățile de licopen și β -caroten (mg carotenoid/100 g extract) sunt prezentate în *Figurile 4.6*. Extractele brute SE au prezentat cantități mai mari din ambele carotenoide decât extractele brute

din SFE, indiferent de solventul de extracție utilizat (în SE) și parametrii de operare (în SFE). Cantitățile de licopen al extractelor brute din SE și SFE au variat între $336,77 \pm 14,05$ și $854,50 \pm 7,51$ mg/100 g extract și, respectiv, între $99,41 \pm 5,72$ și $261,70 \pm 6,66$ mg/100 g extract. Cantitățile de β -caroten au fost între $459,06 \pm 6,46$ și $945,00 \pm 10,87$ mg/100 g extract și, respectiv, între $134,77 \pm 13,28$ și $236,11 \pm 10,17$ mg/100 g extract. Solvenții de extracție influențează recuperarea carotenoidelor datorită polarității acestora. Ordinea descrescătoare a polarității solvenților verzi utilizați este bioetanol > acetat de etil > dioxid de carbon [27]. Extractele brute cu acetat de etil (2) au avut un conținut mai mare atât de licopen ($854,50 \pm 7,51$ mg/100 g extract din TS și $454,64 \pm 8,76$ mg/100 g extract din TP), cât și de β -caroten ($945,00 \pm 10,87$ mg/100 g extract din TS și $580,96 \pm 9,51$ mg/100 g extract din TP) decât bioetanol (1). Pentru metoda SFE, s-au obținut cantități mai mari de carotenoide utilizând setul de parametri de operare (1) la valori mai mici de presiune și debit de CO₂. Extractele brute din TP au avut o cantitate mai mare de ulei; prin urmare, carotenoidele extrase au fost dizolvate într-o cantitate mai mare de lichid decât cele extrase din TS, ceea ce a condus la un extract diluat în ulei din semințe de roșii.

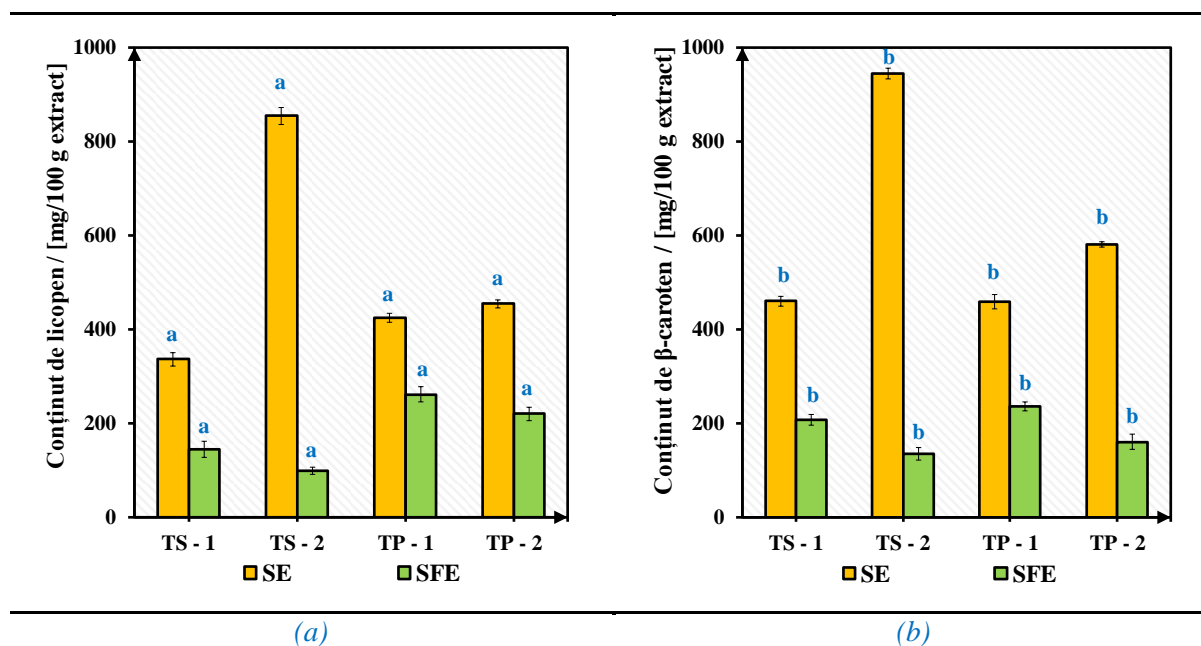


Figura 4.6 Conținutul de carotenoide al extractelor brute din SE și SFE obținute din felii de roșii (TS) și reziduu de roșii (TP), folosind ca solvenți de extracție (1) bioetanol și (2) acetat de etil și ca parametri de operare set (1) la 400 bar, 70 °C, 9 kg/h și set (2) la 450 bar, 70 °C, 11 kg/h: (a) licopen; (b) β -caroten.

4.3.10 Analiza cantitativă a fracțiilor SFE

Conținutul de carotenoide al fracțiilor SFE exprimate prin cantitățile de licopen și β -caroten, obținute prin metoda UV–VIS, sunt prezentate în *Figurile 4.9*. Conținutul de licopen al fracțiilor SFE-A și SFE-B a fost între $38,74 \pm 0,18$ – $105,02 \pm 0,40$ mg/100 g pentru fracția SFE-A și $359,66 \pm 1,84$ – $1016,94 \pm 8,95$ mg/100 g pentru fracția SFE-B. Rezultatele pentru β -caroten au fost între

146,24 ± 4,95 – 299,06 ± 5,64 mg/100 g pentru fracția SFE–A și 83,96 ± 8,04 – 154,87 ± 6,12 mg/100 g pentru SFE–B. Frațiile SFE-B au avut cantități mai mari de carotenoide decât fracțiile SFE-A, iar valorile lor sunt apropiate de extractele SE. În ceea ce privește parametrii de operare, deși conținutul de carotenoide în extractele brute din SFE obținute cu setul (1) a fost mai mare, analizând fracțiile SFE–B, se pare că setul (2) a fost mai eficient, indiferent de tipul de probă de roșii. Randamentele carotenoidelor sunt corelate pozitiv cu presiunea și debitul, acești parametri jucând un rol semnificativ pentru recuperarea carotenoidelor cu SFE [7,23,25]. Pentru solventul dioxid de carbon, la presiuni mai mici (*set 1*), polaritatea pentru CO₂ supercritic este comparabilă cu hexan, în timp ce, la presiuni mari (*set 2*), cu cloroform, iar carotenoidele sunt mai solubile în cloroform decât în hexan [8].

