UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA

ȘCOALA DOCTORALĂ ȘTIINȚE ALE NATURII

Consorțiu: **Universitatea Stat din Moldova, Institutul de Dezvoltare a Societății Informaționale, Universitatea de Stat „Bogdan Petricescu "Hasdeu" din Cahul**

Cu titlu de manuscris
C.Z.U.:543.94:542.943:663.26(043.3)

TAȘCA CORINA

STUDIUL PROCESELOR DE OXIDO – REDUCERE ÎN FERMENTAREA ANAEROBĂ A BIOMASEI ÎN PREZENȚA ANTIOXIDANȚILOR

Teză de doctor în științe chimice

145.01 – Chimie ecologică

Conducător științific: **DUCA Gheorghe,** prof. univ., doctor habilitat, academician

Conducător științific: **STURZA Rodica,** prof. univ., doctor habilitat, m. cor. AȘM

Autor: **TAȘCA Corina**

CHIȘINĂU, 2025

CUPRINS

ADNOTARE **4**
LISTA TABELELOR **7**
LISTA FIGURILOR **8**
LISTA ABREVIERILOR **10**
INTRODUCERE **11**
1. CARACTERISTICA BIOMASEI REZULTATE DIN PROCESE AGROINDUSTRIALE ȘI A POSIBILITĂȚILOR DE VALORIFICARE ÎN CONTEXTUL BIOECONOMIEI CIRCULARE **18**
1.1 Biomasa rezultată din producerea alcoolului etilic și industria vinicolă - caracteristica și posibilitățile de utilizare 18
1.2 Compoziția chimică și proprietățile bioactive ale tescovinei de struguri 29
1.3 Caracteristica proceselor de fermentație aerobă și anaerobă a biomasei rezultată din procese agroindustriale. Posibilități de optimizare a proceselor de fermentație 41
1.4 Concluzii la capitolul 1 50
2. MATERIALE ȘI METODE **51**
2.1 Materiale de cercetare și cracterizarea substanțelor utilizate 51
2.2 Metode de analiză 56
2.2.1 *Determinarea conținutului de zaharoză* 56
2.2.2 *Determinarea conținutului de azot aminic* 57
2.2.3 *Determinarea pH* 57
2.2.4 *Determinarea proprietăților antioxidante a SBA* 58
2.2.5 *Determinarea conținutului de substanțe solide totale (CTS)* 59
2.2.6 *Determinarea cererii chimice de oxigen (CCO) și a necesarului biologic de oxigen (NBO)* 59
2.2.7 *Determinarea conținutului de polizaharide structurale și lignină (metoda Van Soest)* 60
2.2.8 *Determinarea conținutului total de polifenoli (metoda Folin–Ciocalteu)* 61
2.2.9 *Cuantificarea polifenolilor individuali prin metoda HPLC-DAD-MS-ESI* 61
2.2.10 *Realizarea fermentației aerobe* 65
2.2.11 *Determinarea conținutului de CO_2 degajat în procesul de fermentație aerobă prin titrarea acido-bazică* 65
2.2.12 *Determinarea potențialului biologic de producere a metanuluic(PBM)* 66
2.2.13 *Prelucrarea statistică și modelarea computațională a datelor experimentale.* 68
2.3 Concluzii la capitolul 2 68
3. STUDIUL PROCESELOR REDOX DE FERMENTAȚIE A BIOMASEI PROVENITE DE LA PRODUCEREA ALCOOLULUI ETILIC **70**
3.1 Determinarea indicilor fizico-chimici ale biomasei utilizate și selectarea substanțelor biologic active pentru aplicarea în procesele fermentative 70
3.2 Evaluarea activității antioxidante a substanțelor biologic active 71

3.3 Analiza impactului unor SBA asupra cineticii de fermentație aerobă a borhotului de cereale 79
3.4 Studiul impactului unor SBA asupra cineticii de fermentație anaerobă a biomasei 89
3.5 Calculul computațional al mecanismului procesului de fermentație anaerobă în prezența substanțelor biologic active 93
3.6 Concluzii la capitolul 3 97
4. ANALIZA PROCESULUI DE FERMENTAȚIE ANAEROBĂ A TESCOVINEI DE STRUGURI 99
4.1 Necesitatea de valorificare a produselor secundare vitivinicole 99
4.2 Analiza capacității fermentative și modelarea cineticii procesului de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri 105
4.3 Concluzii la capitolul 4 110
5. VALORIFICAREA COMPLEXĂ A DEȘEURILOR DIN INDUSTRIA DE PRODUCERE A ALCOOLULUI 111
5.1 Descrierea procesului de implementare a rezultatelor științifice la scară industrială 111
5.2 Studiul fezabilității implementării tehnologiei propuse în cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup” 118
5.3 Concluzii la capitolul 5 119
SINTEZA REZULTATELOR EXPERIMENTALE 121
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI 125
BIBLIOGRAFIE 128
Anexa 1 153
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII 155
Curriculum Vitae 156

ADNOTARE

TAȘCA Corina: „Studiul proceselor de oxido-reducere în fermentarea anaerobă a biomasei în prezența antioxidanților”, teza de doctor în științe chimice, Chișinău, 2025.

Structura tezei: Introducere, 5 capitole, sinteza rezultatelor experimentale, concluzii generale și recomandări, bibliografia din 223 de titluri, 118 pagini de text de bază, inclusiv 41 figuri și 29 de tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 17 lucrări științifice.

Cuvintele-cheie: substanțe biologic active, fermentație aerobă, fermentație anaerobă, activitate antioxidantă, borhot de cereale rezultat din producerea alcoolului etilic, tescovina de struguri, metanogeneză, sustenabilitate, conversia biochimică a biomasei.

Scopul tezei constă în optimizarea proceselor de valorificare a biomasei din vinificație și industria băuturilor alcoolice, utilizând fitocatalizatori redox, pentru accelerarea proceselor de fermentație.

Obiectivele cercetării: valorificarea produselor secundare vinicole și a borhotului din industria băuturilor prin aplicarea proceselor de fermentație aerobă și anaerobă; identificarea și analiza substanțelor biologic active (SBA) cu proprietăți antioxidante; analiza influenței SBA asupra cineticii fermentației biomasei; modelări matematice și simulări computaționale bazate pe descriptorii HOMO, LUMO, ΔE și potențialul electrostatic pentru elucidarea mecanismelor redox, a optimizării randamentului proceselor și îmbunătățirii calității biogazului rezultat.

Noutatea şi originalitatea ştiinţifică: Pentru prima dată, pe baza unui studiu amplu, a fost evaluată aplicarea fitocatalizatorilor pentru accelerarea conversiei biomasei în produse utile, minimizând impactul asupra mediului, analiza cineticii de fermentației aerobă și anaerobă a produselor secundare din industria băuturilor, a mecanismului și descriptorilor de reactivitate ai procesului de fermentație anaerobă în prezența substanțelor biologic active.

Problema științifică soluționată: A fost testată influența substanțelor biologic active cu proprietăți antioxidante asupra cineticii proceselor de fermentație aerobă și anaerobă a produselor secundare vinicole și a borhotului din industria băuturilor, în scopul optimizării conversiei biomasei în biogaz de calitate superioară. Rezultatele obținute permit integrarea proceselor fermentative într-un sistem sustenabil, în conformitate cu principiile bioeconomiei circulare, oferind suport științific pentru aplicare la scară industrială.

Semnificaţia teoretică: Au fost acumulate informații despre reactivitatea substanțelor biologic active în procese de fermentație aerobă și anaerobă. S-a determinat efectul substanțelor biologic active cu proprietăți antioxidante asupra cineticii proceselor de fermentație aerobă și anaerobă a produselor secundare din industria băuturilor.

Valoarea aplicativă: Contribuția aplicativă constă în validarea rezultatelor obținute prin implementarea controlată a SBA (acidul dihidroxifumaric) în procesele de fermentație anaerobă la scară industrială, inclusiv asupra calității biogazului produs. Soluțiile propuse contribuie la dezvoltarea unui sistem sustenabil de gestionare a produselor secundare din industria băuturilor.

Implementarea rezultatelor ştiinţifice: Conform actului de implementare din 25 aprilie 2025, la întreprinderea SRL „Garma Grup” au fost realizate testări industriale cu aplicarea SBA pe 1 lot experimental de substrat compus din 2325 m^3 borhot lichid și 988 m^3 dejecții bovine. S-a înregistrat o producție sporită de biogaz și o îmbunătățire a calității acestuia, prin creșterea proporției de metan.

ANNOTATION

TAȘCA Corina: "Study of oxidation-reduction processes in anaerobic fermentation of biomass in the presence of antioxidants", PhD thesis in chemical sciences,

Thesis structure. Introduction, 5 chapters, synthesis of experimental results, general conclusions and recommendations, bibliography of 223 sources, 118 pages of core text, including 41 figures and 29 tables. The results obtained are published in 17 scientific papers.

Keywords. Bioactive substances, aerobic fermentation, anaerobic fermentation, antioxidant activity, distillery spent grain from ethanol production, grape pomace, methanogenesis, sustainability, biochemical conversion of biomass.

Thesis objective. To optimize the valorization processes of biomass derived from winemaking and alcoholic beverage industries by using redox phytocatalysts to accelerate fermentation processes.

Research objectives. Valorization of winery by-products and distillery residues through aerobic and anaerobic fermentation processes; identification and analysis of bioactive substances (BAS) with antioxidant properties; evaluation of the influence of BAS on the fermentation kinetics of biomass; mathematical modeling and computational simulations based on HOMO, LUMO, ΔE descriptors and electrostatic potential to elucidate redox mechanisms, optimize process efficiency, and improve the quality of the resulting biogas.

Scientific novelty and originality. For the first time, based on an extensive study, the application of phytocatalysts to accelerate biomass conversion into valuable products was assessed, minimizing environmental impact. The aerobic and anaerobic fermentation kinetics of beverage industry residues, as well as the mechanism and reactivity descriptors of the anaerobic fermentation process in the presence of bioactive substances, were analyzed.

Solved scientific problem. The influence of bioactive substances with antioxidant properties on the kinetics of aerobic and anaerobic fermentation processes of winery by-products and distillery residues was evaluated, with the aim of optimizing biomass conversion into higher-quality biogas. The results support the integration of fermentative processes into a sustainable system aligned with the principles of circular bioeconomy, providing a scientific basis for industrial-scale implementation.

Theoretical significance. Knowledge was gained on the reactivity of bioactive substances in aerobic and anaerobic fermentation processes. The effect of antioxidant BAS on the kinetics of fermentation processes of beverage industry residues was determined.

Applicative value. The practical contribution lies in the validation of results through controlled implementation of BAS (dihydroxymaleic acid) in anaerobic fermentation processes at industrial scale, including improvements in biogas quality. The proposed solutions support the development of a sustainable system for managing beverage industry by-products.

Implementation of scientific results. According to the implementation act dated April 25, 2025, industrial-scale testing was carried out at the enterprise SRL “Garma Grup” by applying BAS to one experimental batch of substrate composed of 2325 m^3 liquid distillery residue and 988 m3 cattle manure. A significant increase in biogas production and improved quality (higher methane content) was recorded.

АННОТАЦИЯ

ТАШКА Корина: *«Исследование окислительно-восстановительных процессов при анаэробном сбраживании биомассы в присутствии антиоксидантов»*, диссертация на соискание учёной степени доктора химических наук, Кишинёв, 2025.

Структура диссертации. Введение, 5 глав, синтез экспериментальных результатов, общие выводы и рекомендации, список литературы из 223 источников, 118 страниц основного текста, включая 41 рисунка и 29 таблиц. Результаты опубликованы в 17 научных работах.

Ключевые слова. Биологически активные вещества, аэробное брожение, анаэробное брожение, антиоксидантная активность, зерновая борда, виноградные выжимки, метаногенез, устойчивость, биохимическая конверсия биомассы.

Цель работы. оптимизация утилизации биомассы из винодельческой и спиртовой промышленности с использованием редокс-фитокатализаторов для ускорения процессов брожения.

Задачи исследования. Утилизация вторичных продуктов брожением (аэробным и анаэробным); идентификация и анализ антиоксидантных БАВ; изучение их влияния на кинетику брожения; математическое моделирование и компьютерные симуляции с использованием HOMO, LUMO, ΔE и электростатического потенциала для выяснения редокс-механизмов и повышения выхода метана.

Научная новизна. Впервые исследовано применение фитокатализаторов для ускорения биоконверсии вторичных продуктов напиточной отрасли, с анализом кинетики аэробного и анаэробного брожения и роли БАВ в редокс-процессах.

Научная проблема. Выявлено влияние антиоксидантных БАВ на кинетику аэробного и анаэробного брожения винодельческих отходов и борды, что позволило повысить качество биогаза и интегрировать процессы в циркулярную биоэкономику.

Теоретическая значимость. Обобщены данные о редокс-активности БАВ в условиях брожения и их влиянии на скорость биоконверсии.

Практическая значимость. Подтверждена эффективность применения дигидроксифумаровой кислоты как БАВ в промышленной анаэробной ферментации; установлено улучшение качества биогаза.

Внедрение результатов. Согласно акту от 25 апреля 2025 года, на предприятии SRL «Garma Grup» проведены промышленные испытания с добавлением БАВ в 1 опытную партию (2325 $м^3$ борды и 988 $м^3$ навоза). Получено увеличение объема и качества биогаза за счёт роста содержания метана.

LISTA TABELELOR

Tabelul 1.1	Caracteristicile chimice ale borhotului spirtier	20
Tabelul 1.2	Valoarea nutritivă a borhotului uscat de distilerie	21
Tabelul 1.3	Utilizările borhotului uscat cu fracție solubilă în produse alimentare	24
Tabelul 1.4	Compoziția elementală a tescovinei de struguri (macroelemente și microelemente)	30
Tabelul 1.5	Compoziția acizilor grași din tescovina de struguri	31
Tabelul 1.6	Compoziția aminoacizilor din tescovina de struguri	31
Tabelul 1.7	Distribuția compușilor polifenolici în struguri (mg/kg)	37
Tabelul 2.1	Materiile utilizate în cercetare	51
Tabelul 2.2	Formule chimice și proprietățile principale ale SBA studiate	52
Tabelul 2.3	Substanțe, reactivi chimici și materiale de laborator	55
Tabelul 2.4	Indicatorii chimici și microbiologici, cantitativi ai borhotului	56
Tabelul 3.1	Indicii fizico-chimici ai mediilor de studiu	71
Tabelul 3.2	Rezultatele analizei ANOVA pentru influența tipului de SBA și a concentrației asupra activității antioxidante (% inhibare DPPH)	73
Tabelul 3.3	Matricea coeficienților de corelație Pearson între martor și substanțele biologic active testate (format triunghiular inferior)	74
Tabelul 3.4	Interdependența SBA și activitatea antioxidantă (apreciată prin radicalul DPPH)	75
Tabelul 3.5	Ecuațiile de regresie și valoarea coeficientului Pearson a SBA	76
Tabelul 3.6	Eficiența comparativă a diferitelor tipuri de SBA în procesul de fermentație aerobe a borhotului de cereale	87
Tabelul 3.7	Mecanismul procesului de fermentație anaerobă a borhotului de cereale	89
Tabelul 3.8	Volumul de biogaz și conținutul de metan obținut sub influența SBA	91
Tabelul 4.1	Cantitatea de deșeuri după indicatorul deșeurilor specifice (I_{DS})	99
Tabelul 4.2	Datele DAD și MS obținute după ionizarea pozitivă a extractelor din tescovina de struguri roșii	102
Tabelul 4.3	Conținutul de compuși fenolici în extractele de tescovină de struguri roșii obținute după fermentație: I- Merlot/Cabernet 60/40 (MCa) și II-Cabernet (Ca)	103
Tabelul 4.4	Activitatea antiradicalică şi antioxidantă a extractelor de tescovină de struguri în diferite medii	104
Tabelul 4.5	Parametrii fizico-chimici și caracteristicile biochimice ale produselor secundare vitivinicole utilizate pentru fermentația anaerobă	106
Tabelul 4.6	Valorile experimentale ale temperaturii și constantei de reacție (k_T) și valorile medii calculate ale parametrilor cinetici (E_a și A)	109
Tabelul 5.1	Compoziția chimică a biogazului	116
Tabelul 5.2	Eficiența energetică a fermentației anaerobe cu și fără aditiv SBA	119
Tabelul S.1	Tabel de sinteză a parametrilor analizați în diferite tipuri de biomasă	122
Tabelul S.2	Tabel de sinteză privind influența substanțelor biologic active asupra emisiilor de CO_2, producției de biogaz și conținutului de metan	123

LISTA FIGURILOR

Figura 1.1	Reprezentarea schematică a producerii de alcool și impactul acesteia asupra mediului	19
Figura 1.2	Opțiuni de valorificare a produselor secundare vitivinicole	28
Figura 1.3	Compoziția chimică și valoarea energetică a tescovinei de struguri brută și uscată	30
Figura 1.4	Structura flavanului – scheletul de bază C_6–C_3–C_6 comun compușilor flavonoidici	33
Figura 1.5	Principalele clase de flavonoide	35
Figura 1.6	Structura principalelor non-flavonoide	36
Figura 1.7	Structuri ale flavan-3-olilor și procianidinelor - constituenți principali ai extractului de semințe de struguri: (+) - catechina (1), (-) - epicatechina (2), procianidina B1 (3), B2 (4), B3 (5), B4 (6) și C1 (7)	38
Figura 1.8	Prezentarea schematică a procesului de fermentație anaerobă	47
Figura 2.1	Curba de calibrare pentru: a) – acid galic și b) – cianidina	63
Figura 2.2	Curba de calibrare pentru: a) – acid clorogenic și b) – rutina.	64
Figura 2.3	Curba de calibrare pentru catechină	64
Figura 2.4	Instalația de laborator pentru studiul fermentației aerobe a biomasei în prezența SBA	65
Figura 2.5	Imagine foto: procedura de titrare a CO_2 rezultat în timpul fermentației aerobe– sistem de titrare	66
Figura 2.6	Instalația de măsurare experimentală a parametrilor procesului de fermentației anaerobă a tescovinei de struguri	67
Figura 3.1	Capacitatea antioxidantă a SBA, % DPPH inhibat	72
Figura 3.2	Compararea valorilor experimentale și modelate ale activității antioxidante (% inhibare DPPH) pentru substanțele biologic active testate	77
Figura 3.3	Activitatea antioxidantă (IC_{50}) a SBA analizate	78
Figura 3.4	Volumul gazului degajat (CO_2) în timpul fermentației aerobe a borhotului în prezenta SBA	81
Figura 3.5	Dinamica vitezei de reacție a fermentației aerobe în prezența SBA	82
Figura 3.6	Volumul gazului degajat în timpul fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența adaosurilor de escină, mentol și sclareol	83
Figura 3.7	Volumul gazului degajat în timpul fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența adaosurilor de: a) sclareol, b)mentol	84
Figura 3.8	Reprezentarea grafică: a) Volumul gazului degajat în timpul fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența DHFA b) Dinamica vitezei de reacție a fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența DHFA	85
Figura 3.9	Volumul gazului degajat în timpul fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența aditivului de vanilină	86
Figura 3.10	Volumul gazului degajat în timpul fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența aditivului de catechină	87

Figura 3.11	Cantitatea medie de CO_2 emis, cm^3/h în funcție de tipul de SBA introdus în biomasa fermentată	88
Figura 3.12	Randamentul de metan, % în volumul de biogaz total	92
Figura 3.13	Reacția de transfer al grupului fosforil terminal (PO_3) de la molecula de ATP	93
Figura 3.14	Interacțiunea ionilor Mg^{2+} (cofactor) cu anionii acidului adenozin trifosfatic	94
Figura 3.15	Structura optimizată a complexului format în rezultatul interacțiunii dintre Mg^{2+} și atomii de oxigen legați cu atomii de fosfor P2 și P3 ai anionului ATP_{an}^{4-}	95
Figura 3.16	Structura optimizată a complexului format în rezultatul interacțiunii dintre Mg^{2+} și atomii de oxigen ce aparțin atomilor de fosfor P1 și P2 a anionului ATP^{4-}. Lungimea legăturii Mg---O* este egală cu 1,95A	95
Figura 3.17	Structura optimizată a complexului format în rezultatul reacției dintre o moleculă a acidului dihidroxofumaric cu complexul $[MgATPan]^{2-}$	96
Figura 4.1	Cromatogramele extractelor etanolice a tescovinei de struguri roșii: a- λ = 280, b- λ =350, c- λ =520 nm	100
Figura 4.2	Cromatogramele extractelor în acetonă a tescovinei de struguri roșii: a- λ = 280, b- - λ = 350, c-- λ = 520 nm)	101
Figura 4.3	Structura dimerilor procianidinei I (A) și II (B)	104
Figura 4.4	Volumul de gaz degajat în procesul de fermentație anaerobă a subproduselor vinicole	107
Figura 4.5	Variația constantei de viteză a procesului de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri la temperatura de 296-313 K	109
Figura 5.1	Imaginea foto a digestoarelor cu funcționare continuă a întreprinderii SRL „Garma Grup”	112
Figura 5.2	Imagini foto: a) zona tehnologică de pregătire a substratului, b) colectarea borhotului de cereale și realizarea amestecului de fermentație	113
Figura 5.3	Interfața de control digital al sistemului de amestecare automat pe nivele, utilizat în toate digestoarele instalației de biogaz de la SRL „Garma Grup”	114
Figura 5.4	Interfața digitală de monitorizare a funcționării în timp real a stației de digestie anaerobă din cadrul SRL „Garma Grup”	115
Figura 5.5	Instalația de purificare a biogazului din cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup”	117

ABREVIERI

ADP	Adenozin difosfat
AGV	Acizi grași volatili
ATP	Adenozintrifosfat
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil -hidroxi-toluen
CCO	Cererea chimică de oxygen
COV	Compuși organici volatile
CST	Compuși solubili totali
CTS	Conținutul de substanțe solide totale
CTP	Conținutul total de polifenoli
DFT	*Eng: Density Functional Theory* Teoria funcționalei de densitate
DHFA	Acid dihidroxifumaric
DPPH	2,2- difenil- 1- picrilhidrozil
IC_{50}	Concentrația care inhibă 50% din activitate
IDS	Indicatorul deșeurilor specifice
NBO	Necesarul biochimică de oxigen
ODI	Obezi cu dietă indusă
OPA	Ortoftalaldehidă
ORAC	Capacitatea de absorbție a radicalilor de oxigen
PBM	Potențialului biologic de producere a metanului
SBA	Substanțe biologic active
SRB	Bacterii reducătoare de sulfați

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei abordate. Sectorul agroindustrial constituie o ramură strategică a economiei globale, asigurând resurse esențiale pentru alimentația populației și dezvoltarea socio-economică. Cu toate acestea, activitățile aferente acestui sector generează anual cantități considerabile de reziduuri, incluzând resturi vegetale, produse secundare de procesare și substanțe chimice reziduale, a căror gestionare inadecvată are un impact negativ cumulativ asupra calității solului, apei, aerului și asupra echilibrului ecosistemelor naturale (Plămădeală et al., 2014). Potrivit estimărilor recente, produsele secundare vinicole și borhotul din industria băuturilor, contribuie în proporție de 8–10% la emisiile globale de gaze cu efect de seră, devenind o preocupare centrală în strategiile de dezvoltare durabilă.

Gestionarea eficientă a acestor fluxuri reziduale a devenit o necesitate stringentă, nu doar din considerente de mediu, ci și din rațiuni economice și energetice, întrucât resursele convenționale devin tot mai limitate. În acest context, chimia ecologică oferă soluții inovatoare pentru transformarea acestor deșeuri în produse utile prin metode de conversie biochimică și valorificare energetică, promovând principiile bioeconomiei circulare.

La nivel național, datele din Strategia națională de dezvoltare agricolă și rurală pentru anii 2023–2030 (HG nr. 56/2023) indică faptul că producția agroalimentară reprezintă cea mai semnificativă pondere din producția industrială a Republicii Moldova. Între anii 2014 și 2020, industria prelucrătoare a înregistrat o creștere de aproximativ 41%, cu o creștere de 27% în industria alimentară și 9% în industria băuturilor. Aceste evoluții accentuează presiunea asupra sistemelor de gestionare a deșeurilor agroindustriale și subliniază necesitatea unor soluții sustenabile de valorificare a acestora.

În același timp, accentuarea dependenței de resurse fosile și degradarea continuă a mediului înconjurător impun integrarea surselor regenerabile de energie în sistemele productive. Produsele secundare organice agroindustriale, bogate în compuși bioactivi și încărcături energetice, reprezintă o resursă valoroasă insuficient exploatată. Valorificarea acestora prin fermentație controlată sau alte procese biotehnologice poate contribui semnificativ la reducerea poluării, recuperarea resurselor și producerea de energie curată (Venkata Mohan et al., 2016).

