

UNIVERSITATEA „ȘTEFAN CEL MARE” DIN SUCEAVA
FACULTATEA DE INGINERIE ALIMENTARĂ
Domeniul Ingineria Produselor Alimentare

TEZĂ DE DOCTORAT

- REZUMAT -

Coordonator științific:

Prof. univ. dr. ing. Mircea-Adrian OROIAN

Doctorand:

Ing. Ovidiu-Nicu PROCOPEȚ

Suceava
2024

UNIVERSITATEA „ȘTEFAN CEL MARE” DIN SUCEAVA
FACULTATEA DE INGINERIE ALIMENTARĂ
Domeniul Ingineria Produselor Alimentare

Cercetări privind impactul tratamentului termic
utilizând metoda sous-vide asupra caracteristicilor
fizico-chimice ale semințelor de amarant și
dezvoltarea de noi produse alimentare funcționale

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Coordonator științific:

Prof. univ. dr. ing. Mircea-Adrian OROIAN

Doctorand:

Ing. Ovidiu-Nicu PROCOPEȚ

Suceava
2024

Mulțumiri

Atunci când există dăruire și sacrificiu, progresul nu întârzie să apară și obiectivele propuse devin realizabile.

Nimic nu poate fi obținut ușor, dar pe parcursul stagiului doctoral am constatat că lângă mine există oameni minunați ce au contribuit pe deplin și de bună voie la succesul meu.

Doresc să aduc cele mai sincere mulțumiri și o mare recunoștință domnului conducător de doctorat Prof. univ. dr. ing. Mircea-Adrian Oroian pentru tot sprijinul acordat și nu în ultimul rând, pentru toată disponibilitatea, răbdarea, generozitatea și înțelegerea de care am avut parte în elaborarea tezei de doctorat dar și rolul avut la formarea mea ca cercetător.

Deosebite mulțumiri pentru membrii comisiei de îndrumare formată din Prof. univ. dr. ing. Silvia Mironeasa, Prof. univ. dr. ing. Georgiana Codină și Conf. univ. dr. ing. Sorina Ropciuc pentru îndrumarea și consultanța științifică pe tot parcursul elaborării acestei teze de doctorat. Totodată doresc să aduc sincere mulțumiri și ș.l. dr. ing. Florina Dranca, dr. ing. Mariana Spinei, dr. ing. Florin Ursachi și dr. ing. Ionuț Avrămia pentru tot ajutorul primit în momentele dificile și pentru sfaturile și sugestiile științifice de care am avut parte. Mulțumiri î de asemenea, către întregul colectiv al Facultății de Inginerie Alimentară și colegii de doctorat.

Dedic cu dragoste și recunoștință această lucrare familiei mele ce a fost tot timpul alături de mine dar, în primul rând soției mele Daniela pentru: răbdarea, sprijinul moral și încrederea avută în mine.

Sincere mulțumiri tuturor!

Cu respect

Ing. Ovidiu – Nicu PROCOPEȚ

CUPRINS

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI DE DOCTORAT

Scopul tezei de doctorat constă în studierea semințelor de amarant și optimizarea folosirii tratamentului termic sous-vide pentru acest tip de pseudocereale în vederea proiectării de noi produse alimentare funcționale. Aplicarea tratamentului sous-vide pentru semințele de amarant din specia *Amaranthus cruentus* L. reprezintă o metodă inovativă de tratament termic și pe baza caracterizării fizico-chimice a fost studiată posibilitatea de a dezvolta un nou produs alimentar în componența căruia să fie integrate semințele de amarant.

Cercetările realizate cu privire la atingerea scopului propus au vizat următoarele obiective:

- Realizarea unui studiu critic extins a literaturii de specialitate ce țin de stadiul actual al cercetărilor semințelor de amarant dar și a folosirii tehnicii sous-vide.
- Caracterizarea semințelor de amarant și stabilirea parametrilor de tratament termic sous-vide.
- Optimizarea extracției compușilor fenolici în vederea obținerii unui profil complet de analiză pentru o cercetare avansată a metodei de tratament termic sous-vide.
- Studierea influenței tratamentului termic sous-vide asupra compoziției de aminoacizi și polifenoli totali în strânsă concordanță cu parametrii de textură.
- Dezvoltarea unui produs alimentar funcțional pe baza caracterizării fizico-chimice a semințelor de amarant tratate termic cu metoda sous-vide în combinație cu ciocolată neagră 100% cacao, în vederea obținerii unui baton de ciocolată cu semințe de amarant.

Cuvinte cheie:

semințe de amarant, sous-vide, compuși bioactivi, aminoacizi, baton de ciocolată

Teza de doctorat intitulată „CERCETĂRI PRIVIND IMPACTUL TRATAMENTULUI TERMIC UTILIZ ÎND METODA SOUS-VIDE ASUPRA CARACTERISTICILOR FIZICO-CHIMICE ALE SEMINTELOR DE AMARANT ȘI DEZVOLTAREA DE NOI PRODUSE ALIMENTARE FUNCȚIONALE” cuprinde un număr de 5 capitole, în care ultimul capitol este destinat *Concluziilor generale*, listă de abrevieri, referințe bibliografice și o listă de lucrări publicate sau susținute la manifestări științifice din țară și din străinătate.

Capitolul I prezintă *Stadiul actual al cercetărilor privind dezvoltarea de noi produse alimentare pe bază de amarant*

1.1. Cercetări privind valoarea nutrițională a amarantului

În ultimii 10 ani utilizarea semințelor de amarant s-a extins atât în dieta comună cât și în dieta persoanelor cu diferite boli dar, și a persoanelor ce au dezvoltat alergii la mai multe tipuri de cereale (Berti, Riso, Brusamolino & Porrini, 2005). Astfel, aceste semințe de amarant considerate și pseudocereale sunt caracterizate de valori nutriționale și funcționale ridicate ce sunt asociate cu calitatea și cantitatea proteinelor, lipidelor și a potențialului lor antioxidant (Gorinstein et al., 2002; Pasko, Barton, Foltá & Gwizdz, 2007)

În zilele noastre, sunt cultivate trei specii de amarant în special pentru producția de semințe. Acestea sunt: *Amaranthus cruentus* L., *Amaranthus caudatus* L., *Amaranthus hypochondriacus* L). Pe lângă acestea, mai există câteva soiuri cultivate pe arii mai restrânse cum ar fi: *Amaranthus gangeticus* L., *Amaranthus viridis* L., sau *Amaranthus hybridus* L.

1.2. Compoziția chimică a amarantului

Semințele de amarant reprezintă o categorie importantă a pseudocerealelor și au fost descrise de către mulți cercetători ca: „semințele secolului XXI” datorită valorii nutritive ridicate (FAO, 2011). Din punct de vedere al semințelor de cereale, amarantul reprezintă una dintre cele mai vechi culturi de cereale din lume (Czaplicki, Ogródowska, Zadernowski & Derewiaka, 2012). În ultimele decenii valoarea nutrițională a semințelor de amarant a fost studiată pe scară largă. Conform studiilor, amarantul conține în general 12,6-18 % proteine, 5-8% grăsimi, 60-65% zaharide și 3-6% fibre brute (Hlinkuva, Bednarova, Havrlentova, Supova & Cicova, 2013). Profilul de aminoacizi are un conținut ridicat de aminoacizi bogați în sulf. Semințele de amarant reprezintă de asemenea o bună sursă de minerale (calciu, fier, zinc), vitamine și fitochimicale cum ar fi: saponinele, polifenoli, fitosteroli, fitosteroidii, și betalanii ce prezintă reale beneficii pentru sănătate. În tabelul 1.1. este prezentată compoziția chimică a semințelor și a frunzelor de amarant iar, în tabelul 1.2. este prezentată o comparație a compoziției chimice a trei soiuri de amarant.

Tab.1.1. Caracterizarea compoziției chimice a semințelor și a frunzelor de amarant (*Amaranthus hypochondriacus*) (Hlinkuva, Bednarova, Havrlentova, Supova& Cicova, 2013)

Parametru (%)	Semințe	Frunze
Umiditate	7,20±0,17	75,60±0,63
Reziduri (cenușă)	2,70±0,017	3,73±0,13
Grăsimi (extract brut)	5,46±0,10	0,37±0,03
Proteine	16,73±0,12	3,78±0,38
Fibre brute	5,80±0,21	2,60±0,22
Carbohidrați	62,11	13,92

Tab.1.2. Compoziția chimică a semințelor de amarant (*Amaranthus hypochondriacus*) (Hlinkuva, Bednarova, Havrlentova, Supova& Cicova, 2013)

Parametru (%)	<i>A.dubius</i>	<i>A.tricolor</i>	<i>A. caudatus</i>
Umiditate	9,22±0,14	8,82±0,04	10,32±0,05
Proteine	13,85±0,06	14,36±0,01	14,80±0,13
Grăsimi	8,91±0,06	7,77±0,16	4,37±0,07
Fibre brute	3,60±0,11	3,22±0,05	13,40±0,22
Cenușă	3,22±0,05	2,86±0,10	3,97±0,03

1.3. Beneficiile amarantului asupra sănătății

Semințele de amarant reprezintă o categorie importantă a pseudocerealelor ce sunt cunoscute în general pentru absența glutenului și a conținutului ridicat de amidon. În zilele noastre consumatorii au început să devină tot mai conștienți de beneficiile ecologice și nutriționale ale alimentelor dar și de impactul pozitiv asupra sănătății umane datorită compoziției chimice specifice.

Folosirea semințelor de amarant reprezintă o tendință actuală în dieta umană datorită faptului că, nu conțin gluten și au o valoare nutritivă și nutraceutică dovedită. Amidonul din semințele de amarant reprezintă principalul carbohidrat al acestora cu o greutate variind între 65% și 75 % din masa totală. Pentru a oferi beneficii pentru sănătate recomandările dietetice actuale sugerează că, alimentele cu conținut important de amidon ar trebui să conțină minim 14% amidon rezistent din amidonul total (EFSA, 2011). Nivelul ridicat de amidon rezistent din semințele de amarant contribuie în mod direct la modularea nivelului glicemiei și a lipidelor, la reglarea microbiotică intestinală și nu în ultimul rând la reducerea obezității (Zhou et al., 2019).

Amarantul reprezintă o importantă sursă de fibre dietetice. Conținutul de fibre dietetice variază în funcție de soi de la 2,7 % până la 17,3% (Joshi et al., 2019). Fibrele dietetice din amarant sunt formate în mare parte din polizaharide insolubile (78% din totalul fibrelor dietetice), inclusiv homogalacturonani și ramnogalacturonan-I cu lanțuri laterale arabinan (55-60%) precum și xiloglucani foarte ramificați (30%) și celuloză (Lamothe et al., 2015). 22% din totalul fibrelor alimentare din amarant sunt reprezentate din polizaharide solubile compuse din xiloglucani (40-60% din fracția de fibre solubile) și polizaharide pectice bogate în arabinoză (34-55% din fracția de fibre solubile).

Valoarea proteică a semințelor de amarant este dată de conținutul ridicat de aminoacizi. Criteriile ce definesc calitatea proteinelor din semințele de amarant sunt atât compoziția de aminoacizi cât și digestibilitatea și absorbția produsului alimentar prin hidroliză în tractul gastro-intestinal uman (Joye, 2019). Conform studiilor, semințele de pseudocereale reprezintă surse de proteină mai bune pentru consumul uman decât ovăzul, grâul, orezul brun meil (Han et al., 2019). În ultimul deceniu, proteinele din compoziția pseudocerealelor s-au dovedit a fi o sursă importantă de peptide bioactive. Astfel, peptidele din semințele de amarant au fost transformate în hidrolizați, digestivi gastrointestinali și diferite produse fermentate.

Consumul regulat de diete bogate în acizii grași din compoziția semințelor de amarant a fost asociat cu o incidență scăzută a aterosclerozei, a obezității și a diabetului (Adler et al., 1994; Schraer et al., 1999)

Semințele de amarant au un bun conținut de caretenoizi ce reprezintă o subfamilie a terpenoizilor și sunt cunoscuți pentru faptul că, funcționează ca și antioxidanți naturali. Semințele de amarant au în compoziția lor 3,7-4,7 mg/ kg dw (Tang et al., 2016).

Saponinele triterpenoide din semințele de amarant conțin cea mai mare cantitate de acid oleanolic (Junkuszew et al., 1998). Acest compus poate prezenta diferite efecte pozitive asupra sănătății cum ar fi: efect antiviral, efect antifungic, efect hepatoprotector sau efect antidiabetic (Mroczek, 2015). Administrarea intravenoasă de saponine determină o permeabilitate crescută a eritrocitelor și implică eliberării de hemoglobină (Mroczek, 2015; Zehring et al., 2015)

Cu toate că studiile pentru amarant au dovedit calitatea lui din punct de vedere nutrițional, sunt puține studiile științifice care să ateste faptul că, amarantul este un aliment benefic pentru sănătatea umană deoarece, acestea au fost făcute mai degrabă pe animale decât pe oameni. În general au fost asociate aportul semințelor de amarant sau a constituenților lor bioactivi cu beneficii împotriva obezității și a complicațiilor legate de diabet. Astfel, s-a constatat că, dietele pe bază de proteine din amarant reduce aportul de

alimente și greutatea corporală prin reducerea nivelului de grelină și creșterea leptinei postprandiale și a colecistochininei (Mithila și Khanum,2015).

1.4.Alimente dezvoltate pe baza semințelor de amarant

În ultimii ani dezvoltarea și proiectarea de noi alimente funcționale devine una dintre tendințele majore din industria alimentară. Din această cauză, piața produselor alimentare este prognozată să se dezvolte la o rată de creștere anuală de până la 9,1% începând cu anul 2019 până în anul 2025. Creșterea constantă a sectorului global al alimentelor funcționale fără gluten este legată de creșterea incidenței bolilor legate de conținutul de gluten cum ar fi: boala celiacă, non-celiacă, alergii la grâu, boli cu o incidență crescută în țările dezvoltate (Foschia et al.,2016). Cu toate acestea, piața de alimente fără gluten, este într-o continuă creștere a vânzărilor datorită faptului că, acei consumatori ce doresc să consume alimente fără gluten fac parte din categoria celor ce nu au dezvoltat afecțiuni legate de gluten. Popularitatea tot mai mare a alimentelor considerate sănătoase conduc la schimbări majore legate de obiceiurile alimentare. Numărul consumatorilor ce aleg voluntar să consume alimente fără gluten, formând din acest tip de dietă un mod de viață, este tot mai mare (Prada et al.,2019; Xhakollari et al.,2019). Chiar dacă dieta fără gluten este folosită de o mare parte a populației din țările dezvoltate, mai multe studii au scos în evidență faptul că, proprietățile nutriționale ale acestor alimente fără gluten sunt inferioare față de alimentele cu conținut de gluten deoarece au un conținut scăzut de proteine, minerale și fibre dar au un conținut mai ridicat de grăsimi, zahăr și sodiu (Miranda et al.,2014; Lasa et al., 2017; Cornicelli et al., 2018).

1.4.1. Pâine din făină de amarant

Toate tipurile de pâine obținute din făinuri de pseudocereale caracterizate de absența glutenului au arătat faptul că, sunt de calitate inferioară față de produsele obișnuite deoarece prezența glutenului reprezintă elementul principal ce caracterizează o pâine de calitate. În mod normal, retenția de gaze în timpul fermentării aluatului este redusă la produsele pe bază de făină de amarant și prin urmare acestea sunt caracterizate printr-un volum redus, textură sfărâmicioasă și porozitate cu un grad ridicat de duritate (Buresova et al.2017). Din punct de vedere reologic și textural, pâinea obținută din făină de amarant este inferioară față de pâinea ce conține gluten (Naqash et al.,2017). Pe lângă aceste probleme tehnologice, pâinea din făină de pseudocereale prezintă un conținut mai scăzut de fibre alimentare, proteine, minerale și vitamine față de pâinea convențională (Conte et al. 2020).



Fig. 1.1. Diferite tipuri de pâine obținute din semințe de amarant

1.4.2. Produse de panificație (altele decât pâinea)

Biscuiții reprezintă o importantă categorie de gustări din industria de panificație și este cel mai ușor produs copt fără gluten de obținut. Rolul glutenului în descrierea calității biscuiților nu este încă bine definit și lipsa acestuia din compoziția aluatului de biscuiți conferă proprietăți senzoriale slabe (Di Cairano et al., 2018).

În ultimii ani un număr tot mai mare de studii au relevat faptul că, adăugarea făinii de pseudocereale în proiectarea și realizarea de biscuiți sau fursecuri a dus la obținerea de rezultate bune din punct de vedere nutrițional și senzorial. Încorporarea de 20% făină de amarant în aluatul de biscuiți a dus la obținerea de produse similare cu alte tipuri de biscuiți dar, cu un conținut proteic mult îmbunătățit (Calderon de la Barca et al. 2010). De asemenea, amarantul germinat a prezentat un potențial ridicat pentru producția de biscuiți fără gluten cu un conținut mai ridicat de fibre și o activitate antioxidantă mai ridicată în comparație cu alte tipuri de biscuiți obținuți din amarant brut și făină de grâu (Chauhan et al., 2015).

Obținerea de gustări pe bază de făină de pseudocereale prin extrudare reprezintă o tehnologie versatilă și cu costuri reduse. Astfel, extrudarea transformă materiale solide și semisolidă pe bază de amidon și proteine într-un fluid vâscoelastic în condiții de temperatură și presiune ridicate. (Diaz et al., 2013) au încorporat făină de amarant în biscuiții extrudați în proporție de 20% și au observat o expansiune și un volum mai mare față de biscuiții extrudați obținuți din 100% făină de porumb.



Fig. 1.2. Produse de panificație obținute din semințe de amarant

1.4.3. Paste cu făină de amarant

Dezvoltarea de paste făinoase fără gluten reprezintă un lucru greu de realizat din cauza caracteristicilor făinii de acest tip ce afectează proprietățile tehnologice și senzoriale. Înlocuirea făinii de grâu cu diferite tipuri de făină de pseudocereale poate avea ca efect ruperea pastelor, o pierdere mare de conținut solid în apă în timpul preparării dar și o textură nedorită datorată coezivității ridicate (Bastos et al., 2016).