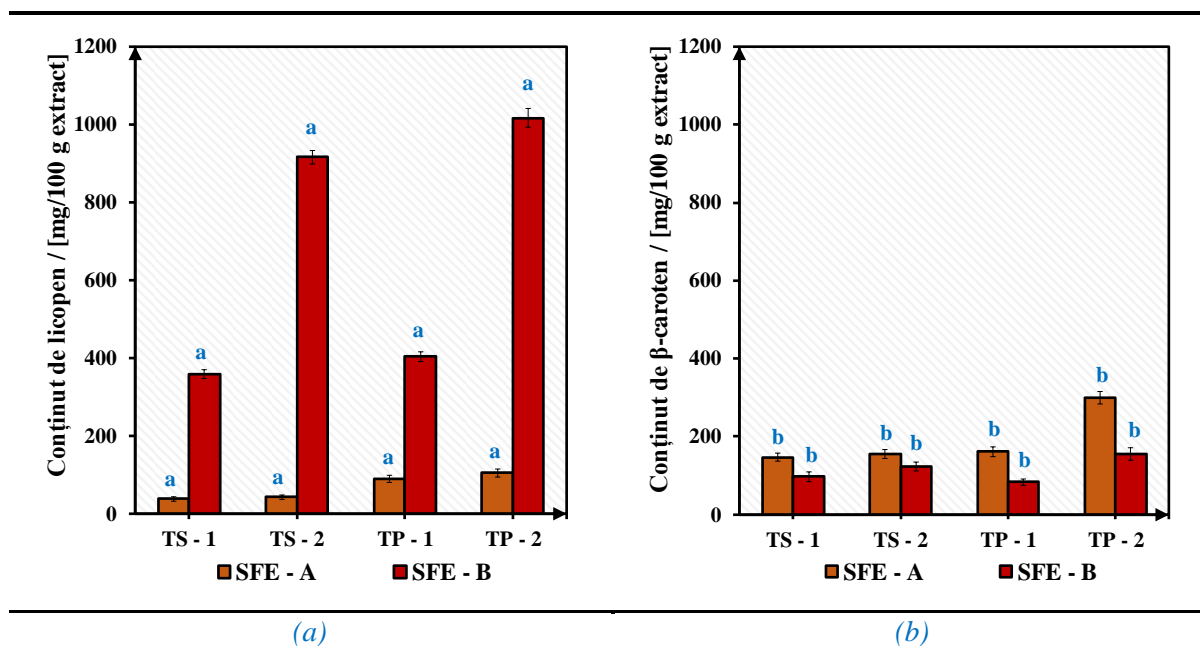


Figura 4.9 Conținutul de carotenoide al fracțiilor SFE (SFE–A și SFE–B) obținute din felii de roșii (TS) și reziduu de roșii (TP) cu parametrii de operare set (1) la 400 bar, 70 °C, 9 kg/h și set (2) la 450 bar, 70 °C and 11 kg/h: (a) licopen; (b) β-caroten.

A fost analizată și distribuția carotenoidelor în extractele de roșii. Rapoartele medii de licopen/β-caroten în extractele brute SE și SFE din TS au fost 45/55 și 42/58. În fracțiile SFE-A și SFE-B, rapoartele au fost 22/78 și, respectiv, 83/17. Pentru TP în extractele brute SE și SFE, rapoartele medii au fost 46/54 și 55/45, în timp ce pentru fracțiile SFE-A și SFE-B, valorile lor au fost 43/57 și 85/15. Aceste rapoarte arată că există un conținut de licopen mai mare în fracțiile SFE-B și extractele brute SE, care nu sunt diluate cu ulei, față de extractele brute SFE și fracțiile SFE-A.

4.3.14 Analiza economică

Pentru a estima profitabilitatea procesului de extracție, au fost analizate trei capacități de prelucrare a instalațiilor (1, 10, 100 kg reziduu uscat/șarjă) pentru a produce patru extracte

valoroase cu activitate antioxidantă folosind ca materie primă reziduu de roșii uscat: extract brut SE (TP-2-SE), extract brut SFE (TP-2-SFE), oleorășină solidă (TP-2-SFE-B) și extract uleios (TP-2-SFE-A). În *Figura 4.10*, este prezentat profitul (€/kg reziduu de roșii uscat/șarjă) pentru trei capacități de prelucrare. Pentru o instalație de capacitate mică (1 kg reziduu uscat/șarjă) nu se obține profit pentru procesul SFE, iar procesul SE este mai profitabil (profit între 1,46 și 4,52 €/kg reziduu de roșii uscat/ șarjă). Prin creșterea capacității de procesare a fabricii (100 kg reziduu uscat/șarjă), procesul SFE devine mai profitabil, mai ales pentru obținerea a două produse: oleorășină solidă pigmentată concentrată în lycopen (TP-2-SFE-B) și extract uleios pigmentat bogat în carotenoide (TP-2-SFE-A), cu profit de 4,92 €/kg reziduu de roșii uscat/șarjă.

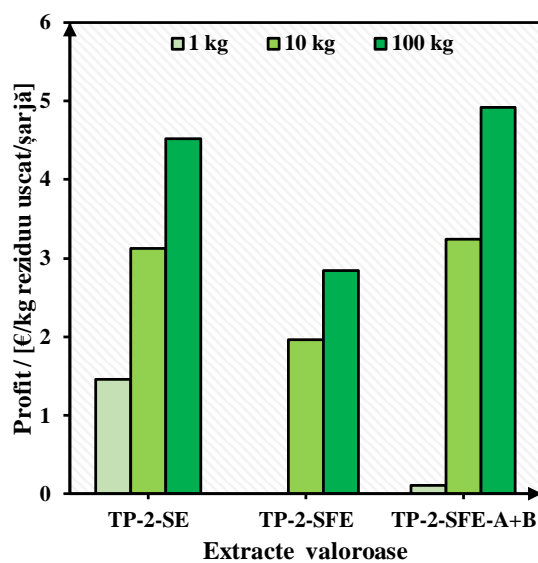


Figura 4.10 Estimarea profitului pentru patru extracte valoroase (TP-2-SE, TP-2-SFE, TP-2-SFE-A și TP-2-SFE-B) și trei capacități de prelucrare (1:10:100 kg reziduu uscat/șarjă)