Astfel, cercetarea propusă își justifică actualitatea și importanța prin abordarea unei probleme de mediu și energie cu relevanță globală, contribuind prin soluții inovative la optimizarea proceselor de conversie a biomasei reziduale și la dezvoltarea de tehnologii cu impact ecologic minim și valoare adăugată ridicată.

Ipoteza științifică. Valorificarea subproduselor de distilerie și produselor secundare vitivinicole din industria băuturilor alcoolice și vinificație prezintă o problemă ecologică importantă pentru Republica Moldova. Utilizarea substanțelor biologic active cu proprietăți antioxidante ar putea influența cinetica proceselor de fermentație, contribuind la obținerea de biogaz de calitate superioară și la integrarea proceselor într-un sistem sustenabil, conform principiilor bioeconomiei circulare, oferind perspective fezabile pentru aplicare industrială. Se presupune că aplicarea dirijată a SBA ar putea conduce la optimizarea parametrilor biochimici ai fermentației, prin accelerarea etapelor-cheie. În acest context, este de așteptat ca eficiența fermentativă și calitatea biogazului să depindă direct de tipul și concentrația substanței biologic active utilizate.

Scopul și obiectivele cercetării. Cercetările realizate în cadrul tezei au avut drept scop optimizarea proceselor de valorificare a biomasei din vinificație și industria băuturilor alcoolice, utilizând fitocatalizatori redox pentru accelerarea proceselor de fermentație.

Obiectivele de cercetare au inclus:

- Caracterizarea produselor secundare din industria băuturilor, relevante pentru fermentația aerobă și anaerobă;
- Caracterizarea și selectarea substanțelor bioactive cu diferite funcționalități relevante în procesele redox din fermentație;
- Analiza proceselor de fermentație aerobă și anaerobă a produselor secundare vinicole și a borhotului din industria băuturilor;
- Studiul cineticii de fermentație a biomasei și influenței substanțelor bioactive;
- Calculul computațional al mecanismului procesului de fermentație anaerobă în prezența substanțelor biologic active și descriptorilor de reactivitate (HOMO, LUMO, ΔE, potențial electrostatic);
- Caracterizarea concentrației de SBA și a capacității de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri;
- Modelarea cineticii procesului de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri;
- Studiul implementării controlate a SBA cu efect antioxidant asupra proceselor de fermentație anaerobă la scară industrială, inclusiv asupra calității biogazului produs.

Sinteza metodologiei de cercetare științifică și justificarea metodelor de cercetare aplicate. Drept suport metodologic al tezei au servit cercetările realizate în cadrul proiectului științific 20.80009.5007.27/PS, „*Mecanisme fizico-chimice ale proceselor redox cu transfer de electroni implicate în sistemele vitale, tehnologice şi de mediu* ”, 2020-2023.

Pentru confirmarea ipotezei de cercetare au fost aplicate metode concrete pentru fiecare obiectiv, aprobate la nivel naţional şi internaţional. În conformitate cu scopul şi obiectivele stabilite, au fost aplicate metode clasice şi moderne de cercetare: metode fizico-chimice (spectroscopia UV/vis, FTIR, cromatografia de lichide – HPLC), modelarea matematică, metode statistice de prelucrare a rezultatelor. În experimentele de fermentație aerobă, cinetica degajării de CO_2 a fost utilizată pentru a estima viteza reacției, fiind influențată de tipul și concentrația SBA. Conținutul total de polifenoli și compoziția detaliată în flavonoide, acizi fenolici și antociani au fost determinate prin metode spectrofotometrice și HPLC-MS, evidențiind aportul tescovinei ca sursă naturală de compuși bioactivi. Fermentația anaerobă a fost studiată prin Metoda Batch, cu evaluarea potențialului biologic de producere a metanului (PBM), iar volumul de biogaz a fost monitorizat gravimetric pe parcursul a 30 de zile. Pentru elucidarea mecanismelor redox și a proprietăților electronice ale SBA au fost realizate calcule de modelare moleculară DFT (Density Functional Theory), utilizând software-ul Gaussian 09 și metoda B3LYP/6-311G (d,p) pentru caracterizarea descriptorilor de reactivitate.

Cercetările au fost realizate în cadrul Institutului de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova și în cadrul Centrului de Oenologie al Universității Tehnice a Moldovei. Implementarea procesului de digestie anaerobă la scară industrială a fost realizată în cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup”.

Contribuția științifică și aplicativă a tezei. Noutatea cercetării constă în aplicarea fitocatalizatorilor pentru accelerarea conversiei biomasei în produse utile, minimizând impactul asupra mediului, analiza cineticii de fermentație aerobă și anaerobă a produselor secundare vinicole și a borhotului din industria băuturilor alcoolice, a mecanismului și descriptorilor de reactivitate ai procesului de fermentație anaerobă în prezența SBA.

Contribuția aplicativă a tezei constă în validarea rezultatelor obținute prin implementarea controlată a SBA (acidul dihidroxifumaric) în procesele de fermentație anaerobă la scară industrială, inclusiv asupra calității biogazului produs. Soluțiile propuse contribuie la dezvoltarea unui sistem sustenabil de gestionare a produselor secundare vinicole și a borhotului din industria băuturilor alcoolice.

Aprobarea rezultatelor științifice. Rezultatele obținute în cadrul cercetării au fost prezentate și discutate în cadrul forumurilor științifice naționale și internaționale, fapt ce confirmă relevanța științifică și aplicativă a tezei. Acestea au fost diseminate în cadrul Conferințelor Tehnico-Științifice ale Studenților, Masteranzilor și Doctoranzilor, organizate de Universitatea Tehnică a Moldovei în anii 2022 și 2023, precum și în cadrul unor manifestări științifice de prestigiu, dintre care menționăm: International Conference „Intelligent Valorisation of Agro-Food

Industrial Wastes" (2021, Universitatea Tehnică a Moldovei), The 7th International Conference „Ecological and Environmental Chemistry" (2022, Universitatea de Stat din Moldova), The 5th International Conference „Modern Technologies in the Food Industry" (2022, Universitatea Tehnică a Moldovei), International Conference „Smart Life Sciences and Technology for Sustainable Development" (2023, Universitatea Tehnică a Moldovei) și International Conference „Geo- and Bioecological Problems of the Middle and Lower Dniester River Basin" (2024, Eco-TIRAS, Tiraspol). De asemenea, contribuțiile științifice au fost prezentate în cadrul unor manifestări naționale cu participare internațională, precum Conferința „Perspectivele și Problemele Integrării în Spațiul European al Cercetării și Educației" (2021, Universitatea de Stat „Bogdan Petriceicu Hasdeu" din Cahul), Conferința „Inovația: factor al dezvoltării social-economice" (2021, Universitatea de Stat „B. P. Hasdeu" din Cahul), Conferința „Life Sciences in the Dialogue of Generations: Connections between Universities, Academia and Business Community" (2022, Universitatea de Stat din Moldova) și Conferința „Natural Sciences in the Dialogue of Generations" (2023, Universitatea de Stat din Moldova).

Rezultatele obținute în cadrul cercetării au fost valorificate prin publicarea a 2 capitole în monografii colective naționale (1) și internaționale (1), în trei articole științifice în reviste de specialitate, indexate în baze de date internaționale, ceea ce confirmă relevanța academică a temei investigate. Două articole au fost publicate în revista *Journal of Engineering Science,* în anii 2022 și 2024, abordând efectul aditivilor bioactivi asupra fermentației biomasei, respectiv caracteristicile biomasei provenite din procese agroindustriale în contextul bioeconomiei circulare. O altă lucrare a fost publicată în anul 2025 în revista *Journal of Social Sciences*, indexată în DOAJ și Index Copernicus, evidențiind rezultatele cercetării privind valorificarea integrată a deșeurilor din industria de producere a alcoolului prin aplicarea metodelor biotehnologice moderne și utilizarea substanțelor biologic active în vederea optimizării conversiei biomasei în condiții sustenabile. Alte două contribuții au fost incluse în volume colective: un capitol publicat de editura internațională IGI Global (SUA) în volumul *Redox Processes within Environmental and Technological Contexts* (2023), și un capitol în monografia *Procese redox cu transfer de electroni și protoni*, publicată la Editura USM din Chișinău (2023), ambele tratând aspecte fundamentale ale proceselor redox în sistemele biologice și tehnologice în prezența compușilor bioactivi.

Sumarul compartimentelor tezei. Lucrarea este expusă în limba română, pe 118 pagini tehnoredactate la computer. Teza este structurată în conformitate cu rigorile de întocmire a tezelor de doctor. Lucrarea constă din foaia de titlu, dreptul de autor, cuprinsul, adnotarea în limbile română, engleză și rusă, introducere, 5 capitole, sinteza rezultatelor experimentale, concluzii generale, recomandări şi bibliografia cu 223 de referinţe, declarația privind asumarea răspunderii

și CV-ul autorului. Materialul ilustrativ include 29 de tabele, 41 de figuri. În „Introducere” sunt prezentate actualitatea și importanța științifico-practică a temei investigate, motivația alegerii direcției de cercetare, formularea scopului și obiectivelor studiului, precum și evidențierea noutății științifice, a semnificației teoretice și a valorii aplicative a lucrării. Totodată, este formulată problema științifică soluționată, sunt descrise aprobarea și implementarea rezultatelor obținute, iar la final este oferit un rezumat concis al conținutului fiecărui capitol.

Capitolul 1 „Caracteristica biomasei rezultate din procese agroindustriale și a posibilităților de valorificare în contextul bioeconomiei circulare” a fost consacrat studierii fundamentale a resurselor de biomasă generate în cadrul proceselor agroindustriale, cu accent pe produsele secundare vinicole și a borhotului din industria băuturilor. În cadrul capitolului au fost analizate principalele surse de produse secundare, structura fizico-chimică a acestora, potențialul energetic și conținutul de SBA, cu scopul identificării direcțiilor de valorificare în sistemele biotehnologice circulare. Investigația a inclus examinarea literaturii de specialitate privind soluțiile tehnologice optimizate de conversie biochimică a biomasei și integrarea acestor fluxuri în lanțuri valorice sustenabile. Necesitatea acestor analize a fost dictată de scopul cercetării – identificarea posibilităților de utilizare eficientă a biomasei agroindustriale prin procese fermentative și de extracție, în contextul tranziției către economia circulară. La finalul capitolului au fost formulate concluzii care sintetizează aspectele esențiale privind tipologia biomasei disponibile, gradul de valorificare actual și lacunele științifice ce justifică direcțiile de cercetare propuse în teză.

Capitolul 2 „Materiale și metode” include analiza conceptelor teoretice și metodologice privind transformarea biomasei în produse valoroase, prin procese de fermentație aeroba și anaerobă. Au fost sistematizate principiile biologice, chimice și fizico-chimice, care guvernează conversia biomasei, cu accent pe rolul substanțelor biologic active în accelerarea sau inhibarea proceselor fermentative. De asemenea, au fost descrise metodele utilizate pentru caracterizarea compușilor antioxidanți, precum și tehnici statistice și de modelare aplicabile în studiul cineticii fermentației.

Necesitatea acestui cadru teoretico-metodologic a rezultat din cerința fundamentării riguroase a experimentelor desfășurate în cadrul tezei, în special în ceea ce privește evaluarea influenței SBA asupra proceselor redox și de fermentație. Concluziile formulate la sfârșitul capitolului doi rezumă aspectele esențiale privind metodele de analiză aplicate și justificarea teoretică a parametrilor selectați pentru experimentele ulterioare.

Capitolul 3 „Studiul proceselor redox de fermentație a biomasei provenite de la producerea alcoolului etilic” a fost orientat spre investigarea aprofundată a proceselor redox implicate în fermentația produselor secundare vinicole și a borhotului din industria băuturilor alcoolice. Au fost

analizate efectele SBA asupra parametrilor cinetici ai fermentației aerobe și anaerobe, prin determinarea emisiilor de CO_2 și evaluarea capacității antioxidante a SBA. De asemenea, a fost aplicată modelarea statistică (ANOVA, corelație Pearson) și matematică (regresie, determinarea IC_{50}) pentru stabilirea relației doză–efect. Necesitatea acestor investigații a fost justificată de dorința de a optimiza procesele fermentative prin introducerea SBA și de a înțelege mecanismele redox care influențează eficiența metabolică a microorganismelor implicate. De asemenea, în cadrul acestui capitol a fost investigat impactul SBA asupra procesului de fermentație anaerobă a borhotului de cereale, prin monitorizarea volumului total de biogaz format și determinarea conținutului de metan, în scopul evaluării potențialului energetic al substratului în prezența SBA. În vederea elucidării mecanismelor implicate la nivel molecular, a fost realizat un calcul computațional al procesului de fermentație anaerobă în prezența SBA, utilizând metode de modelare teoretică pentru estimarea descriptorilor de reactivitate chimică și analiza interacțiunilor potențiale cu sistemele enzimatice microbiene implicate în conversia biomasei. La sfârșitul capitolului au fost formulate concluzii care reflectă influența diferențiată a substanțelor bioactive asupra proceselor fermentative, susținând selectarea celor mai eficiente SBA pentru intensificarea fermentației.

Capitolul 4 „Analiza procesului de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri” a vizat valorificarea tescovinei de struguri prin fermentație anaerobă, fiind investigată compoziția sa biochimică, conținutul de compuși fenolici, activitatea antioxidantă și comportamentul în procesul de fermentație. S-a aplicat modelarea cineticii reacției de fermentație, cu determinarea parametrilor cinetici (k_T, E_a, A), iar potențialul energetic a fost evaluat în funcție de tipul fracției analizate (pieliță, semințe, tescovină integrală). Necesitatea acestor analize a fost dictată de interesul aplicativ de a transforma produsele secundare vinicole într-o sursă regenerabilă de energie și compuși cu valoare adăugată, în conformitate cu principiile dezvoltării durabile. Concluziile formulate la finalul capitolului sintetizează rezultatele privind compoziția fenolică, comportamentul fermentativ al diferitelor fracții ale tescovinei și relevanța modelării cinetice pentru înțelegerea procesului de conversie biochimică.

Capitolul 5 „Valorificarea complexă a borhotului din industria de producere a alcoolului” este dedicat evaluării aplicative a rezultatelor științifice obținute în cadrul cercetărilor, prin implementarea acestora într-un mediu industrial real. Investigațiile realizate s-au axat pe utilizarea integrată a fluxurilor reziduale, generate în cadrul unei unități de producere a alcoolului, în conformitate cu principiile bioeconomiei circulare și ale dezvoltării durabile. S-a vizat optimizarea procesului de fermentație anaerobă a amestecului de borhot de cereale și dejecții animale, cu testarea influenței SBA - acidul dihidroxifumaric - asupra eficienței fermentației și asupra calității

biogazului obținut. Etapa de implementare a fost desfășurată în cadrul unei instalații industriale funcționale, ceea ce a permis monitorizarea procesului în condiții reale de funcționare. S-au detaliat elementele tehnologice implicate în pregătirea substratului, structurarea fluxurilor de alimentare, automatizarea procesului de amestec și monitorizarea digitală a parametrilor de funcționare. Experimentul aplicativ a fost organizat în condiții controlate, prin aplicarea substanței biologic active într-unul din digestoare și compararea performanței acestuia cu un lot martor, fără tratament. Au fost evaluați indicatori esențiali precum volumul de biogaz generat, compoziția sa (CH_4, CO_2, H_2S, O_2) și eficiența procesului de epurare. Necesitatea acestui capitol reiese din obiectivul tezei de a valida, într-un cadru industrial, soluțiile științific fundamentate în etapele anterioare ale cercetării și de a demonstra aplicabilitatea acestora pentru creșterea eficienței energetice, reducerea impactului ecologic și extinderea utilizării SBA în biotehnologii circulare. La sfârșitul capitolului sunt formulate concluzii care reflectă potențialul real de implementare a substanțelor biologic active în instalații industriale de fermentației anaerobe, validând ipoteza influenței pozitive a acestora asupra conversiei biomasei în biogaz de calitate superioară.

Concluziile și recomandările formulate în baza cercetării confirmă eficiența utilizării SBA cu funcționalități redox în optimizarea fermentației anaerobe a subproduselor din industria băuturilor alcoolice. Au fost evidențiate influențele diferențiate ale SBA asupra cineticii procesului, selectate concentrațiile optime de aplicare și validate corelațiile dintre reactivitatea moleculară și randamentul fermentativ.

Cuvinte-cheie: *substanțe biologic active, fermentație aerobă, fermentație anaerobă, activitate antioxidantă, extracte vegetale, borhot de cereale rezultat din producerea alcoolului etilic, tescovină de struguri, metanogeneză, sustenabilitate, conversia biochimică a biomasei.*

1. CARACTERISTICA BIOMASEI REZULTATE DIN PROCESE AGROINDUSTRIALE ȘI A POSIBILITĂȚILOR DE VALORIFICARE ÎN CONTEXTUL BIOECONOMIEI CIRCULARE

În ultimele decenii, industria alimentară a cunoscut o expansiune semnificativă, fenomen însoțit de creșterea proporțională a volumului de deșeuri generate din activități agricole. Această evoluție a amplificat preocupările privind impactul negativ asupra mediului, determinând ca gestionarea adecvată a deșeurilor agricole să devină o prioritate strategică în promovarea sustenabilității. Datorită unor caracteristici precum durabilitatea, costurile reduse, accesibilitatea și ușurința în utilizare, deșeurile agricole sunt tot mai frecvent percepute ca resurse valoroase pentru diverse aplicații tehnologice și industriale (Guran, 2018).

Printre provocările stringente ale societății actuale se numără acumularea continuă a subproduselor rezultate din distilarea alcoolului și din procesele vitivinicole. Această realitate a contribuit la consolidarea conceptului de dezvoltare durabilă, fundamentat pe menținerea unui echilibru între activitatea economică, progresul social și protecția mediului înconjurător (Venkata Mohan et al., 2016). În acest cadru, bioeconomia circulară a dobândit un rol esențial în dezvoltarea de produse cu valoare adăugată, fiind susținută de politici europene și internaționale orientate spre reciclare, reutilizare și valorificare sustenabilă a resurselor agroindustriale nevalorificate (Venkata Mohan et al., 2016).

1.1 Biomasa rezultată din producerea alcoolului etilic și industria vinicolă– caracteristica si posibilitățile de utilizare

Industria distileriilor este recunoscută ca una dintre cele mai impactante din punct de vedere ecologic, întrucât procesul de fermentație alcoolică generează efluenți lichizi în cantități considerabile, caracterizați printr-o încărcătură organică ridicată, conținut crescut de azot, aciditate pronunțată (pH scăzut), temperaturi mari, culoare brun-închisă și salinitate semnificativă (Chaudhary și Arora, 2011). În paralel, există un interes crescut pentru valorificarea subproduselor rezultate din distilare, acestea constituind o sursă promițătoare de polizaharide, acizi grași volatili (AGV), dar și antioxidanți naturali, inclusiv polifenoli și diverși compuși bioactivi de interes pentru industria farmaceutică, cosmetică și alimentară (Chaudhary și Arora, 2011). Tendințele recente vizează perfecționarea tehnologiilor de valorificare, în special prin explorarea unor noi solvenți eficienți pentru extracția acestor constituenți valoroși. Astfel de inovații sunt esențiale pentru tranziția către un model sustenabil, bazat pe strategii integrate de recuperare a substanțelor utile cu minimizarea deșeurilor generate (Chowdhary et al., 2018).

Alcoolul este considerat un material de bază pentru o serie de industrii, de exemplu, industria chimică, farmaceutică, cosmetică, băuturilor și alimentelor, iar numărul distileriilor este în creștere la nivel mondial (Bharagava et al., 2009). Apele uzate rezultate din distilare prezintă un risc major asupra mediului și un potențial pericol pentru organismele vii. Unitățile de distilerie generează cantități uriașe de ape uzate în timpul procesului de producere a alcoolului, din care se eliberează în medie 10-15 L de apă uzată cu producerea a 1 L de alcool (Bharagava și Chandra, 2010; Chowdhary et al., 2017). În apele uzate, rezultate din procesul de distilare, prezența multor tipuri de poluanți organici și anorganici precum melanoidina, polizaharidele, carbohidrați reducători, proteinele, ceara, N, K, Ca, SO^{4-}, PO^{4-} etc. sunt raportate de diverși cercetători (Chowdhary et al., 2018; Arimi et al., 2015).

Melanoidinele sunt unul dintre poluanții majori care cauzează probleme grave de mediu și sănătate (Chandra et al., 2008). Apa uzată, rezultată din procesul de distilare, conține diferite tipuri de poluanți organici recalcitranți, inclusiv substanțe chimice care perturbă sistemul endocrin, cum ar fi ftalați, care provoacă dezechilibru hormonal și perturbă capacitatea de reproducere a organismului viu și în cele din urmă duc la carcinogeneză (Alam et al., 2010). Melanoidina se formează prin reacția dintre aminoacizi și carbohidrați numită „reacții Maillard" (Chandra et al., 2008). Apele uzate, rezultate din procesul de distilare, afectează în primul rând solul și mediul acvatic, datorită prezenței compușilor organici și anorganici, coloranți recalcitranți solubili în apă (Chowdhary et al., 2018). Acestea pot bloca accesul luminii solare în apele de suprafață, reducând astfel oxigenarea apei prin fotosinteză și, prin urmare, devin dăunătoare vieții acvatice. În al doilea rând, au o încărcătură mare de poluare, ceea ce ar duce la eutrofizarea surselor de ape contaminate (figura 1.1) (Bharagava și Chandra, 2010).

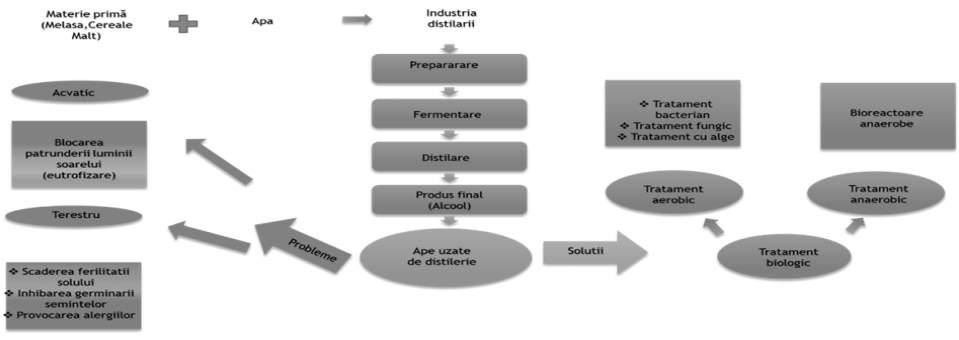


Figura 1.1 Reprezentarea schematică a producerii de alcool și impactul acesteia asupra mediului (Bharagava și Chandra, 2010)

Apele uzate, rezultate în urma procesului de distilare provoacă, de asemenea, poluarea solului și acidificarea în cazurile de deversare necorespunzătoare pe teren (Chowdhary et al.,

2018). S-a raportat că aceasta inhibă germinarea semințelor, reduce alcalinitatea solului, provoacă deficiență de mangan și afectează negativ culturile agricole (Bharagava și Chandra, 2010).

Valorificarea subproduselor, rezultate din fabricarea alcoolului, joacă un rol esențial în viabilitatea economică a procesului de producție. Dintre acestea, borhotul obținut din plămada dezalcoolizată reprezintă cel mai important subprodus. În fabricile de etanol care nu reciclează borhotul în procesul de fermentație, se produc între 10 și 15 litri de borhot pentru fiecare litru de etanol obținut (Chowdhary et al., 2017). Borhotul de porumb este un reziduu cu necesarul biologic de oxigen (NBO) extrem de ridicat, de 15000- 25000 ppm, iar o singură fabrică de etanol cu o capacitate anuală de 100 milioane litri poate genera un nivel de poluare echivalent cu cel produs de un oraș cu 1,4 milioane de locuitori (Chowdhary et al., 2017). Aceasta înseamnă că borhotul trebuie sa fie mai întâi tratat pentru a putea fi deversat în sistemul de canalizare sau trebuie valorificat sub forma unor produse nepoluante.

Borhotul spirtier

Caracteristicile borhotului rezultat de la fermentația melasei și a porumbului sunt prezentate în tabelul 1.1.