Utilizarea unor anumite tipuri de făină pre-gelatinizată obținută din amidon de manioc și făină de amarant a permis obținerea de paste fără gluten îmbogățite cu fibre, cu o culoare intensă, fermitate ridicată, coezivitate adecvată și o calitate nutrițională similară cu cea a pastelor obținute din făină de grâu (Fiorda et al., 2013)

Un tip de paste fără gluten a fost propus de Bastos et al. (2016), acestea fiind realizate din pulpă de cartof uscată, pulpă de cartof crudă și făină de amarant în proporție (60: 10 :25). Acest tip de paste este caracterizat de o fermitate ridicată, culoare specifică și mai puține pierderi de masă în urma fierberii. O altă combinație de făină de amarant, făină de quinoa și făină de orez în proporția (10: 40: 50) a fost folosită cu succes pentru realizarea de paste făinoase de o calitate ridicată, cu proprietăți senzoriale deosebite dar cu o textură lipicioasă ce nu a fost apreciată de către degustători (Makdoud și Rosentrater, 2017).



Fig.1.3. Paste făinoase obținute din făină de amarant

1.4.4. Băuturi obținute din semințe de amarant

Semințele de pseudocereale sunt considerate o materie primă importantă pentru dezvoltarea de noi tipuri de băuturi din industria fermentativă. Berea este una din cele mai consumate băuturi fermentate întâlnite în întreaga lume. O serie întreagă de studii au scos în evidență calitatea semințelor de amarant în producția de băuturi înalt calitative asemănătoare berii.

De Meo et al. (2011) au realizat mai multe experimente de micro-maltizare pe diferite tipuri de semințe de pseudocereale pentru a putea determina comportamentul individual la realizarea diferitelor rețete de fabricare a berii. Autorii au folosit o metodă alternativă de înmuiere alcalină a diferitelor pseudocereale pentru a crește cantitatea de azot solubil total și liber. Aceste studii preliminare au scos în evidență faptul că semințele de pseudocereale reprezintă o soluție adecvată pentru a produce băuturi fermentate fără conținut de gluten iar înmuierea alcalină reprezintă un proces util pentru optimizarea calității malțului.



Fig. 1.4. Diferite tipuri de băuturi obținute din semințe de amarant

1.5. Tehnici moderne de tratament termic aplicate alimentelor.

Tehnica sous-vide

În secolul al XVIII-lea Benjamin Thompson a utilizat pentru prima dată procedeul de preparare a hranei la temperaturi scăzute. El a descris rezultatul încercărilor sale ca fiind unul foarte gustos. La distanță de peste un secol și jumătate bucătarul francez Georges Pralus a experimenta și a realizat că, foie gras își păstrează aspectul și are o textură superioară dacă este pregătit sub presiune. Bruno Goussault a perfecționat această tehnică și a combinat preparare la temperaturi scăzute cu vidarea produselor alimentare.

Maeștrii bucătari din întreaga lume au început să introducă bucățile de carne în pungi sigilate. Apoi le scufundau în apă încălzită până la o anumită temperatură. Aceasta trebuia să rămână constantă de-a lungul întregului proces de fierbere.

Tehnica de gătire sous-vide înseamnă de fapt „în vid” și se referă la un mod de preparare a alimentelor lent, în apă, cu un control atent al temperaturii de gătire.



Fig. 1.5. Echipamente folosite la gătirea sous-vide (dispozitiv termostatat pentru tratament termic, dispozitiv pentru vidat alimente, pungi din plastic)

1.5.1. Avantajele folosirii tehnicii sous-vide

Principalele avantaje ale tehnicii sous-vide sunt:

- aromele și substanțele nutritive ale ingredientelor sunt păstrate datorită gătirii lente în pungile vidate la temperatură scăzută menținută constant pe întreaga durată a procesului de gătire.
- tehnica sous –vide este cel mai la îndemână mod de a elimina grăsimile suplimentare din procesul de gătire și astfel nu este necesar să fie adăugat ulei, unt sau alte tipuri de grăsimi pentru a prepara termic alimentele.
- se reduce formarea de produși specifici reacției Maillard
- cu ajutorul tehnicii sous-vide există control total asupra timpului și temperaturii de procesare termică evitându-se fenomenul de supragătire.
- elimină riscul de contaminare în timpul gătirii.
- tehnica sous-vide este singura care permite gătirea uniformă a ingredientelor în toată profunzimea lor.



Fig.1.6. Principiul de funcționare al aparatului de preparare sous-vide (vas izolat, pompă de recirculare a apei, termostat)

1.5.2. Parametrii folosiți în tehnica sous-vide

Legumele și cerealele sunt adesea procesate termic înainte de consum iar, acest fapt, conduce de obicei la o reducere a valorii lor nutritive (Pelegrini et al.,2009; Saikia & Mahanta,2013). Folosind tehnica sous-vide legumele și cerealele sunt preparate la o temperatură mai mică de 100°C în intervalul 85°C- 95°C (Lobo, Patil, Phatak & Chandra, 2010).



Fig. 1.7. Temperaturi standard de gătire sous-vide (vită)

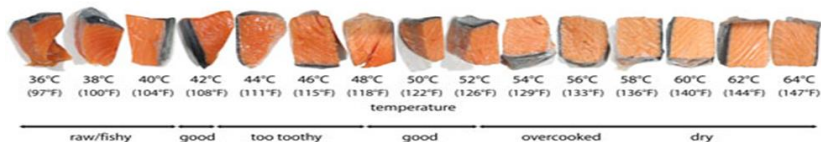


Fig. 1.8. Temperaturi standard de gătire sous-vide (pește)

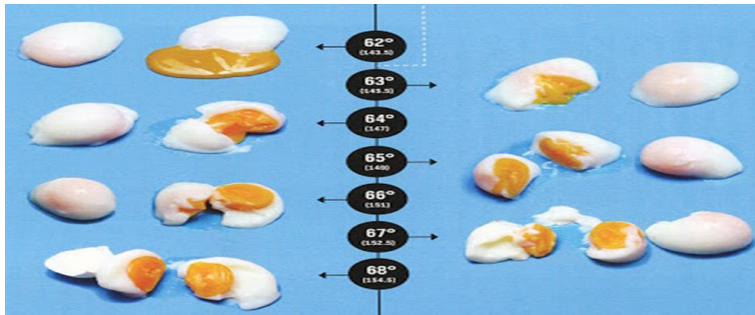


Fig. 1.9. Temperaturi standard de gătire sous-vide

Sigilarea sous-vide a produsului într-o pungă de plastic împiedică nutrienții să intre în procesul de decoct prin intermediul osmozei spre deosebire de tehnica convențională (Baldwin, 2012; Mirzali et al.2014). Sigilarea sous-vide are mai multe beneficii: permite transferul eficient al căldurii din apă (sau abur) către alimente, crește durata de valabilitate a alimentelor prin eliminarea riscului de recontaminare în timpul depozitării, inhibă aromele nefavorabile provocate de oxidare și previne pierderile prin evaporare ale compușilor volatili de aromă. Astfel, au fost întreprinse studii pentru a compara potențialul antioxidant al legumelor și cerealelor provenite din diferite regiuni ale lumii atât crude cât și supuse unor procese tehnologice precum tratamentul clasic și metoda sous-vide. Metoda sous-vide diferă de metodele tradiționale de preparare în două moduri fundamentale: alimentele crude sunt sigilate în vid în pungi de plastic termostabile iar alimentele sunt preparate folosind încălzirea controlată cu precizie (Baldwin, 2012).

Tab.1.3.Timpi de gătire tehnica convențională (fierbere) și sous-vide (Antonella Roasscio-Albistur et al., 2018)

Ingredient vegetal	Tehnica convențională(min)	Tehnica sous-vide (min)
Sfeclă roșie	20	60
Broccoli	15	30
Morcov	20	60

Conopidă	15	30
Țelină rădăcină	20	60
Țelină tije	10	30
Usturoi	10	30
Ardei gras	10	30
Varză kale	3	30
Praz	10	30
Rădăcină de pătrunjel	20	60
Cartof	20	60
Ardei gras roșu	10	30
Varză roșie	10	30
Ceapă roșie	10	30
Ceapă șalotă	10	30
Cartof dulce	20	60
Roșie	10	30
Ardei gras galben	10	30

Conform cercetărilor potențialul antioxidant determinat prin metoda DPPH este cu mult diminuat folosind metoda convențională de preparare (fierbere) în comparație cu conținutul din aceleași ingrediente în stare crudă. Folosind metoda convențională de preparare (fierbere), potențialul antioxidant reprezintă cele mai scăzute valori reprezentând o scădere de 28%-98% în timp ce, prin folosirea metodei sous-vide potențialul antioxidant scade cu 27%- 89% (tab. 1.4). Astfel se poate concluziona că, tehnica sous-vide reprezintă o metodă optimă de procesare termică atunci când se urmărește obținerea unui aliment funcțional (Antonella Roascio-Albistur et al., 2018).

Tab.1.4. Potențialul antioxidant al vegetalelor supuse la trei tratamente termice (Antonella Roasscio-Albistur et al., 2018)

VEGETALE	METODA DE PROCESARE TERMICĂ					
	CRUDE		CONVENȚIONAL		SOUS-VIDE	
	DPPH	FRAP	DPPH	FRAP	DPPH	FRAP
Varză	235±5,1	30,7±0,2	120±8,77	27,1±0,15	297±0,36	42,2±0,9
Sfeclă	211±9,0	89,1±0,6	99,1±1,6	72,1±0,4	346±35,7	79,1±0,3
Varză roșie	192±2,4	31,7±0,3	68,8±0,2	23,0±1,0	110±2,2	32,5±0,3
Ardei gras verde	162±2,7	32,6±0,5	53,2±1,3	27,7±0,6	142±1,6	28,5±0,1
Ardei gras galben	148±1,0	30,1±0,21	119±1,98	31,9±0,18	133±0,29	28,4±0,4
Ardei gras roșu	136±6,71	16,6±0,47	657±0,64	20,7±0,58	648±19,9	20,1±2,5
Ceapă roșie	137±3,3	54,5±0,3	40,3±2,0	34,6±1,1	123±1,7	68,9±2,0
Țelină	132±1,21	103±1,53	106±1,27	59,0±2,76	28,4±0,16	99,7±0,1
Ceapă albă	89,2±2,9	55,3±0,84	29,0±2,05	38,3±1,50	23,7±1,97	46,6±1,5
Spanac	81,2±1,34	13,8±0,37	46,5±0,21	20,2±0,32	64,8±0,25	18,1±0,1
Ceapă șalotă	68,8±12,5	67,1±1,02	24,1±2,19	56,6±1,07	80,6±4,81	69,5±0,4
Broccoli	59,8±0,61	31,3±0,49	17,9±0,64	18,1±0,78	86,4±1,09	41,6±0,3
Cartof dulce	44,4±0,01	8,25±0,16	32,0±4,03	13,4±0,07	35,5±0,52	10,2±0,1
Morcov	42,5±0,34	13,2±0,33	31,9±0,07	19,2±0,22	96,3±1,17	18,9±0,2
Roșie	31,9±0,53	21,2±0,32	27,7±0,42	15,03±0,03	34,5±1,64	27,9±0,2
Praz	16,9±0,36	24,3±0,05	4,35±0,07	6,68±0,08	4,45±0,05	9,78±0,2

1.5.3. Modificări ce apar în timpul procesării sous-vide

Procesul de tratament termic are un impact deosebit asupra proprietăților alimentelor ce sunt relevante pentru preferințele consumatorilor cum ar fi: culoarea, aroma sau masticabilitatea. Prepararea alimentelor nu numai că modifică proprietățile alimentelor ci și afectează valoarea nutritivă: fie în mod negativ, fie în mod pozitiv (Oz și Seyyar, 2016).

În mod tradițional de preparare a alimentelor sunt utilizate temperaturi ridicate ceea ce contribuie la pierderi de componente nutriționale, aromă sau culoare. Pentru a rezolva această problemă se desfășoară diferite studii pentru a identifica metode de preparare ce utilizează temperaturi scăzute (Iborra-Bernad et al., 2013).

Folosirea tehnicii sous-vide reprezintă o metodă viabilă ce prezintă siguranță microbiologică mai mare în comparație cu tehnica convențională (Rinaldi et al., 2013). De asemenea, tehnica sous-vide generează îmbunătățiri în ceea ce privește retenția culorii, a aromei, reducerea deteriorării proteice, reducerea deteriorării lipidice și a altor compuși sensibili la căldură (Diaz et al., 2008). În cazul folosirii tehnicii sous-vide se observă denaturarea selectivă a unor proteine în timp ce, alte proteine rămân intacte permițând astfel să fie obținute alimente cu calități senzoriale cu mult peste valoarea celor obținute prin folosirea metodei tradiționale de preparare (Zielbauer et al., 2016). Un avantaj major al tehnicii sous-vide îl reprezintă faptul că, prin sigilarea pungilor cu alimente în vid se obține etanșarea aromelor, se previn pierderile prin evaporare și, nu în ultimul rând, este eliminat riscul de recontaminare a alimentului preparat.

1.5.3.1. Modificări fizice în alimente preparate prin metoda sous-vide

La fel ca și în cazul metodei convenționale, prepararea prin tehnica sous-vide generează diferite modificări fizice sau chimice ale alimentelor. Prepararea alimentelor folosind tehnica sous-vide prezintă modificări de aromă, suculență și frăgezime. În cazul aromei, aceasta poate fi modificată prin adăugarea de condimente pe când, suculența și frăgezimea depind de temperatura și timpul de gătire.

1.5.3.2. Frăgezimea alimentelor preparate prin metoda sous-vide

Frăgezimea reprezintă un parametru important în concepția consumatorilor. În cazul cărnii frăgezimea este asociată cu modificări ale țesuturilor microfibrilare și a țesuturilor conjunctive ce au fost supuse tratamentului termic. Aceste schimbări depind de mai mulți factori: tipul de carne, vârsta animalului dar și alți factori legați de temperatură și timp de expunere. Carnea preparată tradițional un timp îndelungat în jurul temperaturii de 60°C va fi o carne moale, preparată uniform și cu un aspect uniform în comparație cu carnea preparată la temperaturi ridicate și timp scurt de expunere. Timpul și temperatura necesare pentru a obține o carne fragedă variază în funcție de tipul animalului și de mărimea tranșei (Dominguez-Hernandez et al., 2018).

În cazul în care, o tranșă de carne este tratată cu soluție de saramură înainte de preparare, timpul și temperatura vor fi diferite pentru a obține aceeași frăgezime ca și în cazul unei tranșe de carne fără saramură (Christensen et al., 2013). În tabelul 1.12. sunt prezentate modificările care au survenit la carnea roșie în timpul aplicării tehnicii sous-vide.

1.5.3.3. Suculența și pierderi de procesare la alimente preparate prin metoda sous-vide

O cerință tot mai des întâlnită în rândul consumatorilor este aceea ca bucățile de friptură dar și alte categorii de alimente, să fie suculente. Suculența reprezintă o proprietate importantă a cărnii preparate cu tehnica sous-vide. Dacă o tranșă de carne este supusă un timp îndelungat la o temperatură scăzută, aceasta va fi fragedă dar va determina scăderea suculenței, în timp ce pentru a obține un grad ridicat de suculență, trebuie redus doar timpul de preparare fără a schimba (urca) temperatura peste valoarea de 65°C (Dominguez-Hernandez et al., 2018).

În general, pierderile din timpul preparării prin metoda tradițională sunt corelate cu gradul de suculență. Prin folosirea tehnicii sous-vide, vitaminele sunt păstrate în mod mult mai bun în comparație cu prepararea la grătar sau cuptor, astfel pierderile de nutrienți sunt reduse (Botinestean et al., 2016). Pierderile de nutrienți sunt mici folosind tehnica sous-vide datorită faptului că alimentele sunt preparate uniform, în ciuda faptului că timpul de expunere este mai îndelungat. Totodată, folosirea vidului nu permite deshidratarea alimentelor și astfel nu rezultă pierderi, așa cum se întâmplă cu alimentele fierte (James și Yang, 2012).

În cazul tehnicii convenționale de preparare, comparativ cu tehnica sous-vide unde temperatura este mult mai scăzută sau moderată, se evidențiază faptul că odată cu creșterea constantă a temperaturii sunt denaturate mai multe tipuri de proteine musculare. În cazul unei tranșe de carne, proteinele miofibrilare rețin cea mai mare parte a apei, iar atunci când sunt denaturate, apa este eliberată provocând contracție și reducerea greutateii (Roldan et al., 2013). La temperaturi mai mici de 65°C proteinele miofibrilare nu sunt denaturate în totalitate și astfel pierderile sunt foarte mici.

1.5.3.4. Modificări de culoare la alimente preparate cu tehnica sous-vide

Culoarea unui produs alimentar atrage atenția consumatorului și reprezintă un parametru important în luarea deciziei privind consumul indiferent dacă este vorba de alimente crude sau alimente procesate termic. În cazul cărnii, schimbările de culoare sunt asociate cu denaturarea mioglobinei (Oz et al., 2017). Dacă o tranșă de carne preparată cu tehnica sous-vide aceasta are la final un strat de culoare maro mai subțire decât dacă ar fi fost preparată cu o tehnică tradițională. O tranșă de carne preparată intens are în general o culoare maro spre cenușiu în timp ce o tranșă de carne preparată la o temperatură scăzută într-un interval de timp mediu este de culoare roz-roșiatică (Fig. 1.7). Scala intensității de culoare roșie a cărnii scade către o culoare mai închisă odată cu creșterea temperaturii în timp ce

tranșele de carne preparate la temperaturi joase pentru o perioadă mai lungă de timp, cum este cazul tehnicii sous-vide, acestea vor avea culoarea galben-pal sau roz (Dominguez-Hernandez et al., 2018). Culoarea exterioară a alimentelor preparate tradițional depinde în mare parte de procesul de caramelizare și de reacțiile Maillard în timp ce, alimentele preparate sous-vide, nu sunt afectate de astfel de reacții și nu vor suferi modificări majore de culoare (Trbovich, 2017).

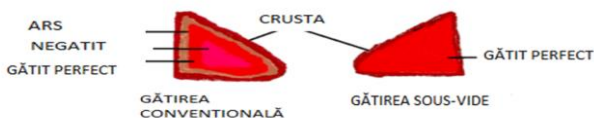


Fig. 1.10. Carne preparată neuniformă obținută prin metoda convențională, în comparație cu carnea preparată uniform cu tehnica sous-vide (Dominguez-Hernandez et al., 2018).