II. ÎMBUNĂȚĂȚIREA RECUPERĂRII CAROTENOIDELOR PRIN EXTRACȚIA CU CO₂ SUPERCRITIC DIN ROȘII FOLOSIND ULEIURI DIN SEMINȚE CA MODIFICATORI

Rezumat

Această lucrare își propune să îmbunătățească cantitatea și calitatea extractelor din felii de roșii (TS) prin îmbunătățirea recuperării carotenoidelor din matricea solidă în solvent folosind 20 % g/g semințe ca modificatori și extracția cu CO₂ supercritic în condiții optime. Semințele de roșii (TSM), camelină (CSM) și cânepă (HSM) au fost folosite ca modificatori datorită calității lor (conținut de acizi grași polinesaturați de 53 – 72 %). S-a obținut o solubilitate de ~ 10 mg carotenoide/100 g ulei pentru CSM și HSM, în timp ce, pentru TSM, solubilitatea a fost cu 28 % mai mare. O creștere a randamentului de extracție de la 66,00 la 108,65 g extract/kg probă uscată

a fost obținută în următoarea ordine: TSM < HSM < CSM. Două produse, ulei bogat în carotenoide (203,59 mg/100 g extract) și acid linolenic- ω 3 și oleorășină solidă bogată în licopen (1172,32 mg/100 g extract), au fost obținute folosind metoda SFE în condiții optime (450 bar, 70 °C, 13 kg/h și modificator CSM), așa cum a fost stabilit prin metodologia suprafeței de răspuns (RSM).

4.7.10 Proiectarea experimentelor

În acest studiu s-a utilizat proiectarea experimentală Box–Behnken (BBD) pentru a evalua efectele a trei factori selectați ($k = 3$) cu trei niveluri ($p = 3$), precum presiunea de extracție (350, 400 și 450 bar), tipul semințelor (TSM, CSM și HSM) și debitul de CO₂ (9, 11 și 13 kg/h). Pentru a evalua efectele acestor trei factori, au fost propuse patru răspunsuri, cum ar fi randamentul de SFE-A (extract uleios), randamentul de SFE-B (extract solid), conținutul total de carotenoide în SFE-A și conținutul de licopen în SFE-B. Luând în considerare trei repetări în punctul central și metoda BBD, numărul de experimente a fost 15, fiecare experiment fiind efectuat în duplicat. Factorii selectați și răspunsurile cu nivelurile lor codificate și necodificate sunt prezentate în *Tabelul 4.9* și *Tabelul 4.10*.

Tabelul 4.9 Variabilele independente (factori) pentru proiectarea experimentală BBD

Variabile independente	Simbol	Intervalul nivelurilor variabilelor codificate		
		Minim	Mediu	Maxim
		-1	0	+1
Presiunea de extracție / [bar]	X_1	350	400	450
Tipul de semințe	X_2	TSM	CSM	HSM
Debitul de CO ₂ / [kg/h]	X_3	9	11	13

Tabelul 4.10 Variabilele dependente (răspunsuri) pentru proiectarea experimentală BBD

Variabile dependente	Simbol
Randament SFE-A / [g/100 g probă uscată]	Y_1
Randament SFE-B / [g/100 g probă uscată]	Y_2
Carotenoide în SFE-A / [mg/100 g extract]	Y_3
Licopen în SFE-B / [mg/100 g extract]	Y_4

Pentru a prezice efectul fiecărui factor care influențează răspunsurile alese ale procesului SFE folosind felii de roșii, au fost dezvoltate patru modele polinomiale de ordinul doi (ecuația (4.2)) pentru k variabile independente (X_1 , X_2 și X_3):

$$Y_i = \beta_{0,i} + \beta_{1,i} \cdot X_1 + \beta_{2,i} \cdot X_2 + \beta_{3,i} \cdot X_3 + \beta_{4,i} \cdot X_1 \cdot X_2 + \beta_{5,i} \cdot X_2 \cdot X_3 + \beta_{6,i} \cdot X_1 \cdot X_3 + \beta_{7,i} \cdot X_1^2 + \beta_{8,i} \cdot X_2^2 + \beta_{9,i} \cdot X_3^2 \quad (4.2)$$

unde X_1 , X_2 și X_3 sunt factorii selectați și β_{ji} sunt ordonata la origine ($\beta_{0,i}$), coeficienții liniari ($\beta_{1,i}$, $\beta_{2,i}$ și $\beta_{3,i}$), cuadratici ($\beta_{4,i}$, $\beta_{5,i}$ și $\beta_{6,i}$) și de interacțiune ($\beta_{7,i}$, $\beta_{8,i}$ și $\beta_{9,i}$) care descriu efectele factorilor asupra răspunsurilor alese (Y_i). Validarea statistică a modelelor a fost efectuată utilizând analiza varianței (ANOVA) pentru a verifica dacă modelele au descris corect relația dintre factori și răspunsuri. Acuratețea modelelor a fost verificată prin coeficientul de determinare (R^2) și testul *Lack of fit*. În final, determinarea condițiilor optime a fost realizată folosind funcția de dezirabilitate și graficele suprafeței de răspuns. Graficele suprafeței de răspuns au fost generate pe baza variației a doi factori și menținându-l constant pe cel de-al treilea factor [34].

4.8.2 Extracția carotenoidelor cu uleiuri vegetale

Pentru a evalua solubilitatea carotenoidelor în cele trei uleiuri selectate s-a folosit metoda macerării. După aceeași timp de extracție, s-au obținut trei extracte uleioase (TSO-TS, CSO-TS și HSO-TS) și s-au observat modificări ale culorilor uleiurilor: TSO-TS s-a schimbat de la portocaliu la roșu, CSO-TS s-a schimbat de la galben la portocaliu și HSO-TS s-au schimbat de la verde la maro (*Figurile 4.13a,b*). Aceste modificări de culoare au fost asociate cu conținutul de carotenoide extras din TS, chiar dacă și uleiurile vegetale erau pigmentate. Recuperarea licopenului cu TSO a fost mai mare cu 21 % față de CSO și cu 26 % față de HSO.