Tabelul 1.1 Caracteristicile chimice ale borhotului spirtier

Subprodus	**NBO, ppm**	**Substanță uscată (% masic)**	**Cenușă (%masic)**	**Zaharuri (%masic)**	**Proteine (%masic)**	**Vitamine**	**Referințe**
Borhot de melasă	50-60 000	8,5	2,5	0,9	0,8	Conținut mare	(Chowdhary et al., 2017; Chaudhary și Arora, 2011)
Borhot de porumb	15-25 000	7,5	1,5	0,5	2,3	Conținut mare	(Chaudhary și Arora, 2011; Bookwalter et al., 1984; Bothast, 2005)
Borhot de cereale	15- 25000	4,2	4,7	0,7	34,8	Conținut mare	(Guran, 2018; Yu , 2024)

Necesarul biologic de oxigen (încărcarea poluantă) variază de la 60 000 ppm, pentru borhotul de melasă, la 15 000 ppm, pentru borhotul de porumb (Chowdhary et al., 2017). Borhotul de porumb are un conținut ridicat de nutrienți, inclusiv proteine și vitamine, datorită resturilor de

proteine din germeni și tărâțe care nu au fost complet descompuse în timpul fermentației (Zhang et al. 2010). Borhotul de melasă se situează pe locul doi în ceea ce privește valoarea nutritivă, având un conținut proteic mai scăzut comparativ cu cel al borhotului de porumb, dar remarcându-se printr-un aport considerabil de vitamine și minerale. Borhotul provenit din siropul de sfeclă sau de trestie, prezintă un profil nutritiv similar cu cel al borhotului de melasă, însă cu o concentrație mai redusă a nutrienților. (Ahern et al., 2011).

Borhot uscat rezultat din procesul de distilare. Proprietăți și potențiale utilizări

Industria distileriei produce anual cantități semnificative de subproduse, dintre care unul dintre cele mai valoroase din punct de vedere economic este reprezentat de borhotul uscat (Liu, 2011). Acest produs secundar este obținut în procesul de fermentație a cerealelor pentru producția de alcool. Borhotul uscat este constituit din componentele insolubile rămase în urma extragerii amidonului, fiind caracterizat printr-un conținut ridicat de proteine, fibre și lipide. Această compoziție îl recomandă drept o resursă valoroasă pentru multiple aplicații în domeniul industrial și agricol. (Luthria, 2020). Borhotul obținut din fracțiunea solubilă constituie un subprodus valoros al industriei distileriei, utilizat în diverse aplicații datorită compoziției sale nutritive complexe (Nuez et al., 2009). Această fracțiune conține o combinație echilibrată de proteine, lipide, fibre, carbohidrați, cenușă și o gamă largă de vitamine (tabelul 1.2), ceea ce îi conferă o utilitate crescută, în special în nutriția animalelor.

Tabelul 1.2 Valoarea nutritivă a borhotului uscat de distilerie*

Subprodus / Compoziția	**Proteine %**	**Lipide %**	**Fibre %**	**Cenușă %**	**Carbohidrați %**	**Vitamine (ppm)**				
						B2	**B5**	**B3**	**Colina**	**B1**
Borhot uscat de cereale	27	7	2	8	51	22	29	125	6500	8

**alcătuit de autor în baza referințelor bibliografice* (Liu, 2011; Stein și Shurson, 2009)

Macronutrienți

Borhotul este o sursă importantă de proteine (27%) esențiale pentru creșterea și întreținerea masei musculare la animale (Liu, 2011). De asemenea, conține un procent semnificativ de carbohidrați (51%), care oferă energie rapidă și contribuie la funcțiile metabolice (Liu, 2011). Conținutul lipidic de circa 7% contribuie la aportul energetic și susține absorbția vitaminelor liposolubile. În plus, cantitatea de fibre (2%) contribuie la îmbunătățirea digestiei, în special la rumegătoare, iar cenușa (8%) reflectă conținutul mineral bogat al produsului (Liu, 2011).

Vitamine

Borhotul conține o gamă variată de vitamine esențiale, care joacă un rol crucial în metabolismul organismelor: (Stein și Shurson, 2009)

Vitaminele din complexul B sunt prezente în cantități notabile, după cum urmează:

- Tiamina (B1) – 8 ppm;
- Riboflavina (B2) – 22 ppm;
- Niacina (B3) – 125 ppm;
- Acidul pantotenic (B5) – 29 ppm;
- Piridoxina (B6) – 9 ppm;
- Biotina (B7) – 0,5 ppm;
- Acid folic (B9) – 4 ppm;
- Acid p-aminobenzoic – 10 ppm;
- Colina – 6500 ppm.

Compoziția chimică echilibrată a borhotului îl face o sursă versatilă de nutrienți esențiali pentru animale. Conținutul ridicat de proteine și carbohidrați contribuie la îmbunătățirea performanței zootehnice, în timp ce vitaminele și carotenoizii susțin sănătatea metabolică și imunitară. În plus, mineralele prezente în cenușă completează cerințele nutritive ale animalelor, iar proporțiile adecvate de fibre sprijină funcțiile digestive (Stein și Shurson, 2009).

Acest profil chimic diversificat poziționează borhotul nu doar ca o resursă pentru furajare, ci și ca un potențial material utilizabil în alte industrii, cum ar fi producția de biogaz sau îngrășăminte organice, contribuind astfel la promovarea economiei circulare și la reducerea deșeurilor industriale.

Borhot uscat de distilerie cu fracțiune solubilă

În Europa, borhotul este utilizat în hrana animalelor sub forma lichida, așa cum rezultă de la distilare (Stein și Shurson, 2009). O altă soluție de valorificare a borhotului, rezultat din industria de producere a alcoolului, constă în amestecarea fracțiunii solubile din lichidul concentrat cu partea solidă, obținută prin presare, urmată de uscarea acestui amestec, în vederea obținerii borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă (de Vries et al., 2012). Datorită conținutului ridicat de energie, proteine, aminoacizi și fosfor, acest tip de borhot este utilizat pe scară largă ca ingredient furajer în alimentația rumegătoarelor, porcinelor, păsărilor de curte și a peștilor. În această calitate, borhotul uscat de distilerie cu fracțiune solubilă poate substitui parțial furaje costisitoare precum porumbul (sursă de energie), soia (sursă de proteine) și fosfații de calciu mono- sau dibazici (sursă de fosfor)(Shin et al., 2018).

Compoziția și valoarea nutrițională a borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă depind de sursa materiei prime, fabricile de producție și procedura de producție, prin urmare, nu există un profil standard de nutrienți disponibil pentru borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă (Liu, 2011). Borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă reprezintă o sursă valoroasă de fibre neutro-detergente (36,74% bază uscată), proteină brută (29,93% bază uscată) și fibre acido-detergente (16,2% bază uscată). De asemenea, acesta conține cenușă brută (12,82% bază uscată) și amidon (11,07% bază uscată) (Bhadra și Rosentrater, 2007). Borhotul uscat de distilerie cu fracțiune solubilă, derivat din porumb, prezintă o valoare energetică superioară porumbului brut, ceea ce îl recomandă drept un ingredient valoros în rațiile furajere destinate bovinelor pentru carne și lapte (Nuez et al., 2009).

Unul dintre factorii care afectează capacitatea de stocare a borhotului este compoziția fitochimică, incluzând vitamina E, acizi ferulici, carotenoizi și xantofile. Aceste componente fitochimice au efecte antioxidante care contribuie la îmbunătățirea sănătății umane și animale. Ele sunt necesare pentru a proteja lipidele din borhot împotriva oxidării. Borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă are o concentrație ridicată de fibre neutro-detergente, lignină, celuloză și hemiceluloză (Anderson et al., 2006), ingredientele fiind de trei ori mai concentrate în borhot decât în boabele inițiale de porumb. Prelucrarea extinsă, cum ar fi uscarea la temperaturi ridicate, poate afecta negativ aceste ingrediente și reduce calitatea borhotului prin oxidarea lipidelor (Andersonet al., 2006; Shin et al., 2018).

Borhoturile uscate cu fracțiune solubilă constituie, totodată, o sursă importantă de compuși fitochimici, recunoscuți pentru activitatea lor antioxidantă și efectele benefice asupra sănătății. Conținutul acestor compuși variază în funcție de tipul de cereale utilizat și de condițiile de procesare. Antioxidanții prezenți în borhot contribuie la prevenirea unor afecțiuni grave, precum cancerul, bolile cardiovasculare și disfuncțiile asociate stresului oxidativ la nivel celular (Salim et al., 2010). Borhotul conține, de asemenea, xantofile care sunt antioxidanți ce intensifică culoarea galbenă a gălbenușului de ou (Shin et al., 2018). Xantofilele, care sunt carotenoizi vegetali, sunt benefice pentru sănătatea oculară umană. Xantofile precum luteina și zeaxantina contribuie la prevenirea cancerului și a bolilor asociate îmbătrânirii (Li și Engelberth, 2018). În borhot, concentrațiile de luteină și zeaxantină sunt de trei ori mai mari decât în porumbul brut, ceea ce le conferă un rol semnificativ în menținerea sănătății ochilor (Luthria, 2012; Shin et al., 2018).

Utilizările borhotului uscat de distilerie cu fracție solubilă

Borhotul uscat de distilerie cu fracțiune solubilă, rezultat din fabricile de producție a etanolului, este evaluat la un preț mai mic decât porumbul, deși oferă mai multe beneficii decât

porumbul ca ingredient furajer. Câteva utilizări ale borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă în produse alimentare sunt rezumate în tabelul 1.3.

Tabelul 1.3 Utilizările borhotului uscat cu fracție solubilă în produse alimentare

Produs alimentar	Ingrediente principale	Nivel de substituție (%)	Comentarii	Referință
Fursecuri cu zahăr	Făină din tărâțe uscată de distilerie	15; 25	Culoare mai închisă și reducerea lățimii și grosimii; se recomandă o includere de 15% în rețetă	(Buenavista et. al, 2021)
Alimente mixte (porumb-soia-lapte)	Concentrat proteic din porumb, tărâțe de porumb uscate de distilerie- tărâțe de porumb cu solubile	2,5; 5; 10	S-a recomandat (2,5%) pentru acest amestec, în timp ce utilizarea tărâțe de porumb cu solubile și concentrat proteic din porumb a fost respinsă; Sursele de materii prime și condițiile de procesare influențează aroma coproduselor	(Bookwalter et al., 1984)
Spaghete	Tărâțe de porumb uscate de distilerie extrase cu azeotrop hexan-etanol	5;10; 15	Recomandată o adăugare de maxim 10% tărâțe de porumb uscate de distilerie; mai multă proteină, grăsimi, fibre și aminoacizi comparativ cu spaghetele convenționale.	(Mohammadi et al., 2021)
Pita (lipie)	Tărâțe uscate de distilerie calitate alimentară	max 15	Creștere în conținutul de aminoacizi, proteine și grăsimi	(Rosentrater și Krishnan, 2006)
Gustări expandate	Tărâțe uscate de distilerie cu solubile calitate alimentară	max 20 DGS	Relație directă între vâscozitate și rata de includere a borhotului uscat cu solubile	(Singha et al., 2018)
Biscuiți cu valoare energetică înaltă	Tărâțe uscate de distilerie calitate alimentară + Năut	25; 50	Conținut ridicat de proteine și fibre alimentare, cu o calitate senzorială acceptabilă.	(Rosentrater și Krishnan, 2006)

Continuarea tabelului 1.3

Pita (lipie)	Tărâțe uscate de distilerie + Năut	10; 20	Impact pozitiv asupra conținutului de aminoacizi și fibre, fără impact semnificativ asupra gustului; durată de viață mai mare.	(Saunderset et al. 2013)
Pita (lipie)	Tărâțe uscate de distilerie + Năut	10; 20	Impact pozitiv asupra conținutului de aminoacizi și fibre, fără impact semnificativ asupra gustului; durată de viață mai mare.	(Saunderset et al. 2013)

Odată cu creșterea producției de etanol, fabricile de distilare generează cantități semnificative de subproduse, în principal borhotul. Identificarea unor utilizări alternative pentru borhotul uscat de distilerie cu fracțiune solubilă – ca materie primă pentru fermentație, ingredient în furaje sau produse alimentare – precum și creșterea gradului de valorificare prin îmbunătățirea digestibilității și siguranței acestuia, contribuie la consolidarea unei economii circulare (Bhadra et al., 2007). Aplicațiile borhotului uscat de distilerie cu fracție solubilă–în hrana animalelor și în alimentația umană sunt descrise mai jos.

Borhotul uscat de distilerie cu fracție solubilă în alimentația umană

Pentru a crește profitabilitatea fabricilor de etanol, subprodusele generate, inclusiv borhotul, ar trebui extinsă utilizarea acestora în alimentația umană (Rosentrater și Krishnan, 2006). Borhotul uscat de distilerie cu fracție solubilă este considerat un aliment funcțional datorită conținutului ridicat de proteine și fibre, ceea ce trezește interesul pentru utilizarea sa în diverse rețete alimentare (Singha et al., 2018).

Includerea borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă în alimentație este benefică pentru persoanele cu probleme de sănătate precum diabetul și boala celiacă (Saunders et al., 2013). De exemplu, s-a raportat un indice glicemic mai scăzut în pita (lipie) care conține borhotul uscat de distilerie cu fracțiune solubilă și năut, separat sau în amestec, comparativ cu rețetele care folosesc făină de grâu 100% (Saunders et al., 2013; Samala et al., 2012).

Includerea borhotului în pâine, gustări și produse de cofetărie poate îmbunătăți valorile nutriționale și poate oferi beneficii suplimentare, precum controlul impactului glicemic (Liu, 2011). În rețetele de pâine de porumb, încorporarea unei proporții de până la 20%–25% de borhot nu a afectat negativ textura pâinii sau reologia aluatului. Pâinea de porumb, îmbogățită cu borhot, a prezentat o textură mai moale și un volum mai mare comparativ cu mostra martor, deși

culoarea produsului finit a fost ușor mai închisă. Calitatea pâinii s-a îmbunătățit pe parcursul perioadei de depozitare (Liu, 2011). Pentru a crește acceptabilitatea produselor alimentare care conțin borhot, au fost sugerate mai multe tratamente tehnologice, precum dezodorizarea, albirea și măcinarea fină (Saunders et al., 2013).

Utilizarea borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă în hrana bovinelor

Utilizarea borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă în alimentația bovinelor furnizează o sursă semnificativă de energie, echivalentă cu 118%–130% din valoarea energetică a porumbului, prezentând totodată un conținut redus de amidon și fibre ușor fermentescibile. Această caracteristică contribuie la diminuarea riscului de acidoză ruminală, comparativ cu alimentația pe bază de porumb laminat uscat (Ahern et al., 2011).

Includerea borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă în rația bovinelor reprezintă, totodată, o strategie eficientă pentru sporirea sustenabilității economice a fabricilor de etanol. Cu toate acestea, utilizarea sa este limitată de conținutul ridicat de fibre, ceea ce îl face adecvat în special pentru hrănirea rumegătoarelor. Alte provocări includ variabilitatea compozițională, care afectează precizia formulării rațiilor, precum și costurile mari asociate cu îndepărtarea apei (Rausch și Belyea, 2006).

Fiind o sursă concentrată de proteine, borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă poate substitui parțial componentele din hrana totală amestecată destinată vacilor de lapte și poate înlocui o parte din cerealele energetice din rația acestora (Zhang et al., 2010). Produsele derivate din borhot au fost utilizate și pentru înlocuirea parțială a silozului de porumb în alimentația vitelor tinere (heifer). Deși consumul de hrană (exprimat ca substanță uscată) a fost redus, nu s-au observat diferențe semnificative în ceea ce privește sporul ponderal al vitelor hrănite cu siloz de porumb comparativ cu cele alimentate cu borhot (Arias et al., 2008).

Studiile au arătat că substituirea parțială a hranei totale cu borhotul uscat de distilerie cu fracțiune solubilă (15%) în hrana vacilor Holstein aflate în lactație nu a afectat negativ digestibilitatea hranei, producția totală de lapte sau compoziția acestuia, având chiar efecte pozitive asupra eficienței hranei (Kelzer et al., 2009). Substituirea cu borhotul uscat de distilerie cu fracțiune solubilă (20%) a orzului boabe sau a silozului a dus la creșterea producției de lapte, precum și a conținutului de proteine și lactoză, fără a afecta pH ruminal sau a provoca acidoză (Zhang et al., 2010).

Beneficii economice și ecologice

Utilizarea borhotului uscat de distilerie cu fracțiune solubilă, bogat în proteine și fibre, reduce necesarul de lucernă, soia și porumb măcinat în hrana ajustată, având un cost mai mic decât aceste ingrediente. Astfel, borhotul uscat de distilerie cu fracțiune solubilă contribuie la reducerea

costurilor de producție a laptelui și la creșterea veniturilor fermierilor (Kelzer et al., 2009). Substituirea parțială a hranei totale cu borhot uscat de distilerie cu fracțiune solubilă contribuie la reducerea emisiilor de metan (CH_4) generate în timpul digestiei ruminale la vacile de lapte, fără a compromite aportul nutrițional, nivelul producției lactate sau compoziția chimică a laptelui.

Biomasa rezultată din industria vitivinicolă – caracteristica și posibilitățile de utilizare

Vița de vie este una dintre cele mai importante culturi cultivate la nivel mondial (Gómez-Brandón et al., 2019). Rapoartele Organizației Internaționale a Viei și Vinului (OIV) arată că 292 de mln vin au fost produse la nivel mondial în 2018 (Hussain et al., 2008). Statele Unite ale Americii, Australia, Italia, Spania, Franța și Germania sunt principalele țări producătoare de struguri (Hussain et al., 2008). Spania, China, Italia, Turcia și Franța contribuie colectiv cu 50% din producția totală de vin la nivel mondial (Hussain et al., 2008).

În ultimii ani a avut loc o schimbare drastică a cererii consumatorilor. Sunt solicitate produse prelucrate în mod natural, fără aditivi (Bianco și Uccella, 2000). Consumatorii manifestă o preferință crescută pentru produse alimentare sigure, cu gust superior și caracter tradițional, considerate naturale și lipsite de aditivi sintetici (Bianco și Uccella, 2000). În acest context, înlocuirea antioxidanților sintetici – precum butil-hidroxi-anisolul (BHA, E320), butil-hidroxi-toluenul (BHT, E321) și tert-butilhidrochinonă (TBHQ, E319) – cu compuși antioxidanți de origine naturală constituie o direcție prioritară în cercetarea alimentară actuală. Această orientare este justificată de acumularea dovezilor științifice privind efectele nocive ale acestor aditivi asupra sănătății umane, în special în condițiile unei expuneri repetate sau prelungite. Studiul realizat de autorii (Ren et al., 2025) a evidențiat, prin abordări de toxicologie în rețea, că BHA, BHT și TBHQ pot induce efecte hepatotoxice, nefrotoxice și neurotoxice semnificative, fiind implicați în perturbarea căilor metabolice și în activarea unor markeri ai stresului oxidativ. În completare, autorii (Esazadeh et al., 2024) au demonstrat, în studii *in vitro,* că TBHQ, BHA și galatul de propil pot exercita efecte citotoxice și genotoxice asupra celulelor umane, indicând astfel un risc biologic potențial asociat utilizării acestor aditivi în industria alimentară. Aceste rezultate susțin necesitatea reducerii utilizării compușilor sintetici cu risc toxicologic și orientarea către surse naturale de antioxidanți, cum ar fi compușii fenolici și flavonoidele, care prezintă un profil de siguranță superior și beneficii adiționale asupra sănătății. Produsele secundare vitivinicole pot fi folosite pentru extragerea de polifenoli în vederea utilizării lor în alimente (Lapornik et al., 2005; Yilmaz și Toledo, 2005). Polifenolii nu prezintă doar activitate antioxidantă, dar și alte proprietăți precum activitatea anticanceroasă, antialergică, antimutagenă și antiîmbătrânire (Jayaprakasha et al., 2001; Jayaprakasha et al., 2003).

Tescovina de struguri, pieliță, tulpina și tescovină sunt printre produsele secundare majore generate de industria vinicolă. În plus, o cantitate importantă de apă uzată, drojdie de vin, lăstari, reziduurile de filtru, generate în cadrul proceselor din industria vinului reprezintă, de asemenea, o sursă semnificativă de poluare a mediului (Musee et al., 2007), deoarece cauzează emanări de compuși organici volatili (COV), creșterea cererii chimice de oxigen (CCO), infiltrarea în soluri a efluenţilor complecşi cu proprietăţi fizico-chimice (Rondeau et al., 2013).

Efecte toxicologice ale subproduselor de vinificație au fost raportate asupra plantelor terestre și organismelor acvatice chiar și la diluții mari, ceea ce implică necesitatea unui tratament adecvat al subproduselor vitivinicole (Sousa et al., 2019). Actualmente, subprodusele vitivinicole (figura 1.2) sunt direcționate de către producători fie spre compostare, fie spre deversare, dar acestea ar putea servi drept sursă pentru a produce multe produse cu valoare adăugată (Amulya et al., 2015; Ping et al., 2011; Spigno și De Faveri, 2007).

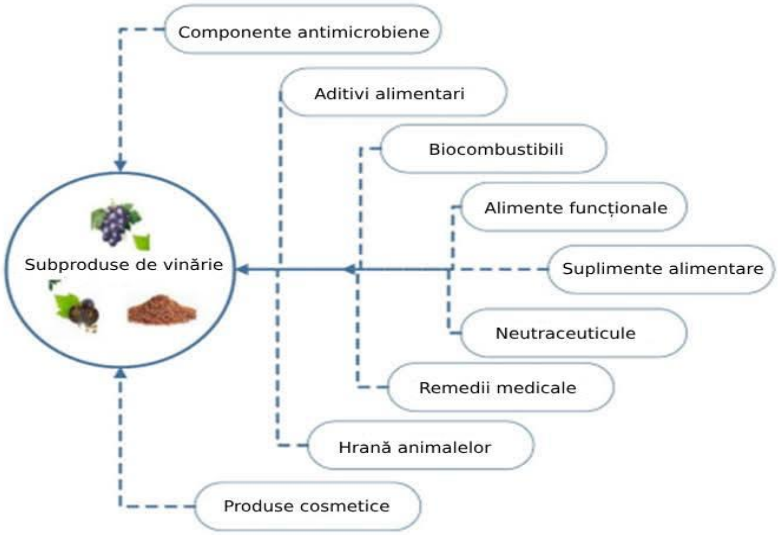


Figura 1.2 Opțiuni de valorificare a produselor secundare vitivinicole (Amulya et al., 2015; Ping et al., 2011; Spigno și De Faveri, 2007)

În plus, față de utilizările tradiționale, limitate la industriile de îngrășăminte și biocombustibili, acestea ar putea servi pentru obținerea unor aditivi alimentari, inclusiv compuși cu proprietăți antimicrobiene, conservanți, antioxidanți pentru fabricarea alimentelor funcționale, suplimente alimentare, nutraceutice, remedii medicale și produse cosmetice. Nevoia crescută de energie și valorificarea deșeurilor prin procese ecologice sunt forțate pentru a trece de la practici generale la abordări circulare durabile (Venkata et al., 2016).

Mai multe studii recente au atras atenția asupra acestora produse vinicole secundare ca o bună oportunitate de recuperare a compușilor antioxidanți, care ulterior ar putea fi utilizați ca nutraceutice și ingrediente pentru alimentele funcționale (Alonso et al., 2002; Barcia et al., 2014;

Beres et al., 2017; Vanessa et al., 2018), extracte bogate în polifenoli obținute din pieliță și semințe de struguri (Marwa et al., 2014; Caldas et al., 2018; Thorsten et al., 2009; Medouni-Adrar et al., 2015). Tescovina poate fi folosită și drept sursă de polizaharide și fibre (Rondeau et al., 2013; Beres et al., 2019; Mendes et al., 2013). La fel, ciorchinii, obținuți în urma desciorchinării, apar ca o sursă importantă de compuși fenolici (Anastasiadi et al., 2012; Barros et al., 2014; González-Centeno et al., 2013; Spatafora et al., 2013) în special stilbenii (Rondeau et al., 2013; Ewald et al., 2017; Prozil et al., 2012).

Mai multe studii *in vivo* și *in vitro* cu compușii fenolici prezenți în vin și tescovină, au demonstrat efecte importante pentru promovarea sănătății, cum ar fi protecția neuronilor pentru prevenirea tulburărilor cognitive și psihice (Gomez-Pinilla și Nguyen, 2012; Zorraquín-Peña et al., 2019), reducerea colesterolului (de Oliveira et al., 2018), prevenirea bolilor cardiovasculare (Chacar et al., 2019; Herrera-Bravo et al.,2021), reducerea rezistenței la insulină (Costa et al., 2017) și acțiunea antiproliferativă împotriva celulelor canceroase (Pérez-Gregorio et al., 2017).

Ingredientele funcționale sunt obţinute prin procedee de extracţie cu solvenţi apoşi sau alcoolici (Marwa et al., 2014; Caldas et al., 2018; Anastasiadi et al., 2012; Costa et al., 2017; Rodríguez-Esparza et al., 2020) și, cel mai recent, prin extracție cu CO_2 supercritic (Barajas-Álvarez et al., 2021; Cañadas et al., 2021). Aceste procese prezintă dificultăţi tehnice pentru extinderea industrială, în special din cauza problemelor legate de perisabilitatea acestor produse și a logisticii produselor secundare din industria vinicolă.