1.5.3.5. Modificări structurale la alimente preparate cu metoda sous-vide

Principalele două componente ale structurii cărnii sunt reprezentate de țesuturile conjunctive și proteinele miofibrilare. Modificările la aceste două componente conferă frăgezime cărnii (Zhu, 2017).

Schimbările în structura fibrelor din carne se datorează modificării enzimelor proteolitice din punct de vedere al structurii, al contracției, al formării gelatinei de către proteinele miofibrilare și proteinele sarcoplasmice (Estrada-Solis et al., 2016). Toate aceste schimbări sunt posibile folosind doar temperaturi joase de gătire ce sunt caracteristice tehnicii sous-vide.

1.5.3.6. Modificări de textură la alimente preparate cu metoda sous-vide

Masticabilitatea și coezivitatea reprezintă cei mai importanți parametri de textură la carne. Acești parametri sunt influențați de timpul de gătire și temperatură. Duritatea și forța de forfecare sunt alți parametri de textură ce sunt influențați de raportul dintre timpul de gătire și temperatura de gătire. Modificări ale frăgezimii în cazul cărnii se datorează în principal solubilizării țesuturilor conjunctive la temperaturi mai mici de 65°C în timp ce, carnea cu textură tare este asociată cu denaturarea fibrilară ce se observă la temperaturi de peste 130°C (Roldan et al. 2013).

Temperatura folosită la preparare reprezintă un parametru esențial pentru textura cărnii astfel că, temperatura mai joasă decât temperatura de contracție a collagenului nu modifică negativ textura în timp ce temperatura mai ridicată formează țesuturi mai puțin fragede din cauza coagulării intensive a collagenului (Laakkonen et al. 1970).

La o temperatură de maxim 65°C proteinele sarcoplasmice formează un gel ce face ca o tranșă de carne să fie mult mai fragedă și ușor de consumat în comparație cu o bucată de carne preparată la o temperatură de peste 65°C când elasticitatea tinde să acționeze negativ făcând carnea dură (Toruberg, 2005).

La o temperatură de 80°C țesuturile conjunctive tind să fie denaturate formând un gel ce umple spațiile dintre fibrele musculare. O tranșă de carne supusă la o temperatură de gătire de 80°C pentru o perioadă lungă de timp prezintă duritate mică în comparație cu o tranșă de carne preparată la 60°C ce va prezenta o coezivitate ridicată (Roldan et al., 2015). Tehnica de preparare sous vide ajută la solubilizarea țesuturilor conjunctive făcând carnea să fie fragedă și reducând duritatea (Rinaldi et al., 2014).

1.5.3.7. Modificări chimice în alimente preparate cu metoda sous-vide

Procesul de tratament termic presupune un număr mare de modificări chimice. Modificările chimice din produsele alimentare pot schimba aspectul acestora de cele mai multe ori în bine dar, există și situații de modificări chimice nedorite.

Modificări de aromă la alimente preparate cu metoda sous-vide

Aromele alimentelor sunt dezvoltate la temperaturi de peste 70 °C datorită formării de compuși volatili. Tehnica de preparare sous-vide conferă mai puțină aromă datorită folosirii de temperaturi scăzute. Prin urmare, aroma din carne provine de la compuși non-volatili și produse de degradare a lipidelor. În cazul legumelor temperaturile folosite în tehnica sous-vide sunt de 85-95 °C și astfel beneficiază de aportul compușilor volatili. Peste nivelul acestor temperaturi compușii volatili se formează ca urmare a degradării aminoacizilor în funcție de timp (Dominguez-Hernandez et al. 2018). Numeroase studii au scos în evidență faptul că, o tranșă de carne preparată cu tehnica sous-vide, va păstra mai bine compușii volatil și astfel este evitată acumularea de arome. Eliberarea de substanțe volatile este diferită în carnea preparată cu tehnici tradiționale față de carnea preparată cu tehnica sous-vide (Rinaldi et al. 2014).

Denaturarea proteinelor la alimente preparate cu metoda sous-vide

Modificările proteinelor influențează foarte mult textura, culoarea , aroma și capacitatea de reținere a apei în cazul prelucrării termice. În cazul

cărnii, unele proteine sunt denaturate la temperatura de peste 60 °C determinând astfel micșorarea structurii fibrilare ce ajută la menținerea umidității și la pierderea în greutate.

În general, temperatura scăzută folosită la prepararea sous-vide conferă o contracție mai mică în structura cărnii în comparație cu metoda convențională de preparare unde, denaturarea proteinelor la temperaturi ridicate, reduce capacitatea de retenție a apei cauzând reducerea în volum a alimentului.

Proteina poate fi denaturată atunci când este supusă la orice temperatură pentru o lungă perioadă de timp indiferent de temperatură (Dominguez-Hernandez et al., 2018). Proteinele miofibrilare reprezintă o rețea de proteine ce asigură integritatea musculară.

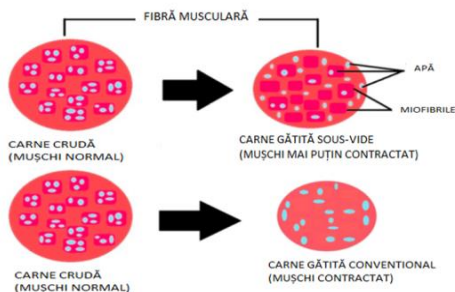


Fig.1.11. Comparație între capacitatea de reținere a apei a mușchiului nefiert (capacitate ridicată de reținere a apei) vs mușchiul preparat cu sous- vide și mușchiul preparat în mod tradițional (Yu et al., 2017)

Modificări în compoziția acizilor grași la alimente preparate cu metoda sous-vide

În cazul cărnii de vită preparată cu tehnica sous-vide, acizii grași polinesaturați și mononesaturați sunt oxidați în cantitate mai mare la temperatura de 85°C. Cu cât temperatura de procesare termică scade cu atât scade și procesul oxidativ al acizilor grași.

Pierderile de acizi grași sunt semnificativ mai mici în cazul tehnicii sous-vide în comparație cu alte tehnici de tratament termic tradiționale. Transformările acizilor grași sunt asociate cu oxidarea acestora și astfel se determină modificarea compoziției acestora. Tehnica sous-vide reduce pierderile de nutrienți și oxidarea acizilor grași prin reducerea contactului dintre mediul alimentar și oxigenul liber. În acest fel crește și termenul de

valabilitate al produsului alimentar tratat termic cu tehnica sous-vide (Falowo et al., 2017).

Modificări în compoziția de minerale la alimente preparate cu metoda sous-vide

În cazul folosirii tehnicii sous-vide nutrienții sunt reținuți în alimente datorită scăderii nivelului de umiditate la care sunt expuse acestea comparativ cu tehnicile de preparare tradiționale ce prezintă pierderi mai mari (Falowo et al. 2017).

Carnea preparată cu tehnica sous-vide a prezentat pierderi semnificativ mai mari de minerale la temperatura de tratament termic de 95-100°C în comparație cu carne preparată la 75°C (Rinaldi et al., 2014). În timpul tratamentului termic sous-vide pierderile de minerale sunt sub 14%. Aceste pierderi sunt relativ mici în tehnica sous-vide comparativ cu metoda tradițională. Cele mai mari pierderi sunt observate la Cu și Zn deoarece aceste proteine sunt legate de proteina albuminei. Alimentele preparate la o temperatură scăzută pentru o perioadă mai lungă de timp prezintă o bioaccesibilitate mai mare și un conținut de minerale mai ridicat comparativ cu metodele tradiționale de preparare.

Modificări microbiologice în alimente preparate cu metoda sous-vide

Alimentele procesate termic cu tehnica sous-vide pot fi împărțite în diferite categorii în funcție de amplitudinea tratamentului termic aplicat direct proporțional cu timpul și temperatura. Agenții patogeni pot rămâne activi foarte ușor în produsele prelucrate termic cu metode sous-vide datorită temperaturilor scăzute de prelucrare. Astfel, calitatea materiei prime inițiale este vitală iar produsele trebuie consumate în cel mai scurt timp după preparare.

Este recomandat ca alimentele preparate cu sous-vide ce au o durată de valabilitate mai mică de 10 zile să fie tratate termic la 70 °C timp de 2 minute. Alimentele tratate termic cu tehnica sous-vide care au un termen de valabilitate mai mare de 10 zile trebuie supuse unui tratament termic la 90 °C timp de 10 minute.

În ultimii ani tratamentul termic sous-vide a cunoscut o mare dezvoltare și tot mai multe alimente au fost preparate la temperaturi scăzute între 40°C și 70°C. În mod tradițional aceste temperaturi sunt considerate critice pentru alimente datorită efectului bacteriologic asupra lor. Acest aspect creează dificultăți atunci când trebuie evaluată siguranța produsului.

Rezistența la diferite temperaturi și caracteristicile de dezvoltare ale agenților patogeni stabilesc amplitudinea tratamentului termic necesar pentru a produce alimente sigure pentru consum.

Capitolul II. Cercetări privind caracterizarea fizico-chimică a semințelor de amarant (*Amaranthus cruentus*-L) în vederea obținerii de noi alimente funcționale

Scopul acestor cercetări este acela de a determina parametrii fizico-chimici ai semințelor de amarant *Amaranthus cruentus*-L (umiditate, conținutul de cenușă totală, conținutul de cenușă insolubilă în HCL diluat, conținutul de proteină totală, conținutul de fibre crude totale) dar și caracterizarea din punct de vedere al profilului antioxidant privind conținutul de polifenoli, acizi grași și aminoacizi. În această lucrare a fost studiată extracția polifenolilor din semințe de amarant folosind un design Box-Benhken analizând patru factori - viteza ultra-turrax, raportul solid-lichid (RSL), concentrația de metanol și timpul de extracție. Au fost studiate două răspunsuri pentru model: conținutul total de fenolici (TPC) și conținutul total de flavonoide (TFC). Factorii care au influențat cel mai mult extracția TPC și TFC au fost RSL, concentrația de metanol și viteza ultra-turrax-ulei. Au fost studiați 12 acizi fenolici (acid rosmarinic, acid p-cumaric, acid clorogenic, acid vanilic, acid cafeic, acid p-hidroxibenzoic, acid protocatecuic și acid galic) și flavonoide (kaempferol, quercetină, luteolină și miricetină) iar cei mai abundenți au fost kaempferol urmat de miricetină.

Amarantul este o sursă valoroasă de acizi grași iar 16,54% din totalul acizilor grași determinați au fost acizi grași saturați, în timp ce 83,45% dintre acizii grași au fost nesaturați. Semințele de amarant sunt o sursă valoroasă de aminoacizi fiind raportați 9 aminoacizi esențiali: histidină, izoleucină, leucină, lizină, metionină, fenilalanină, treonină, triptofan și valină.

Antioxidanții au declanșat un interes considerabil în cercetarea tehnologiei alimentare. Disponibilitatea lor în diverse diete și rolul lor potențial ridicat în lupta împotriva diferitelor boli precum cancerul și bolile neurodegenerative sau cardiovasculare au fost subliniate într-o varietate de studii (Manach et al., 2004, Scalbert et al., 2005).

Unele cercetări au arătat că semințele și frunzele de amarant au capacități antioxidante atunci când sunt testate in vitro (Ozssoy et al., 2009). Astfel a fost raportată prezența polifenolilor în semințele de amarant (Alvarez-Jubete et al., 2010) la fel și prezența flavonoidelor și betalainelor (Repo-Carrasco-valencia et al., 2010). În alte cercetări au fost analizate semințe de *Amaranthus hypochondriacus* și au fost descoperiți compuși fenolici cu proprietăți antioxidante (Barba de la Rosa et al., 2009). Amarantul poate fi considerat o sursă pentru dezvoltarea de noi produse comestibile întrucât are o valoare nutritivă ridicată iar, în ultimii ani, exista o tendință în privința dietelor vegane. Este bine cunoscut faptul că, proteinele vegetale

prezintă proprietăți funcționale cu potențial ridicat pentru sănătatea umană (Barbin et al., 2011).

Scopul acestui studiu a fost de a evalua influența vitezei ultra-turrax, a raportului solid-lichid, a concentrației de metanol și a timpului de extracție asupra conținutului total de compuși fenolici și a conținutului total de flavonoide din sămânța de amarant. În plus, soluția cea mai concentrată a fost folosită pentru identificarea și cuantificarea a 12 compuși fenolici. Aminoacizii și acizii grași din semințele de amarant au fost determinați folosind o metodă GC-MS.

2.1. Extracția compușilor bioactivi

Extracția compușilor bioactivi a fost efectuată conform design-ului Box–Behnken prezentat în Tabelul 2.1. Cantitatea menționată pentru fiecare experiment a fost transferată într-un balon umplut la 30 ml cu solventul corespunzător și supus ultraturrax. După extracție soluția a fost trecută într-un tub de centrifugă și centrifugată timp de 10 minute la 5000 rpm. Supernatantul a fost colectat într-un balon de 50 ml umplut cu solvent și menținut la -20 ° C până la efectuarea analizei prealabile.

Tab. 2.1. Extracția compușilor bioactivi a fost efectuată conform design-ului Box–Behnken

Nr. crt.	Viteză Ultra-Turrax (rpm)	Raport solid/lichid	Metanol (%)	Timp (s)
1	10.000	0,02	40	60
2	10.000	0,02	60	30
3	10.000	0,01	60	60
4	10.000	0,03	60	60
5	10.000	0,02	60	90
6	10.000	0,02	80	60
7	20.000	0,02	40	30
8	20.000	0,01	40	60
9	20.000	0,03	40	60
10	20.000	0,02	40	90

Nr. crt.	Viteză Ultra-Turrax (rpm)	Raport solid/lichid	Metanol (%)	Timp (s)
11	20.000	0,01	60	30
12	20.000	0,03	60	30
13	20.000	0,02	60	60
14	20.000	0,01	60	90
15	20.000	0,03	60	90
16	20.000	0,02	80	30
17	20.000	0,01	80	60
18	20.000	0,03	80	60
19	20.000	0,02	80	90
20	30.000	0,02	40	60
21	30.000	0,02	60	30
22	30.000	0,01	60	60
23	30.000	0,03	60	60
24	30.000	0,02	60	90
25	30.000	0,02	80	60

2.2. Determinarea conținutului fenolic total

Un total de 0,1 ml de extract conform designului prezentat în Tabelul 2.1, a fost amestecat în 1,9 ml apă și 0,1 ml de reactiv Folin Ciocalteu. Amestecul a fost apoi omogenizat timp de 2 minute iar după aceea, s-au adăugat 0,8 ml de carbonat de sodiu 5%. Amestecul a fost menținut la 40 °C timp de 20 de minute și răcit într-o baie de gheață pentru a opri reacția. Conținutul total de compuși fenolici a fost determinat la 750 nm pe baza unei curbe de calibrare a acidului galic care exprimă rezultatele ca echivalent acid galic (mg GAE/g) (Pauliuc et al., 2020).

2.3. Determinarea conținutului total de flavonoide

Un total de 0,2 ml de extract conform designului prezentat în Tabelul 2.1. a fost amestecat cu 2 ml de metanol și 0,1 ml de 5% AlCl_3 (preparat în metanol). Soluția a fost lăsată timp de 30 de minute la temperatura camerei și absorbanta sa a fost măsurată la 425 nm. Concentrația a fost determinată pe baza unei curbe de calibrare a quercetinei care exprimă rezultatele ca mg echivalent quercetină/l (mg QE/L) (Pauliuc et al., 2020).

2.4. Determinarea compușilor fenolici individuali

Din extractul metanolic au fost determinați acizii fenolici (acid rosmarinic, acid p-cumaric, acid clorogenic, acid vanilic, acid cafeic, acid p-hidroxibenzoic, acid protocatecuic și acid galic) și flavonoide (kaempferol, quercetină, luteolină și miricetină) unde a fost folosit un cromatograf lichid de înaltă performanță Shimadzu (Kyoto, Japonia) cu un detector cu matrice de diode. Separarea a fost efectuată pe o coloană Zorbax SP-C18 de 150 mm lungime și o coloană de 4,6 mm i.d. Pentru separare s-au folosit particule cu diametrul de 5 μm . Eluarea a fost efectuată cu un sistem de solvenți constând din acid acetic 0,1% în apă (solvent A) și acetonitril (solvent B) la un debit de 1 ml/min. Compușii fenolici determinați de acid galic, acid vanilic, acid protocatecuic și acid p-hidroxibenzoic au fost determinați la 280 nm iar acidul clorogenic, acidul p-cumaric, acidul cafeic, acidul rosmarinic, miricetina, quercetina, luteolina și kaempferol s-au determinat la 320 nm (Oroian et al., 2020). Fig. 2.1. prezintă o cromatogramă HPLC-DAD la 280 nm și 320 nm pentru standarde (100 mg/l).

2.5. Profilul acizilor grași

Înainte de analiză, făina de semințe de amarant, a fost extrasă timp de 48 de ore cu n-hexan la temperatura camerei. Uleiul (0,1 g) a fost amestecat cu 1 ml de n-hexan și 1 ml de BF_3 15% în metanol. Amestecul a fost menținut timp de 15 minute la 60 °C într-o baie de apă. Amestecul a fost răcit la 20 °C și amestecat cu 5 ml dintr-o soluție saturată de NaCl iar apoi soluția a fost centrifugată timp de 5 minute la 3000 rpm. Supernatantul a fost filtrat cu un filtru de nailon de 0,45 μm și menținut la -20 °C înainte de analiză. Separarea esterilor metilici ai acizilor grași (FAME) a fost efectuată pe o coloană SUPELCOWAX 10 (60 m $\times$ 0,25 mm id, 0,25 μm grosimea filmului; Supelco Inc., Bellefonte, PA, SUA) folosind un instrument Shimadzu GC-MS (GC MS-QP 2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japonia) echipat cu un auto-injector AOC-01 care a fost utilizat pentru efectuarea analizelor cromatografice-spectrometrice de masă. Identificarea FAME-urilor a fost realizată prin compararea timpilor lor de retenție cu cei ai standardelor cunoscute (37 componente FAME Mix, Restek, Bellefonte, PA, USA, 35077) și spectrele

de masă rezultate cu cele din baza noastră de date (NIST MS Search 2.0) (Oroian et al., 2020). FAME-urile au fost cuantificate prin comparație cu curbele standard ale amestecului FAME 37, care a fost realizat cu diferite concentrații de la 0,1 la 1 mg/ml. Rezultatele au fost exprimate ca mg de acid gras la 100 g de semințe de amarant.