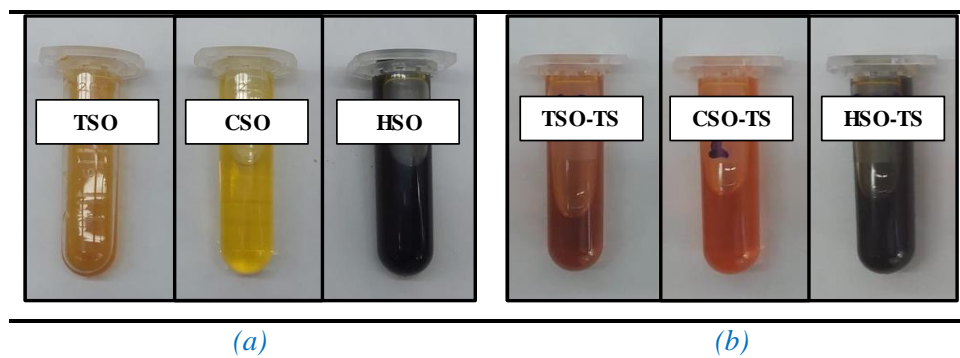


Figura 4.13 Solubilitatea carotenoidelor în uleiurile vegetale (TSO, CSO și HSO): (a) uleiurile vegetale; (b) extractele din TS

4.8.6 Parametri optimi pentru extracția SFE cu uleiuri din semințe ca modificatori

Randamentele de extracție la diferite experimente au variat între 2,97 și 9,14 g/100 g probă uscată pentru fracția SFE-A (extract uleios) și între 0,22 și 2,81 g/100 g probă uscată pentru fracția SFE-B (extract solid). Pentru compozițiile extractelor, conținutul total de carotenoide în fracțiile uleioase a variat între 86,17 și 206,15 mg/100 g extract, în timp ce conținutul de licopen în fracțiile solide a fost între 659,17 și 1212,68 mg/100 g extract.

În *Tabelul 4.16* sunt prezentați coeficienții de regresie a patru modele pătratice care au descris cel mai bine efectele variabilelor independente $X_1 - X_3$ asupra răspunsurilor alese $Y_1 - Y_4$ ale procesului SFE. Pentru toate răspunsurile, s-a observat că presiunea de extracție (X_1) și debitul de

CO₂ (X₃) au avut efecte pozitive, în timp ce tipul de semințe (X₂) a avut un efect complex, fiind pozitiv pentru răspunsurile Y₁ și Y₂ și negativ pentru răspunsurile Y₃ și Y₄. Utilizarea CSM a condus la randamente mari de extracție și la concentrații mai scăzute de carotenoide, în timp ce utilizarea TSM a condus la o recuperare mai mare a carotenoidelor și la randamente mai scăzute. Astfel, analiza RSM a confirmat importanța tipului de semințe utilizate ca modificatori în recuperarea carotenoidelor din felii de roșii prin procesul SFE.

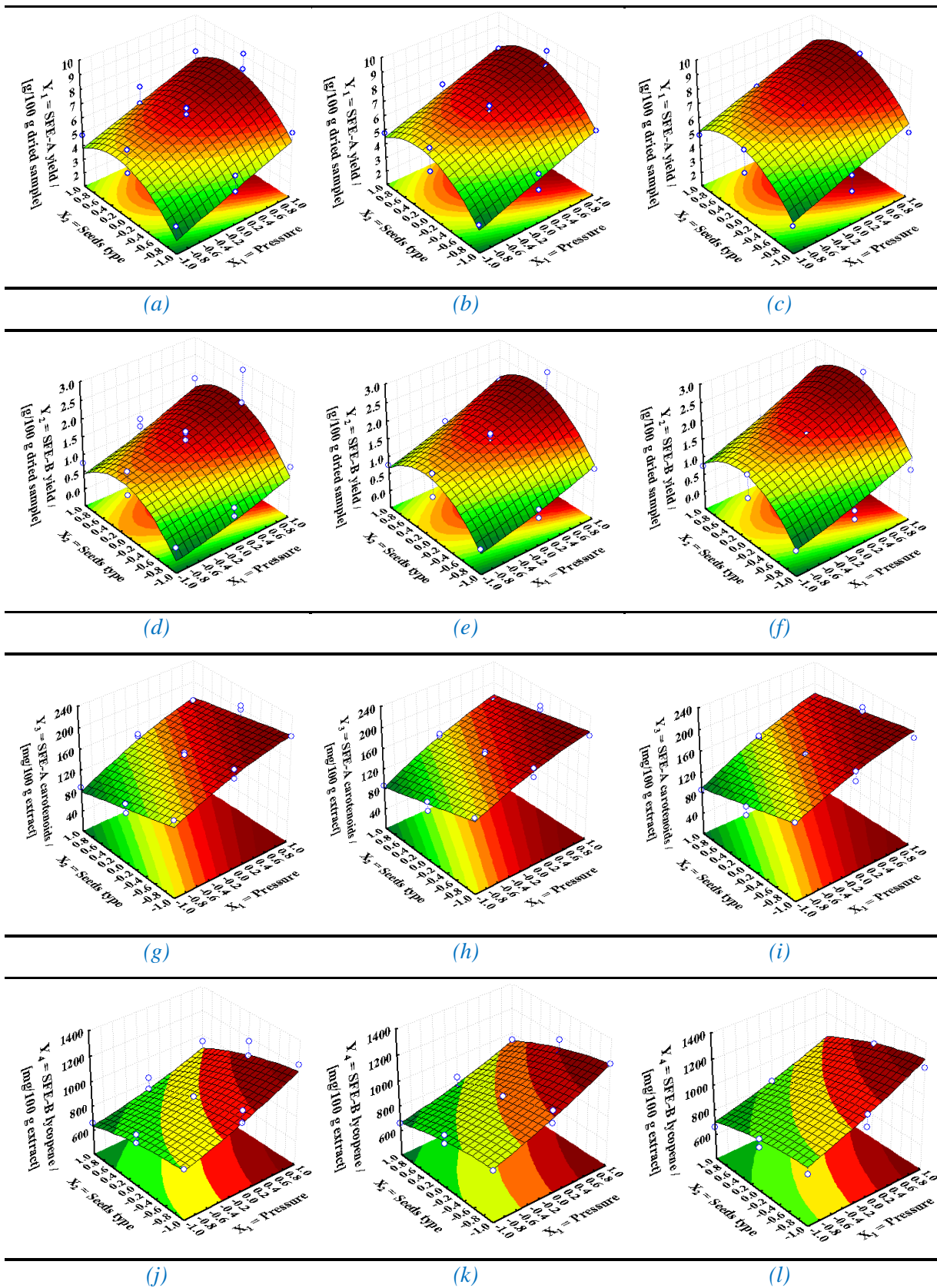
Pentru validarea statistică a modelelor propuse, au fost evaluate valorile testului *Lack of fit* pentru un nivel de încredere de $\alpha = 0,05$ (riscul de 5 % este considerat semnificativ). Coeficienții cu $p > 0,05$ au fost considerați ne semnificativi din punct de vedere statistic și au fost eliminați din model. În plus, precizia modelelor predictive a fost verificată prin coeficientul de determinare (R^2). Valorile R^2 au fost mai mari de 0,96, indicând o potrivire bună între datele experimentale și cele prezise.