Având în vedere problema produselor secundare din industria vinicolă, identificarea unei soluții viabile pentru utilizarea produselor secundare cu scopul de a obține ingrediente cu o valoare biologică sporită, a fost necesară realizarea unui studiu legat de procesarea produselor secundare din industria vinicolă cu scop de conservare a funcționalității lor prin procese de deshidratare, ceea ce va permite valorificarea lor ulterioară. De asemenea, este necesar să fie elaborate tehnici de extracție eficiente pentru a realiza recuperări optime ale compușilor.

1.2 Compoziția chimică și proprietățile bioactive ale tescovinei de struguri

Tescovina de struguri reprezintă subprodusul deshidratat rezultat în urma presării strugurilor (*Vitis vinifera* L.) în procesul de fabricare a vinului și a sucului de struguri. Aceasta este compusă din pulpă, coji, semințe, pedunculi și, uneori, fragmente de tulpini (suportul lemnos al ciorchinului) (Gomez-Pinilla și Nguyen, 2012). Tescovina se remarcă printr-un conținut ridicat de compuși fenolici, rezultat al extracției incomplete a acestora în timpul vinificației (Apolinar-Valiente et al., 2015). Acești compuși fenolici sunt metaboliți secundari ai plantelor, cu potențiale efecte benefice asupra sănătății umane datorită activității lor antioxidante și proprietăților

antimicrobiene, antivirale și antiinflamatorii (Prozil et al., 2012). Prin urmare, tescovina de struguri constituie o sursă ieftină pentru extracția de compuși fitochimici care pot fi utilizați în industriile farmaceutice, cosmetice și alimentare (Apolinar-Valiente et al., 2015). Ca urmare a atenției sporite acordate durabilității practicilor agricole, s-au făcut eforturi pentru a utiliza extractele din tescovina de struguri în diferite domenii ale industriei. S-a demonstrat că tescovina de struguri, după extracția compușilor bioactivi, poate fi supusă procedurilor de extracție a taninurilor condensate, recomandate pentru producția de adezivi (Gambier, 2014). Compoziția elementală a tescovinei de struguri este prezentată în tabelul 1.4.

Tabelul 1.4 Compoziția elementală a tescovinei de struguri (macroelemente și microelemente)*

	Macroelemente, g/kg							**Microelemente, mg/kg**					
Elemente	Ca	P	Mg	K	Na	Cl	S	Mn	Zn	Cu	Fe	Se	Co
Brut	9	2,5	0,8	12,7	0,2	0,5	1,4	12	23	45	329	0,2	0,4
Uscat	9,9	2,7	0,8	14	0,22	0,5	1,6	13	25	49	361	0,2	0,4

**alcătuită de autor în baza surselor bibliografice* (Apolinar-Valiente et al., 2015; Gambier, 2014)

După cum rezultă din tabelul 1.4, tescovina de struguri reprezintă o sursă importantă de fier, potasiu și mangan, dar și de cupru și zinc. Tescovina de struguri este săracă în elemente, precum sodiul și calciul.

Compoziția chimică estimativă și valoarea energetică a tescovinei de struguri, în formă brută și uscată, sunt prezentate în figura 1.3.

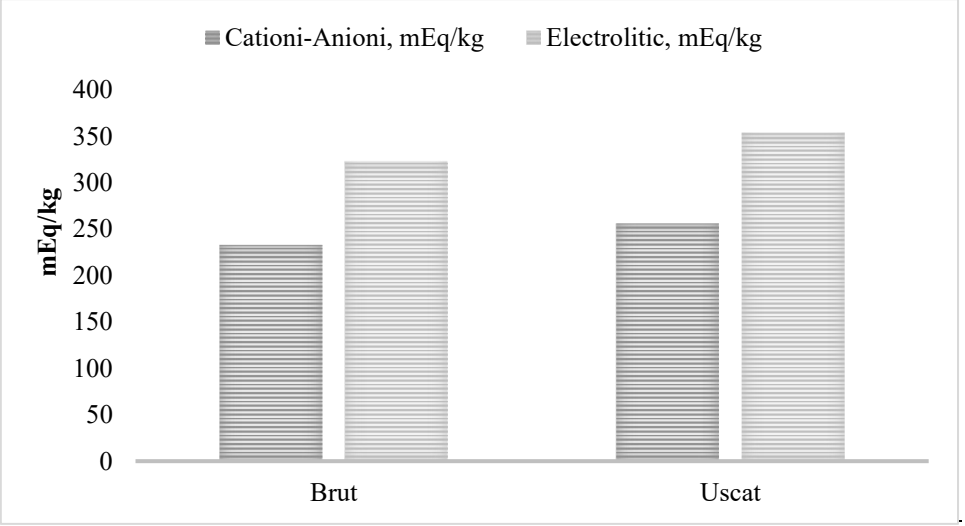


Figura 1.3 Compoziția chimică și valoarea energetică a tescovinei de struguri brută și uscată (*alcătuită de autor în baza surselor bibliografice* (Apolinar-Valiente et al., 2015; Patti et al., 2009))

Compoziția acizilor grași din tescovina de struguri este prezentată în tabelul 1.5.

Tabelul 1.5 Compoziția acizilor grași din tescovina de struguri*

Parametru	Acid palmitic C16:0, g/kg	Acid palmitoleic C16:1, g/kg	Acid stearic C18:0, g/kg	Acid oleic C18:1, g/kg	Acid linoleic C18:2, g/kg	Acid linolenic C18:3, g/kg	Acid arahidic C20:0, g/kg	Acid eicosenoic C20:1, g/kg	Acid miristic C14:0	Vitamina E, mg/kg
Brut	2,9	0,06	1,8	6,6	29	0,2	0,07	0,07	0,02	4,4
Uscat	3,2	0,07	1,9	7,2	31,8	0,2	0,08	0,08	0,03	4,9

**alcătuită de autor în baza surselor bibliografice (Carmona-Jiménez et al., 2022;Lutterodt et al., 2011; Baca-Bocanegra et al., 2021; Yu și Ahmedna, 2013; Monteiro et al., 2021)*

Conform datelor prezentate în tabelul 1.5, tescovina de struguri conține în special acid linoleic (70,9%), acid oleic (16,1%), acid palmitic și acid stearic (respectiv 7,1% și 4,3%) (Baca-Bocanegra et al., 2021). Acidul erucic lipsește. Se constată un conținut important de vitamină E (4,4 mg/kg în tescovina brută și 4,9 mg/kg în tescovina uscată) (Monteiro et al., 2021).

Compoziția aminoacizilor din tescovina de struguri este prezentată în tabelul 1.6.

Tabelul 1.6 Compoziția aminoacizilor din tescovina de struguri*

Parametru	Lizina	Treonina	Cisteina	Isoleucina	Valina	Leucina	Fenilalanina	Fenilalanina + tirozina	Arginina	Alanina	Acid aspartic	Acid glutamic	Glicina	Serina
Brut, g/kg	4,9	4,3	1,3	4,5	4,7	8,1	4,2	6,8	6,5	5,5	6,3	5,5	8	4,5
Uscată, g/kg	5,4	4,7	1,4	4,9	5,2	8,9	4,6	7,4	7,1	6	6,9	21,4	8,7	4,9

**alcătuită de autor în baza surselor bibliografice (Baca-Bocanegra et al., 2021; Yu și Ahmedna, 2013; Monteiro et al., 2021)*

Tescovina de struguri are un conținut important de acid glutamic (19,5 g/kg tescovina brută, 21,4 g/kg tescovina uscată) și aspartic (respectiv 6,3 și 6,9 g/kg) (Baca-Bocanegra et al., 2021). Este atestat și un conținut important de aminoacizi esențiali. Totuși, majoritatea studiilor demonstrează, că digestibilitatea azotului din tescovina de struguri este moderată, aceasta variind între 16,3% la iepuri până la 82,1% la pești. În cazul porcilor acest indicator variază între 47,7 și 68,1%, iar pentru păsări – 61-78% (Lutterodt et al., 2011).

Analiza literaturii de specialitate a elucidat că compoziția chimică a strugurilor este influențată de factorii de mediu și de soiurile de struguri (Rondeau et al., 2013). Mai multe studii au abordat deja anumite caracteristici ale diferiților polimeri de carbohidrați din pielița de struguri

(Llobera și Cañellas, 2007), tulpini de struguri (Ping et al., 2011). Tescovină de struguri a fost, de asemenea, evaluată ca o sursă de antioxidanți datorită conținutului său ridicat de polifenoli. De fapt, de la observațiile „paradoxului francez" (Lippin et al., 2010), numeroase studii au evidențiat efectele benefice ale polifenolilor din struguri sau vin pentru sănătatea umană (de Gaetano et al., 2003). Au fost raportate, de asemenea, compoziția generală a diferitelor tipuri de tescovină de struguri (Llobera și Cañellas, 2007; Llobera și Canellas, 2008). Tescovina de struguri conține componente care inhibă proliferarea celulelor canceroase Caco-2 și HT-29 prin declanșarea apoptozei, prezintă captatori puternici de radicali liberi și pot oferi un anumit nivel de protecție împotriva anumitor tipuri de cancer (Parry et al., 2021).

Caracterizarea chimică a tescovinei de struguri prezintă o necesitate prealabilă pentru evaluarea potențialului acestora, determinarea randamentului de extracție și controlul calitativ. Au fost identificați mai mulți compuși fenolici, care sunt reprezentativi pentru diversele tipuri structurale. Profilele compușilor fenolici, recuperați din deșeurile de la diferite vinării, au fost dominate de acidul galic, catechină și epicatechină. În plus, au fost identificate, de asemenea, hidroxi-tirozol, tirozol, glicozide cianidinică și diverși acizi fenolici precum cafeic, procatechinic, siringic, vanilic, o-cumaric, p-cumaric (Lafka et al., 2007; Peixoto et al., 2018).

Conținutul de antociani și flavan-3-oli variază în funcție de soiul de struguri și de tipul de extract (fruct întreg vs tescovină fermentată). Cu toate acestea, toate extractele fenolice de struguri inhibă remarcabil glucoziltransferazele B și C (inhibare 70-85%) la concentrații de până la 62,5 µg/mL ($P < 0,01$) (Mollica et al., 2021). Mai mult, scăderea glicolitică a pH de către celulele *S. mutans* este inhibată de extractele de struguri fără a afecta viabilitatea bacteriană, un efect care poate fi atribuit inhibării parțiale a activității F-ATPazei (inhibare 30-65% la 125 µg/mL; $P < 0,01$) (Mollica et al., 2021). Activitatea biologică a tescovinei fermentate a fost fie la fel de eficientă, fie semnificativ mai bună decât extractele din fructe întregi (Thimothe et al., 2007). Rezultatele au arătat că extractele fenolice de struguri, în special din tescovină, sunt foarte eficiente împotriva trăsăturilor specifice de virulență ale *S. mutans*, în ciuda diferențelor majore în conținutul lor fenolic.

Compușii fenolici sunt în principal sintetizați din carbohidrați prin intermediul acidului shikimic și a acetatului. Acidul shikimic conduce după trans-aminare și desaminaree la acizi cinamici și derivații acestora. Acetații conduc la policetesteri sau poliacetați (malonat). Structura compușilor fenolici pleacă de la un singur nucleu aromatic cu greutate moleculară mică până la taninuri complexe cu greutate moleculară foarte mare, care variază în funcție de natura scheletului de carbon și în funcție de lungimea lanțului alifatic legat de nucleul benzenic (Chira et al., 2008).

Compușii fenolici sunt capabili de conjugare cu oze sau acizi organici. Compușii fenolici pot fi împărțiți în două mari grupe: flavonoide și non-flavonoide.

Flavonoidele sunt compuși polifenolici cuprinzând 15 atomi de carbon formând o structură C_6-C_3-C_6, două inele aromatice legate printr-o punte de 3 atomi de carbon. Acestea sunt cele mai abundente printre toți compușii fenolici. Ei au diferite roluri în plante ca metaboliți secundari, fiind implicați în procesele de apărare împotriva razelor UV, pigmentare, fixarea azotului și rezistența la boli. Structura din C_6-C_3-C_6 este produsul celor două căi sintetice ale compușilor fenolici (figura 1.4) (Chira et al., 2008). Nucleul B și puntea de carbon constituie o unitate fenilpropanoidă sintetizată din fenilalanină pe calea acidului shikimic, în timp ce nucleul A provine din condensarea a 3 unități de acetat prin intermediul acidului malonic. Fuziunea acestor două părți implică condensarea unui fenilpronanoid, cel 4-cumaril, cu 3 malonil CoA, fiecare acordând 2 atomi de carbon. Reacția este catalizată de calcona sintezaza, generând astfel tetrahidroxicalcona, care poate să genereze, la rândul său, toate flavonoidele (Chira et al., 2008).

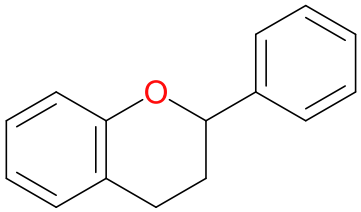
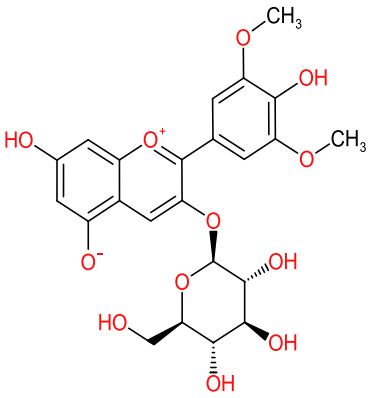


Figura 1.4 Structura flavanului – scheletul de bază C_6–C_3–C_6 comun compușilor flavonoidici (Chira et al., 2008)

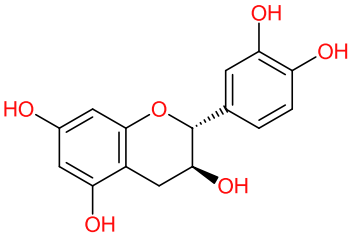
Flavonolii sunt des compuși extrem de răspândiți. Astfel de flavonoli precum myricetina, qercetina, kaempferolul sunt în majoritatea cazurilor prezenți sub forme de O-glicozide. Legătura este cel mai frecvent în poziția 3 a nucleului aromatic C, deși sunt posibile substituțiile în pozițiile 5,7,4',3' și 5' (Panche et al., 2016). Numărul de agliconi este limitat, însă există un număr impunător de derivați. În structura flavonoidelor, fragmentele osidice reprezintă unități glucidice (mono- sau oligozaharide) care se leagă de nucleul agliconic prin legături glicozidice. Acestea influențează solubilitatea, stabilitatea și activitatea biologică a compusului. Există o variabilitate largă a concentrației de flavonoli în funcție de anotimp și de soiul luat în considerare. Structura lor este plată. Patru flavonoli sunt prezenți predominant în struguri: kaempferol, qercetină (5-10 mg/kg), miricetină și izorhamnetină. Derivații de quercetină mereu sunt predominanți. Conținutul mediu maxim de flavonoli din struguri este în jur de 50 mg/kg, dar variază între 10 și 285 mg/kg (Pietta, 2000).

Flavanonele sunt primii produși ai căii de sinteză a flavonoidelor. Ele se caracterizează prin absența dublării dintre C_2 și C_3 și prin prezența unui centru de chiralitate C_2. Majoritatea flavanonelor găsite în natură au inelul B atașat de inelul aromatic C. Structura flavanonelor este foarte reactivă și dă naștere reacțiilor de hidroxilare, O-metilări și glicozilare. Flavanonele sunt prezente în struguri la concentrații de câteva mg/kg (Gudej și Tomczyk, 2004).

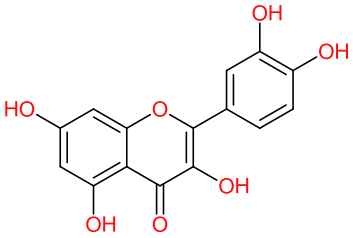
Flavan-3-olii sunt cea mai complexă categorie de flavonoide. Acești compuși variază de la monomeri simpli (+) - catechină și izomerul său (-) - epicatechină, până la oligomeri și polimeri ai proantocianidinelor, figura 1.5 (Pietta, 2000). Proantocianidinele sunt formate din catechină și epicatechină cu cuplări oxidative între pozițiile C_4 ale heterociclului și C_6 sau C_8 ale monomerului adiacent. Oligomerii procianidinelor sunt formați din 2 până la 5 unități de catechine sau epicatechine, polimerii fiind formați din 6 sau mai multe unități.



Malvidină 3-O-β-D-glucozidă



Flavan-3-ol ((+)-Catechină)



Flavonol (quercetină)

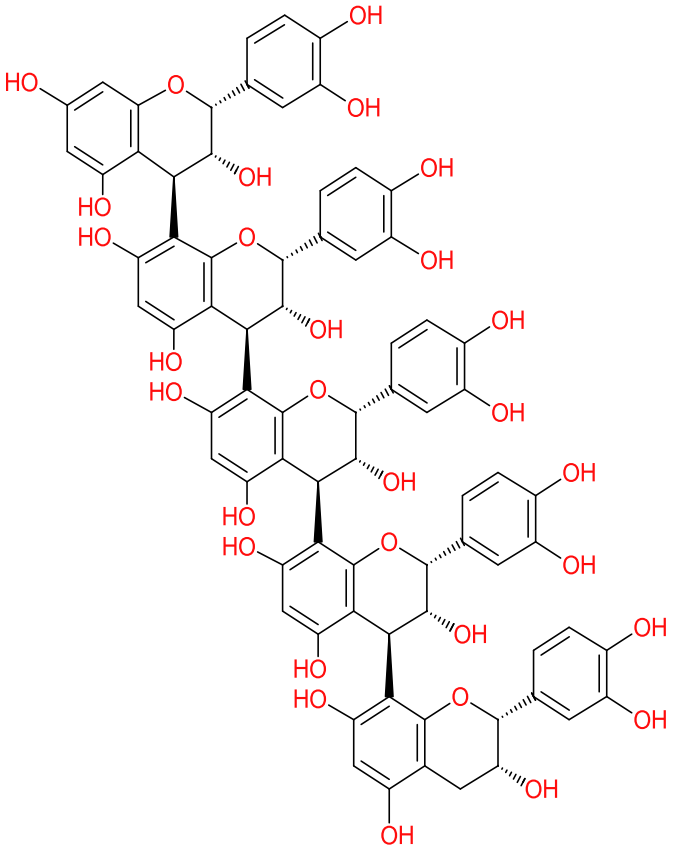


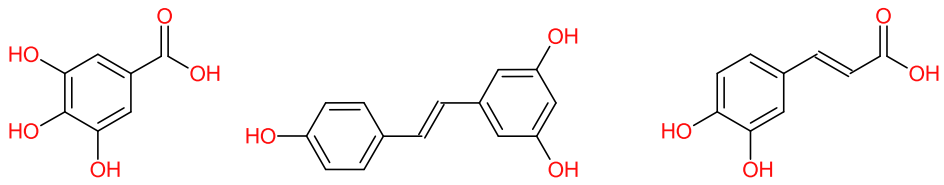
Figura 1.5 Principalele clase de flavonoide (Gudej și Tomczyk, 2004)

În plus, flavan-3-olii pot fi esterificați cu acid galic sau, alternativ, hidroxilați pentru a forma galocatechine și galotaninuri. Flavan-3-olii din struguri se găsesc nemijlocit sub formă de polimeri. Taninurile din semințe sunt alcătuite din procianidine (polimeri ai catechinei și epicatechinei), parțial galoilate, în timp ce cele din pielița strugurilor conțin și prodelfinidine (polimeri de galocatechină și epigalocatechină) (Gudej și Tomczyk, 2004).

Flavonele sunt structural foarte apropiate de flavonoli, diferența fiind absența hidroxilului în poziția C_3. Există, de asemenea, multe substituții accesibile pentru flavone, cum ar fi hidroxilarea, metilarea, O- și C-alchilarea și glicozilarea. Flavonele sunt prezente în principal sub formă de glucozide. Strugurii conțin cantități foarte mici de flavone (Panche et al., 2016; Pietta, 2000).

Antocianiadinele sunt prezente pe scară largă în regnul vegetal, în principal sub formă de glicozide, exclusiv în strugurii negri la nivelul pieliței (strugurilor albi le lipsesc) (Amendola et al., 2010). Sunt responsabile de culorile roșu, albastru și violet în funcție de pH mediului (Muñoz et al., 2021). Acești compuși sunt implicați în protecția plantelor împotriva excesului de lumină solară. Cele mai frecvente antocianidine sunt pelargonidin, cianidin,

delphinidin, peonidin și malvidin, dar acești compuși sunt prezenți doar în formă de conjugați glucozilați, antociani. Antocianidinele sunt capabile să formeze conjugate cu acizi hidroxicinamici și acizi organici (acid malic și acid acetic) (Holton și Cornish, 1995). Spre deosebire de alte specii (hibride) care au niveluri ridicate de antociani diglucozilate în pozițiile C-3' și C-5', specia *Vitis vinifera* conține doar urme de acești compuși. Acest lucru se datorează prezenței majoritare a antocianidinei 3-monoglucozidă, în special malvidină 3-O-glucozidă și derivații săi acilici (Welch et al., 2008). Antocianinele sunt prezente în struguri cu conținuturi medii de ordinul 500 până la 3000 mg/kg, dar pot atinge și valori de până la 5000 mg/kg (Muñoz et al., 2021). Non-flavonoide, principalele non-flavonoide de importanță alimentară sunt acizii fenolici, acizii hidroxicinamici și stilbenii (figura 1.6) (Zänglein et al., 2009).



Acid hidroxibenzoic (acid galic) | Stilben (trans-resveratrol) | Acid hidroxicinamic (acid cafeic)

Figura 1.6 Structura principalelor non-flavonoide (Zänglein et al., 2009)

Acizi fenolici, acizii hidroxibenzoici au o structură C_6-C_1, compusă dintr-un inel benzenic pe care este atașat un lanț alifatic. Printre aceștia se numără acidul vanilic, acidul siringic, acidul gentisic și acidul galic (Robbins, 2003). Compusul principal este acidul galic, care se conține în struguri între 100 și 230 mg/kg (Chira et al., 2008; Amendola, De Faveri și Spigno, 2010).

Acizii hidroxicinamici, acidul cinamic este un compus C_6-C_3 produs printr-o dezaminare a fenilalaninei, catalizată de fenilalanină amoniac-lază, acidul paracumaric (p-coumaric), fiind apoi produs prin hidroxilarea acidului cinamic. Acidul cinamic și acizii hidroxicinamici sunt, de asemenea, denumiți fenilpropanoide. Structura lor de bază include un inel benzenic cu un lanț alifatic cu 3 atomi de carbon, cu una sau mai multe grupări hidroxil esterificate adesea într-un ester de alcool alifatic (Taofiq et al., 2017). Acizii hidroxicinamici cei mai răspândiți sunt acizii cafeic, p-cumaric, ferulic și sinapic. Sunt generați prin serii de hidroxilare și metilare și se acumulează adesea sub formă de esteri ai acidului tartric: acizi coutaric, caftaric și fertaric, respectiv esterii acizilor p-cumaric, ferulic și sinapic (Taofiq et al., 2017). Acești constituenți sunt prezenți în principal în pulpa boabelor de struguri. Componenta majoră a acizilor hidroxicinamici din struguri este acidul caftaric (esterul cafeoil tartric) care poate fi găsit la un nivel de aproximativ 200 mg/kg (Rivera-Dominguez et al., 2010).

Stilbenii sunt compuși polifenolici care au o structură C_6-C_2-C_6, două inele benzenice legate printr-o punte de metilen. Sunt produse de plante drept răspuns la atacurile fungice, bacteriene sau virale, ceea ce a fost demonstrat pentru transresveratrol (Teka et al., 2022). Resveratrolul este sintetizat prin condensarea 4-cumarilului cu 3 malonil C_oA, fiecare oferind 2 atomi de carbon. Reacția este catalizată de stilben sintetaza, produșii implicați fiind aceiași ca și pentru sinteza flavonoidelor, singura diferență fiind enzima care catalizează reacția. Resveratrolul în formele cis- și trans- se găsește în țesuturile plantelor, în principal sub formă de trans-resveratrol-3-O-glucozide (Blackburn și Timmons, 1969). Au fost identificate în struguri și forme oligomerice ale stilbenilor, cum ar fi pallidol și viniferin, iar recent și un tetramer al resveratrolului: hopeafenol (Guebailia et al., 2006).

Conținutul de catechine și procianidine (oligomeri ai catechinelor) variază în funcție de tipul de struguri. În strugurii de masă conținutul acestor compuși variază între 243 și 1,108 mg/kg, din care peste 89% sunt localizați în general în semințe (Nel et al., 2014). Tabelul 1.7 prezintă distribuția compușilor polifenolici în funcție de diferitele părți ale boabelor de struguri roșii (Sturza et al., 2023).