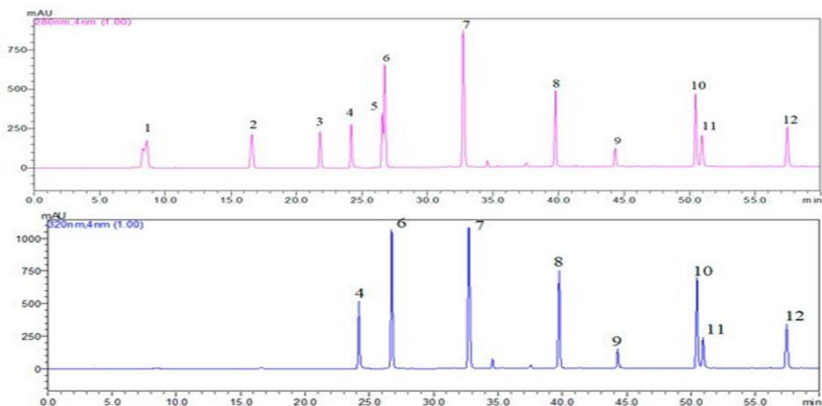


Fig.2.1. Cromatogramă HPLC-DAD la 280 nm și 320 nm pentru standard (100mg/L) pentru acid galic (peak 1(8.578 min)), acid protocatehic (peak 2 (16.6 min)), acid p-hidroxibenzoic (peak 3 (21.8 min)), acid cafeic (peak 4 (24.2 min)), acid vanilic (peak 5 (26.6 min)), acid clorogenic (peak 6 (26.7 min)), acid p-coumaric (peak 7 (32.7 min)), acid rosmarinic (peak 8 (39.8 min)), miricetină (peak 9 (44.4 min)), luteolină (peak 10 (50.5 min)), quercitină (peak 11 (50.9 min)) și kaempferol (peak 12 (57.4 min)).

2.6. Determinarea aminoacizilor liberi

Pentru extracția și identificarea aminoacizilor liberi s-au amestecat $1,75 \pm 0,1$ g de făină de amarant cu 15 ml de acid tricloroacetic (TCA) 15%. pH-ul amestecului a fost ajustat la 2,2 cu acid tricloracetic 15% (TCA) (punctul de precipitare izoelectric al proteinelor), iar extractul a fost diluat în continuare la 25 ml cu 15% TCA (Urcan et al., 2021). Apoi supernatantul a fost colectat și filtrat folosind microfiltre de $0,45 \mu\text{m}$, iar 100 μl din supernatantul filtrat au fost supuși determinării componentelor organice folosind kitul EZfaast GC-MS urmând protocolul dat de producător.

2.6.1. Proiectare experimentală și analiză statistică

Designul Box-Behnken pe trei niveluri a fost adaptat în acest studiu pentru a investiga și optimiza efectul variabilelor independente ale vitezei

ultra-turrax (X1), raportului solid/lichid (X2), concentrației de metanol (X3) și timpului de extracție (X4) pe TPC și TFC. Nivelurile codificate ale variabilelor sunt prezentate în Tabelul 1. Toate calculele și graficele au fost efectuate folosind software-ul statistic Design Expert 11 (versiunea de încercare, Minneapolis, MN, SUA). Au fost efectuate experimente în trei exemplare pentru a valida condițiile optime de extracție.

Proiectarea Box-Behnken s-a bazat pe un model de suprafață de răspuns polinomial de ordinul doi (pătratic).

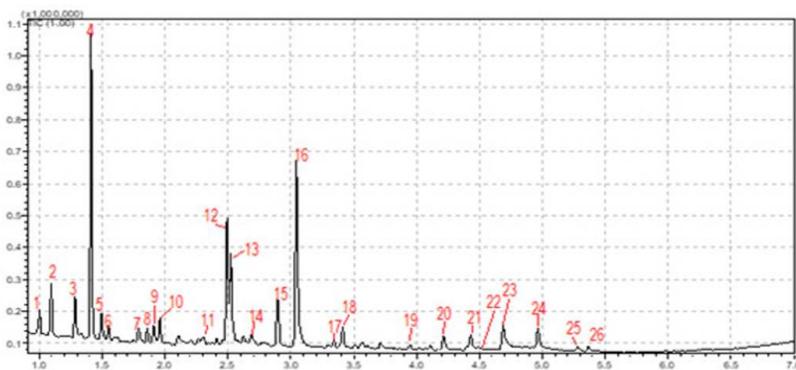


Fig. 2.2. Profilul de aminoacizi al semințelor de amarant: 1-alanină, 2-glicină, 3- valină, 4 –standard intern, 5- leucină, 6 –izoleucină, 7 –treonină, 8 –serină, 9 –prolină, 10 –aspargină, 11 –tioprolină, 12 –acid aspartic, 13 –metionină, 14 -3hidroxiprolină, 15 –fenilalanină, 16 –acid glutamic, 17 - α acid aminopimelic, 18 –glutamină, 19 –hidroxilserină, 20 –hidroxiprolină, 21 –histidină, 22 –lizină, 23 –tirozină, 24 –triptofan, 25 –cistationină și 26 –cistină

2.6.2. Designul Box-Behnken

Designul Box-Behnken a fost aplicat pentru a studia efectele combinate ale celor patru parametri aplicați (viteza ultra-turrax, raportul lichidului solid, concentrația de metanol și timpul) asupra conținutului total de fenolici (TPC) și conținutului total de flavonoide (TFC) din făina de semințe de amarant. Coeficienții de regresie ai celor două modele propuse sunt prezentați în Tabelul 2.3. Cele două modele au fost semnificative ($p < 0,05$) iar valoarea F a fost 10,31 pentru TPC și 10,29 pentru TFC. După cum se poate observa, cele două modele au fost semnificative în ceea ce privește analiza varianței iar coeficienții de regresie au fost mai mari de 0,90. Pentru cei doi parametri studiați (TPC și TFC), trei parametri (viteza ultra-turrax, raportul solid-lichid (RSL) și concentrația de metanol) au prezentat efecte

liniare semnificative ($p < 0,05$) iar efectele liniare au fost mai mari în cazul TPC decât TFC. Efectele de interacțiune între parametri studiați nu au fost semnificative în timp ce, un efect pătratic (concentrația de metanol) a fost unul semnificativ.

2.6.3. Evoluția parametrilor TPC și TFC sub formă de suprafețe de răspuns (RSM)

Metodologia răspunsului la suprafață este o metodă statistică utilizată pentru a descrie relația dintre doi parametri și datele experimentale (Tabaraki et al., 2012). În acest studiu designul Box-Benhken a fost utilizat pentru optimizarea extracției TPC și TFC din făina de semințe de amarant folosind patru parametri (viteza ultra-turrax, raportul solid-lichid, concentrația de metanol și timpul). În Figura 2.3 și Figura 2.4 este prezentată evoluția TPC și TFC în funcție de parametrii studiați. În cazul TPC a fost observat un efect pozitiv combinat al unui RSL ridicat și al vitezei ultra-turrax ridicate iar o viteză mare corelată cu o cantitate mare de matrice a influențat pozitiv extracția compușilor fenolici. În ceea ce privește efectul combinat al concentrației de metanol și al vitezei de ultra-turrax se poate observa că, o viteză mare de ultra-turrax și o concentrație mare de metanol au generat o concentrație mare de TPC. În plus, la o concentrație scăzută de metanol, a existat un TPC maxim și o posibilă explicație pentru aceasta poate fi compoziția chimică complexă a amarantului care, include alți polifenoli mai solubili în concentrații mari de solvenți în apă. Efectul combinat al metanolului și RSP a arătat un punct maxim la o concentrație mare de metanol și respectiv RSL ridicat. În cazul timpului combinat cu viteza ultra-turrax și RSL, se poate observa o corelație directă între concentrația TPC și timp/RSL. Combinația dintre concentrația de metanol și timpul arată că, timpul nu a influențat în mod semnificativ evoluția. În cazul TFC a fost observat un efect pozitiv combinat al unui RSL ridicat și al vitezei ultra-turrax ridicate iar o viteză mare corelată cu o cantitate mare de matrice a influențat pozitiv extracția compușilor fenolici. În ceea ce privește efectul combinat al concentrației de metanol și al vitezei ultra-turrax se poate observa că, o concentrație mare de TFC s-a atins la viteza și concentrația maximă iar la o concentrație scăzută de metanol s-a înregistrat un maxim. O posibilă explicație poate fi aceea că, din cauza compoziției chimice complexe a amarantului, pot exista și alte flavone mai solubile în concentrații mari de

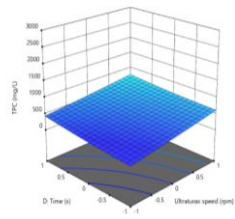
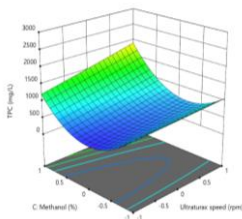
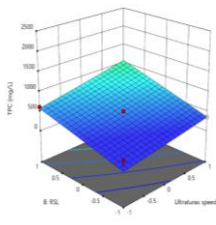
solvenți în apă. Combinația dintre concentrația de metanol și timpul arată că, timpul nu a influențat în mod semnificativ evoluția. Efectul combinat al metanolului și RSP a arătat un punct maxim la o concentrație mare de metanol și respectiv RSL ridicat. În cazul timpului se poate observa că, combinarea acestuia cu viteza ultra-turax și RSL a avut o corelație directă între concentrația TPC și timp/RSL.

Tab.2.2. Analiza de varianță a modelelor Box-Benhken pentru TPC și TFC

TPC						TFC				
Sursa	Suma pătrătelor	Df	Medi a pătrătelor	Raportul lui Fisher	P	Suma pătrătelor	Df	Medi a pătrătelor	Raportul lui Fisher	P
Model	8.012 $\times 10^6$	1 4	5.723 $\times 10^5$	10.31	<0.0 001	6.570 $\times 10^5$	1 4	46,93 1.81	10.29	<0.0 001
A- Vitez a ultra turax	4.979 $\times 10^5$	1	4.979 $\times 10^5$	8.97	0.00 96	40,97 3.81	1	40,97 3.81	8.98	0.00 96
B- RSL	1.193 $\times 10^6$	1	1.193 $\times 10^6$	21.49	0.00 04	97,90 6.84	1	97,90 6.84	21.46	0.00 04
C- Meta nol	1.042 $\times 10^6$	1	1.042 $\times 10^6$	18.78	0.00 07	85,71 1.02	1	85,71 1.02	18.79	0.00 07
D- Timp	1.569 $\times 10^5$	1	1.569 $\times 10^5$	2.83	0.11 49	12,87 8.07	1	12,87 8.07	2.82	0.11 51
AB	6387. 21	1	6387. 21	0.1151	0.73 94	524.4 0	1	524.4 0	0.1149	0.73 96
AC	91,82 7.18	1	91,82 7.18	1.65	0.21 92	7465. 19	1	7465. 19	1.64	0.22 17
AD	2838. 76	1	2838. 76	0.0512	0.82 43	233.0 7	1	233.0 7	0.0511	0.82 45
BC	2.364 $\times 10^5$	1	2.364 $\times 10^5$	4.26	0.05 81	19,40 6.33	1	19,40 6.33	4.25	0.05 82
BD	12,81 8.77	1	12,81 8.77	0.2310	0.63 82	1052. 44	1	1052. 44	0.2307	0.63 85

Rezumatul tezei de doctorat

TPC						TFC				
Surs a	Suma pătra telor	D f	Medi a pătra telor	Rapor tului lui Fisher	P	Suma pătra telor	D f	Medi a pătra telor	Rapor tului lui Fisher	P
CD	9980.01	1	9980.01	0.1799	0.6779	819.37	1	819.37	0.1796	0.6782
A ²	511.49	1	511.49	0.0092	0.9249	29.23	1	29.23	0.0064	0.9373
B ²	312.19	1	312.19	0.0056	0.9413	34.40	1	34.40	0.0075	0.9320
C ²	4.430 × 10 ⁶	1	4.430 × 10 ⁶	79.83	<0.0001	3.624 × 10 ⁵	1	3.624 × 10 ⁵	79.43	<0.0001
D ²	5095.40	1	5095.40	0.0918	0.7663	386.17	1	386.17	0.0846	0.7754
Rezidual	7.769 × 10 ⁵	4	55,490.70			63,877.95	4	4562.71		
Lipsa de potrivire	7.769 × 10 ⁵	0	77,686.99			63,874.49	0	6387.45	7387.71	<0.0001



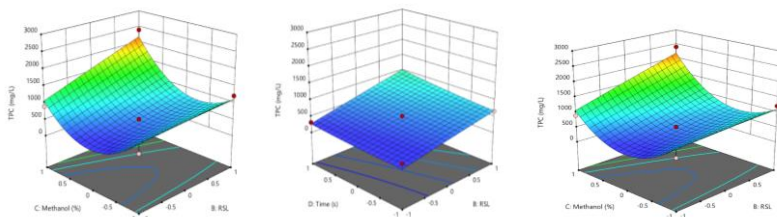


Fig. 2.3. Evoluția TPC în funcție de diverși parametri (-1 – valoarea minimă a intervalului studiat, +1 – valoarea maximă a intervalului studiat)

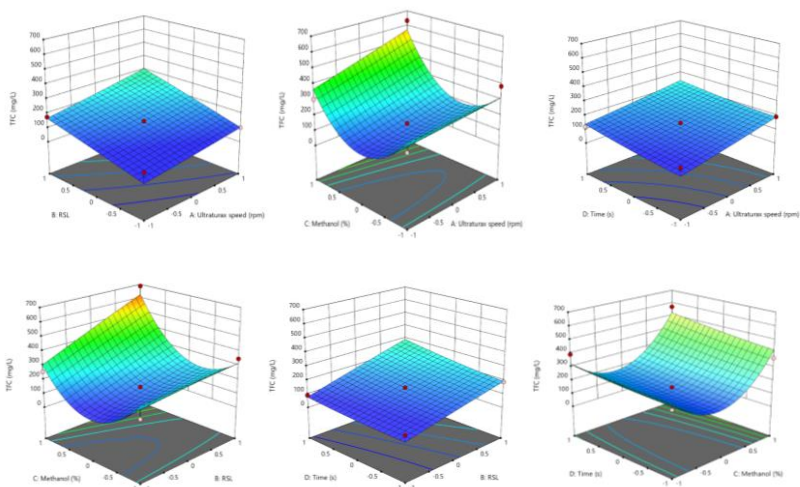


Fig. 2.4. Evoluția TFC în funcție de diverși parametri (-1 – valoarea minimă a intervalului studiat, +1 – valoarea maximă a intervalului studiat)

2.7. Profilul fenolic individual

În tabelul 2.3. sunt prezentate concentrațiile de substanțe fenolice individuale (exprimate în mg/kg amarant) determinate prin metoda cromatografică. Din cei 12 compuși luați în considerare s-au determinat 8 (acid vanilic, acid cafeic, acid clorogenic, acid p-cumaric, acid rosmarinic, miricetină, luteolină și kaempferol) în timp ce 4 au fost sub limita de detecție (acid galic, acid protocatecuic, acid 4-hidroxibenzoic și quercetină). Dintre acizii fenolici determinați, acidul vanilic a fost cel mai abundent urmat de acidul rosmarinic, acidul clorogenic, acidul p-cumaric și acidul cafeic. Cel mai abundent flavonoid a fost kaempferol urmat de miricetină și luteolină.

Barba de la Rosa et al. au determinat trei polifenoli în sămânța de amarant — rutina (10,1 mg/g), nicotiflorin (7,2 mg/g) și izoquercetină (0,5 mg/g) — iar în ceea ce privește acizii fenolici au cuantificat acidul 4-hidroxibenzoic (2,2 mg/g), acidul siringic (0,8 mg/g) și acid vanilic (1,8 mg/g) (Barba de la Rosa et al., 2009). Polifenolii din semințele de amarant prezintă o activitate antioxidantă ridicată și capacitate antiinflamatoare precum și efecte diverse cum ar fi efecte antifibrotice, antibacteriene, antihipertensive, anti-aterogenice și anti-proliferative (Antoniewska et al., 2018). Kaempferolul, principalul compus fenolic observat în studiul nostru a fost raportat că are un efect nefroprotector prevenind afectarea cardiacă indusă de DOX, afectarea hipocampusului și leziunile ischemiei neuronale și pulmonare, precum și un efect antioxidant (El-kott et al., 2020, Alagal et al., 2022). Miricetina, al doilea compus fenolic ca mărime observat posedă activitate antimicrobiană și are un efect pozitiv asupra microbiotei (Fan et al., 2018). Suplimentarea cu miricetină scade sinteza lipidelor hepatice și inflamația prin modularea microbiotei intestinale (Sun et al., 2021).

Tab. 2.3. Profilul fenolic al semințelor de amarant

Phenolic	mg/kg semințe de amarant
Acid galic	ND
Acid protocatecuic	ND
Acid 4- hidroxibenzoic	ND
Acid vanilic	10,33
Acid cafeic	3,37
Acid clorogenic	4,00
Acid <i>p</i> -coumaric	3,63
Acid rozmarinic	7,68
Myricetin	105,05
Luteolin	39,15
Quercitină	ND
Kaempferol	1041,50
Total	1214,71

ND-nedetectabil

Capitolul III. *Studiu experimental privind textura semințelor de amarant (Amaranthus cruentus L.) preparate prin metoda sous-vide* reprezintă cea de-a doua parte a cercetărilor asupra influenței aplicării metodei sous-vide pentru semințele de amarant. Scopul acestui studiu a fost evaluarea impactului tratamentului sous-vide asupra parametrilor de textură a semințelor de amarant. Un alt parametru important evaluat a fost cantitatea

de apă necesară hidratării semințelor de amarant pe parcursul tratamentului termic. Duritatea și adezivitatea au reprezentat parametri principali de textură ce au fost determinați în vederea stabilirii unei texturi optime obținute în urma aplicării tratamentului sous-vide. În acest studiu a fost analizată varianta pentru modelarea durității și a adezivității. Tratamentul termic are o importantă influență asupra conținutului nutrițional. După folosirea metodei de preparat cu metoda sous-vide, semințele de amarant au fost studiate din punct de vedere al conținutului total de aminoacizi și polifenoli totali. În acest scop a fost folosită analiza de varianță a compoziției de aminoacizi și analiza de varianță a compoziției de compuși fenolici prin folosirea metodei de modelare Box-Behnken.