Tabelul 4.16 Coeficienții de regresie ai modelelor

Date statistice	Y ₁ = randament	Y ₂ = randament	Y ₃ = carotenoide în	Y ₄ = licopen în
	SFE-A	SFE-B	SFE-A	SFE-B
β_0 (Ordonata la origine)	6,893	1,688	160,690	918,419
β_1 (X ₁)	1,531	0,547	40,398	166,686
β_2 (X ₂)	0,902	0,373	-22,978	-108,097
β_3 (X ₃)	0,626	0,252	5,735	46,287
β_4 (X ₁ X ₂)	*	*	5,312	-27,241
β_5 (X ₂ X ₃)	*	*	*	*
β_6 (X ₁ X ₃)	*	*	*	12,235
β_7 (X ₁ ²)	*	*	-8,237	21,640
β_8 (X ₂ ²)	-1,832	-0,830	*	-31,374
β_9 (X ₃ ²)	*	*	*	9,627
df Lack of fit	8	3	7	4
p-value Lack of fit	0,565	0,154	0,056	0,053
df Pure error	2	2	2	2
Pure error	0,068	0,014	4,830	4,793
R²	0,983	0,961	0,968	0,999
R² Ajustat	0,976	0,889	0,950	0,998
R² Prezis	0,942	0,861	0,922	0,985

* *Nesemnificativ din punct de vedere statistic ($p > 0.05$) la un nivel de semnificație $\alpha = 0.05$.*

Graficele suprafețelor de răspuns au fost generate între doi factori menținându-l constant pe al treilea pentru a analiza efectul acestora asupra celor patru răspunsuri.



Figurile 4.19 Graficele suprafețelor de răspuns pentru efectele X_1 și X_2 când X_3 este constant la $X_3=-1$ (stânga), $X_3=0$ (mijloc) și $X_3=+1$ (dreapta): (a-c) $Y_1 =$ randament SFE-A; (d-f) $Y_2 =$ randament SFE-B; (g-i) $Y_3 =$ Carotenoide în SFE-A; (j-l) $Y_4 =$ Licopen în SFE-B

În *Figurile 4.19a-l* sunt prezentate graficele suprafețelor de răspuns pentru răspunsurile $Y_1 - Y_4$ atunci când factorul X_3 , debitul de CO_2 , este menținut constant, pentru a ilustra efectele factorilor X_1 (presiunea de extracție) și X_2 (tipul de semințe). În *Figurile 4.19stânga*, debitul de CO_2 are valoarea minimă de 9 kg/h ($X_3 = -1$), în *Figurile 4.19mijloc* valoarea medie de 11 kg/h ($X_3 = 0$), în timp ce în *Figurile 4.19dreapta* valoarea maximă de 13 kg/h ($X_3 = +1$).

Pentru randamentele de extracție ale fracțiilor SFE-A și SFE-B, s-a observat că o creștere a presiunii și utilizarea semințelor CSM a condus la randamente mai mari. Valorile randamentelor de 7 – 8 g/100 g probă uscată pentru SFE-A și 2 – 2,5 g/100 g probă uscată pentru SFE-B se obțin utilizând presiuni între 400 și 450 bar, ($X_1 = 0, 1$) și 20 % semințe CSM ($X_2 = 0$), amestec de semințe 10 % CSM + 10 % TSM ($X_2 = -0,5, 0$) sau amestec de semințe 10 % CSM + 10 % HSM ($X_2 = 0, 0,5$). Pentru conținutul total de carotenoide din SFE-A și conținutul de lycopen din SFE-B, o creștere a presiunii și utilizarea semințelor TSM au condus la obținerea de cantități mai mari de carotenoide. Valorile de total carotenoide de 180 – 200 mg/100 g extract pentru SFE-A și de lycopen de 1100 – 1300 mg/100 g extract pentru SFE-B se obțin utilizând presiuni între 375 și 450 bar ($X_1 = -0,5, 1$) și 20 % semințe TSM ($X_2 = -1$), amestec de semințe 10 % TSM + 10 % CSM ($X_2 = -1, 0$) sau amestec de semințe 10 % TSM + 5 % CSM + 5 % HSM ($X_2 = -1, 0,5$).

Funcțiile de dezirabilitate sunt utilizate pentru a determina valorile optime pentru diverși factori pentru a obține valori mari ale răspunsurilor analizate. Este de dorit să se obțină atât randamente mari de extracție, cât și extracte bogate în carotenoide; deci este nevoie de un compromis. De aceea, funcția de dezirabilitate s-a utilizat pentru determinarea condițiilor optime de extracție pentru optimizarea simultană a tuturor răspunsurilor.

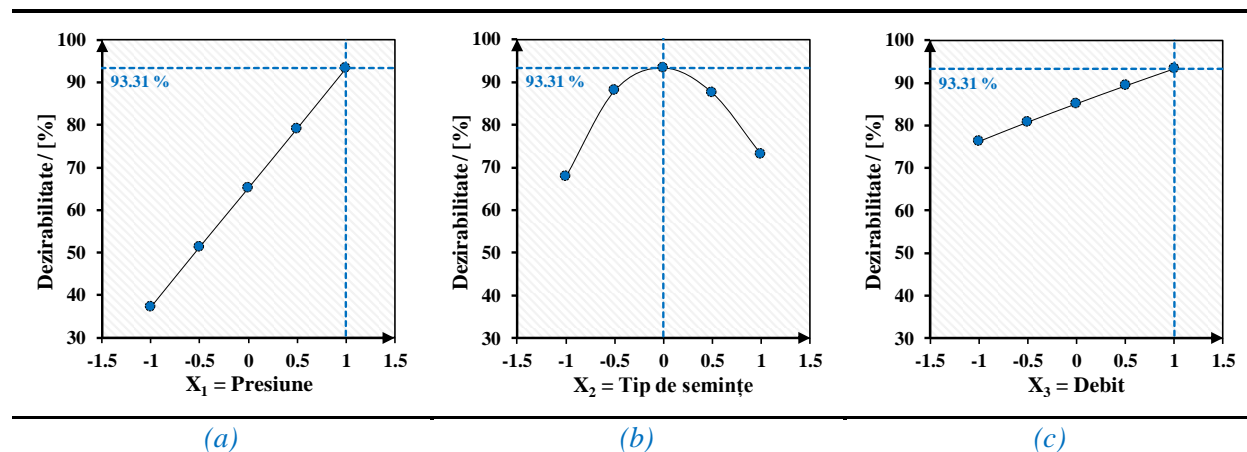


Figura 4.21 Dezirabilitatea optimă pentru toate răspunsurile: (a) Presiune; (b) Tip de semințe; (c) Debit