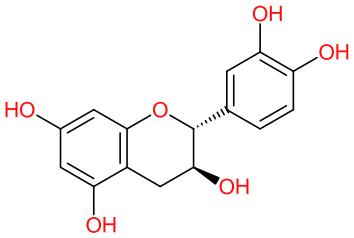
Tabelul 1.7 Distribuția compușilor polifenolici în struguri (mg/kg)*

Compuși	Pulpă	Pieliță	Semințe
Taninuri	Urme	100-500	1000-6000
Antociani	-	500-3000	-
Acizi fenolici	20-170	50-200	-

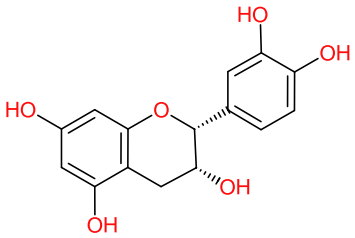
**alcătuit de autor în baza surselor bibliografice* (Nel et al., 2014; Rauf et al., 2019; de Sá et al., 2014; Freitas și Glories, 1999; Sturza et al., 2023)

O asemenea distribuție atestă faptul, că tescovina de struguri rezultată în procesul de vinificație prezintă o sursă extrem de concentrată de compuși bioactivi. Taninurile din tescovină de struguri sunt compuse în principal din proantocianidine sau taninuri catehetice. Sunt compuși formați din unități monomerice sau polimerice de flavan-3-oli (Alonso et al., 2002).

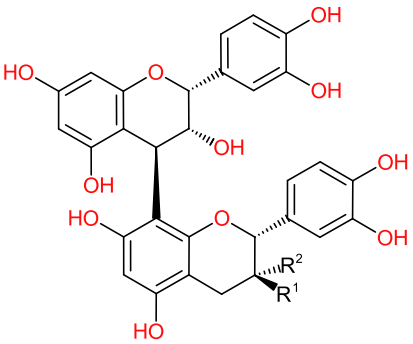
Proantocianidinele, cunoscute și sub numele de tanini condensați sunt sintetizați ca metaboliți secundari polifenolici prin calea biosintetică flavonoidă. Procianidinele oligomerice, extrase din scoarța de pin și din semințele de struguri prin tehnici specializate, continuă să atragă atenția datorită proprietăților lor biologice și fiziologice (de Sá et al., 2014). Sunt compuse din unități de procianidină și prodelfinidină care sunt legate între ele printr-o legătură C_4-C_8 (figura 1.7) (de Sá et al., 2014; Chengolova et al., 2023).



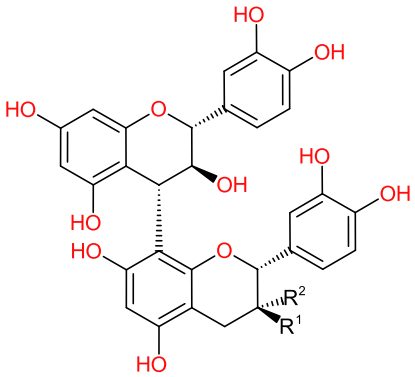
1



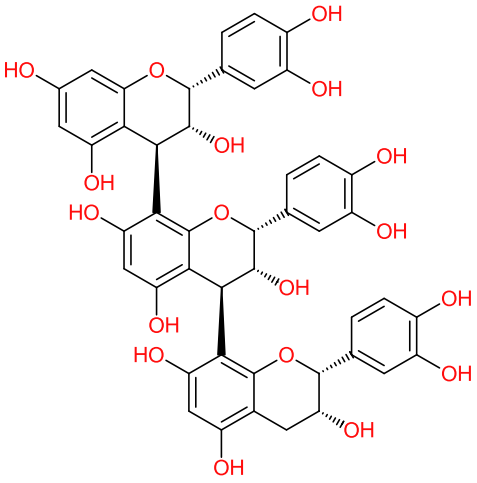
2



3 (R^1=H, R^2=OH)
4 (R^1=OH, R^2=H)



5 (R^1=H, R^2=OH)
6 (R^1=OH, R^2=H)



7

Figura 1.7 Structuri ale flavan-3-olilor și procianidinelor - constituenți principali ai extractului de semințe de struguri: (+) - catechina (1), (-) - epicatechina (2), procianidina B1 (3), B2 (4), B3 (5), B4 (6) și C1 (7) (de Sá et al., 2014)

Conținutul ridicat de polifenoli constituie un dezavantaj pentru utilizarea tescovinei ca hrană pentru animale și implică potențiale probleme de poluare atunci când sunt utilizate ca îngrășământ pentru sol.

Numeroase studii demonstrează eficacitatea SBA extrași din tescovina de struguri asupra sănătății, în special datorită efectelor antioxidante, antiinflamatorii și microbiostatice, legate de conținutul important de SBA (Rzeppa et al., 2012). Activitatea antioxidantă a extractelor din tescovină de struguri a fost evaluată asupra șoarecilor masculi obezi cu dietă indusă (ODI), prin

capacitatea de absorbție a radicalilor de oxigen (ORAC) (Hogan et al., 2010). Șoarecii masculi ODI au fost împărțiți aleatoriu în trei grupuri de tratament (n = 12): o dietă normală (grup DN), o dietă bogată în grăsimi (grup Gr) și dieta bogată în grăsimi suplimentată cu extracte din tescovină de struguri (grup GrTS). După un tratament de 12 săptămâni, șoarecii din grupurile cu dietă bogată în grăsimi au adăugat cu 29% mai multă greutate decât grupul DN. Suplimentarea cu extracte din tescovină de struguri, estimată la 250 mg/kg/zi (grup GrTS) a scăzut nivelurile plasmatice de proteină C reactivă cu 15,5% la șoarecii hrăniți cu dietă bogată în grăsimi, sugerând un efect antiinflamator potențial (Hogan et al., 2010). Astfel, extractele din tescovină de struguri exercită un efect antiinflamator în obezitatea indusă de dietă, evident, datorită conținutului important de compuși polifenolici si antociani, estimat la 475,4 mg de acid galic echiv/g și, respectiv, 156,9 mg de cianidin 3-glucozid echiv/g (Rzeppa et al., 2012; Hogan et al., 2010). Catechina și epicatechina în GPE au fost 28,6 și respectiv, 24,5 mg/g. Alți antioxidanți majori din GPE au inclus quercetină (1,6 mg/g), trans-resveratrol (60 μg/g), acid galic (867,2 μg/g), acid coutaric (511,8 μg/g), acid p-hidroxibenzoic (408,3 μg/g), și acid protocatecuic (371,5 μg/g). Activitatea antioxidantă ORAC a fost de 4133 μmol de Trolox echiv/g (Hogan et al., 2010).

Un studiu recent analizează utilizarea suplimentelor antioxidante pentru reducerea stresului oxidativ (Elejalde et al., 2021). Este analizat stadiul tehnicii efectelor suplimentării cu băuturi din struguri și extracte de struguri asupra markerilor de stres oxidativ la sportivi. Sunt raportate datele privind dozele polifenolice, caracteristicile participanților și protocoalele de efort (Elejalde et al., 2021).

Extractele din tescovină de struguri au fost testate pe activitatea antibacteriană pentru *Bacillus cereus, Bacillus coagulans, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus*, tulpini de *Escherichia Coli* și *Pseudomonas aeruginosa* (Jayaprakasha et al., 2003). Bacteriile Gram pozitive sunt complet inhibate la concentraţii de 850-1000 ppm, în timp ce bacteriile Gram negative au fost inhibate pentru conținuturi de 1250-1500 ppm de extracte polifenolice din tescovină de struguri (Jayaprakasha et al., 2001).

O parte majoră a polifenolilor nu este absorbită în intestinul subțire și poate interacționa cu microbiota colonică. Influența extractelor polifenolice asupra creșterii *Lactobacillus acidophilus* CECT 903 a fost investigată *in vitro* prin teste de difuzie cu agar şi culturi în medii lichide. Extractele fenolice de struguri și unele standarde de compuși fenolici (acizii cafeic, galic, tanic, catechină, epicatechină și quercetină) au fost testate. Toți compușii fenolici testați nu au exercitat efect inhibitor asupra creșterii *L. acidophilus* la o concentrație maximă de 5000 μg/ teste de difuzie pe disc în agar. S-a constatat, că extractul fenolic de tescovină de struguri (1 mg/mL) a indus o

creștere semnificativă a biomasei de *L. acidophilus* în medii de cultură lichide (Hervert-Hernández et al., 2009).

Compușii fenolici din tescovină de struguri posedă incontestabil proprietăți terapeutice, în special pentru anumite patologii cronice precum ateroscleroza, diabetul, hipertensiunea arterială și anumite tipuri de cancer (Al-Awwadi et al., 2005). Dintre mecanismele de acţiune ale compuşilor fenolici, implicate în prevenirea patologiilor cronice, se numără:

- efectul de captare directă a radicalilor liberi. Tescovina de struguri prezintă activitate antioxidantă maximă, estimată prin testele ABTS• și DPPH• de captare a H_2O_2, strâns corelate cu prezența flavan-3-olilor, acizilor fenolici și galatului de etil. Pieleița de struguri exercită activitate antioxidantă celulară asupra celulelor adenocarcinomului (EC_{50} = 56,4 mg TPC/mL), puternic corelată cu prezența flavonolilor și antocianilor (Milinčić et al., 2021);
- un efect salvator al antioxidanților endogeni (vitamina E, vitamina C, ß-caroten etc.) (Brenes et al., 2008);
- un efect de economisire a enzimelor antioxidante (superoxid dismutază, catalază, SeGSHPx – glutation peroxidază) (Ribeiro et al., 2017);
- un efect important de scădere a colesterolului și de reechilibrare a lipidelor din sânge (High Density Lipoprotein/Low-Density Lipoproteins) (Lupoli et al., 2020);
- efectul de chelatare a cofactorilor de oxidare, acizilor grași și anumitor ioni metalici (Fe^{2+}, Cu^{2+}) (Sri Harsha și Lavelli, 2019);
- un efect inhibitor asupra enzimelor oxidative, cum ar fi ciclooxigenaze şi lipooxigenaze (Mollica et al., 2021);
- efect asupra sintezei NO în endoteliu la celulele peretelui arterial, ceea ce conduce la vasorelaxare și hiperpolarizare a membranei prin eliberare de potasiu extracelular (Asbaghi et al., 2020);
- un efect inhibitor în geneza producerii de nicotinamid adenin dinucleotid fosfat redus în celulele peretelui vascular (aorta toracica si inima), rezultând o scădere a producerii de radicali liberi (Chedea et al., 2021).

Un efect important este prezența trans-resveratrolului. S-a demonstrat că trans-resveratrolul are efecte benefice asupra bolilor legate de procesele oxidante și/sau inflamatorii și prelungește speranța de viață (Vicol et al., 2024). Un studiu realizat de autorii (Zamora-Ros et al., 2008), având ca obiectiv estimarea aportului alimentar de patru stilbeni în rândul populației adulte din Spania, a permis determinarea nivelurilor medii de consum și a surselor alimentare corespunzătoare. Dintre cei patru compuși analizați, cel mai abundent a fost trans-piceid (53,6 %),

urmat de trans-resveratrol (20,9 %), cis-piceid (19,3 %) și cis-resveratrol (6,2 %). Principalele surse alimentare identificate au fost vinurile, care au contribuit în proporție de 98,4 %, și sucurile de struguri (1,6 %), în timp ce alte alimente, precum alunele, fisticul și fructele de pădure, au avut o contribuție nesemnificativă, sub 0,01 %.

Ca ingredient alimentar natural, numeroase studii au demonstrat că resveratrolul posedă un potențial antioxidant foarte mare. Resveratrolul prezintă, de asemenea, activitate antitumorală și este considerat un potențial candidat pentru prevenirea și tratamentul mai multor tipuri de cancer (Salehi et al., 2018). Proprietățile anticanceroase ale resveratrolului au fost confirmate de multe studii *in vitro* și *in vivo*, care arată că resveratrolul este capabil să inhibe toate etapele carcinogenezei (de exemplu, inițierea, promovarea și progresia). Mai mult, au fost raportate și alte efecte bioactive, și anume ca antiinflamatoare, anticancerigene, cardioprotectoare, vasorelaxante, fitoestrogenice și neuroprotectoare. Cu toate acestea, aplicarea resveratrolului este încă o provocare majoră pentru industria farmaceutică, datorită solubilității și biodisponibilității slabe, precum și a efectelor adverse. Numeroase studii vizează estimarea conținutului de resveratrol în vinurile și tescovina din strugurii de diferite proveniențe (Pérez- Gregorio et al., 2017). Concluzia generală este, că acest component este acumulat în funcție de metabolismul plantelor, condițiile agroclimaterice și alți factori dificil previzibili.

1.3 Caracteristica proceselor de fermentație aerobă și anaerobă a biomasei rezultată din procese agroindustriale. Posibilități de optimizare a proceselor de fermentație

Fermentația este un proces biochimic complex, utilizat în mod diferit de diverse discipline științifice, precum microbiologia, biochimia, nutriția umană și animală sau știința solului. În sens larg, fermentația desemnează transformarea substraturilor organice sub acțiunea microorganismelor, în condiții care pot fi aerobe sau anaerobe, în funcție de natura reacțiilor și de disponibilitatea oxigenului (Westergaard și Olsson, 2007).

În cadrul fermentației anaerobe, procesul are loc în absența oxigenului și duce la formarea unor produse finale precum: acizii grași volatili (AGV – acetați, butirați, propionați), gaze (CO_2, CH_4), alcool sau hidrogen. Deși carbohidrații sunt considerați principalii compuși fermentabili, și alți compuși organici – precum proteinele, acizii organici (inclusiv aminoacizii), lipidele – pot fi utilizați ca substraturi fermentabile de către microorganisme specializate, conducând la formarea de AGV și a componentelor acestora (Mazzoleni et al., 2015). În schimb, fermentația aerobă implică prezența oxigenului și se caracterizează printr-un randament energetic mai ridicat, fiind specifică unor procese precum fermentația acetică sau oxidarea incompletă a unor compuși organici.

În literatura de specialitate, termenul fermentație este definit diferențiat în funcție de domeniul științific. În accepțiunea strict biologică, fermentația este un proces anaerob, iar utilizarea termenului fermentație aerobă este considerată improprie, fiind asociată mai curând cu respirația celulară aerobă (Mazzoleni et al., 2015). Cu toate acestea, în domeniul ingineriei mediului și al biotehnologiilor aplicate, termenii fermentație aerobă și fermentație anaerobă sunt utilizați funcțional pentru a desemna procesele microbiene de degradare a biomasei în prezența, respectiv absența oxigenului, diferențiate prin emisia predominantă de CO_2 sau CH_4. În prezenta lucrare, acești termeni sunt folosiți în sens operațional și tehnologic, în acord cu uzanța curentă în studiile privind valorificarea biomasei. Astăzi, procesul fermentativ presupune transformarea materiilor prime, aerob sau anaerob, în alte produse valoroase prin activitățile microorganismelor (Van Roermund et al., 2022). Este un proces de evoluție naturală, iar oamenii folosesc fermentația pentru a produce vin și alcool cu mult înainte de apariția științei și a înțelegerii proceselor biochimice. Prin urmare, fermentația este un proces metabolic care modifică compoziția chimică a substratului organic în urma activităților enzimelor. Acest proces permite microorganismelor să obțină energie sub formă de ATP prin descompunerea enzimatică compușilor organici (Merico et al., 2007).

Obiectivele utilizării proceselor bazate pe fermentație au evoluat de-a lungul timpului, din cauza problemelor culturale și sociale sau din cauza tehnologiei și facilităților de inginerie. În consecință, fermentația a fost utilizată pe scară largă, de-a lungul timpului, în diverse culturi pentru conservarea alimentelor pe termen scurt și mediu, precum și pentru prepararea băuturilor și alimentelor tradiționale. Produse precum sosurile fermentate, carnea, legumele sau peștele contribuie la diversificarea ofertei culinare locale. Acest tip de fermentație este cunoscut sub denumirea de „fermentație indigenă” sau „fermentație clasică” și presupune utilizarea microorganismelor naturale, prin metode tradiționale (Bránýik et al., 2012).

Interesul utilizării microorganismelor la scară industrială în procesele de fermentație a fost mai mare la sfârșitul secolului trecut, când unele studii au consolidat exploatarea la scară medie sau mare a microorganismelor „convenționali”. La scurt timp după această perioadă, mai multe lucrări au sporit interesul comunității științifice pentru căutarea microorganismelor extremofili care prezintă capacități metabolice „rare” sau „specifice” (chiar și în anoxie) susceptibile de a fi utilizate în industrii (alimentare, biotehnologie, biomedicină etc.) (Bránýik et al., 2008). Recent, alte domenii ale cunoașterii au evoluat datorită cunoașterii a fermentației microbiene. Astfel, au apărut două noi domenii de cercetare:

- producția de biogaz, biocombustibil și derivați ai acestora (Ardekani și Zulkali, 2011);

- proiectarea și dezvoltarea proceselor de biosorbție și bioremediere (care implică microorganisme sau enzimele izolate ale acestora) pentru epurarea solurilor și a apelor uzate (Yaashikaa et al., 2024).

Nu numai microorganismele, ci și enzimele lor au contribuit semnificativ la dezvoltarea proceselor bazate pe fermentație. Mai multe procese vizează producerea fermentativă a enzimelor microbiene care sunt utilizate în continuare la scară largă, în principal în biotehnologie (Vittaladevaram, 2017). De exemplu, utilizarea lignocelulozei ca sursă de carbon bogată și durabilă disponibilă la nivel mondial pentru a produce bioproduse a fost posibilă numai datorită utilizării enzimelor celulolitice și hemicelulolitice produse de diferite microorganisme, inclusiv ciuperci filamentoase, drojdii și bacterii (Siqueira et al., 2023).

Dezvoltarea tehnologiei de fermentație este încă în curs de desfășurare în toate aspectele. Aceasta are scopul de a îmbunătăți randamentul și calitatea produselor, reducând costurile de producție și căutând soluții ecologice. Creșterea produselor de fermentație se poate face prin optimizarea factorilor care influențează procesul din punctul de vedere al microbului însuși, al mediului și al dotărilor tehnologice.

Digestia anaerobă

Digestia anaerobă (AD) reprezintă un ansamblu de procese biochimice prin care materia organică complexă este descompusă de bacterii într-un mediu lipsit de oxigen, rezultând biogaz și digestat (Xie, 2016). Pentru a înțelege principiile de bază ale AD și rolul acesteia în producerea surselor de energie regenerabilă, este esențial să cunoaștem compoziția chimică a substraturilor, etapele degradării din proces și utilizările produselor obținute, respectiv biogazul și digestatul (Ma et al., 2015). Produsele secundare agroalimentare sunt recunoscute ca o sursă sustenabilă de biomasă pentru digestia anaerobă. Resturile post-recoltare, produsele secundare din industria alimentară și alimentele alterate pot fi utilizate în procesul de digestie anaerobă pentru a obține beneficii ecologice (Deublein și Steinhauser, 2011). Acestea includ reducerea depozitării la groapa de gunoi, scăderea emisiilor de gaze cu efect de seră, precum și producția de energie verde (Kim et al., 2003).

Digestia anaerobă a suprodusele agricole și agro-industriale a fost studiată în detaliu de cercetători din diverse țări. Această tehnologie este utilizată atât la scară rurală, cât și urbană, folosind deșeuri industriale locale și biomasă reziduală (Demirbas, 2005).

Procesul de producere a metanului din reziduuri agricole include mai multe etape:

1. Hidroliza - descompunerea polimerilor complecși în monomeri prin enzime (celulază, amilază, protează) produse de bacterii anaerobe;

2. Acidogeneza - transformarea produselor hidrolizei în acizi organici (ex. acetic, butiric), alcooli, hidrogen și CO_2;
3. Acetogeneza - degradarea AGV în acetat, CO_2 și H_2 de către bacteriile acetogene;
4. Metanogeneza - formarea metanului din H_2/CO_2 și acid acetic de către metanogeni.

Biogazul rezultat conține aproximativ 90% metan și CO_2, împreună cu impurități precum hidrogen sulfurat, azot și oxigen (Salter și Dale, 2007).

S-a emis ipoteza că procesul fermentativ urmează căi metabolice similare, având la bază similitudinea produselor intermediare rezultate în metabolismul glucozei (Van Lier et al., 2001). În consecință, fermentația carbohidraților de către microorganisme a fost considerată similară cu glicoliza de către mamifere. Acest lucru explică de ce mulți autori folosesc termenii „glicoliză" pentru descrierea unei metode de descompunere anaerobă a carbohidraților de către microorganisme și de ce termenii: „fermentație" și „glicoliză" sunt folosiți sinonim (Van Lier et al., 2001). Acești doi termeni sunt diferiți, deoarece glicogenul nu este stocat de bacterii, iar lactatul nu a fost produsul intermediar sau final în timpul descompunerii carbohidraților de către bacterii. Deși carbohidrații sunt de obicei considerați materiale necesare pentru fermentație, alți compuși organici precum proteinele, grăsimile și acizii organici sunt substraturi care pot fi fermentate de microorganisme specializate. Aceste materiale servesc ca hrană și surse de energie pentru microorganisme (Adekunle și Okolie, 2015). În condiții anaerobe, o parte din energia potențială este eliberată din cauza oxidării incomplete, lăsând o mulțime de subproduse organice neoxidate. Pentru a obține cât mai multă energie în condiții aerobe, mai multe molecule de glucoză trebuie descompuse în condiții anaerobe. Prin urmare, fermentația poate fi privită ca descompunerea compușilor organici, acolo unde lipsește oxigenul, în produși intermediari organici, pe care sistemul enzimatic al celulei nu i-ar putea oxida în continuare, dacă nu este disponibil oxigen (Asam et al., 2011). Produsul fermentației variază în funcție de microorganismele care acționează asupra substraturilor, în funcție de complexul enzimatic al celulei și de condițiile mediului. Importanța economică a acestor subproduse de distilerie și produse secundare vitivinicole.

Digestia anaerobă, un proces care generează în cele din urmă metan și dioxid de carbon, este comună în ecosistemele anoxice naturale, unde concentrațiile de acceptori de electroni, cum ar fi nitrații, formele oxidate ale metalelor și sulfatul, sunt scăzute. De asemenea, apare în gropile de gunoi și stațiile de tratare a apelor (Gunaseelan, 1997). Digestia anaerobă a biomasei în condiții mezofile (descompunerea/degradarea microbiană anaerobă a materiei organice), ai cărei produse finali sunt metanul și dioxidul de carbon, contribuie la fluxul energetic și circulația materiei în

ecosisteme. Este un proces cheie în ciclul global al carbonului care este promovat de activitatea multor grupuri diferite de microorganisme (Deublein și Steinhauser, 2008).

Etapele digestiei anaerobe

Digestia anaerobă este un proces complex, care se desfășoară în patru etape principale: hidroliza, acidogeneza, acetogeneza și metanogeneza (Das și Mondal, 2016). Fiecare etapă este catalizată de grupuri distincte de microorganisme. Prin urmare, comunitatea microbiană implicată, în special microorganismele metanogene, trebuie să fie bine sincronizată și echilibrată. În caz contrar, anumite etape intermediare pot deveni limitative pentru proces, iar acumularea compușilor intermediari sau a metaboliților inhibitori poate afecta eficiența globală a digestiei (Li et al., 2022).

Hidroliză

În prima etapă a digestiei anaerobe are loc hidroliza, astfel biopolimeri complecși cum ar fi proteinele, polizaharidele și trigliceridele sunt degradate în monomeri precum aminoacizi, zaharuri simple (precum glucoza) și glicerol/acizi grași cu lanț lung. Enzimele hidrolitice extracelulare excretate de microorganismele din AD sunt esențiale pentru degradarea polimerilor complecși. Amilazele, celulazele, proteazele, peptidazele, lipazele, fosfolipazele sunt toate exemple de enzime hidrolitice secretate de diferite microorganisme, numite exofermenți (Angelidaki, 1992). Anumite componente structurale ale substraturilor, cum ar fi celuloza și cheratina sunt adesea recalcitrante la hidroliză, făcând din hidroliză etapa de limitare a vitezei procesului de digestie anaerobă (Andrews, 1971).

Acidogeneza

În a doua etapă, acidogeneza (sau fermentația primară), produsele de la hidroliză sunt degradate la compuși mai mici prin diferite microorganisme aerobe, care sunt atât facultative, cât și microorganisme anaerobe obligatorii. Aminoacizii pot fi fie degradați separat, fie în perechi de reacția Stickland (Twizerimana et al., 2021). Când aminoacizii sunt degradați în perechi de reacția Stickland, un aminoacid funcționează ca un donator de electroni și celălalt ca un acceptor de electroni. În această etapă sunt produși dioxidul de carbon, amoniacul și acetatul (Twizerimana et al., 2021). Zaharurile simple sunt degradate în AGV, dioxid de carbon, hidrogen și alcooli (Bryers, 1958). Produsele formate depind de microorganisme, acidul propionic este de exemplu produs de bacteria propionică (Twizerimana et al., 2021).