3.1. Determinarea parametrilor texturali

Testul de evaluare a profilului de textură dorește să reproducă procesul de masticăție. Cu ajutorul acestui test au fost evaluați doi parametri de textură: adezivitatea și duritatea. Principiul metodei constă în aplicarea unei tensiuni asupra probelor de semințe de amarant preparate cu tehnica sous-vide la care au fost folosiți parametri diferiți de timp, temperatură și raport apă/semințe de amarant în interiorul pungii vidate pentru hidratare. Au fost analizate probe tratate la temperatura de 75 °C, 80 °C și 85 °C timp de 60 minute, 120 minute, 180 minute și 240 minute. Pentru fiecare temperatură și timp diferit au fost testate pe rând și rapoarte diferite de apă/semințe de amarant (1/4, 1/5, 1/6) unde 1 reprezintă cantitatea de 10 g semințe de amarant 4,5,6 reprezintă valoarea măsurată de 40 ml apă, 50 ml apă și 60 ml apă în care au fost hidratate semințele de amarant și ulterior vidate.

Pentru a efectua testul de evaluare a profilului de textură (fig. 3.1.) la dispozitivul folosit (texturometru) a fost atașat un cilindru de compresie cu un diametru de 35 mm. Acesta a fost folosit pentru a presa asupra eșantioanelor din toate probele. Eșantioanele analizate au avut un diametru de 30 mm și o înălțime de 10 mm.

Compresia eșantioanelor s-a realizat pe suprafața unei mese de presare. Prin intermediul softului, dispozitivul a fost programat să aplice o forță de compresie asupra eșantionului de două ori. Prima compresie s-a realizat până la o deplasare egală cu 75% din înălțimea probei cu o viteză de 2 mm/s apoi, pistonul revine la poziția inițială și urmează a doua compresie până la o deplasare egală cu 75% din înălțimea probei menținând în același timp și viteza de compresie.

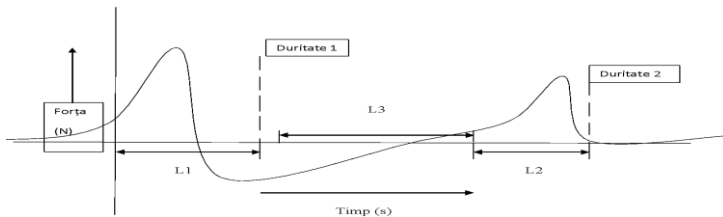


Fig.3.1. Elemente generale ale unui grafic la testul de evaluare a parametrilor de textură

3.2. Determinarea aminoacizilor liberi

Pentru extracția și identificarea aminoacizilor liberi s-au amestecat $1,75 \pm 0,1$ g de făină de amarant cu 15 ml de acid tricloroacetic (TCA) 15%. pH-ul amestecului a fost ajustat la 2,2 cu acid tricloroacetic 15% (TCA) (punctul de precipitare izoelectric al proteinelor) iar extractul a fost diluat în continuare la 25 ml cu 15% TCA (Urcan et al., 2021). Apoi, supernatantul a fost colectat și filtrat folosind microfiltre de $0,45 \mu\text{m}$, iar 100 μl din supernatantul filtrat au fost supuși determinării componentelor organice folosind kitul EZfaast GC-MS, urmând protocolul dat de producător.

3.3. Determinarea compușilor fenolici individuali

Din extractul metanolic (1 g de probă extrase cu 25 ml de metanol) au fost determinați acizii fenolici (acid rosmarinic, acid p-cumaric, acid clorogenic, acid vanilic, acid cafeic, acid p-hidroxibenzoic, acid protocatecuic și acid galic) și flavonoide (kaempferol, quercetină, luteolină și miricetină) unde a fost folosit un cromatograf lichid de înaltă performanță Shimadzu (Kyoto, Japonia) cu un detector cu matrice de diode. Separarea a fost efectuată pe o coloană Zorbax SP-C18 de 150 mm lungime și o coloană de 4,6 mm i.d. Pentru separare s-a folosit particule cu diametrul de $5 \mu\text{m}$. Eluarea a fost efectuată cu un sistem de solvenți constând din acid acetic 0,1% în apă (solvent A) și acetonitril (solvent B) la un debit de $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Compușii fenolici determinați de acid galic, acid vanilic, acid protocatecuic și acid p-hidroxibenzoic au fost determinați la 280 nm iar acidul clorogenic, acidul p-cumaric, acidul cafeic, acidul rosmarinic, miricetina, quercetina, luteolina și kaempferol s-au determinat la 320 nm (Oroian et al., 2020). Figura 2.1 prezintă o cromatogramă HPLC-DAD la 280 nm și 320 nm pentru standarde (100 mg/L).

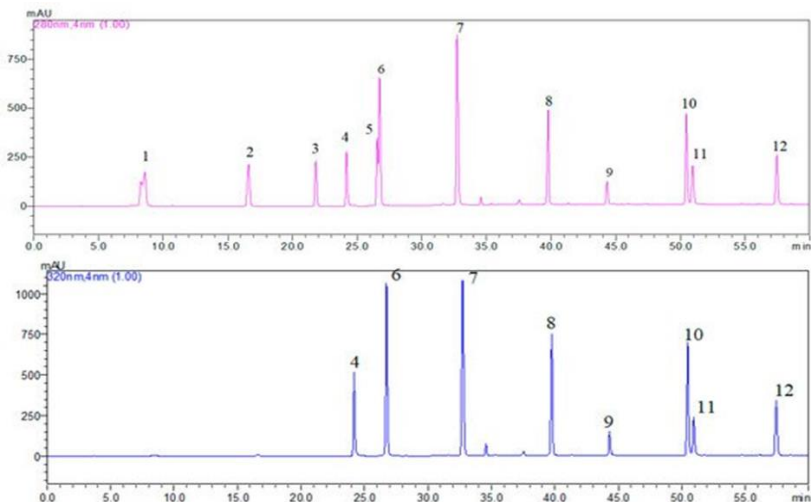


Fig. 3.2. Cromatogramă HPLC-DAD la 280 nm și 320 nm pentru standard (100mg/L) pentru acid galic (peak 1(8.578 min)), acid protocatehic (peak 2 (16.6 min)), acid p-hidroxibenzoic (peak 3 (21.8 min)), acid cafeic (peak 4 (24.2 min)), acid vanilic (peak 5 (26.6 min)), acid clorogenic (peak 6 (26.7 min)), acid p-coumaric (peak 7 (32.7 min)), acid rosmarinic (peak 8 (39.8 min)), miricetină (peak 9 (44.4 min)), luteolină (peak 10 (50.5 min)), quercitină (peak 11 (50.9 min)) și kaempferol (peak 12 (57.4)).

3.4. Evoluția masei în timpul tratamentului sous-vide

În cazul semințelor de amarant care fac parte din categoria pseudocerealelor și au un conținut ridicat de amidon, volumul crește în urma tratamentului termic. Pentru a putea identifica conținutul de apă necesar pentru a putea obține un aliment bine preparat dar și cu proprietăți de textură optime, au fost corelate rezultatele parametrilor de textură determinați instrumental cu rezultatul calculului modificărilor de masă a fiecărei probe. Semințele de amarant au fost preparate prin metoda sous-vide la trei temperaturi diferite, 75°C, 80 °C și 85 °C. Timpul de expunere la cele trei valori ale temperaturii a fost stabilit la 60 minute, 120 minute, 180 minute și 240 minute. Cel mai important parametru urmărit din punct de vedere al modificărilor de masă a fost raportul de semințe de amarant/apă (pentru hidratare). Au rezultat 36 de probe ce au fost preparate individual după care rezultatele au fost înregistrate și comparate.

în figurile 3.3.-3.5. este prezentată evoluția parametrilor masici pentru probele supuse analizei. Se poate observa faptul că, cele mai mari creșteri se apar la raportul 1/6, la temperatura de 85 °C, după 180 de minute de tratament

termic, în schimb, la raportul $\frac{1}{4}$ modificările de masă sunt cele mai reduse. În ceea ce privește timpul de expunere, cu excepția raportului $\frac{1}{5}$, la rapoartele $\frac{1}{4}$ și $\frac{1}{6}$, nu se observă modificări semnificative între 180 minute și 240 de minute, semințele au ajuns la o hidratare constantă.

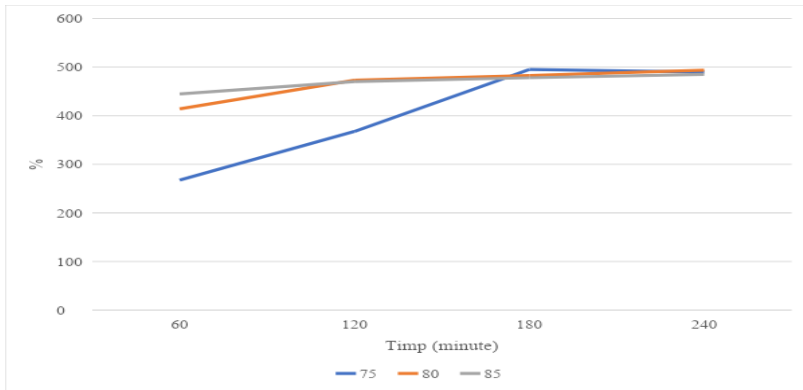


Fig. 3.3. Evoluția modificărilor de masă (%) a semințelor de amarant pe durata tratamentului sous-vide la un raport solid/lichid de $\frac{1}{4}$

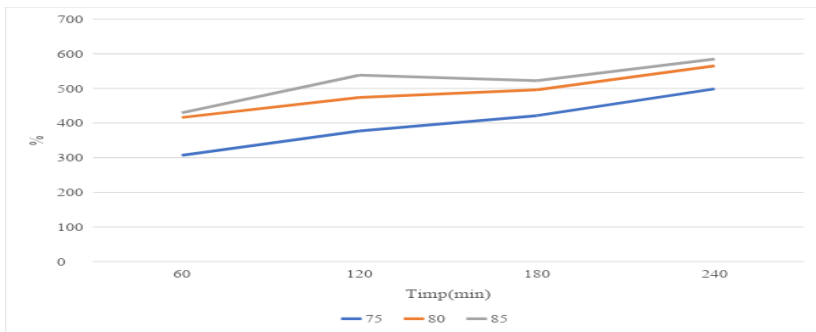


Fig. 3.4. Evoluția modificărilor de masă (%) a semințelor de amarant pe durata tratamentului sous-vide la un raport solid/lichid de $\frac{1}{5}$

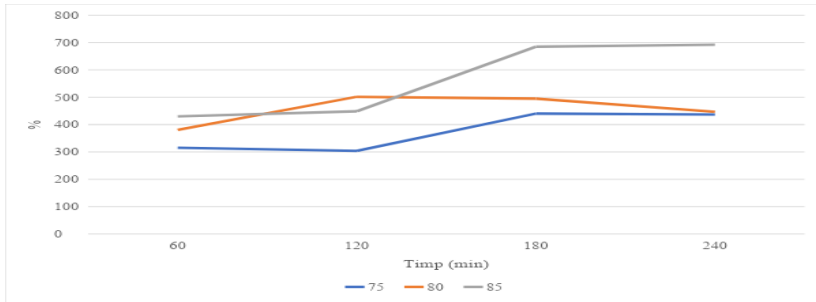


Fig. 3.5. Evoluția modificărilor de masă (%) a semințelor de amarant pe durata tratamentului sous-vide la un raport solid/lichid de 1/6

3.5. Analiza profilului de textură

În urma prelucrării parametrilor de forță, deplasare și timp în mod automat de către software-ul texturometrului pentru fiecare probă în parte au fost obținuți următorii parametri ai texturii: duritate- este forța de rezistență opusă de către probă după ce proba a fost compresată, adezivitate- este rezistența înregistrată atunci când pistonul texturometrului se desprinde de eșantion după prima compresie. Aceasta este calculată prin integrarea ariei negative de sub curbă.

Tab. 3.1. Evoluția durității și adezivității a amarantului în timpul procesului sous-vide

Nr.	temperatură [°C]	timp [min.]	Raport apă/ semințe amarant	Duritate (N)	Adezivitate (J)
1	75	60	1/4	8149,1	7,82
2	75	120	1/4	2948,0	191,3
3	75	180	1/4	343,0	248,7
4	75	240	1/4	321,0	259,3
5	80	60	1/4	755,5	301,2
6	80	120	1/4	401,0	306,5
7	80	180	1/4	431,0	302,9
8	80	240	1/4	387,7	407,4
9	85	60	1/4	576,0	523,9

Rezumatul tezei de doctorat

10	85	120	1/4	487,0	417,0
11	85	180	1/4	447,1	375,0
12	85	240	1/4	337,0	277,0
13	75	60	1/5	7424,7	16,7
14	75	120	1/5	3075,0	155,1
15	75	180	1/5	1701,0	211,9
16	75	240	1/5	286,6	239,2
17	80	60	1/5	1229,3	266,0
18	80	120	1/5	295,0	294,1
19	80	180	1/5	355,0	403,5
20	80	240	1/5	364,6	427,8
21	85	60	1/5	901,0	550,9
22	85	120	1/5	334,0	447,0
23	85	180	1/5	552,6	378,0
24	85	240	1/5	371,0	374,0
25	75	60	1/6	6717,3	21,9
26	75	120	1/6	6073,0	93,4
27	75	180	1/6	4062,0	163,9
28	75	240	1/6	281,0	333,4
29	80	60	1/6	1534,8	301,0
30	80	120	1/6	349,0	311,0
31	80	180	1/6	525,0	320,4
32	80	240	1/6	392,6	492,2
33	85	60	1/6	1264,0	328,3
34	85	120	1/6	396,0	304,8
35	85	180	1/6	272,5	332,2
36	85	240	1/6	232,0	235,6

3.6. Proiectarea modelului Box-Behnken și ajustarea acestuia pentru duritate, adezivitate, conținut total de aminoacizi și polifenoli

Modelul Box-Behnken a fost aplicat pentru a studia efectele combinate ale celor trei parametri (temperatură, timp și RSL) asupra parametrilor de textură ai amarantului (duritate și adezivitate), conținutului total de aminoacizi și polifenoli în timpul tratamentului sous-vide. Coeficienții de regresie ai celor patru modele propuse sunt prezentați în Tab 3.5 și 3.6; cele patru modele au fost semnificative ($p < 0.05$) iar valoarea F a fost de 10,34 pentru duritate, 9,4 pentru adezivitate, 2,34 pentru conținutul total de aminoacizi și 2,92 pentru conținutul total de polifenoli respectiv. Modelele dezvoltate pentru duritate, adezivitate, aminoacizi totali și polifenoli sunt semnificative din punct de vedere al ANOVA și regresia celor două modele este mai mare de 0,75. Parametrii (temperatură, timp și RSL) au prezentat efecte liniare semnificative asupra durității și adezivitate. Efectele de interacțiune dintre temperatură și timp, și timp și RSL au fost semnificative pentru duritate și adezivitate. Efectele pătratice nu au fost semnificative pentru cei doi parametri (duritate și adezivitate). În ceea ce privește conținutul total de aminoacizi, se poate observa efecte semnificative din punct de vedere statistic între timp și raportul solid/lichid în timp ce, în cazul conținutului total de polifenoli, se observă un efect liniar al timpului.

3.6.1. Grafice tip suprafață de răspuns

În figurile 3.6. și 3.7. este prezentată evoluția durității și adezivității în funcție de temperatură, timp și RSL. În cazul influenței combinate a temperaturii și timpului asupra durității se poate observa că, la temperaturi și timpuri ridicate, duritatea atinge cele mai mici valori. În cazul influenței combinate a temperaturii și RSL, duritatea a atins valori mici la temperaturi și RSL ridicate. Timpul și RSL influențează negativ duritatea. În cazul influenței combinate a temperaturii și timpului asupra adezivității se poate observa că, la timpul maxim aplicat și temperatura medie, aderența a atins valori ridicate în timp ce, la cele mai mici intervale de timp, duritatea a atins cele mai mici valori. În cazul influenței combinate a temperaturii și RSL adezivitatea a atins valori mici la temperaturi scăzute, indiferent de RSL aplicat.

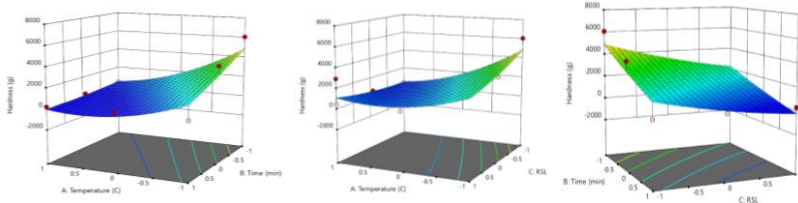


Fig. 3.6. Evoluția 3D a durtății amarantului în timpul tratamentului sous-vide

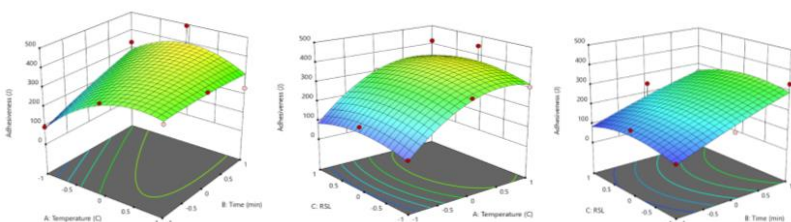


Fig. 3.7. Evoluția 3D a adezivității amarantului în timpul tratamentului sous-vide

3.7. Analiza de varianță a compoziției de aminoacizi în semințele de amarant în urma tratamentului sous-vide

Parametri tehnologici ai procesului sous vide asupra conținutului de aminoacizi din semințele de amarant influențează în mod direct varianța conținutului de aminoacizi. În ceea ce privește influența temperaturii asupra profilului de aminoacizi se poate observa o influență semnificativă ($p < 0,05$) în cazul prolinei, cu creșterea temperaturii aplicate crește conținutul de prolină, cel mai probabil datorită scindării proteinelor. În ceea ce privește timpul, în cazul alaninei și izoleucinei se poate observa o scădere semnificativă ($p < 0,05$).