În *Figurile 4.21a-c*, sunt prezentate graficele cu dezirabilitate optimă pentru factorii propuși (X_1 , X_2 și X_3). O dezirabilitate de 93,31 % a fost obținută atunci când se utilizează ca variabile independente 450 bar, semințe CSM și 13 kg/h. În aceste condiții, valorile optime ale răspunsurile

obținute au fost 8,89 g SFE–A/100 g probă uscată, 2,57 g SFE–B/100 g probă uscată, 198,49 mg total carotenoide/100 g SFE–A și 1174,90 mg licopen/100 g SFE –B.

CAPITOLUL 5 CONCLUZII

1.3 5.1 Concluzii

Principalul scop al tezei a fost cercetarea extracției cu dioxid de carbon supercritic ca metodă ecologică de recuperare a compușilor bioactivi din roșii. Studiul s-a concentrat pe trei domenii necesare pentru a descrie și evalua procesul supercritic din roșii, precum cuantificarea simultană a principalelor carotenoide găsite în roșii, licopen și β -caroten, determinarea condițiilor optime pentru uscarea probelor de roșii ca pretratament pentru creșterea randamentelor de extracție și a calității extractelor, evitându-se degradarea acestora, și extracția ecologică a compușilor bioactivi din roșii precum carotenoide (licopen și β -caroten) și acizi grași polinesaturați- ω (ω -PUFA) folosind diferite tipuri de roșii amestecate cu semințe vegetale. Pentru această teză au fost accesate și studiate 224 de referințe bibliografice. Rezultatele sunt prezentate în trei capitole (Capitolul 2, Capitolul 3, Capitolul 4), cu două capitole suplimentare pentru contribuții originale (Capitolul 1) și concluzii (Capitolul 5). Teza conține 51 de figuri și 39 de tabele.

În *Capitolul 2 – Metode spectrofotometrice UV-VIS pentru cuantificarea simultană a licopenului și β -carotenului*, au fost evaluate patru metode (metoda grupurilor de lungimi de undă – WGM, metoda factorului de absorbție – AFM, metoda de scădere a absorbanței – ASM și metoda punctului izobestic – IPM) pentru calculul concentrațiilor ambelor carotenoide (licopen și β -caroten) pornind de la legea Lambert-Beer și folosind metoda UV-VIS, datorită proprietății acestor compuși de a absorbi lumina în domeniul vizibil. Metoda spectrometriei UV-VIS a fost folosită ca o tehnică rapidă și ușoară pentru a evalua calitatea extractelor de roșii folosind doar date măsurabile din spectre ca absorbanțele probelor de amestec, coeficienți de absorbție ai compușilor puri determinați din curbele de calibrare în amestec acetonă:hexan (1:1, v/v) și factori de absorbție calculați. Contribuțiile originale se bazează pe formularea celor patru metode considerând diverse ipoteze privind contribuția carotenoidelor la absorbția luminii, șase grupuri de lungimi de undă pentru calculul carotenoidelor, proprietatea de suprapunere a spectrelor licopenului și β -carotenului, punctul izobestic identificat pentru licopen și β -caroten la 461 nm și calculul factorilor de absorbție. Metodele au fost validate folosind atât amestecuri sintetice cu concentrații cunoscute de compuși țintă, cât și amestecuri reale de roșii. Toate datele experimentale și rezultatele metodelor au fost validate prin analiză statistică. Metoda IPM–II–WG₆ care consideră utilizarea a două lungimi de undă, una în punctul izobestic (461 nm) și cealaltă la cea mai mare lungime de undă la care se găsește un peak al licopenului (504 nm) a

arătat o corelație bună cu datele de referință, cu erori de precizie medie, mai mici de 5 % pentru cuantificarea simultană a licopenului și β -caroten într-un amestec și se recomandă să fie utilizată ca metodă alternativă.

În *Capitolul 3 – Influența parametrilor de uscare asupra recuperării compușilor bioactivi din roșii prin extracție* au fost efectuate două studii pentru a evalua influența factorilor de uscare asupra calității cojilor de roșii uscate din soiurile Cristal și Rila. Principalele contribuții au fost orientate pe evaluarea condițiilor optime de uscare pentru a îmbunătăți calitatea extractelor din probele uscate și pentru a evita procesele de degradare a carotenoidelor în timpul uscării.

Primul studiu (**Capitolul 3.I**) s-a axat pe determinarea influenței a trei metode de uscare precum uscare în cuptor, uscare în cuptor cu vid și uscare cu aer cald, cinci temperaturi de uscare între 50 °C și 120 °C la *timp de uscare constant* de 5 ore asupra conținutului final de umiditate al cojilor uscate, al aspectului cojilor și a cantității de licopen recuperate din cojile de roșii. Metoda de extracție utilizată a fost extracția Soxhlet cu amestec de acetonă:hexan (1:1, v/v). Cele mai scăzute valori de umiditate ale cojilor uscate, cel mai bun aspect al cojilor uscate în ceea ce privește degradarea culorii, cele mai mari randamente de extracție și cantități de licopen au fost obținute din cojile de roșii supuse metodei de uscare cu aer cald, indiferent de temperatura de uscare, în timp ce degradarea a calității cojilor a fost observată la temperaturi mai mari de 80 °C.

Al doilea studiu (**Capitolul 3.II**) a evaluat influența temperaturilor de uscare între 50 °C și 75 °C la o *umiditate finală constantă* a probelor de 6 – 7 % asupra consumului de energie și a calității produsului final uscat, exprimat prin cantitățile de licopen și β -caroten din cojile de roșii uscate. Metoda de uscare cu aer cald și metoda de extracție Soxhlet cu amestec de acetonă:hexan (1:1, v/v) au fost utilizate pentru uscare și, respectiv, extracție. Principalele contribuții sunt formularea modelelor matematice de uscare bazate pe modelul fizic în strat subțire, evaluarea cineticii de uscare pentru uscarea cu aer cald a cojilor de roșii folosind a doua lege de difuziei a lui Fick și nouă modele semi-teoretice diferite și formularea a două modele de degradare pentru licopen și β -caroten în intervalul de temperatură 50 – 110 °C pe baza datelor experimentale de uscare, extracție și analiză. Pentru uscarea cu aer cald a cojilor de roșii, modelele a doua lege de difuziei a lui Fick și Two-term au arătat o acuratețe ridicată în prezicerea comportamentului de uscare pe intervalul de temperatură 50 – 75 °C, în timp ce degradarea carotenoidelor crește cu temperatura de uscare fiind cu 83 % mai mare la 110 °C decât la 50 °C. Evaluând consumul de energie, rezultatele au arătat că se obține un consum specific minim de energie pentru uscarea cojilor de roșii la 50 °C.