Acetogeneza

Acetogeneza, cunoscută și sub denumirea de fermentație secundară, reprezintă etapa premergătoare metanogenezei. În această fază, acizii grași cu lanț mai lung de doi atomi de carbon, precum și alcoolii, sunt convertiți în acetat, dioxid de carbon și hidrogen. Microorganismele acetogene implicate în acest proces sunt denumite și bacterii producătoare de hidrogen, datorită

capacității lor de a genera acest gaz ca produs secundar al metabolismului. Funcționarea eficientă a acestor bacterii este condiționată de menținerea unei presiuni parțiale scăzute a hidrogenului (sub 10^{-3} atm), motiv pentru care activitatea lor este strâns corelată cu prezența bacteriilor consumatoare de hidrogen, cum ar fi metanogenii hidrogenotrofi (Bryers, 1958).

Întrucât microorganismele metanogene necesită o presiune parțială mai mare de hidrogen comparativ cu microorganismele acetogene, acestea trebuie să trăiască în sintrofie unul cu celălalt (adică literalmente „mâncând împreună"). Dacă hidrogenul nu este consumat de metanogenii hidrogentrofici, presiunea parțială a hidrogenului va crește și acetogeneza va fi inhibată cu următoarea acumulare de propionat și butirat (Andrews, 1971). Conversia propionatului în acetat, precum și transformarea hidrogenului și a dioxidului de carbon în metan, sunt ambele procese favorabile din punct de vedere termodinamic doar într-un interval restrâns al presiunii parțiale a hidrogenului (Adekunle și Okolie, 2015).

Metanogeneza

Metanogeneza reprezintă un proces biochimic, prin care substraturi organice complexe (biomasă vegetală şi deşeuri, gunoi animal, deşeuri organice, ape reziduale, nămoluri provenite din sistemul de canalizare etc.) sunt descompuse, în absenţa oxigenului, până la stadiul de biogaz şi digestat, de către diverse tipuri de bacterii anaerobe (Brummeler, 1985). Metanogeneza este un proces care are loc în diverse medii naturale anaerobe, cum ar fi turbăriile, sedimentele marine și sistemul digestiv al rumegătoarelor.

Spre deosebire de microorganismele (bacterii) din etapele inițiale de fermentație, microorganismele care formează metan aparțin domeniului filogenetic archaea. Arheele metanogene sunt strict anaerobe și, prin urmare, este important evitarea oxigenul în acest proces (Adekunle și Okolie, 2015). Bacteriile care formează metan pot fi împărțite în trei grupuri diferite legate de substratul lor:

- metanogeni hidrogenotrofi (utilizează $H_2 + CO_2$);
- metanogeni acetoclastici (degradează acetat);
- metanogeni metilotrofici (folosesc metanol, metilamine etc.).

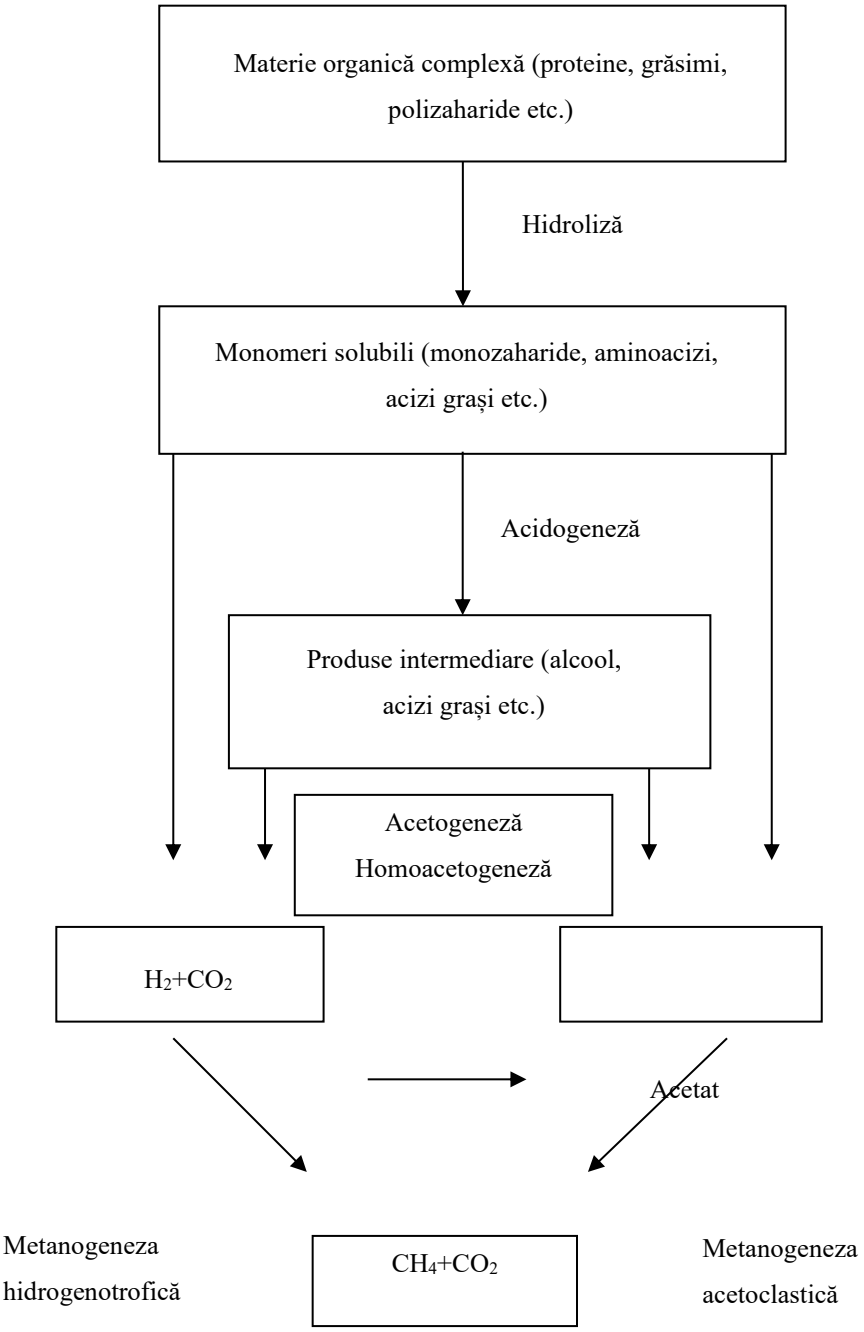


Figura 1.8 Prezentarea schematică a procesului de fermentație anaerobă (Andrews, 1971)

Anterior, se credea că într-un proces normal aproximativ 70% din metan este produs din acetat și 27-30% este derivat din dioxid de carbon și hidrogen, în timp ce 0-3% au provenit din grupări metil (Andrews, 1971). Cu toate acestea, descoperirile mai recente indică că procesele hidrogenotrofice sunt la fel de importante.

Metanogeneza este un proces microbiologic de descompunere a substanţelor organice, în lipsa oxigenului. Principalele produse rezultate în urma acestui proces sunt biogazul şi digestatul (Brummeler, 1985). Biogazul este un gaz combustibil constând în principal din metan şi dioxid de

carbon utilizat de regulă, pentru producerea curentului electric şi a căldurii. Supus unui proces de îmbunătăţire, biogazul poate fi introdus şi în reţeaua de gaze naturale sau folosit drept combustibil pentru autovehicule sau pentru producerea altor forme de energie. După producerea biogazului, substratul descompus (digestatul) este reciclat prin introducere în sol, fiind folosit ca îngrăşământ pentru plante. În timpul procesului de metanogeneză este generată o cantitate foarte mică de căldură, comparativ cu cazul descompunerii aerobe (în prezenţa oxigenului), aşa cum este compostarea. Energia conţinută în legăturile chimice ale substratului rămâne, în principal, înmagazinată în biogazul produs, sub formă de metan.

Eficienţa procesului de metanogeneză depinde de câţiva parametri critici. De aceea, este crucială asigurarea celor mai potrivite condiţii de dezvoltare pentru microorganismele anaerobe. Creşterea şi activitatea acestora sunt influenţate semnificativ de:

- lipsa totală a oxigenului,
- temperatură,
- valoarea pH,
- conţinutul de nutrienţi,
- intensitatea amestecării,
- precum şi de prezenţa şi cantitatea inhibitorilor (Das, 2016).

Factorii tehnologici care influenţează fermentația anaerobă sunt:

- Compoziţia materiei organice – o importanţă deosebita o are în aprecierea compoziţiei valoarea raportului C/N. Raportul optim este de 15-30. Creşterea acestui raport se face prin adaosuri de surse de carbon (paie sau reziduuri alimentare bogate în hidraţi de carbon);
- Omogenizarea contribuie la cresterea vitezei de producere a biogazului datorită:
  - ✓ realizării contactului dintre microorganismele active şi materialul în curs de descompunere;
  - ✓ uniformizării temperaturii;
  - ✓ previne formarea crustei;
  - ✓ ajută la degajarea mai rapidă a biogazului format;
  - ✓ conferă materialului fermentat o consistenţă convenabilă pentru operaţiunea de evacuare;
- Încălzirea: este necesară pentru asigurarea unei temperaturi optime şi constante în instalaţia de fermentație (Hu et al., 2018).

În concluzie, dezvoltarea tehnologiilor de fermentație anaerobă a deșeurilor lichide și solide din producția agricolă este una dintre direcțiile de perspectivă în producția de biogaz din

materii prime vegetale și deșeuri organice formate în agricultură. Produsele secundare obținute din industria vinului, berii și alcoolului pot servi drept materiale energetice pentru producerea biogazului (Ambreen et al., 2018).

Totodată s-a observat o îmbunătățire a proceselor fermentative, în cazul tratamentul enzimatic, care a dus la o creștere a producției de metan. Au fost studiate strategii de dozare a enzimelor în vederea intensificării digestiei anaerobe a diverselor materiale complexe bogate în substanțe organice (Ariunbaatar et al., 2014). Această revizuire evidențiază totodată principalele provocări și oportunități asociate optimizării hidrolizei enzimatice a materiei organice complexe în vederea producerii biogazului. Utilizarea enzimelor pentru pretratarea biomasei complexe este susținută de argumente convingătoare. Totuși, costul ridicat al enzimelor comerciale rămâne un factor limitativ pentru aplicarea pe scară largă a hidrolizei enzimatice în instalațiile de producere a biogazului. În acest sens, ingineria genetică explorează activ soluții pentru dezvoltarea unor metode de producere a enzimelor cu costuri reduse (Ariunbaatar et al., 2014). Raţionamentele expuse privind mecanismele de manifestare a activităţii de stimulare a procesului de digestie metanogenă au caracter ipotetic, stabilirea concretă a acestora rămâne o sarcină de viitor (Ariunbaatar, et al., 2014).

Digestia anaerobă a biomasei în condiții mezofile (descompunerea/degradarea microbiană anaerobă a materiei organice), ai cărei produse finale sunt metanul și dioxidul de carbon, contribuie la fluxul energetic și circulația materiei în ecosisteme. Este un proces cheie în ciclul global al carbonului, care este promovat de activitatea multor grupuri diferite de microorganisme (Asam et al., 2011). Aceasta este comună în depozitele de gunoi și în stațiile de tratare anaerobă a apelor uzate. Procesul de descompunere anaerobă a biomasei, cum ar fi culturile energetice sau deșeurile agricole organice, este utilizat în mod obișnuit pentru a produce biogaz ca sursă alternativă de energie (Deublein și Steinhauser, 2008). În prezent există un mare interes pentru dezvoltarea de noi tehnologii pentru modernizarea depozitelor de gunoi și a stațiilor de epurare a apelor uzate pentru controlul eliberării de biogaz și colectarea metanului, pentru a fi utilizat ca combustibil (Deublein și Steinhauser, 2008).

Mai mult, în scopul tehnologiilor inovatoare bazate pe procese microbiene, este de dorit să se construiască instalații moderne de biogaz în care etapele de producere a hidrogenului (hidroliză și acidogeneză) și de producere a metanului (acetogeneză și metanogeneză) ale digestiei anaerobe sunt separate respectiv, favorizează producerea de hidrogen și metan în condiții controlate. Optimizarea producerii de metan sau hidrogen din materie organică necesită o bună înțelegere a digestiei anaerobe la nivel molecular, și anume structura și diversitatea comunităților microbiene

și a căilor metabolice, ducând la transformarea substratului organic în produșii gazoși doriți (Ariunbaatar et al., 2014).

1.4 Concluzii la capitolul 1

1. Analiza bibliografică a evidențiat importanța biomasei reziduale, provenite din procese agroindustriale ca resursă valoroasă pentru dezvoltarea soluțiilor sustenabile de valorificare, în concordanță cu principiile bioeconomiei circulare și cu tendințele actuale privind conversia biochimică a subproduselor de distilerie și a produselor secundare vitivinicole.

2. Fermentația biomasei este o metodă eficientă de valorificare a subproduselor de distilerie și a produselor secundare vitivinicole, aplicată pe scară industrială în țări precum SUA, Brazilia, Germania și China, contribuind atât la producerea de biocombustibili, cât și la reducerea impactului asupra mediului.

3. Compoziția chimică a biomasei influențează semnificativ eficiența procesului de fermentație, în special conținutul în celuloză, hemiceluloză și lignină, care determină gradul de accesibilitate enzimatică al substratului.

4. Adăugarea substanțelor biologic active (SBA) are potențialul de a stimula activitatea microbiană, fie prin acțiuni antioxidante, antimicrobiene selective sau efecte sinergice asupra metabolismului celular.

5. Substanțele biologic active, în special compușii fenolici precum catehina, sunt documentate ca având efecte pozitive asupra proceselor fermentativ, prin capacitatea de reducere a stresului oxidativ și de reglare a echilibrului redox.

6. Eficiența proceselor fermentative este influențată de factori fizico-chimici precum pH, temperatura sau disponibilitatea oxigenului, precum și de prezența unor compuși cu rol inhibitor sau stimulator, ceea ce necesită o reglare atentă a condițiilor de proces.

7. Valorificarea integrată a biomasei prin procese de fermentație contribuie la dezvoltarea economiei circulare și bioeconomiei, oferind o alternativă sustenabilă pentru gestionarea deșeurilor și producția de energie regenerabilă.

8. Există o necesitate crescută de a corela studiile cinetice cu analize moleculare și microbiologice, pentru o înțelegere mai profundă a mecanismelor prin care SBA influențează procesele fermentative.

9. Capitolul oferă o fundamentare teoretică solidă pentru investigarea efectelor substanțelor biologic active asupra fermentației biomasei, creând premisa unor studii experimentale detaliate prezentate în capitolele următoare.

2. MATERIALE ȘI METODE

Cercetările din cadrul tezei de doctorat ***„Studiul proceselor de oxido – reducere în fermentarea anaerobă a biomasei în prezența antioxidanților”*** au fost realizate în cadrul Institutului de Chimie, Centrului de Cercetări Oenologice a Departamentului Oenologie și Chimie, Facultatea Tehnologia Alimentelor (Universitatea Tehnică a Moldovei).

2.1 Materiale de cercetare și caracterizarea substanțelor utilizate

Materialele primare și auxiliare utilizate pentru cercetare în cadrul tezei de doctorat sunt prezentate în tabelul 2.1.

Tabelul 2.1 Materiile utilizate în cercetare

Nr. ord.	Materii prime	Proveniența
1.	Pulbere și extracte vegetale de escină, tomatină, sclareol, vanilina, catehina, betulină, mentol, acid dihidroxifumaric, (numite în continuare SBA).	Substanțele biologic active utilizate în studiul experimental au fost obținute în cercetările și studiile efectuate în cadrul Institutului de Chimie.
2.	Borhot de cereale	Borhotul a fost furnizat de întreprinderea „Garma Grup”, S.R.L., satul. Fîrlădeni, r-nul Hînceşti, Republica Moldova
3.	Tescovina roșie din soiurile Merlot-Cabernet Sauvignon și Cabernet Sauvignon.	Tescovina de struguri utilizată a provenit din secția de microvinificație, UTM, a. r. 2023.
4.	Tulpini de referință de drojdii din specia *Saccharomyces cerevisiae*	Levuri seci active ANCHOR®BIO Active Yeast, procurate de la reprezentanți comerciali însoțite cu certificat de conformitate.
5.	Must de struguri proaspăt din soiul Chardonnay	Mustul proaspăt a fost obținut tehnologic în Secția de Microvinificare a departamentului Oenologie și Chimie. Rolul mustului a fost cel de mediu de fermentație alcoolică în cadrul studiului experimental.
6.	Inocul microbian pentru fermentația anaerobă (nămol activ)	Reziduu post-fermentativ provenit dintr-o instalație locală de biogaz, conținând un consorțiu microbian anaerob mezofil adaptat proceselor de digestie anaerobă.

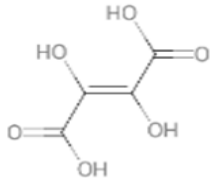
Inoculul, utilizat în experimente, este o suspensie biologică provenită dintr-un sistem funcțional de digestie anaerobă, conținând o comunitate microbiană mezofilă complexă, capabilă să convertească substratul organic în biogaz. Din punct de vedere funcțional, această comunitate include:

- microorganisme hidrolitice, implicate în descompunerea compușilor organici macromoleculari (proteine, polizaharide, lipide);
- microorganisme acidogene (fermentative), care transformă produsele hidrolizei în AGV, alcool, hidrogen și dioxid de carbon;
- microorganisme acetogene, care convertesc intermediarii volatili (ex. propionat, butirat) în acid acetic, H_2 și CO_2;
- microorganisme metanogene, care finalizează procesul prin transformarea acidului acetic, hidrogenului și dioxidului de carbon în metan și apă.

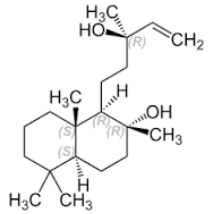
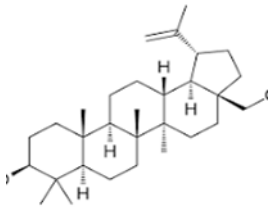
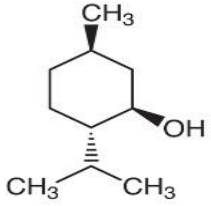
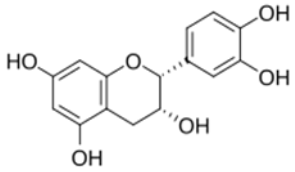
Această structură microbiană asigură desfășurarea secvențială a etapelor procesului de fermentație anaerobă, fiind esențială pentru eficiența procesului de conversie biochimică a borhotului și a altor tipuri de biomasă utilizate în lucrare.

Substanțele biologic active utilizate preponderent în procesele aerobe și anaerobe ale biomasei prezintă următoarele caracteristici (tabelul 2.2).

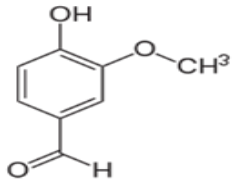
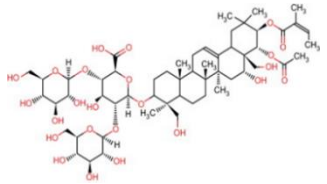
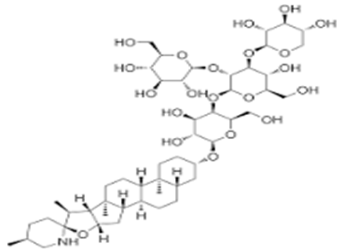
Tabelul 2.2 Formule chimice și proprietățile principale ale SBA studiate

Nr.d/o	Denumirea SBA	Formula chimică	Proprietăți biologice și farmacologice	Referințe
1.	Acid dihidroxifumaric (DHFA)	$C_4H_4O_6$ 	Masa moleculară medie – 147, 07 Posedă proprietăți antioxidante și biologic active. DHF inhibă formarea compușilor N-nitrozici fără a influența conținutul substratului proteic nehidrolizat sau concentrația aminoacizilor formați , în timpul proteolizei albuminei și cazeinei de către enzimele proteolitice.	(Smolka et al., 2005; Vicol et al., 2024; Bolocan și Duca, 2023)

Continuarea tabelului 2.2

2.	Sclareol	$C_{40}H_{36}O_2$ 	Alcool diterpenic, un reprezentant al terpenoidelor, denumirea completă: 14-labden-8,13-diol, Sclareolul prezintă un potențial terapeutic ridicat, având efecte antitumorale, antiinflamatorii și antioxidante.	(Chalvin et al., 2021; Karata și Ertekin, 2010)
3.	Betulină	$C_{30}H_{50}O_2$ 	Din punct de vedere chimic, betulina este un triterpenoid cu structură lupanică. Are o structură ciclică pentaciclică și grupări hidroxil în pozițiile C_3 și C_{28}. Are rol de metabolit, agent antiviral, analgezic, agent antiinflamator și agent antineoplazic	(Tuli et al., 2021)
4.	Mentol	$C_{10}H_{20}$ 	Mentolul este un compus organic de sinteză sau care poate fi obținut din unele surse vegetale, precum menta sau izma bună. Este o substanță ceroasă, cristalină, albă sau incoloră, care este solidă în condiții normale de temperatură. Mentolul posedă efecte antiinflamatorii, antibacteriene, antivirale, antitumorale, neuroprotectoare, și antioxidante.	(Croteau et al., 2005; Zhao et al., 2022)
5.	Catechină	$C_{15}H_{14}O_6$ 	Catechina este un flavanol monomeric cu un nucleu flavanic format din trei cicluri (A, B și C), având grupări hidroxil care contribuie la activitatea sa antioxidantă, posedă proprietăți antioxidante, antimicrobiale, antivirale	(Liu et al., 2016; Iñiguez-Franco et al.,2012)

Continuarea tabelului 2.2

6.	Vanilină	$C_8H_8O_3$ 	Vanilina este un compus organic, face parte din clasa benzaldehidelor, având grupări metoxi (-OCH_3) și hidroxil (-OH). Posedă proprietăți antiinflamatoare, antioxidante.	(Nam et al., 2015)
7.	Escină	$C_{55}H_{86}O_{24}$ 	Escina este o glicozidă triterpenă (saponină) din fructele (semințele) castanului sălbatic. Are activitate capilar-protectoare pronunțată, proprietăți antiinflamatoare, anticangerigene și antibacteriană.	(Firdos et al., 2018)
8.	Tomatină	$\underline{C_{50}H_{83}NO_{21}}$ 	Tomatină (uneori numită tomatină sau licopersicin) este un glicoalcaloid, care se găsește în tulpinile și frunzele plantelor de tomate și în fructe în concentrații mult mai mici. Are rol de adjuvant immunologic, fitotoxină și agent antifungic. .	(George et al., 2004)

Cercetările experimentale realizate au inclus utilizarea unei serii vaste de reactivi chimici și materiale de laborator, prezentate în tabelul 2.3.

Tabelul 2.3 Substanțe, reactivi chimici și materiale de laborator

Nr. crt.	Materiale	Standarde
1.	Etanol, 96% vol	GOST 18300-72
2.	Tiosulfat de sodiu cristalin	GOST 27068-86
3.	Apă distilată	GOST 6709-72
4.	KOH	GOST - 24363 – 80
5.	NaOH	GOST - 4328 -77
6.	HCl	ISO 6353-2:1983 10% Sigma, Germania
7.	Cloroform	ISO 6353-2:1983, Sigma, Germania
8.	NaCl	GOST - 13830 – 84
9.	Acid galic	Grad de puritate min 99% HPLC, Sigma, SUA
10.	Acid clorogenic	Grad de puritate min 99% HPLC, Sigma, SUA
11.	Metanol	ISO 6353-2:1983, Sigma, Germania
12.	Folin-Ciocâlteu	ISO 6353-2:1983, 98% Merck, Germania
13.	DPPH	ISO 6353-2:1983, 99% Sigma, Germania
14.	Aceto-nitril	ISO 6353-2:1983 98% Merck, Germania
15.	Hexan	ISO 6353-2:1983 99,5% Sigma, Germania
16.	Izo-octan	ISO 6353-2:1983 99,5% Sigma, Germania
17.	Materiale de referință pentru detectarea polifenolilor	ISO 6353-2:1983, Sigma, Germania
18.	Apă distilată extrapură	Direct-Q UV de la Millipore (SUA)

Caracteristica borhotului de cereale post-alcool, utilizat ca mediu fermentativ în studiul experimental, reprezintă un lichid de culoare gălbuie caracterizat cu următorii indicatori, chimici şi microbiologici, cantitativi (tabelul 2.4).