3.8. Analiza de varianță a compoziției de compuși fenolici în semințele de amarant în urma tratamentului sous-vide

Compoziția compușilor fenolici din semințele de amarant tratate termic cu metoda sous-vide depinde de parametrii așa cum este prezentată în tabelul 3.4. Temperatura nu a modificat semnificativ compoziția compușilor fenolici cu excepția Mirecitină și Kaempferol unde diferențele sunt mici. Raportul solid/lichid dintre semințele de amarant și apa de hidratare nu a

influențat în mare măsură conținutul fenolic, înregistrând valori F nesemnificative. O posibilă explicație poate fi aceea că, fenolii se încadrează în clasa de compuși organici ce sunt puțin solubili în apă. Timpul de expunere a semințelor de amarant la tratamentul sous-vide reprezintă parametrul ce a influențat cel mai mult variația compoziției de compuși fenolici. Valoarea F indică faptul că un interval mai mare de timp de expunere influențează în mod direct variația compoziției anumitor fenoli cum ar fi Acidul protocatecuic sau Acidul galic cu o scădere semnificativă ($p < 0,05$).

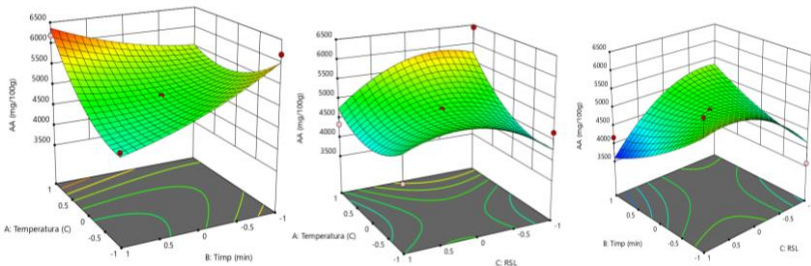


Fig. 3.8. Evoluția 3D a conținutului total de aminoacizi din semințele de amarant în timpul tratamentului sous-vide

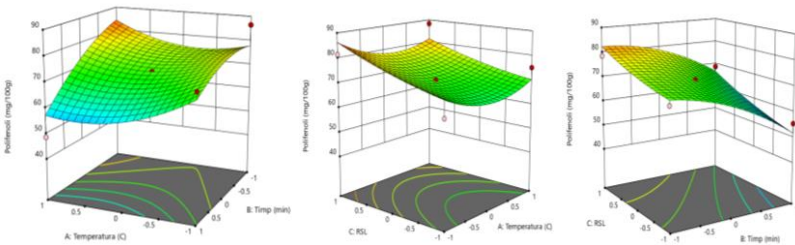


Fig. 3.9. Evoluția 3D a conținutului total de polifenoli din semințele de amarant în timpul tratamentului sous-vide

Capitolul IV. Cercetări privind obținerea unui aliment funcțional pe bază de semințe de amarant și ciocolată neagră 100% cuprinde rezultatele studiilor privind preocuparea pentru sănătate și implicit pentru alimente sănătoase. Ideea de a folosi pseudo-cereale ca și ingredient sustenabil în obținerea de alimente funcționale nu este nouă și este susținută de studii ce prezintă beneficiile lor pentru sănătate. Semințele de amarant, indiferent de soi, sunt puțin cunoscute în Europa și cu atât mai puțin în România. Interesul pentru ingrediente „sănătoase”, a consumatorilor europeni este în continuă creștere și astfel, semințele de amarant încep să fie căutate de către consumatori din toate categoriile de vârstă sau statut social, inclusiv de cei ce nu sunt vegani. Cu toate acestea, un mare dezavantaj al semințelor de amarant este reprezentat de proprietățile organoleptice scăzute ale acestora. Chiar dacă potențialul nutrițional este ridicat, studii care indică metode concrete de îmbunătățire a proprietăților organoleptice sunt puține, oferind posibilități limitate de obținere a unor produse alimentare cu caracteristici senzoriale ridicate.

Cu toate că semințele de amarant sunt mai puțin cunoscute de către consumatori la nivel european, ciocolata neagră reprezintă o gustare populară ce intră în compoziția produselor de cofetărie dar și de gastronomie din întreaga lume. Ciocolată neagră este compusă în mod principal din unt de cacao, uneori cu mici adaosuri de lichior de cacao sau cantități mici de zahăr și lecitină. Acest profil unic al ciocolatei negre îi conferă o textură distinctivă, cu densitate și punct de topire ridicate cât și proprietăți senzoriale specifice. Cea mai mare parte a structurii triacilglicerolului este formată din acizi mononesaturați și saturați cum ar fi: acid palmitic, acid stearic și acid oleic. Acest tip de structură simetrică a acizilor grași saturați cu acizi grași nesaturați indică faptul că este un ingredient cu caracteristicile dorite (Sonwai et al., 2014; Zyzelewicz et al., 2018). În industrie, folosirea ciocolatei negre ca și ingredient în realizarea de produse de cofetărie este realizată doar în condiții speciale deoarece, sunt întâmpinate probleme structurale cum ar fi: oxidarea acizilor grași, rezistența scăzută la atacul mucegaiurilor sau modul dificil de temperare în vederea prelucrării ulterioare (Beckett, 2017).

Metodele de tratament termic aplicate ingredientelor ce intră în componența batonului de ciocolată neagră cu semințe de amarant sunt determinante în obținerea unui produs atractiv din punct de vedere senzorial pentru consumatori. Metoda de temperare a ciocolatei ce a fost realizată ținând cont de temperatura optimă de 29 °C. Această valoare reprezintă un parametru esențial în păstrarea gustului specific dar și a prezervării capacității antioxidante în timp ce, metoda sous-vide are rol de protejare a compoziției

fizico-chimice, ținând cont de conținutul de vitamine și aminoacizi și mai puțin de caracteristicile senzoriale. Ciocolata neagră reprezintă un ingredient familiar pentru consumatori astfel încât, în combinație cu semințele de amarant ce sunt considerate mai degrabă un ingredient exotic și prea puțin cunoscut, duc la obținerea unui produs alimentar ce poate satisface diferite nevoi nutriționale prin consumul lor dar și alternativa unei gustări de tip nou obținută cu metode noi.

4.1. Prepararea probelor

Rețeta de obținere a celor 4 probe sub formă de batoane de ciocolată cu semințe de amarant a fost aplicată în laborator ținând cont de parametrii specifici pentru fiecare ingredient. Proba martor a fost formată doar din ciocolată neagră, fără adaos de semințe de amarant. Pentru temperarea ciocolatei a fost folosit un aparat de preparare de tip Thermomix TM5 produs de Vorwerk Germania cu funcție de temperare a ciocolatei. Ciocolata neagră a fost introdusă în cuva de gătire după care a fost setată temperatura de 30 °C, viteza cuțitului de omogenizare la 1500 rotații/minut și un timp de 8 minute pentru temperare. Temperatura setată la 30 °C este ideală pentru topirea integrală a cristalelor polimorfe instabile. După atingerea parametrului de temperatură și după expirarea timpului, aparatul de preparare Thermomix se oprește și se așteaptă răcirea cu 1°C a temperaturii ciocolatei. Astfel, la temperatura de 29 °C se toarnă ciocolata într-o formă de silicon termorezistent cu dimensiunea de 7.5 x 3 x 3 cm / cavitate. Cantitatea de ciocolată neagră turnată în formă pentru obținerea probei martor este de 100 g. Proba martor a fost păstrată la frigider la temperatura de 4 °C până la efectuarea analizelor.

Proba 1 a fost obținută prin temperarea ciocolatei negre la temperatura de 29 °C folosind o cantitate de 95g ciocolată neagră în care s-a adăugat 5g semințe de amarant preparate cu metoda sous-vide la parametrii 1/6 raport de hidratare, 180 minute timp de expunere și 85 °C temperatura de expunere. Omogenizarea celor două ingrediente a fost efectuată folosind aparatul de preparare Thermomix TM5 la care paleta de omogenizare a fost setată pentru viteza de 1000 rotații/minut, timp de 3 minute. După omogenizare, compoziția obținută a fost turnată într-o formă de silicon termorezistent cu dimensiunea de 7.5 x 3 x h3 cm / cavitate. Proba 1 a fost păstrată la frigider la temperatura de 4 °C până la efectuarea analizelor.

Proba 2 a fost obținută în condiții similare de parametrii folosiți la proba 1 cu excepția faptului că, a fost folosită o cantitate de 90 g ciocolată neagră și 10 g semințe de amarant preparate cu metoda sous-vide la parametrii 1/6 raport de hidratare, 180 minute timp de expunere și 85 °C temperatura de expunere.

Proba 3 a fost obținută în condiții similare de parametrii folosiți la probele 1 și 2 cu excepția faptului că, a fost folosită o cantitate de 80 g ciocolată neagră și 20g semințe de amarant preparate cu metoda sous-vide la parametrii 1/6 raport de hidratare, 180 minute timp de expunere și 85 °C temperatura de expunere.

Proba 4 a fost obținută în condiții similare de parametrii folosiți la probele 1, 2 și 3 cu excepția faptului că, a fost folosită o cantitate de 50g ciocolată neagră și 50g semințe de amarant preparate cu metoda sous-vide la parametrii 1/6 raport de hidratare, 180 minute timp de expunere și 85 °C temperatura de expunere.

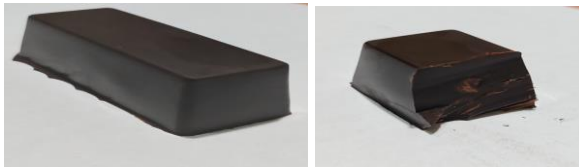


Fig.4.1. Baton de ciocolată 100% cacao, proba 0 (martor) exterior și secțiune

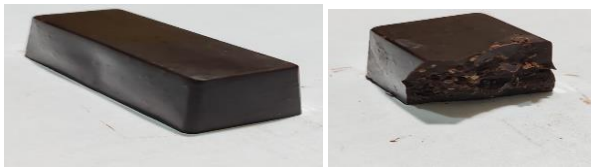


Fig. 4.2. Proba 1 baton 5% amarant/95% ciocolată, exterior și secțiune

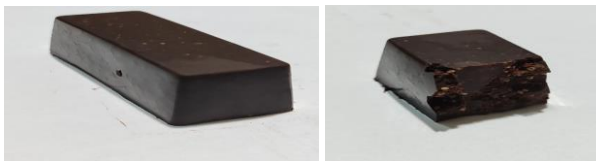


Fig. 4.3. Proba 2 baton 10% amarant/90% ciocolată, exterior și secțiune

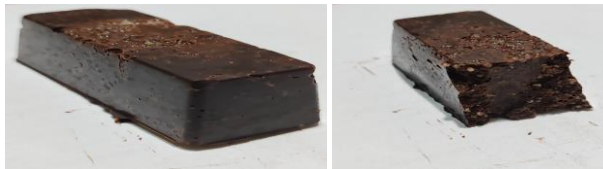


Fig. 4.4. Proba 3 baton 20% amarant/80% ciocolată, exterior și secțiune



Fig. 4.5. Proba 4 baton 50% amarant/50% ciocolată, exterior și secțiune

4.1.1. Analiza morfologică a cristalelor

O preocupare majoră în industria ciocolatei și a produselor cu ciocolată o reprezintă modificările din structura de cristale ce formează masa de ciocolată. Fenomenul denumit „înflorirea grăsimilor” se caracterizează prin pierderea luciului, culoare neatractivă dar în același timp se produce tranziția către o structură cristalină mai stabilă (Afoakwa et al., 2009; Beckett, 2017). Factorii ce influențează în mod direct cristalizarea necorespunzătoare și apariția fenomenului de „înflorirea grăsimilor” poate fi temperarea la temperaturi necorespunzătoare sau depozitarea la temperaturi necorespunzătoare. Astfel, cristalele de suprafață se formează perturbărilor și variațiilor de temperatură (Biswas et al, 2017). Un alt parametru important pentru o cristalizare neuniformă este reprezentat de procentul de adaos din ciocolată dar și de natura acestuia. În cazul de față, proba de ciocolată ce conține 50% semințe de amarant a prezentat o structură neuniformă de cristalizare. Acest fenomen a fost posibil din cauza faptului că, semințele de amarant tratate termic cu metoda sous-vide prezintă un anumit grad de conținut de apă. Conținutul de apă din semințele de amarant influențează în mod direct profilul morfologic al cristalelor.



Fig. 4.6. Imagine la microscop proba 0 (martor)- ciocolată 100% cacao



Fig. 4.7. Imagine la microscop proba 1 - 5% marant/95% ciocolată

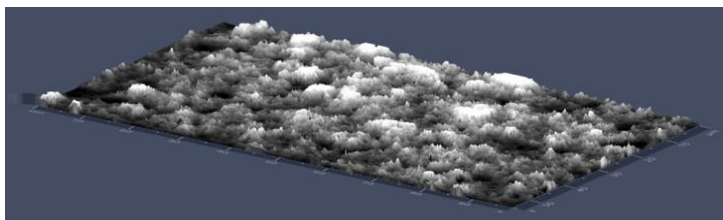


Fig. 4.8. Imagine la microscop proba 2 - 10% amarant/90% ciocolată



Fig. 4.9. Imagine la microscop proba 3 - 20% amarant/80% ciocolată

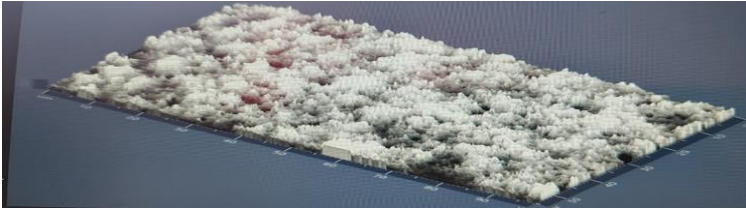


Fig. 4.10. Imagine la microscop proba 4 - 50% amarant/50% ciocolată

4.1.2. Analiza profilului de topire

Ciocolata neagră este o suspensie solidă non-newtoniană formată din pudră de cacao și zahăr (De Clercq et al., 2016). Calitatea dar și stabilitatea ciocolatei este puternic influențată de parametrii reologici. Profilul de topire al ciocolatei este asociat cu unele defecte de producție cum ar fi: pierderi pe flux sau deformări nedorite (Toker et al., 2023). În general doi factori majori influențează profilul de topire sau comportamentul de curgere al ciocolatei: formula ciocolatei și procesul de omogenizare cu alte ingrediente încorporate în masa de ciocolată pe timpul procesului de producție (Afoakwa et al., 2007).

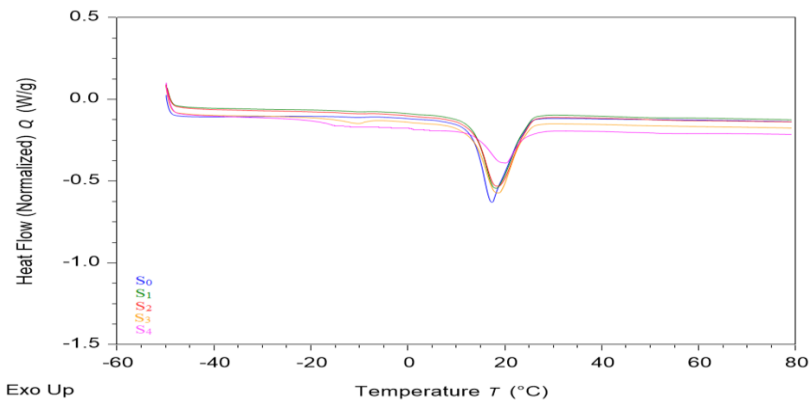


Fig.4.11. Profilul de topire al ciocolatei și probelor analizate la 20°C. S₀ reprezintă proba martor formată doar din ciocolată neagră, S₁ reprezintă proba cu 95% ciocolată neagră și 5% semințe de amarant, S₂ reprezintă proba cu 90% ciocolată neagră și 10% semințe de amarant, S₃ reprezintă proba cu 80% ciocolată neagră și 20% semințe de amarant și S₄ reprezintă proba cu 50% ciocolată neagră și 50% semințe de amarant.

4.1.3. Analiza texturii

În Fig.4.12. este reprezentat parametrul de textură duritate atât al probei martor care este formată din ciocolată simplă cât și a celorlalte probe ce conțin diferite procente de semințe de amarant. Determinarea parametrului de duritate a fost efectuat la temperatura camerei care a fost 20 °C. Această temperatură reprezintă temperatura optimă astfel încât, probele cu ciocolată să poată forma cristale pentru o textură bună și un profil de topire optim (Lonchamp & Hartel, 2004). După cum poate fi observat în Fig. 4.12, duritatea la proba 3 cu 20% semințe de amarant și proba 4 cu 50% semințe de amarant, a fost mai mică decât la proba martor. O posibilă explicație ar putea fi aceea că, probele cu un conținut mai ridicat de semințe de amarant conțin mai multe cristale de tipul β , decât proba martor formată doar din ciocolată neagră ce are un punct de topire mai mic decât cristalele de tip β (Biswas et al., 2016). La temperatura de 20 °C nu au fost observate foarte mari diferențe de duritate între proba 1 cu 5% semințe de amarant și proba 2 cu 10% semințe de amarant. Acest fapt se datorează procentului mic de semințe de amarant din compoziția celor două probe ce nu influențează în mod deosebit duritatea.

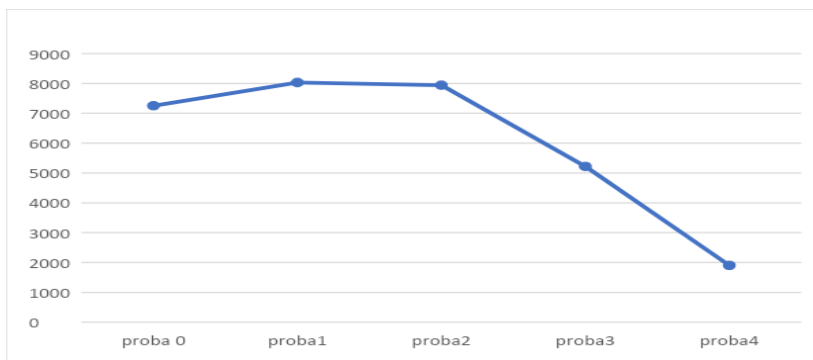


Fig.4.12. Parametrii de textură (duritate) ai probelor de ciocolată cu diferite procente de semințe de amarant

4.1.4. Evaluarea parametrilor de culoare

După ce probele au fost păstrate timp de 5 zile la temperatura de 4 °C, probele au fost analizate colorimetric. Temperatura de 4 °C reprezintă un parametru optim din punct de vedere al cristalizării probelor în vederea determinării parametrului de culoare. Grăsimea vegetală ce reprezintă principalul constituent din probele cu ciocolată are tendința de recrystalizare la suprafață (Afoakwa et al., 2009) la temperaturi mai mari de 20 °C și poate

da rezultate neconcludente din punct de vedere colorimetric. Recristalizarea grăsimilor poate schimba efectul de împrăștiere a luminii și afectează vizual caracteristicile de culoare (Lonchamp and Hartel, 2004). Proba martor a prezentat cea mai închisă culoare împreună cu proba 1 cu un conținut de 5% semințe de amarant. Pentru probele 2 și 3 conținutul de semințe de amarant a avut un efect nesemnificativ cu o valoare $L^* \leq 0,5$. Doar la proba 4 unde conținutul de semințe de amarant este de 50% culoarea a fost mai deschisă cu o valoare $L^* \leq 2,1$.