Rezultatele au arătat că folosind metoda de uscare cu aer cald, o temperatură de uscare de 50 °C și un conținut final de umiditate de 6 – 7 % pentru cojile de roșii din soiul Rila se pot obține extracte de calitate superioară (95,56 mg licopen și 96,22 mg β -caroten/100 g extract), cu un consum minim de energie de 56,60 kWh/kg coji.

Cercetările din **Capitolul 4 – Extracția compușilor bioactivi din roșii** prezintă rezultatele a două studii efectuate pentru evaluarea calității extractelor folosind solvenți organici verzi, solvent verde supercritic și modificatori cu solvent verde supercritic. Cercetările au fost efectuate folosind probe de roșii din soiul Rila precum reziduu, semințe și felii.

Primul studiu (**Capitolul 4.I**) a analizat influența conținutului de semințe al probelor de roșii, tipul de solvent verde, metoda de extracție și parametri de extracție asupra calității extractelor. Principalele contribuții: evaluarea experimentală a calității extractelor comparând două tipuri de probe de roșii (feli și reziduu cu un conținut diferit de semințe de roșii), doi solvenți organici verzi (bioetanol și acetat de etil) și un solvent verde supercritic (dioxid de carbon, CO₂), două metode de extracție (extracție Soxhlet și extracție cu fluid supercritic) și tipul parametrilor de extracție (presiuni de 400 și 450 bar, debite de CO₂ de 9 și 11 kg/h). Eficiența de extracție descrisă de randamentele de extracție și de calitatea extractelor exprimată prin conținutul de licopen și β-caroten, conținutul de ω-PUFA, activitatea antioxidantă și conținutul total de fenoli au fost prezentate ca rezultate ale acestei cercetări. Sunt prezentate patru produse naturale cu valoare adăugată, bogate în compuși bioactivi pe baza calității evaluate: a) extract Soxhlet de tip oleorășină solidă obținut din reziduu de roșii cu acetat de etil ca solvent verde de extracție, b) extract Supercritic de tip oleorășină lichidă obținut din reziduu de roșii, c) extract Supercritic de tip oleorășină solidă obținut din reziduu de roșii și d) extract Supercritic de tip ulei obținut din reziduu de roșii ulei. Parametrii optimi pentru extracția cu CO₂ supercritic sunt 450 bar, 70 °C și 11 kg/h. Prin evaluarea economică a trei capacități de prelucrare (1:10:100 kg reziduu uscat/șarjă) pentru procesele de extracție Soxhlet și Supercritic, având ca țintă cele patru produse de calitate, cea mai mare profitabilitate se poate obține pentru o capacitate de prelucrare mai mare de 100 kg/șarjă.

Al doilea studiu (**Capitolul 4.II**) a avut ca scop identificarea parametrilor optimi de extracție în procesul supercritic folosind semințe vegetale ca modificatori pentru a îmbunătăți eficiența extracției compușilor bioactivi precum carotenoidele și ω-PUFA din roșii. Principalele contribuții sunt: identificarea de solvenți noi care pot îmbunătăți eficiența extracției precum uleiuri extrase din semințe vegetale adăugate la probele de roșii, evaluarea solubilității carotenoidelor în aceste uleiuri, identificarea parametrilor optimi ai procesului de extracție ecologic și evaluarea calității produselor valoroase. Cercetarea a fost efectuată pe felii de roșii îmbogățite cu 20 % extra semințe (semințe de roșii, camelină și cânepă) ca modificatori. Parametrii optimi de extracție pentru extracția cu dioxid de carbon supercritic folosind uleiuri din semințe ca modificatori au fost identificați cu matricea de proiectare experimentală Box-Behnken (15 experimente). Au fost evaluați trei factori la trei niveluri ca presiunea de extracție (350 bar, 400 bar și 450 bar), tipul modificatorilor (semințe de roșii, camelină și cânepă) și debitul de CO₂ (9 kg/h, 11 kg/h și 13 kg/h) pentru a analiza influența lor asupra a patru răspunsuri ca randamente de extracție și conținut de

carotenoide al fracțiilor de ulei și oleorășină solidă separate prin centrifugare din extractele supercritice. Fitarea datelor experimentale s-a realizat cu modele polinomiale de ordinul doi, diagrame de suprafețe de răspuns și funcția de dezirabilitate. Extracția optimă la presiunea de 450 bar, modificator de 20 % semințe de camelină și debit de CO₂ de 13 kg/h sunt recomandate pentru a obține extracte de calitate înaltă, bogate în compuși bioactivi precum licopenul, β-carotenul, acidul linolenic- ω₃ și acidul linoleic- ω₆. Roșiile și semințele de camelină sunt două materiale vegetale cu productivități mari care pot fi cultivate în țara noastră. Astfel, sunt prezentate două produse naturale cu valoare adăugată datorită calităților lor, bogate în compuși bioactivi, precum a) extract Supercritic oleorășină solidă din roșii și semințe de camelină și b) extract Supercritic ulei din roșii și semințe de camelină ce pot fi folosite drept colorant natural sau aditiv în industria alimentară datorită naturii ecologice a metodei de extracție cu dioxid de carbon supercritic.

În concluzie, principalele contribuții ale acestei teze pot fi folosite de experții în alimentație pentru a produce noi alimente (uleiuri bogate în carotenoide, acid ω₃-linolenic și acid ω₆-linoleic) sau pentru a îmbunătăți diverse produse alimentare precum pâine, produse tartinabile, lactate și produse din carne, sucuri sau băuturi cu produse naturale (oleorășină solidă bogată în licopen). Calitatea formulărilor sau suplimentelor farmaceutice și cosmetice poate fi îmbunătățită folosind produsele valoroase prezentate în această teză. Calitatea acestor produse naturale este dată de activitatea antioxidantă ridicată datorită cantităților semnificative de licopen, β-caroten, ω-PUFA și compuși fenolici, fără toxicitate și urme de solvenți. Aceste produse naturale pot fi obținute la nivel industrial prin extracție cu CO₂ supercritic, pentru capacități de prelucrare ale instalațiilor mai mari de 100 kg probă de roșii/șarjă. Contribuțiile tezei au fost prezentate la 4 conferințe internaționale în 5 prezentări orale și 2 postere și publicate în 4 reviste.