Tabelul 2.4 Indicatorii chimici și microbiologici, cantitativi ai borhotului (Bhadra et al., 2007)

Materia primă	pH	Umiditate, %	Reziduul sec, %	C, % din masa totală	C, % din reziduul sec	CCO, mgO_2/L	NBO, mgO_2/L	Bacterii heterotrofe, *UFC 10^6/mL
Borhot post-alcoolic	5,4	91,25-91,59	8,41-8,75	4,25	49,5	28250	17800	7,39

Conform datelor prezentate în tabelul 2.4, borhotul rezultat în urma procesului de distilare se caracterizează printr-un pH ușor acid de 5,4, care este favorabil inițierii proceselor de fermentație anaerobă. Reziduul sec (8,41–8,75%) conține aproximativ 49,5% carbon, ceea ce reflectă un conținut ridicat de materie organică fermentabilă. Valorile înalte ale CCO și NBO confirmă potențialul energetic semnificativ, iar prezența bacteriilor heterotrofe ($7,39 \times 10^6$ UFC/mL) sugerează o activitate microbiologică intensă, relevantă pentru procesele biochimice de degradare.

2.2 Metode de analiză

Cercetările experimentale realizate au inclus metode specifice de analiză: analitice, fizico - chimice, microbiologice, în *vitro* (simularea condițiilor de digestie gastro – intestinală) și o serie de reactivi chimici și materiale de laborator, prezentate în tabelul 2.3. În continuare sunt detaliate metodele utilizate pentru determinarea conținutului de zahăr, pH, acidității titrabile și conținutului în azot aminic, conținutul de substanțe solide totale (CTS), CCO, etc. în studiul experimental.

2.2.1 Determinarea conținutul de zaharoză

Determinarea conținutului de zaharoză a fost realizată utilizând tehnica refractometrică, bazată pe măsurarea indicelui de refracție al soluțiilor. Această metodă este recunoscută pentru rapiditatea și simplitatea aplicării, fiind adecvată în special pentru analiza probelor lichide din industria alimentară și fermentativă.

Validarea metodei este consacrată în standardul internațional ISO 2173:2003 – Fructe și legume – Determinarea conținutului de solide solubile – Metoda refractometrică, care stabilește cerințele privind acuratețea, condițiile de calibrare și domeniul de aplicabilitate al metodei. Rezultatele experimentale au indicat un conținut rezidual redus de zahăr în borhotul de cereale analizat, fapt caracteristic produselor secundare post-fermentative. Metoda refractometrică s-a dovedit a fi adecvată și pentru estimarea conținutului de substanță uscată solubilă, oferind un indicator rapid al stadiului de fermentație și al gradului de valorificare a substratului

(Magwaza și Opara, 2015). Metoda se bazează pe dependența proporțională dintre coeficientul de refracție și concentrația substanțelor solide dizolvate într-un lichid.

2.2.2 Determinarea conținutului de azot aminic

Determinarea conținutului de azot aminic a fost realizată prin metoda spectrofotometrică cu ortoftalaldehidă (OPA), bazată pe reacția specifică dintre ortoftalaldehidă și grupările amino primare libere din compușii organici prezenți în probele analizate (suc de struguri și borhot de cereale). Reacția are loc în mediu tamponat alcalin, în prezența unui reactiv tiolic (precum 2-mercaptoetanol sau N-acetilcisteină), cu formarea unui derivat cromofor stabil, a cărui absorbție este proporțională cu concentrația de azot aminic și este măsurată la lungimea de undă de 340 nm.

Această metodă este validată în literatura științifică internațională (Church et al., 1983) și este consacrată în cadrul standardului ASBC Wort-12 – Free Amino Nitrogen by Spectrophotometer, elaborat de American Society of Brewing Chemists. Până în prezent, nu există un standard GOST specific pentru această metodă, însă utilizarea ei este larg acceptată datorită selectivității, sensibilității și reproductibilității ridicate.

Probele au fost centrifugate și filtrate pentru îndepărtarea componentelor solide, apoi s-au amestecat în proporții egale cu reactivul OPA. După o perioadă de reacție de 2–5 minute la temperatura camerei, ferit de lumină, absorbția a fost măsurată spectrofotometric. Cuantificarea s-a efectuat utilizând o curbă de calibrare cu glutamină, în intervalul 0–100 mg N/L, iar rezultatele au fost exprimate în mg N/L.

2.2.3 Determinarea pH

Determinarea valorii pH a fost realizată prin metoda potențiometrică, utilizând un pH-metru digital calibrat anterior cu soluții tampon standard de pH cunoscut. Procedura a implicat introducerea electrodului în proba omogenizată, la temperatura camerei, până la stabilizarea completă a valorii afișate. Măsurarea pH-ului oferă informații fundamentale privind aciditatea generală a mediului, un parametru esențial care influențează atât activitatea microbiologică, cât și cinetica proceselor biochimice specifice fermentației (Zakharova et al., 2011). Determinarea pH este validată prin standardul internațional ISO 10523:2022 – Water quality — Determination of pH, aplicabil pentru soluții apoase, inclusiv cele rezultate din procese fermentative sau biochimice.

Diferențele de pH observate între diverse tipuri de substraturi fermentabile reflectă nivelul de aciditate inerent al fiecărei probe analizate. În cazul borhotului de cereale, valoarea pH indică o aciditate moderată, specifică subproduselor post-distilare, caracterizate printr-un conținut rezidual redus de zaharuri fermentescibile, dar cu potențial microbiologic valoros. În schimb, proba reprezentată de sucul de struguri este caracterizată de un pH mai scăzut, ceea ce contribuie la menținerea unui mediu favorabil activității drojdiilor fermentative, datorită echilibrului natural dintre acizii organici și zaharurile prezente.

2.2.4 Determinarea proprietăților antioxidante a SBA

Determinarea proprietăților antioxidante a substanțelor biologic active utilizate a fost realizată prin metoda DPPH. Metoda de captare a radicalilor liberi α, α-difenil-β-picrilhidrazil (DPPH) oferă prima abordare pentru evaluarea potențialului antioxidant al unui compus, al unui extract sau al altor surse biologice. Protocolul experimental a fost realizat conform recomandărilor descrise de autorii (Brand-Williams et al., 1995). Aceasta este cea mai simplă metodă, în care compusul sau extractul potențial este amestecat cu soluție de DPPH și absorbanța este înregistrată după o perioadă definită.

Radicalii liberi sunt produși în mod inevitabil în sistemele biologice și, de asemenea, întâlniți exogen și sunt cunoscuți că provoacă diverse tulburări degenerative, cum ar fi mutageneza, carcinogeneza, tulburările cardiovasculare și îmbătrânirea (Singh și Wangemann, 2008). Antioxidanții sunt compușii care combat radicalii liberi intervenind la oricare dintre cele trei etape majore ale procesului oxidativ mediat de radicalii liberi, adică inițierea, propagarea și terminarea (Cui et al., 2004). Acești antioxidanți sunt, de asemenea, produși de sistemul biologic și apar în mod natural în multe alimente, iar echilibrul dintre oxidanți și antioxidanți decide sănătatea și vigoarea (Halliwell, 1996).

Astfel, 3 mL de soluție de extract brut în metanol la diferite concentrații au fost amestecați cu 1 mL DPPH la o concentrație de 0,1 mM în metanol. Amestecul a fost lăsat în repaus de 15 min, iar absorbanța a fost măsurată la 517 nm. Activitatea de captare a radicalilor DPPH a fost calculată conform următoarei formule:

$$\%\ inhibiție = \frac{A_0 - A_1}{A_0 - 100} \tag{2.1}$$

unde: A_0 a fost absorbanța pentru proba de referință (doar soluție DPPH),

A_1 a fost absorbanța pentru proba testata.

Determinarea activității antioxidante prin inhibarea peroxidului de hidrogen (H_2O_2) s-a realizat utilizând o metodă spectrofotometrică, ce se bazează pe capacitatea compușilor antioxidanți de a reduce moleculele de H_2O_2, reducând astfel absorbția acestuia în regiunea ultravioletă. Soluțiile testate au fost amestecate cu soluție tampon fosfat (pH 7,4) și peroxid de hidrogen 40 mM, iar absorbția amestecului de reacție a fost măsurată la 230 nm, după o perioadă de incubare de 10 minute la temperatura camerei.

Gradul de inhibare a H_2O_2 a fost calculat conform relației:

$$\%\ inhibiție = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \tag{2.2}$$

unde : A_0 - reprezintă absorbția martorului (H_2O_2 fără antioxidant),

A_1 - este absorbția soluției ce conține proba antioxidantă.

În absența unui standard ISO dedicat, metodologia aplicată urmează protocolul propus de autorii (Ruch et al., 1989), considerat de referință în determinarea activității antioxidante în medii biologic relevante.

2.2.5 Determinarea conținutul de substanțe solide totale (CTS)

Conținutul de substanțe solide totale a fost determinat gravimetric, conform metodei standard, prin uscare la cuptor (Lapuerta et al., 2021). Probele reprezentative de tescovină au fost cântărite într-un vas preuscat și pre-cântărit, apoi au fost introduse într-un cuptor de uscare la o temperatură constantă de 105 ^{0}C. Uscarea a fost menținută până la atingerea unei mase constante, considerându-se astfel ca fiind eliminată complet fracția de apă liberă. Valoarea CTS a fost exprimată în procente raportate la masa umedă a probei.

Conținutul de solide totale a fost calculat conform relației (Lapuerta et al., 2021):

$$CTS\ (\%) = \frac{m_{uscat} - m_{vas}}{m_{umed} - m_{vas}} \times 100 \quad (2.3)$$

unde m_{uscat}- masa vasului cu proba uscată (g);

m_{vas}- masa vasului cu proba umedă (g);

m_{umed}- masa vasului gol (g).

Această metodă permite o estimare precisă a conținutului de materie uscată prin eliminarea completă a apei libere și este utilizată pe scară largă în analiza biomaselor și a reziduurilor fermentabile. Procedura aplicată este conformă cu prevederile standardului EN 12880:2000 – Characterization of sludges. Determination of dry residue.

2.2.6 Determinarea cererii chimice de oxigen (CCO) și a necesarului biologic de oxigen (NBO)

Cerința chimică de oxigen (CCO) a fost determinată cu ajutorul testelor comerciale Merck COD Spectroquant®, conform metodei fotometrice standard ISO 15705:2002 (Cazaudehore et al., 2019). Metoda presupune oxidarea completă a materiei organice din probă, într-un mediu acid, cu dicromat de potasiu ca agent oxidant, în prezența acidului sulfuric și a sulfatului de argint (catalizator). Reacția are loc în tuburi sigilate, încălzite la 150 °C timp de 2 ore într-un digestor termostatat. După răcire, oxidarea este cuantificată fotometric în intervalul 15–300 mg O_2/L (Fogelman et al., 2006).

Pentru raportarea la masa probei, valoarea CCO a fost recalculată conform relației:

$$CCO\left(\frac{gO_2}{kg_{prob}}\right) = \frac{C \times V}{m} \times 10^{-3} \quad (2.4)$$

unde: C - concentrația CCO determinată fotometric (mg O_2/L);

V - volumul de reactiv utilizat (L);

m - masa de probă introdusă în test (kg).

Necesarul biologic de oxigen (NBO) măsoară cantitatea de oxigen consumată de microorganismele aerobe pentru degradarea substanțelor organice. Determinarea NBO poate fi realizată conform standardului ISO 5815-1:2019, prin incubarea probei timp de 5 zile la 20 °C, în prezența inoculului microbian, și măsurarea concentrației de oxigen dizolvat înainte și după incubație. Acest parametru este important pentru evaluarea biodegradabilității substratului.

2.2.7 Determinarea conținutul de polizaharide structurale și lignină (metoda Van Soest)

Compoziția fibrelor structurale din tescovina de struguri a fost determinată prin metoda Van Soest, conform procedurilor descrise de autorii (Mertens, 2002; Van Soest et al., 1991)**.** Această metodă permite separarea fracțiilor majore ale biomasei lignocelulozice: hemiceluloză, celuloză și lignină.

Probele au fost tratate inițial cu o soluție de detergent neutru, care conține: Na_2HPO_4- acid etilen- diamino- tetraacetic, lauril sulfat de sodiu, sulfit de sodiu și α-amilază. Amestecul a fost incubat timp de 1 oră la 100 °C. Soluția a extras compușii solubili, iar reziduul insolubil obținut a fost colectat prin filtrare, conținând hemiceluloză, celuloză și lignină. Pentru separarea hemicelulozei, reziduul a fost tratat cu o soluție de detergent acid compusă din bromură de cetiltrimetilamoniu (20 g/L) și H_2SO_4 (98 g/L), timp de 1 oră la 100 °C. Fracția solubilă a fost considerată hemiceluloză, iar reziduul conținând celuloză și lignină a fost reținut.

Separarea celulozei s-a realizat prin tratarea reziduului cu H_2SO_4 concentrată (42%) timp de 3 ore la temperatura camerei (20 ± 1 °C). Lignina a fost determinată ca fracția insolubilă rezultată în urma acestei etape. Toate determinările au fost efectuate în triplicat, iar rezultatele au fost exprimate în g/kg probă umedă.

Rezultatele obținute pentru fiecare fracție (hemiceluloză, celuloză, lignină) au fost calculate gravimetric și exprimate în g/kg probă, pe baza diferenței de masă între reziduurile obținute la fiecare etapă (Mertens, 2002):

Conținut hemiceluloză (g/kg):

$$Hemiceluloză = (\frac{m_{NDF} - m_{ADF}}{m_{prob}}) \times 100 \quad (2.5)$$

Conținut celuloză (g/kg):

$$Celuloză = (\frac{m_{ADF} - m_{lignin}}{m_{prob}}) \times 100 \quad (2.6)$$

Conținut lignină (g/kg)

$$Hemiceluloză = (\frac{m_{lignin}}{m_{prob}}) \times 100 \quad (2.7)$$

unde: m_{NDF}- masa reziduului după tratamentul cu detergent neutru (g);

m_{ADF}- masa reziduului după tratamentul cu detergent acid (g);

m_{lignin}- masa reziduului final după tratamentul cu H_2SO_4 (g);

m_{prob}- masa probei analizate (g).

2.2.8 Determinarea conținutul total de polifenoli (metoda Folin–Ciocalteu)

Polifenolii totali au fost extrași din tescovina de struguri prin metoda solid-lichid, utilizând o soluție hidroalcoolică (etanol 60% v/v), în raport de 1:10 (g/mL). Extracția s-a realizat la 50 °C, timp de 3 ore, cu agitare continuă. După extracție, probele au fost centrifugate și supernatantul a fost utilizat pentru analiza colorimetrică.

Determinarea conținutului total de polifenoli s-a realizat prin metoda Folin–Ciocalteu (Lamuela- Raventos, 2018). Astfel, 1 mL din extractul fenolic a fost amestecat cu 5 mL reactiv Folin–Ciocalteu și 4 mL soluție de carbonat de sodiu 7,5% (m/v). Amestecul a fost incubat la întuneric timp de 30 de minute la temperatura camerei, apoi absorbția a fost citită la 765 nm cu ajutorul unui spectrofotometru UV-VIS-T 70. Curba de calibrare a fost realizată cu soluții standard de acid galic în intervalul 10–100 mg/L, iar conținutul total de polifenoli a fost exprimat în mg echivalenți acid galic/kg CTS. Toate analizele au fost realizate în triplicat.

Concentrația de polifenoli a fost extrapolată din absorbția măsurată (A_{765}) și apoi exprimată în funcție de masa de probă introdusă, astfel (Lamuela- Raventos, 2018):

$$CTP = C_{GAE} \times \frac{V_{extract}}{m_{prob}} \text{ (mg GAE/ kg CTS)} \quad (2.8)$$

unde : CTP- conținutul total de polifenoli (mg GAE/kg CTS);

C_{GAE}- concentrația echivalentă de acid galic determinată din curba de calibrare (mg/mL);

$V_{extract}$- volumul extractului utilizat (mL);

m_{prob}- masa probei uscate (g).

2.2.9 Cuantificarea polifenolilor individuali prin metoda HPLC-DAD-MS-ESI

Cuantificarea compușilor polifenolici individuali din tescovina de struguri a fost realizată utilizând cromatografie lichidă de înaltă performanță cu detecție diodă-array și spectrometrie de masă cu ionizare prin electrospray (HPLC-DAD-MS-ESI) (Pop et al., 2015). Această metodă permite separarea și identificarea compușilor pe baza semnăturii lor spectrale și a masei moleculare. Metoda este validată în conformitate cu cerințele de performanță analitică stabilite de Comisia Europeană (SANTE/11312/2021), fiind recunoscută pentru aplicabilitate în caracterizarea extractelor vegetale complexe.

Condiții cromatografice

Analizele au fost efectuate cu un sistem HPLC HP-1200 (Agilent Technologies, SUA), echipat cu pompă cvaternară, autosampler, detector DAD și detector de masă MS-6110 cu un singur cvadrupol, utilizând ionizare electrospray în mod pozitiv. Fragmentorul a fost setat între 50 și 100 V, în funcție de compusul țintă. Separarea a fost realizată pe o coloană Kinetex XB-C18 (5 μm; 4,6 × 150 mm i.d., Phenomenex, SUA), menținută la o temperatură de 25 ± 0,5°C. Faza mobilă a constat în:

- apă acidifiată cu acid acetic 0,1%;
- (B) acetonitril acidifiat cu acid acetic 0,1%.

A fost aplicat următorul gradient liniar în trepte:

- pornire cu 5% fază B timp de 2 minute;
- creștere de la 5% la 90% fază B în 20 de minute;
- menținere la 90% fază B timp de 4 minute;
- revenire la 5% fază B în 6 minute.

Timpul total de analiză a fost de 30 de minute, cu un debit de 0,5 mL/min și o temperatură a cuptorului de 25 ± 0,5°C, iar volumul de injecție a fost de 10 μL.

Detecție spectrometrică de masa

Detecția ionilor a fost realizată în modul Scan pozitiv, în intervalul m/z 120–1500. Parametrii operaționali au fost:

- temperatură a gazului: 350°C,
- debit de azot: 7 L/min,
- presiunea nebulizatorului: 35 psi,
- tensiune pe capilar: 3000 V,
- voltaj fragmentor: 100 V.

Spectrele de masă și absorbția UV-VIS au fost colectate simultan la lungimile de undă caracteristice compușilor polifenolici (λ = 280, 350 și 520 nm). Achiziția și prelucrarea datelor s-au realizat utilizând software-ul Agilent ChemStation.

Cuantificarea polifenolilor individuali

Pentru cuantificarea polifenolilor individuali, s-au construit curbe de calibrare în 5 puncte pentru fiecare standard, în funcție de intervalul de linearitate, după cum urmează:

Analizele au fost efectuate pe un sistem HPLC HP-1200 (Agilent Technologies), echipat cu detector DAD și detector de masă MS-6110, utilizând coloană Kinetex XB-C18 (5 μm; 4,6 × 150 mm), faze mobile acidifiate cu acid acetic 0,1% (apă – A; acetonitril – B) și un

gradient liniar în trepte (5–90% B în 20 min, timp total 30 min). Temperatura a fost menținută la 25 ± 0,5°C, debitul de 0,5 mL/min, iar volumul de injecție – 10 µL. Detecția în modul Scan pozitiv (m/z 120–1500) s-a realizat la λ = 280, 350 și 520 nm, cu parametri operaționali: T gaz = 350°C, debit azot = 7 L/min, nebulizator = 35 psi, tensiune capilar = 3000 V, voltaj fragmentor = 100 V. Procesarea datelor a fost realizată cu software-ul ChemStation.

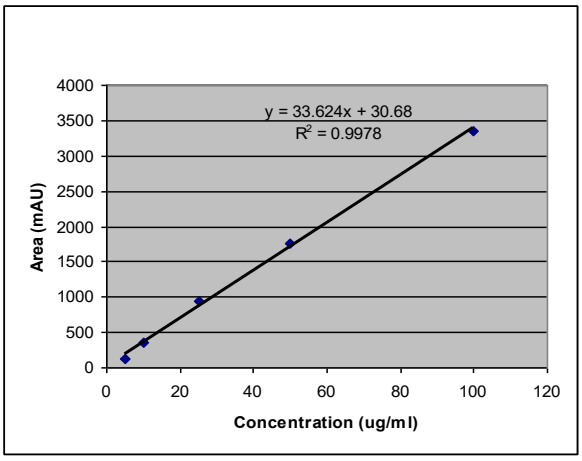
Pentru determinările cantitative, s-au utilizat curbe de calibrare în 5 puncte: acid galic (R^2 = 0,9978; 10–100 µg/mL) pentru acizii hidroxibenzoici (figura 2.1 a) și cianidină (R^2 = 0,9951; 10–100 µg/mL) pentru antociani (figura 2.1 b).

Conținutul de acizi hidroxibenzoici a fost determinat utilizând o curbă de calibrare în cinci puncte pentru acidul galic (R^2= 0,9978) în intervalul de linearitate 10–100 µg/mL (figura 2.1 a).

Conținutul de antociani a fost determinat utilizând o curbă de calibrare în cinci puncte pentru cianidina (R^2= 0,9951), în intervalul de linearitate 10–100 µg/mL, (figura 2.1 b).

Cuantificarea compușilor polifenolici individuali din tescovina de struguri a fost realizată prin cromatografie lichidă de înaltă performanță cu detecție diodă-array și spectrometrie de masă cu ionizare electrospray (HPLC-DAD-MS-ESI), conform metodei validate (Pop et al., 2015), în conformitate cu cerințele SANTE/11312/2021. Metoda permite identificarea compușilor pe baza masei moleculare și a semnăturii spectrale.

a)



b)

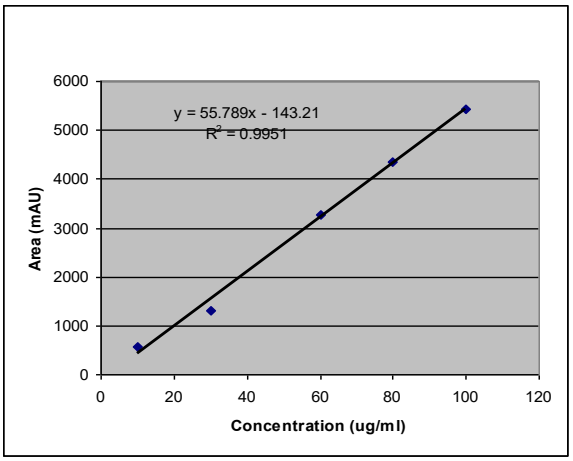
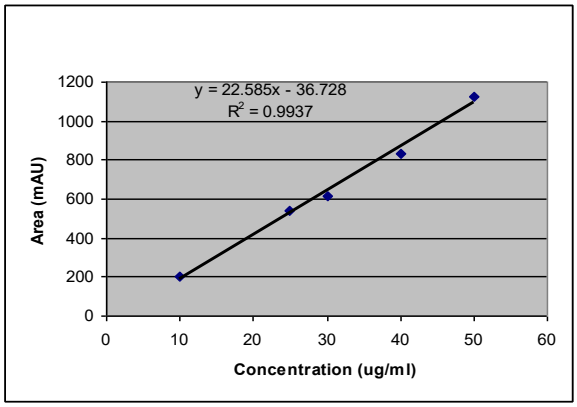


Figura 2.1 Curba de calibrare pentru: a) – acid galic și b) – cianidina

Conținutul de acizi hidroxicinamici a fost determinat utilizând o curbă de calibrare în cinci puncte pentru acidul clorogenic (R^2=0,9937), în intervalul de linearitate 10–50 µg/mL (figura 2.2 a).

a)



b)

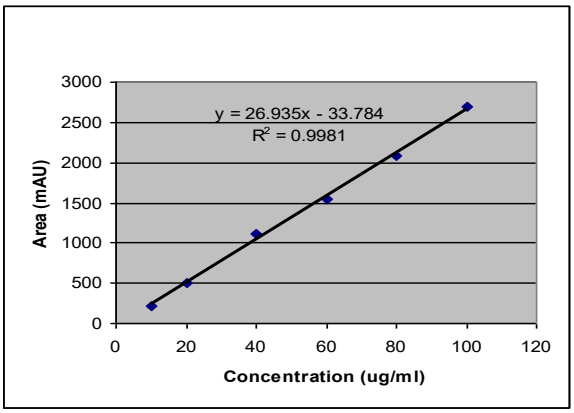


Figura 2.2 Curba de calibrare pentru: a) – acid clorogenic și b) – rutina

Conținutul de flavonoli a fost determinat utilizând o curbă de calibrare în cinci puncte pentru rutina (R^2=0,9981), în intervalul de linearitate 10–100 µg/mL (figura 2.2 b).

Conținutul de flavanoli a fost determinat utilizând o curbă de calibrare în cinci puncte pentru catechină (R^2=0,9985), în intervalul de linearitate 10–200 µg/mL (figura 2.3).