4.1.5. Determinarea conținutului de apă

În cazul acestui studiu, semințele de amarant au fost tratate termic cu metoda sous-vide și au fost hidratate cu 60 ml de apă pentru 10 g semințe de amarant (Procopet et Oroian, 2022). Datorită tratamentului termic specific, nu există pierderi de apă. Astfel, apa folosită pentru hidratarea semințelor de amarant în timpul tratamentului termic sous-vide este absorbită în totalitate de către semințe și nu poate fi evaporată (Procopet et Oroian, 2022). Cu ocazia mixării ciocolatei negre cu semințele de amarant în compoziția probelor 1,2,3 și 4 intră și o anumită cantitate de apă ce poate influența decisiv calitatea fizico-chimică cât și microbiologică a probelor. Unii parametri ai probelor (grad de cristalizare, culoare, aromă și gust) pot fi influențați de conținutul de umiditate (Da Silva et al., 2016).

Conform standardelor în vigoare conținutul de apă al specialităților de ciocolată este cuprins între 3% și 37%, în funcție de tipul de umpluturi cu mențiunea că, la suprafața produsului conținutul de apă poate să fie de maxim 3%. În acest studiu, proba martor formată din ciocolată simplă fără adaos de semințe de amarant a prezentat un grad de umiditate de 0,599%. Proba 1 cu 5% semințe de amarant 3,858% și proba 2 cu 10% semințe de amarant 7,212% au fost cel mai bine situate din punct de vedere al conținutului de umiditate. Proba 3 și proba 4 au prezentat valori ridicate de umiditate, 14,324% și 43,740%. Aceste valori au fost influențate în mod direct de conținutul procentual de semințe de amarant preparate cu metoda sous-vide. Datorită faptului că, metoda de tratament termic sous-vide presupune gătirea semințelor de amarant la temperatura de 85°C, aceasta are rol și de pasteurizare ceea ce face ca semințele de amarant să poată fi folosite în siguranță la realizarea produselor alimentare, inclusiv cele pe bază de ciocolată neagră.

4.1.6. Determinarea conținutului de polifenoli totali

Rezultatele conținutului de polifenoli totali a fost obținut cu ajutorul metodei de extracție convențională cu solvenți și exprimate în mg echivalent acid galic (EAG)/g s.u. Un factor important în extracția polifenolilor din

probele analizate a fost concentrația de solvent (etanol pur) s-a dovedit a fi eficient pentru extracția polifenolilor totali datorită ruperii legăturilor dintre substanțele dizolvate din matricea plantei permițând un transfer de masă bun al tuturor compușilor. Concentrația a fost mai ridicată pentru proba 4 datorită conținutului ridicat de compuși bioactivi. Cea mai mare valoare a polifenolilor totali a fost de 201,23 mg EAG/100 g s.u., pentru proba 4 cu un conținut de 50% semințe de amarant. Cea mai mică valoare a conținutului polifenoli totali a fost înregistrată pentru proba martor cu o valoare înregistrată de 194,66 mg EAG/100 g s.u. Recuperarea optimă a compușilor fenolici este diferită de la o probă la alta și se bazează pe varietatea matricii vegetale și pe compușii bioactivi din matrice, precum și pe combinațiile de solvenți, timpi de extracție și temperaturile utilizate (Galanakis, 2018).

4.1.7. Determinarea conținutului de flavonoide totale

În regnul vegetal, flavonoidele reprezintă cea mai răspândită clasă de polifenoli. Rezultatele obținute în acest studiu scot în evidență faptul că, cel mai mare conținut de flavonoide totale a fost determinat în proba 4 ce conține 50% ciocolată neagră și 50% semințe de amarant de 300,28 mg EQ/g s.u. în comparație cu proba martor unde rezultatul a fost de 296,36 mg EQ/g s.u. Acest rezultat a fost obținut pentru extracția cu etanol pur. Diferența de rezultate dintre proba 4 cu cea mai ridicată concentrație și proba 1 cu cea mai scăzută valoare de 289,63 este acceptabilă ca și valoare. Acest studiu a scos în evidență faptul că, concentrația de quercitnă este la fel de ridicată în toate probele, fără a fi influențată de cantitatea de semințe de amarant din compoziția probelor.

4.1.8. Analiza senzorială

Proprietățile senzoriale ale probelor din ciocolată neagră și semințe de amarant tratate termic cu metoda sous-vide sunt prezentate în fig. 4.13. Proba 2 formată din ciocolată neagră și semințe de amarant nu a variat foarte mult în evaluările participanților la studiu și a obținut cel mai mare scor la toate criteriile de evaluare. Proba 4 formată din 50% ciocolată neagră și 50% semințe de amarant a fost evaluată cu cel mai mic scor la toate criteriile de evaluare și împreună cu proba 3 a avut cele mai mari fluctuații în preferințele participanților la studiu. Aroma și aspectul exterior au obținut cel mai bun scor dintre toți parametri de evaluare.

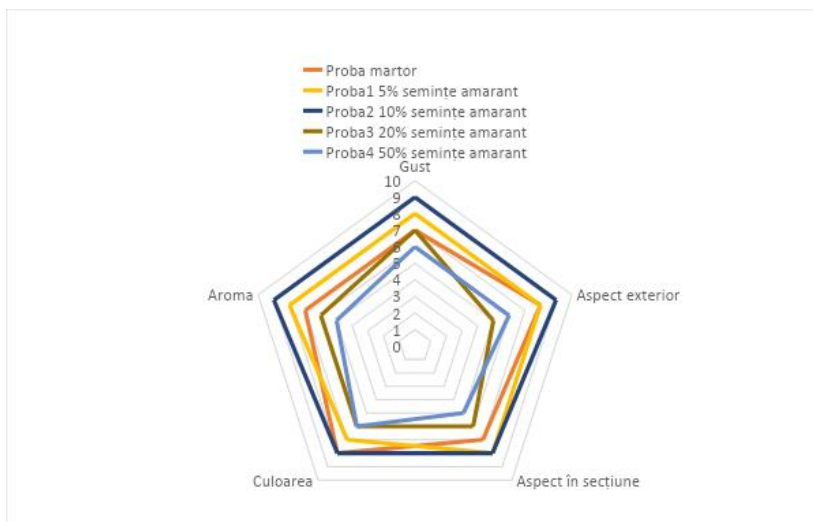


Fig.4.13. evaluarea senzorială a probelor de ciocolată neagră cu 5%, 10%, 20% și 50% semințe de amarant tratate termic cu metoda sous-vide.

Capitolul 5 prezintă *Concluzii generale* ale cercetărilor realizate în această teză de doctorat.

Teza de doctorat intitulată „CERCETĂRI PRIVIND IMPACTUL TRATAMENTULUI TERMIC UTILIZ ÎND METODA SOUS-VIDE ASUPRA CARACTERISTICILOR FIZICO-CHIMICE ALE SEMINTELOR DE AMARANT ȘI DEZVOLTAREA DE NOI PRODUSE ALIMENTARE FUNCȚIONALE” a urmărit ca studiile teoretice, precum și cele experimentale realizate să prezinte nivelul actual de cunoaștere și de dezvoltare cu privire la domeniul de dezvoltarea metode lor alternative de preparare a semințelor de amarant folosind metoda sous-vide în vederea proiectării și dezvoltării de noi produse alimentare funcționale. În această teză de doctorat este prezentat potențialul de valorificare a semințelor de amarant pe baza caracterizării fizico-chimice prin folosire metodei sous-vide. Pe baza cercetărilor realizate în cadrul acestei lucrări au rezultat următoarele concluzii generale:

-Semințele de amarant (*Amaranthus cruentus* L.) reprezintă un tip important de pseudocereale potrivite pentru valorificare în industria

alimentară sub diferite forme datorită conținutului ridicat de aminoacizi și compuși fenolici.

-Studierea compoziției semințelor de amarant (*Amaranthus cruentus* L.), determinarea parametrilor pentru folosirea metodei sous-vide și caracterizarea proprietăților fizico-chimice a permis încadrarea acestora ca sursă importantă de aminoacizi esențiali.

-Pentru tratamentul termic al semințelor de amarant (*Amaranthus cruentus* L.) a fost folosită metoda sous-vide ce permite gătitul acestora la o temperatură joasă de 85 °C permițând păstrarea la valori ridicate a conținutului de aminoacizi și polifenoli. Metoda sous-vide permite astfel o mai bună valorificare a semințelor de amarant.

-Studiul asupra semințelor de amarant (*Amaranthus cruentus* L.) tratate termic cu metoda sous-vide a fost realizat prin utilizarea echipamentelor din dotarea Facultății de Inginerie Alimentară din Suceava.

-Au fost analizate 36 de probe de semințe de amarant unde au fost folosiți parametri de timp, temperatură și raport semințe/apă diferiți pentru a putea identifica varianta cea mai bună pentru consum. Tehnica de tratament termic la care au fost supuse probele a fost sous-vide, o tehnică modernă și inovatoare din punct de vedere al gătirii pseudocerealelor.

-În urma analizei celor 36 de probe de semințe de amarant din punct de vedere al parametrilor de textură, au fost constatate diferențe semnificative între probele la care raportul apă/ semințe de amarant a fost 4/1 în favoarea celor cu un raport 6/1

-Studiul asupra parametrilor folosiți pentru aplicarea metodei sous-vide a fost efectuat cu determinarea durității produsului final. S-a observat că parametrul de timp a fost deosebit de important iar cele mai bune rezultate au fost obținute cu timpul de expunere de 180 minute. Temperatura a reprezentat un alt parametru important ce a influențat semnificativ rezultatul final. Cel mai bun rezultat a fost înregistrat pentru probele ce au fost preparate cu metoda sous-vide la temperatura de 85 °C. A fost stabilit că raportul optim pentru parametrul solid / lichid a fost de 1 / 6.

-Studiul ce a vizat comparația între structura fizico-chimică a semințelor de amarant (*Amaranthus cruentus* L.) netratate termic și semințele de amarant preparate cu metoda sous-vide au evidențiat faptul că diferențele nu sunt semnificative și astfel, metoda sous-vide reprezintă o alternativă de a găti semințele de amarant fără a pierde cea mai mare parte a compoziției fizico-chimice.

-Studiul asupra modificărilor de masă de pe parcursul folosirii metodei sous-vide au scos în evidență faptul că din cauza vidării semințelor de amarant (*Amaranthus cruentus* L.) împreună cu apa de hidratare, nu există pierderi deoarece apa gelatinizează amidonul din structura semințelor de

amarant (*Amaranthus cruentus* L.) și formează o masă compactă sub influența temperaturii aplicate.

-Studiul analizei de varianță a compoziției de aminoacizi în semințele de amarant în urma tratamentului sous-vide au relevat faptul că aminoacizii esențiali sunt prezenți în cantități ridicate. Semnificativi din acest punct de vedere sunt: valina, leucina, izoleucina, treonina și fenilalanina. Cea mai ridicată valoare de aminoacizi totali a fost înregistrată la temperatura de 60 °C.

-Studiul analizei de varianță a compoziției de compuși fenolici în semințele de amarant în urma tratamentului sous-vide a avut ca scop identificarea principalilor compuși fenolici ce reprezintă o caracteristică importantă din punct de vedere a capacității antioxidante. Cei mai importanți compuși fenolici identificați au fost acidul galic, acidul protocatecuic, acidul rozmarinic, miricetina, luteolina și kaempferol.

-Semințele de amarant (*Amaranthus cruentus* L.) tratate termic cu metoda sous-vide au stat la baza dezvoltării unui produs nou alimentar în componența căruia au fost introdusă și ciocolata neagră 100 % cacao. Studiul batoanelor de ciocolată obținute a fost făcut pentru a caracteriza compoziția fizico-chimică a celor 4 probe cu procentaje diferite de adaos de semințe de amarant tratate termic cu metoda sous-vide.

-Stabilirea variantei optime pentru batoanele de ciocolată a fost stabilită atât pe baza caracterizării fizico-chimice a fiecărei probe cât și pe baza rezultatelor obținute în baza unui studiu de analiză senzorială efectuat împreună cu un grup de studenți voluntari din Universitatea „ Ștefan Cel Mare “ din Suceava.

Contribuția originală a tezei prezintă informații importante în cercetarea semințelor de amarant ca sursă importantă de aminoacizi și compuși fenolici. Tratamentul termic sous-vide reprezintă o metodă inovativă și extrem de importantă pentru obținerea de noi alimente funcționale. Realizarea unui baton de ciocolată 100 % cacao în combinație cu semințe de amarant (*Amaranthus cruentus* L.) tratate termic cu metoda sous-vide reprezintă un pas important în dezvoltarea ulterioară de noi produse alimentare funcționale.

DISEMINAREA REZULTATELOR CERCETĂRILOR

Rezultatele cercetărilor experimentale efectuate în vederea îndeplinirii obiectivelor stabilite au fost valorificate prin publicarea sau comunicarea unor lucrări științifice, după cum urmează:

A. Articole publicate în reviste indexate ISI Web of Knowledge

1. Procopet, O., & Oroian, M. (2022). Amaranth seed polyphenol, fatty acid and amino acid profile. *Applied Sciences*, 12(4), 2181.
<https://www.mdpi.com/2076-3417/12/4/2181>

B. Articole publicate în reviste indexate în Baze de Date Internaționale (BDI)

1. Procopet, O., & Oroian, M. (2022). Changes in texture profile of amaranth seeds subjected to sous vide treatment. *Food and Environment Safety Journal*, 21(3).
2. Procopet, O., & Oroian, M., (2024), Research regarding chocolate bar enriched development with sous-vide treatment amarant seeds. *Food and Environment Safety Journal*, 23(2)
3. Procopet, O., & Oroian, M., (2024). Changes in aminoacid and phenoloc profile of amarant seeds subjected to sous vide treatment. *Food and Environment Safety Journal*, 23(3)

C. Lucrări comunicate la manifestări științifice internaționale

1. Procopet O. & Oroian M. Phiso-chemical characterization and antioxidant activity of amaranth seeds (*Amaranthus caudatus* L.) International Conference for Students - STUDENT IN BUCOVINA December 18th 2020
http://fia-old.usv.ro/fiajournal/Student_in_Bucovina_2020/
- 2.. Procopet O. & Oroian M. Amaranth seeds (*Amaranthus caudatus* L.) a source of bioactive compounds The International Conference BIOTECHNOLOGIES, PRESENT AND PERSPECTIVES Facultatea de Inginerie Alimentară, Universitatea „Ștefan cel Mare” din Suceava (România), 5 noiembrie 2021.
https://www.mdpi.com/journal/applsci/special_issues/8th_Conference_Biot_echnologies

3. Procopet O.& Oroian M. Amaranth seeds:hardness changes folloving the use of the sous-vide cooking technique The 88 International scientific conference of young scientists and students "Youth scientific achievements to the 21st century nutrition problem solution" National University of Food Technologies Kyiv, Ukraine April – May, 2022

<http://conferencenuft.ho.ua>

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Adler, N. E., Boyce, T., Chesney, M. A., Cohen, S., Folkman, S., Kahn, R. L., & Syme, S. L. (1994). Socioeconomic status and health: the challenge of the gradient. *American psychologist*, 49(1), 15.
2. Afoakwa, E. O., Paterson, A., & Fowler, M. (2007). Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(6), 290–298. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.02.002>
3. Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Vieira, J. (2009). Fat bloom development and structure-appearance relationships during storage of under-tempered dark chocolates. *Journal of Food Engineering*, 91(4), 571–581. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.10.011>
4. Alagal, R. I., AlFaris, N. A., Alshammari, G. M., ALTamimi, J. Z., AlMousa, L. A., & Yahya, M. A. (2022). Kaempferol attenuates doxorubicin-mediated nephropathy in rats by activating SIRT1 signaling. *Journal of Functional Foods*, 89, 104918. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2021.104918>
5. Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, 119(2), 770–778. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.07.032>
6. Antoniewska, A., Rutkowska, J., Pineda, M. M., & Adamska, A. (2018). Antioxidative, nutritional and sensory properties of muffins with buckwheat flakes and amaranth flour blend partially substituting for wheat flour. *LWT - Food Science and Technology*, 89. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.039>
7. Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară. (2011). Utilizarea bazei de date cuprinzătoare a EFSA privind consumul alimentar european în evaluarea expunerii. *Jurnalul EFSA* , 9 (3), 2097.
8. Baldwin, D. E. (2012). Sous vide cooking: A review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 1(1), 15-30.
9. Barba de la Rosa, A. P., Fomsgaard, I. S., Laursen, B., Mortensen, A. G., Olvera-Martínez, L., Silva-Sánchez, C., Mendoza-Herrera,