LUCRĂRI PUBLICATE

Articole ISI:

1. **Popescu, M.;** Iancu, P.; Plesu, V.; Todasca, M. C.; Bildea, C. S. Effect of different drying processes on lycopene recovery from tomato peels of Crystal variety. *UPB Scientific Bulletin Series B*. **2019**, *81(4)*, 46–58. ISSN: 1454–2331

Factor de Impact = 0.000 (2021)

2. **Popescu, M.;** Iancu, P.; Plesu, V.; Bildea, C.S.; Todasca, M.C. Different spectrophotometric methods for simultaneous quantification of lycopene and β-carotene from a binary mixture. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology*. **2022**, *160*, 113238. ISSN: 0023–6438

Factor de Impact = 6.056 (2021)

3. **Popescu, M.;** Iancu, P.; Plesu, V.; Todasca, M.C.; Isopencu, G.O.; Bildea, C.S. Valuable Natural Antioxidant Products Recovered from Tomatoes by Green Extraction. *Molecules*. **2022**, 27, 4191. eISSN: 1420–3049
Factor de Impact = 4.927 (2021)
4. **Popescu, M.;** Iancu, P.; Plesu, V.; Bildea, C.S. Carotenoids recovery enhancement by supercritical CO₂ extraction from tomato using seed oils as modifiers. *Processes*. **2022**, 10(12), 2656. eISSN: 2227–9717
Factor de Impact = 3.352 (2021)
5. **Popescu, M.;** Iancu, P.; Plesu, V.; Bildea, C.S. Mathematical modelling of thin-layer drying kinetics of tomato peels: influence of drying temperature on the energy requirements and extracts quality. *Scientific Reports*. **2023** ISSN: 2045–2322 – *submitted for publication*
Factor de Impact Cumulat = 14.335 (2021)

Prezentări orale la conferințe științifice internaționale:

1. **Popescu, M.;** Iancu, P.; Pleșu, V.; Todașcă, M.C.; Bildea, C.S. Carotenoids recovery from tomato pomace: conventional vs. green extraction method. 21st Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, *RICCCE 21*, 4–7 September **2019**, Mamaia, Romania
2. **Popescu, M.;** Iancu, P.; Pleșu, V.; Bildea, C.S.; Todașcă, M.C. Improving the efficiency of the supercritical CO₂ extraction process of hemp seed oil. International Chemical Engineering and Material Symposium, *SICHEM 2020*, 17–18 September **2020**, Bucharest, Romania
3. **Popescu, M.;** Iancu, P.; Pleșu, V.; Bildea, C.S.; Todașcă, M.C. Carotenoids green extraction from tomatoes. International Chemical Engineering and Material Symposium, *SICHEM 2020*, 17–18 September **2020**, Bucharest, Romania
4. **Popescu, M.;** Iancu, P.; Bildea, C.S.; Pleșu, V.; Todașcă, M.C. The use of supercritical CO₂ extraction in the food industry, Advances in Food Chemistry Conference, *AdFoodChem 2021*, 15–17 April **2021**, Bucharest, Romania
5. **Popescu, M.;** Iancu, P.; Pleșu, V.; Todașcă, M.C.; Bildea, C.S. Supercritical CO₂ extraction of plant oils and pigments. 22nd Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, *RICCCE 22*, 7–9 September **2022**, Sinaia, Romania

Prezentări poster la conferințe științifice internaționale:

1. **Popescu M.**, Crisciu, A.V., Iancu P., Plesu V., Bîldea C.S., Binary interaction parameters estimation from experimental data for solid-supercritical fluid equilibrium (S-SCFE), Computer Aided Process Engineering, *CAPE Forum 2018*, 15–17 November **2018**, Bucharest, Romania
2. **Popescu, M.**; Iancu, P.; Isopencu, G.; Bîldea, C.S.; Pleșu, V.; Todașcă, M.C. Antioxidant activities and total phenolic content of tomato residue extracts. Advances in Food Chemistry Conference, *AdFoodChem 2021*, 15–17 April **2021**, Bucharest, Romania

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- [5]. Squillace, P.; Adani, F.; Scaglia, B. Supercritical CO₂ extraction of tomato pomace: Evaluation of the solubility of lycopene in tomato oil as limiting factor of the process performance. *Food Chemistry*. **2020**, *315*, 126–224.
- [16]. Hatami, T.; Meireles, M.A.A.; Ciftici, O.N. Supercritical carbon dioxide extraction of lycopene from tomato processing by-products: Mathematical modelling and optimization. *Journal of Food Engineering*. **2018**, *241*, 18–25.
- [17]. Longo, C.; Leo, L.; Leone, A. Carotenoids, Fatty Acid Composition and Heat Stability of Supercritical Carbon Dioxide-Extracted-Oleoresins. *International Journal of Molecular Sciences*. **2012**, *13*, 4233–4254.
- [19]. Barros, H.D.F.Q.; Grimaldi, R.; Cabral, F.A. Lycopene-rich avocado oil obtained by simultaneous supercritical extraction from avocado pulp and tomato pomace. *Journal of Supercritical Fluids*. **2017**, *120*, 1–6.
- [26]. Belayneh, H.D.; Wehling, R.L.; Cahoon, E.; Ciftici, O.N. Extraction of omega-3-rich oil from *Camelina sativa* seed using supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids*. **2015**, *104*, 153–159.
- [34]. Tirado-Kulieva, V.A.; Sanchez-Chero, M.; Villegas-yarleque, M.; Aguilar, G.F.V.; Carrion-Barco, G.; Santa Cruz, A.G.Y.; Sanchez-Chero, J. An Overview on the Use of Response Surface Methodology to Model and Optimize Extraction Processes in the Food Industry. *Current Research in Nutrition and Food Science*. **2021**, *9*, 745–754.
- [41]. Vallecilla-Yeppez, L.; Ciftici, O.N. Increasing cis-lycopene content of the oleoresin from tomato processing byproducts using supercritical carbon dioxide. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology*. **2018**, *95*, 354–360.