- A., González-Castañeda, J., & De León-Rodríguez, A. (2009a). Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal of Cereal Science*, 49(1). <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.07.012>
10. Barba de la Rosa, A. P., Fomsgaard, I. S., Laursen, B., Mortensen, A. G., Olvera-Martínez, L., Silva-Sánchez, C., Mendoza-Herrera, A., González-Castañeda, J., & De León-Rodríguez, A. (2009b). Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal of Cereal Science*, 49(1), 117–121. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2008.07.012>
11. Barbin, D. F., Natsch, A., & Müller, K. (2011). Improvement of functional properties of rapeseed protein concentrates produced via alcoholic processes by thermal and mechanical treatments. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35(3). <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2009.00476.x>
12. Bastos, G. M., Júnior, M. S. S., Caliari, M., de Araujo Pereira, A. L., de Moraes, C. C., & Campos, M. R. H. (2016). Physical and sensory quality of gluten-free spaghetti processed from amaranth flour and potato pulp. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 128–136
13. Beckett, S. T. (2017). *Beckett's industrial chocolate manufacture and use* (5th, Ed.). Willey Blackwell.
14. Biswas, N., Cheow, Y. L., Tan, C. P., & Siow, L. F. (2016). Blending of palm mid-fraction, refined bleached deodorized palm kernel oil or palm stearin for cocoa butter alternative. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(10), 1415–1427. <https://doi.org/10.1007/s11746-016-2880-z>
15. Biswas, N., Cheow, Y. L., Tan, C. P., & Siow, L. F. (2017). Physical, rheological and sensorial properties, and bloom formation of dark chocolate made with cocoa butter substitute (CBS). *LWT - Food Science and Technology*, 82, 420–428. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.039>
16. Botinestean, C., Keenan, D. F., Kerry, J. P., & Hamill, R. M. (2016). The effect of thermal treatments including sous-vide, blast freezing and their combinations on beef tenderness of *M. ásemitendinosus* steaks targeted at elderly consumers. *LWT*, 74, 154–159.
17. Burešová, I., Tokár, M., Mareček, J., Hřivna, L., Faměra, O., & Šottníková, V. (2017). The comparison of the effect of added

- amaranth, buckwheat, chickpea, corn, millet and quinoa flour on rice dough rheological characteristics, textural and sensory quality of bread. *Journal of Cereal Science*, 75, 158-164.
18. Chauhan, A., Saxena, D. C., & Singh, S. (2015). Total dietary fibre and antioxidant activity of gluten free cookies made from raw and germinated amaranth (*Amaranthus* spp.) flour. *LWT-Food Science and Technology*, 63(2), 939-945.
 19. Christensen, L., Erthbjerg, P., Løje, H., Risbo, J., van den Berg, F. W., & Christensen, M. (2013). Relationship between meat toughness and properties of connective tissue from cows and young bulls heat treated at low temperatures for prolonged times. *Meat science*, 93(4), 787-795.
 20. Conte, P., Del Caro, A., Urgeghe, P. P., Petretto, G. L., Montanari, L., Piga, A., & Fadda, C. (2020). Nutritional and aroma improvement of gluten-free bread: is bee pollen effective?. *Lwt*, 118, 108711.
 21. Cornicelli, M., Saba, M., Machello, N., Silano, M., & Neuhold, S. (2018). Nutritional composition of gluten-free food versus regular food sold in the Italian market. *Digestive and Liver Disease*, 50(12), 1305-1308.
 22. Czaplicki, S., Ogródowska, D., Zadernowski, R., & Derewiaka, D. (2012). Characteristics of biologically-active substances of amaranth oil obtained by various techniques. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 62(4).
 23. da Silva, B. V., Barreira, J. C., & Oliveira, M. B. P. (2016). Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 144-158.
 24. De Clercq, N., Kadivar, S., Van de Walle, D., De Pelsmaeker, S., Ghelleyck, X., & Dewettinck, K. (2016). Functionality of cocoa butter equivalents in chocolate products. *European Food Research and Technology*, 243(2), 309–321. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2745-6>
 25. de la Barca, A. M. C., Rojas-Martínez, M. E., Islas-Rubio, A. R., & Cabrera-Chávez, F. (2010). Gluten-free breads and cookies of raw and popped amaranth flours with attractive technological and nutritional qualities. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65, 241-246.
 26. De Meo, B., Freeman, G., Marconi, O., Booer, C., Perretti, G., & Fantozzi, P. (2011). Behaviour of malted cereals and pseudo-cereals for gluten-free beer production. *Journal of the Institute of Brewing*, 117(4), 541-546.

27. Di Cairano, M., Galgano, F., Tolve, R., Caruso, M. C., & Condelli, N. (2018). Focus on gluten free biscuits: Ingredients and issues. *Trends in Food Science & Technology*, 81, 203-212.
28. Diaz, JMR, Kirjoranta, S., Tenitz, S., Penttilä, PA, Serimaa, R., Lampi, AM, & Jouppila, K. (2013). Utilizarea amarantului, quinoei și kañiwa în gustări extrudate pe bază de porumb. *Journal of Cereal Science* , 58 (1), 59-67.
29. Dominguez-Hernandez, E., Salaseviciene, A., & Ertbjerg, P. (2018). Low-temperature long-time cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms. *Meat Science*, 143, 104-113.
30. El-kott, A. F., Abd-Lateif, A. E. K. M., Khalifa, H. S., Morsy, K., Ibrahim, E. H., Bin-Jumah, M., Abdel-Daim, M. M., & Aleya, L. (2020). Kaempferol protects against cadmium chloride-induced hippocampal damage and memory deficits by activation of silent information regulator 1 and inhibition of poly (ADP-Ribose) polymerase-1. *Science of the Total Environment*, 728. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138832>
31. Estrada-Solis, J., Figueroa-Rodriguez, K. A., Figueroa-Sandoval, B., Hernandez-Rosas, F., & Hernandez-Cazares, A. S. (2016). Microstructure and physical changes in the Mexican cooked lamb meat barbacoa made with chilled and frozen meat. *Meat science*, 118, 122-128.
32. Falowo, A. B., Muchenje, V., & Hugo, A. (2017). Effect of sous-vide technique on fatty acid and mineral compositions of beef and liver from Bonsmara and non-descript cattle. *Annals of Animal Science*, 17(2), 565-580.
33. Fan, L., Zhao, X., Tong, Q., Zhou, X., Chen, J., Xiong, W., Fang, J., Wang, W., & Shi, C. (2018). Interactions of Dihydromyricetin, a Flavonoid from Vine Tea (*Ampelopsis grossedentata*) with Gut Microbiota. *Journal of Food Science*, 83(5). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14128>
34. FAO. Food and Agriculture Organization Regional Office for Latin America, and the Caribbean PROINPA. 2011. Quinoa: An Ancient Crop to Contribute to World Food Security. Santiago: FAO Regional Office for Latin American and the Caribbean. Retrieved from: http://www.fao.org/alc/file/media/pubs/2011/cultivo_quinoa_en.pdf.
35. Fiorda, F. A., Soares Jr, M. S., da Silva, F. A., Grosmann, M. V., & Souto, L. R. (2013). Microestructure, texture and colour of gluten-

- free pasta made with amaranth flour, cassava starch and cassava bagasse. *LWT-Food Science and Technology*, 54(1), 132-138.
36. Foschia, M., Horstmann, S., Arendt, E. K., & Zannini, E. (2016). Nutritional therapy–Facing the gap between coeliac disease and gluten-free food. *International journal of food microbiology*, 239, 113-124.
37. Galanakis, C. M. (2018). Phenols recovered from olive mill wastewater as additives in meat products. *Trends in food science & technology*, 79, 98-105.
38. Gorinstein, S., Pawelzik, E., Delgado-Licon, E., Haruenkit, R., Weisz, M., & Trakhtenberg, S. (2002). Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), 886-891.
39. Han, Y., Chi, J., Zhang, M., Zhang, R., Fan, S., Huang, F., ... și Liu, L. (2019). Caracterizarea saponinelor și compușilor fenolici: activitate antioxidantă și efecte inhibitoare asupra α -glucozidazei în diferite soiuri de quinoa colorată (*Chenopodium quinoa* Willd). *Bioscience, biotehnologie și biochimie*, 83 (11), 2128-2139.
40. Hlinková, A., Bednářová, A., Havrlentová, M., Šupová, J., & Čičová, I. (2013). Evaluation of fatty acid composition among selected amaranth grains grown in two consecutive years. *Biologia*, 68(4), 641-650.
41. Iborra-Bernad, C., Philippon, D., García-Segovia, P., & Martínez-Monzó, J. (2013). Optimizing the texture and color of sous-vide and cook-vide green bean pods. *LWT-Food Science and Technology*, 51(2), 507-513.
42. James, B. J., & Yang, S. W. (2012). Effect of cooking method on the toughness of bovine *M. semitendinosus*. *International Journal of Food Engineering*, 8(2).
43. Joshi, K., Kushwaha, A., & Kulshrestha, K. (2019). Development and Evaluation of Amaranth-Soy-Wheat Composite Flours. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 9(2), 122-133.
44. Joye, I. (2019). Protein digestibility of cereal products. *Foods*, 8(6), 199.
45. Junkuszew, M., Oleszek, W., Jurzysta, M., Piancente, S., & Pizza, C. (1998). Triterpenoid saponins from the seeds of *Amaranthus cruentus*. *Phytochemistry*, 49(1), 195-198.
46. Laakkonen, E., Sherbon, J. W., & Wellington, G. H. (1970). Low-temperature, long-time heating of bovine muscle 3. Collagenolytic activity. *Journal of Food Science*, 35(2), 181-184.

47. Lamothe, L. M., Srichuwong, S., Reuhs, B. L., & Hamaker, B. R. (2015). Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans. *Food chemistry*, 167, 490-496.
48. Lasa, A., Etaio, I., Bustamante, M. A., Martínez, O., Miranda, J., Rada, D., ... & Txurruka, I. (2017). Sustainability and Social Responsibility in the Degree in Human Nutrition and Dietetics: definition of the competence and development of evaluation tools. In *EDULEARN17 Proceedings* (pp. 9167-9173). IATED.
49. Lonchamp, P., & Hartel, R. W. (2004). Fat bloom in chocolate and compound coatings. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(4), 241-274.
50. Makdoud, S., & Rosentrater, K. (2017). Development and testing of gluten-free pasta based on rice, quinoa and amaranth flours.
51. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. In *American Journal of Clinical Nutrition* (Vol. 79, Issue 5). <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
52. Miranda, J., Lasa, A., Bustamante, M. A., Churruca, I., & Simon, E. (2014). Nutritional differences between a gluten-free diet and a diet containing equivalent products with gluten. *Plant foods for human nutrition*, 69, 182-187.
53. Mithila, M. V., & Khanum, F. (2015). Effectual comparison of quinoa and amaranth supplemented diets in controlling appetite; a biochemical study in rats. *Journal of food science and technology*, 52(10), 6735-6741.
54. Mroczek, A. (2015). Phytochemistry and bioactivity of triterpene saponins from *Amaranthaceae* family. *Phytochemistry Reviews*, 14, 577-605.
55. Naqash, F., Gani, A., Gani, A., & Masoodi, F. A. (2017). Gluten-free baking: Combating the challenges-A review. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 98-107.
56. Oroian, M., Ursachi, F., & Dranca, F. (2020a). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from crude pollen. *Antioxidants*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/antiox9040322>
57. Oroian, M., Ursachi, F., & Dranca, F. (2020b). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from crude pollen. *Antioxidants*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/antiox9040322>
58. Oz, F., & Seyyar, E. (2016). Formation of heterocyclic aromatic amines and migration level of bisphenol-A in sous-vide-cooked

- trout fillets at different cooking temperatures and cooking levels. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(15), 3070-3082.
59. Oz, F., Aksu, M. I., & Turan, M. (2017). The effects of different cooking methods on some quality criteria and mineral composition of beef steaks. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(4), e13008.
60. Ozsoy, N., Yilmaz, T., Kurt, O., Can, A., & Yanardag, R. (2009). In vitro antioxidant activity of *Amaranthus lividus* L. *Food Chemistry*, 116(4). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.036>
61. Paśko, P., Sajewicz, M., Gorinstein, S., & Zachwieja, Z. (2008). Analysis of selected phenolic acids and flavonoids in *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* seeds and sprouts by HPLC. *Acta chromatographica*, 20(4), 661-672.
62. Pauliuc, D., Dranca, F., & Oroian, M. (2020). Antioxidant activity, total phenolic content, individual phenolics and physicochemical parameters suitability for Romanian honey authentication. *Foods*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/foods9030306>
63. Pelegrini, A., & Petroski, E. L. (2009). Physical inactivity and its association with nutritional status, body image dissatisfaction and sedentary behavior in adolescents of public schools. *Revista Paulista de Pediatria*, 27, 366-373.
64. Prada, M., Godinho, C., Rodrigues, D. L., Lopes, C., & Garrido, M. V. (2019). The impact of a gluten-free claim on the perceived healthfulness, calories, level of processing and expected taste of food products. *Food quality and preference*, 73, 284-287.
65. Procopet, O., & Oroian, M. (2022). Amaranth seed polyphenol, fatty acid and amino acid profile. *Applied Sciences*, 12(4), 2181
66. Procopet, O., & Oroian, M. (2022). Changes in texture profile of amaranth seeds subjected to sous vide treatment. *Food and Environment Safety Journal*, 21(3).
67. Procopet, O., & Oroian, M., (2024), Research regarding chocolate bar enriched development with sous-vide treatment amarant seeds. *Food and Environment Safety Journal*, 23(2)
68. Procopet, O., & Oroian, M., (2024). Changes in aminoacid and phenoloc profile of amarant seeds subjected to sous vide treatment. *Food and Environment Safety Journal*, 23(3)
69. Repo-Carrasco-Valencia, R., Hellström, J. K., Pihlava, J. M., & Mattila, P. H. (2010). Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*).

- Food Chemistry, 120(1).
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.087>
70. Rinaldi, M., Dall'Asta, C., Meli, F., Morini, E., Pellegrini, N., Gatti, M., & Chiavaro, E. (2013). Physicochemical and microbiological quality of sous-vide-processed carrots and brussels sprouts. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 3076-3087.
71. Rinaldi, M., Dall'Asta, C., Meli, F., Morini, E., Pellegrini, N., Gatti, M., & Chiavaro, E. (2013). Physicochemical and microbiological quality of sous-vide-processed carrots and brussels sprouts. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 3076-3087.
72. Rinaldi, M., Dall'Asta, C., Paciulli, M., Cirlini, M., Manzi, C., & Chiavaro, E. (2014). A novel time/temperature approach to sous vide cooking of beef muscle. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 2969-2977.
73. Roascio-Albistur, A., & Gámbaro, A. (2018). Consumer perception of a non-traditional market on sous-vide dishes. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 11, 20-24.
74. Roldán, M., Antequera, T., Martín, A., Mayoral, A. I., & Ruiz, J. (2013). Effect of different temperature–time combinations on physicochemical, microbiological, textural and structural features of sous-vide cooked lamb loins. *Meat science*, 93(3), 572-578.
75. Roldan, M., Loebner, J., Degen, J., Henle, T., Antequera, T., & Ruiz-Carrascal, J. (2015). Advanced glycation end products, physico-chemical and sensory characteristics of cooked lamb loins affected by cooking method and addition of flavour precursors. *Food chemistry*, 168, 487-495.
76. Saikia, A., & Mahanta, N. (2013). A study on nutritional status of elderly in terms of body mass index in Urban Slums of Guwahati City. *J Indian Acad Geriatr*, 9(1), 20-2.
77. Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. In *The American journal of clinical nutrition* (Vol. 81, Issue 1 Suppl).
<https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.215s>
78. Schraer, W. D., & Stoltze, H. J. (1999). *Biology: The study of life.* (No Title).
79. Sonwai, S., Kaphueakngam, P., & Flood, A. (2014). Blending of mango kernel fat and palm oil mid-fraction to obtain cocoa butter equivalent. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 2357-2369.

80. Sun, W. L., Li, X. Y., Dou, H. Y., Wang, X. D., Li, J. Da, Shen, L., & Ji, H. F. (2021). Myricetin supplementation decreases hepatic lipid synthesis and inflammation by modulating gut microbiota. *Cell Reports*, 36(9), 109641. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2021.109641>
81. Tabaraki, R., Heidarizadi, E., & Benvidi, A. (2012). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 98. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.06.038>
82. Tang, Y., Li, X., Chen, P. X., Zhang, B., Liu, R., Hernandez, M., ... & Tsao, R. (2016). Assessing the fatty acid, carotenoid, and tocopherol compositions of amaranth and quinoa seeds grown in Ontario and their overall contribution to nutritional quality. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(5), 1103-1110.
83. Toker, O. S., Pirouzian, H. R., Palabiyik, I., & Konar, N. (2023). Chocolate flow behavior: Composition and process effects. *Critical reviews in food science and nutrition*, 63(19), 3788-3802.
84. Tornberg, E. V. A. (2005). Effects of heat on meat proteins—Implications on structure and quality of meat products. *Meat science*, 70(3), 493-508.
85. Trbovich, V. R. (2017). The Effects of Sous Vide Cooking on Tenderness and Protein Concentration in Young Fed Beef and Cow Semitendinosus Muscles (Master's thesis, The Ohio State University).
86. Urcan, A. C., Criste, A. D., Dezmirean, D. S., Bobiş, O., Bonta, V., Dulf, F. V., Mărgăoan, R., Cornea-Cipcigan, M., & Campos, M. G. (2021). Botanical origin approach for a better understanding of chemical and nutritional composition of beebread as an important value-added food supplement. *LWT*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111068>
87. Xhakollari, V., Canavari, M., & Osman, M. (2019). Factors affecting consumers' adherence to gluten-free diet, a systematic review. *Trends in food science & technology*, 85, 23-33.
88. Yu, T. Y., Morton, J. D., Clerens, S., & Dyer, J. M. (2017). Cooking-induced protein modifications in meat. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 141-159.
89. Zehring, J., Reim, V., Schröter, D., Neugart, S., Schreiner, M., Rohn, S., & Maul, R. (2015). Identification of novel saponins in vegetable amaranth and characterization of their hemolytic activity. *Food Research International*, 78, 361-368.

90. Zhou, M., Wang, H., Zeng, X., Yin, P., Zhu, J., Chen, W., ... și Liang, X. (2019). Mortalitatea, morbiditatea și factorii de risc în China și provinciile sale, 1990–2017: o analiză sistematică pentru Studiul Global Burden of Disease 2017. *The Lancet*, 394 (10204), 1145-1158.
91. Zhu, X. (2017). Actinidin treatment and sous vide cooking: effects on tenderness and in vitro protein digestibility of beef brisket: a thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Food Technology at Massey University, Manawatū, New Zealand (Doctoral dissertation, Massey University).
92. Zielbauer, B. I., Franz, J., Viezens, B., & Vilgis, T. A. (2016). Physical aspects of meat cooking: Time dependent thermal protein denaturation and water loss. *Food biophysics*, 11, 34-42.
93. Żyżelewicz, D., Budryn, G., Oracz, J., Antolak, H., Kręgiel, D., & Kaczmarska, M. (2018). The effect on bioactive components and characteristics of chocolate by functionalization with raw cocoa beans. *Food Research International*, 113, 234-244.