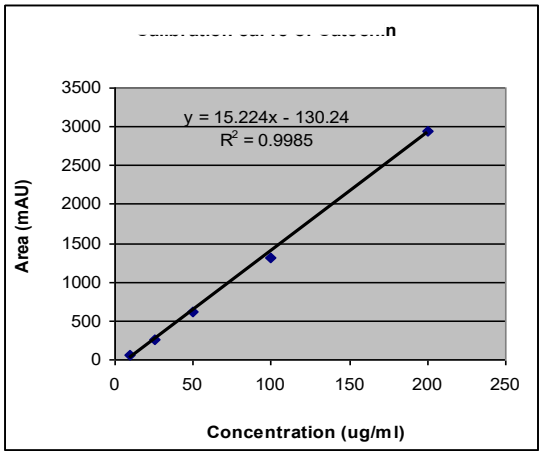


Figura 2.3 Curba de calibrare pentru – catechină

Conținutul fiecărui compus a fost calculat în funcție de semnătura UV și a fost exprimat în g/kg solide totale (CTS) conform formulei (Spigno et al., 2007):

$$C_{compus} = C_{standard} \times \frac{V_{extract}}{m_{CTS}} \quad (2.9)$$

unde: C_{compus}- concentrația compusului analizat (g/kg CTS),

$C_{standard}$- concentrația determinată din curba de calibrare (mg/mL),

$V_{extract}$- volumul extractului analizat (mL),

m_{CTS}- masa de solide totale din probă (g).

Toate determinările au fost efectuate în triplicat. Rezultatele finale au fost exprimate ca g compus fenolic/kg CTS, utilizând factori de conversie corespunzători pentru a trece de la concentrația soluției la unitatea pe masă de probă solidă.

2.2.10 Realizarea fermentației aerobe

Amestecul nutritiv a fost preparat folosind 30 mL suc proaspăt de struguri cu 10 % drojdie de fermentație/ 10^{10} (CFU), 20 mL zahăr invertit (42 %), 150 mL borhot de cereale și 2 mL SBA (3 mg/L). Biomasa, amestecată cu soluția nutritivă, a fost supusă fermentației aerobe în condiții mezofile (20-32 ^{o}C). Conform datelor din literatură, principalele produse ale procesului de fermentație aerobă a borhotului sunt fosfații, nitrații și CO_2 (Van Lier et al., 2001). În experimentele practice, procesul de fermentație aerobă a fost urmat de volumul de gaz emis (CO_2) care a fost determinat prin metoda standard de titrare cu soluția NaOH, folosind fenolftaleină ca indicator (figura 2.4).



Figura 2.4 Instalația de laborator pentru studiul fermentației aerobe a biomasei în prezența SBA

Conform datelor din literatură, principalele produse ale procesului de fermentație aerobă a borhotului sunt fosfații, nitrații și CO_2 (Van Lier et al., 2001). În experimentele practice, procesul de fermentație aerobă a fost urmărit prin monitorizarea volumului de gaz emis (CO_2), determinat prin metoda standard de titrare cu soluția NaOH, folosind fenolftaleină ca indicator. Schema instalației de laborator utilizate pentru studiul fermentației aerobe a biomasei în prezența SBA este prezentată în figura 2.4.

2.2.11 Determinarea conținutului de CO_2 degajat în procesul de fermentație aerobă prin titrarea acido-bazică

Această metodă a permis evaluarea dinamicii de evoluție a diferenței de normalitate a soluției de hidroxid de sodiu (1 N) rezultată în procesul de degajare a CO_2 endogen procesului de fermentație alcoolică. Într-un balon conic de 100 cm^3 se prelevează din balonul de colectare experimental 10 cm^3 de hidroxid de sodiu, câteva picături de fenolftaleină și se agită minuțios. Amestecul obținut se titrează cu titrimetrului automat (Birghilă, 2011) (figura 2.5) cu acid oxalic (1 N).



Figura 2.5 Imagine foto: procedura de titrare a CO_2 rezultat în timpul fermentației aerobe- sistem de titrare

Titrarea volumului de CO_2 rezultat în timpul fermentației a fost realizată cu ajutorul titrimetrului digital, utilizând soluție de acid oxalic 1 N ca titrant, conform metodei descrise de Birghilă (Birghilă, 2011). Balonul conic cu proba se agită continuu în timpul titrării, iar culoarea violet intensă dispare treptat, indicând sfârșitul reacției. Valoarea volumului consumat se citește digital și se repetă până la obținerea a trei determinări cu abatere sub 0,1 mL. Pe baza volumului de CO_2 format, exprimat în g acid tartric/L, s-a evaluat eficiența fermentației.

Determinarea vitezei aparente a fermentației aerobe

Viteza aparentă a reacției a fost calculată în funcție de volumul de CO_2 degajat și concentrația SBA, conform relației empirice propuse de autorii (Atkins și De Paula, 2014):

$$\vartheta = \frac{V_{co} \times [SBA]}{22{,}4 \times t} \tag{2.10}$$

unde: ϑ - reprezintă viteza reacției exprimate în unități relative (mmol·[SBA]/h),

V_{CO_2}este volumul de dioxid de carbon degajat, cm^3,

[SBA] este concentrația substanței biologic active, în mmol/L ,

t - timpul (în ore) la care a fost înregistrat volumul de gaz,

22,4 L/mol reprezintă volumul molar al gazelor la condiții normale.

2.2.12 Determinarea potențialului biologic de producere a metanului (PBM)

Experimentele de fermentație anaerobă în regim discontinuu au fost realizate utilizând o instalație de laborator de tip Batch (figura 2.6), adaptată pentru incubări de mic volum. Tescovina, utilizată ca substrat fermentabil, a fost omogenizată și caracterizată anterior, fără pretratamente

suplimentare. Ca inocul a fost utilizat nămol anaerob stabilizat, provenit dintr-o stație de epurare, incubat 5 zile la 37 °C pentru eliminarea fermentației reziduale.

Probele au fost preparate într-un raport substrat/inocul de 1:3 (în funcție de solide totale), cu ajustarea volumului la 400 mL. Fermentarea s-a desfășurat în sticle de 800 cm^3, etanșate și conectate la un sistem de colectare a biogazului cu citire volumetrică prin deplasarea apei. Incubarea a avut loc la 37 ± 0,5 °C timp de circa 30 de zile, până la stagnarea producției zilnice de biogaz sub 1% din volumul total.

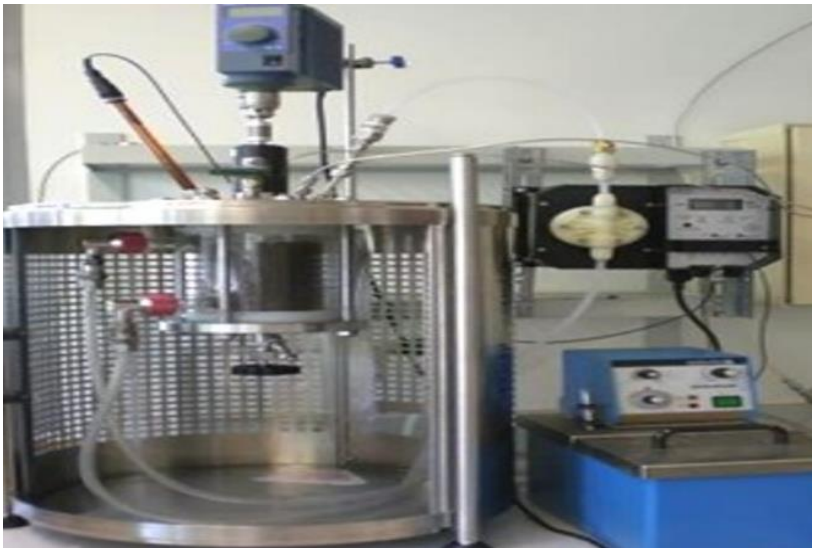


Figura 2.6 Instalația de măsurare experimentală a parametrilor procesului de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri

Acest sistem permite monitorizarea zilnică a volumului de biogaz produs. Rezultatul este exprimat în L CH_4/kg TS sau mL CH_4/g TS. Volumul de biogaz produs a fost monitorizat zilnic, iar compoziția acestuia a fost determinată cu ajutorul analizatorului GFM 400. Pentru calculul volumului de metan, datele obținute au fost corectate la condiții standard de temperatură și presiune (273 K și 101,5 kPa). Potențialul biologic de producere a metanului a fost calculat ca raport dintre volumul de metan obținut (exprimat în litri sau mililitri) și masa de solide totale introduse în fiecare reactor, conform relației:

$$PBM = \frac{V_{CH_4}}{m_{ST}} \tag{2.11}$$

unde: V_{CH_4}- reprezintă volumul total de metan,

m_{ST}- este masa de solide totale din proba introdusă.

Pentru evaluarea gradului de conversie a substratului și estimarea eficienței biodegradării, a fost calculată biodegrabilitatea relativă (Buffiere, 2008), exprimată procentual, raportând PBM

la randamentul teoretic maxim posibil de 350 L CH_4/kg CCO) în condiții standard de temperatură și presiune (273 K și 101,5 kPa), corespunzător conversiei complete a materiei organice:

$$Biodegrabilitate\ (\%) = \frac{PBM}{350} \times 100 \quad (2.12)$$

2.2.13 Prelucrarea statistică și modelarea computațională a datelor experimentale

Prelucrarea statistică și modelarea matematică a rezultatelor experimentale a fost realizată pentru a exclude rezultatele cu eroare accidentală şi cele cu nivel mare de incertitudine (ISO 5725, 1994). În acest scop au fost efectuate câte 3–4 măsurări paralele, rezultatele au fost supuse prelucrării statistice dispersionale şi corelative prin calcularea parametrilor specifici. Prelucrarea statistică a rezultatelor s-a efectuat prin programele MS Excel şi Anova al PC cu pragul semnificaţiei statistice de $p < 0,05$, iar pentru stabilirea gradului de conformitate a rezultatelor experimentale s-a folosit testul Q.

Modelare computațională prin Teoria Funcționalei de Densitate (DFT)

Pentru analiza proprietăților moleculare ale SBA utilizate, s-au efectuat calcule cuantico-chimice utilizând DFT, implementată în pachetul software Gaussian 09 (Frisch et al., 2009). Această metodă permite determinarea proprietăților structurale, electronice și energetice ale moleculelor prin optimizarea geometriei și calculul distribuției densității electronice.

Inițial, au fost construite structurile moleculare ale compușilor în medii de modelare moleculară, iar coordonatele spațiale au fost salvate în formate compatibile cu Gaussian. Ulterior, s-a realizat optimizarea geometriei, utilizând metoda DFT cu funcționalul B3LYP și setul de baze 6-31G (d,p), selectat pentru echilibrul între precizie și eficiență computațională. Convergența energiei și lipsa frecvențelor negative au fost criterii pentru validarea minimului energetic atins.

2.3 Concluzii la capitolul 2

1. În cadrul studiului au fost selectate materii prime relevante pentru fermentația aerobă și anaerobă, precum borhotul post-alcoolic de cereale, tescovina de struguri, mustul de Chardonnay, caracterizate din punct de vedere fizico-chimic și utilizate ca substrat pentru experimente.

2. A fost realizată selecția SBA cu potențial antioxidant, dintre care DHFA, betulina, tomatina și altele, având diferite funcționalități biochimice relevante în procesele redox de fermentație.

3. Determinarea caracteristicilor de bază ale substratului (umiditate 91,2%, CCO de 28250 mg O_2/L, CTS de 6,54%) a evidențiat potențialul ridicat de biodegradabilitate a borhotului și justifică alegerea ca componentă principală în studiile de fermentație.

4. Diferențele în parametrii de fermentație dintre mustul de Chardonnay (124,4 g/L zahăr, YAN 179,5 mg/L) și borhotul lichid (26,27 g/l zahăr, YAN 102,8 mg/L) indică variații majore în potențialul fermentativ și necesitatea adaptării tratamentelor SBA.

5. Determinarea componentelor structurale ale tescovinei (22,6% celuloză, 15,1% hemiceluloză, 20,7% lignină) a permis estimarea gradului de recalcitranță și a biodegradabilității potențiale în digestia anaerobă.

6. Conținutul total de polifenoli (1108,5 mg GAE/L în extractul MCa și 674,1 mg GAE/L în extractul Ca) și compoziția detaliată în flavonoide, acizi fenolici și antociani au fost determinate prin metode spectrofotometrice și HPLC-MS.

7. În experimentele de fermentație aerobă, cinetica degajării de CO_2 a fost utilizată pentru a estima viteza reacției, fiind influențată de tipul și concentrația SBA, iar metoda de titrare cu NaOH a permis o cuantificare simplă și eficientă a gazului eliberat.

8. Fermentația anaerobă a fost studiată prin Metoda Batch, cu evaluarea PBM, exprimat în L CH_4/kg TS, iar volumul de biogaz a fost monitorizat gravimetric pe parcursul a 30 de zile, iar compoziția biogazului (CH_4, CO_2, H_2S) a fost analizată cu ajutorul analizatorului GFM 400.

9. Datele experimentale obținute au fost prelucrate statistic cu ajutorul Microsoft Excel și testate prin analiza ANOVA ($p < 0,05$), ceea ce a permis compararea semnificativă a variantelor de tratament și validarea ipotezelor experimentale.

10. Pentru înțelegerea profundă a mecanismelor redox și a proprietăților electronice ale substanțelor biologic active, s-au realizat calcule de modelare moleculară DFT (Density Functional Theory), utilizând software-ul Gaussian 09 și metoda B3LYP/6-311G (d,p), ceea ce a permis obținerea descriptorilor de reactivitate.

3. STUDIUL PROCESELOR REDOX DE FERMENTAȚIE A BIOMASEI PROVENITE DE LA PRODUCEREA ALCOOLULUI ETILIC

3.1 Determinarea indicilor fizico-chimici ale biomasei utilizate și selectarea substanțelor biologic active pentru aplicare în procesele fermentative

Biomasa reziduală generată în sectorul agroindustrial, în special în urma proceselor de producere a vinului și a altor băuturi alcoolice care implică etape de fermentație, reprezintă un pericol ecologic semnificativ atunci când este deversată în medii naturale precum apa, solul sau aerul, afectând inclusiv organismele vii și sănătatea umană. Conform reglementărilor actuale, evacuarea necontrolată a acestor reziduuri fermentative este interzisă prin acte normative și legislative specifice (Hermann et al., 2019). La nivel global, se estimează că prelucrarea a 100 de tone de must poate genera aproximativ 39 de tone de deșeuri, iar în perioada 2018–2019, volumul deșeurilor formate a atins circa 11 milioane de tone anual (Ahmad et al., 2020).

Totodată, aceste subproduse, conținând atât substanțe organice (drojdii de vin, acid tartric și alți acizi organici, etanol, substanțe fenolice, etc.) cât și anorganice (oxizi, hidroxizi, săruri, acizi anorganici) pot servi ca materie primă pentru o serie de produse cu valoare adăugată, precum apă tratată (care, la rândul său, poate fi folosită pentru scopuri tehnice sau tehnologice) producerea de energie electrică și termică precum biogaz, bioetanol, biobutanol, biohidrogen, etc. (del Mar Contreras et al., 2022), și ca surse de substanțe bioactive și alte substanțe cu proprietăți utile pentru industrie (Lemes et al., 2022). Utilizarea acestor subproduse într-un mod sustenabil va contribui la dezvoltarea economiei circulare, în conformitate cu direcțiile și scopurile stabilite pentru dezvoltarea economică a sectorului agro-alimentar pe scara mondială (Merli et al., 2018). Deși procesele de tratare și valorificare a acestor tipuri de reziduuri au fost studiate pe scară largă și aplicate în practică (Kamusoko et al., 2021), există în continuare un deficit de cercetări aprofundate privind cinetica și mecanismele fermentației, influența diverșilor aditivi și a parametrilor tehnologici specifici asupra fermentației aerobe și anaerobe, în vederea obținerii unor produse cu valoare adăugată. Această lipsă de cunoștințe constituie un obstacol în optimizarea și extinderea acestor procese în condiții tehnologice favorabile.

În acest context, a devenit deosebit de relevant, atât din punct de vedere practic, cât și teoretic, studiul proceselor de conversie biochimică a biomasei reziduale lichide provenite din sectorul agroindustrial, în diferite condiții tehnologice, cu scopul de a determina parametrii optimi ai fermentației și de a evalua efectul accelerant sau inhibitor al substanțelor biologic active adăugate în amestecul fermentativ.

În capitolul dat a fost studiat și analizat procesul de valorificare a borhotului din industria băuturilor alcoolice. Cercetările s-au concentrat pe creșterea eficienței de conversie a substratului organic, sporirea randamentului în produse utile (biogaz, metan, compuși intermediari) și perfecționarea parametrilor tehnologici implicați. Totodată, a fost evaluat impactul adăugării SBA asupra cineticii proceselor fermentative, în scopul identificării condițiilor optime pentru desfășurarea reacțiilor biochimice, contribuind astfel la dezvoltarea unor soluții sustenabile de valorificare a produselor secundare.

Conținutul de zahăr în aceste tipuri de biomasă a fost determinat utilizând tehnica refractometrică, bazată pe măsurarea indicelui de refracție al soluțiilor. Rezultatele au indicat un conținut rezidual redus de zahăr în borhotul de cereale, caracteristic produselor secundare post-fermentative, în comparație cu sucul de struguri.

Compoziția și caracteristicile biomasei inițiale utilizate pentru studiul procesului de fermentație în prezența SBA sunt prezentate în tabelul 3.1 (Tașca, 2024).

Tabelul 3.1 Indicii fizico-chimici ai mediilor de studiu (Tașca, 2024)

Indicator	Borhot de cereale	Suc de struguri
Conținutul în masă a zahărului, g/L	26,27 ± 0,91	124,4 ± 1,6
pH	3,91 ± 0,07	3,77 ± 0,12
Concentrația în masă a acidității titrabile, g/L acid sulfuric	3,42± 0,24	2,74±0,32
Conținut în azot aminic, mg/L	492,2± 3,6	140,8± 2,2

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Sucul de struguri se caracterizează printr-un conținut ridicat de zahăr de 124,4 g/L, ceea ce indică un potențial sporit pentru desfășurarea proceselor de fermentație, comparativ cu borhotul de cereale de 26,27 g/L. Deși valorile pH se mențin în intervalul optim pentru activitatea drojdiilor, borhotul prezintă un pH ușor mai ridicat (3,91), iar aciditatea titrabilă este, de asemenea, mai mare (3,42 g/L H_2SO_4), ceea ce poate influența echilibrul redox și dinamica procesului fermentativ (Tașca, 2024). Conținutul ridicat de azot aminic în borhotul de cereale de 492,2 mg/L sugerează o disponibilitate nutritivă superioară, care poate stimula multiplicarea microorganismelor și eficiența procesului de fermentație.

3.2 Evaluarea activității antioxidante a substanțelor biologic active

Determinarea proprietăților antioxidante a SBA utilizate a fost realizată prin metoda de captare a radicalilor liberi α, α-difenil-β-picrilhidrazil (DPPH), care permite evaluarea potențialului antioxidant al unui compus, al unui extract sau al altor surse biologice, prin

amestecarea compusului sau extractului potențial cu soluție de DPPH și înregistrarea absorbanței după o perioadă definită.

În vederea determinării capacității antioxidante, extractul brut obținut a fost testat prin reacția cu radicalul stabil DPPH. Soluții ale extractului în metanol, la concentrații variate, au fost amestecate cu soluție de DPPH 0,1 mM (raport 3:1, v/v), iar amestecul a fost incubat timp de 15 minute, în condiții de întuneric, la temperatura camerei. Ulterior, absorbția soluției a fost măsurată la 517 nm. Valorile obținute, corespunzătoare gradului de inhibare al radicalului DPPH, sunt ilustrate în figura 3.1.

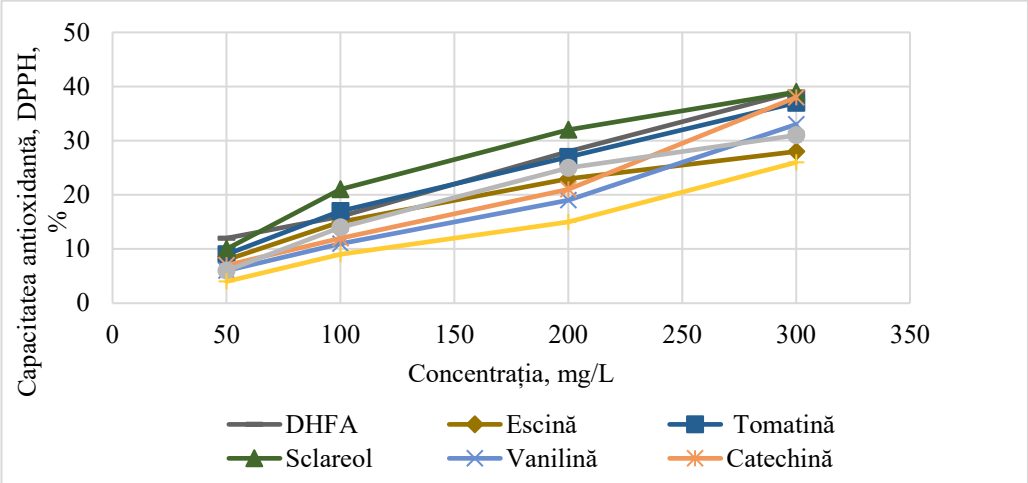


Figura 3.1 Capacitatea antioxidanta a SBA, % DPPH inhibat

(rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)

Rezultatele privind potențialul de captare a radicalilor liberi ale diferitelor fracții ale SBA, determinate prin metoda DPPH, sunt prezentate în figura 3.1. Rata de inhibare a radicalului DPPH constituie un indicator relevant al capacității antiradicalice a compușilor analizați, reflectând abilitatea acestora de a neutraliza radicalii liberi într-un sistem non-enzimatic. Mecanismul de reacție implică transferul unui atom de hidrogen de la antioxidant către radicalul DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), un radical stabil centrat pe azot, care prezintă absorbție maximă la 517 nm. Reducerea absorbției spectrofotometrice este asociată cu conversia DPPH în forma sa redusă – 1,1-difenil-2-picrilhidrazină – proces evidențiat prin decolorarea soluției, direct proporțională cu potențialul antiradicalic al fracției testate.

Analiza comparativă a fracțiilor testate a evidențiat o activitate antioxidantă semnificativ mai mare pentru sclareol, tomatină, catechină și DHFA, în comparație cu celelalte SBA investigate. La concentrația maximă de 300 mg/L, sclareolul și DHFA au prezentat cel mai ridicat procent de inhibiție DPPH de 39%, urmat îndeaproape de tomatină – 37 % și catechină de 38 %.

În contrast, fracția de mentol a manifestat cea mai scăzută activitate antioxidantă pe întreg intervalul de concentrație testat, atingând doar 26% inhibiție la 300 mg/L. Activități mai reduse au fost înregistrate și pentru escina și vanilină, cu valori ușor sub 30%.

Totodată, la o concentrație de 50 mg/L, activitatea antioxidantă a fost relativ apropiată pentru majoritatea fracțiilor, însă s-a remarcat DHFA printr-un procent de inhibiție ușor superior comparativ cu sclareolul și tomatina, sugerând o eficiență relativ crescută la doze mici. Tendința generală a tuturor compușilor a fost ascendentă, confirmând existența unei relații directe doză–efect între concentrația SBA și capacitatea de neutralizare a radicalilor liberi în sistemul DPPH.

Pentru a evalua influența a doi factori experimentali – tipul SBA și concentrația aplicată – asupra activității antioxidante determinate prin testul DPPH, a fost aplicată o analiză a variației bidimensionale (ANOVA 2-way, fără replicare). Această metodă statistică permite evidențierea contribuției fiecărui factor asupra variabilității generale a rezultatelor și stabilirea semnificației diferențelor observate.

Tabelul 3.2 Rezultatele analizei ANOVA pentru influența tipului de SBA și a concentrației asupra activității antioxidante (% inhibare DPPH) *

Sursa de variație	SS	dF	MS	F	P-value	F crit
Tip SBA	13574,89	3	4524,96	4,1	0,018	3,01
Concentrație, mg/L	72678,72	8	9084,84	8,3	$2,6\ 10^{-05}$	2,36
Eroare	26526,61	24	1105,28			
Total	112780,2	35				

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Notă: SS – suma pătratelor; dF – gradele de libertate; MS – media pătratelor; F – factorul Fisher, P- value – semnificația statistică și F crit − valoarea critică a testului F

Rezultatele prezentate în tabelul 3.2 indică faptul că atât natura chimică a SBA, cât și doza aplicată influențează semnificativ eficiența de neutralizare a radicalilor DPPH. Valoarea F calculată pentru factorul „Tip SBA" (F=4,1) depășește valoarea critică F (F crit=3,01), cu un nivel de semnificație de P=0,018, ceea ce confirmă existența unor diferențe semnificative statistic între compușii testați. Acest rezultat reflectă faptul că structura moleculară și proprietățile antioxidante intrinseci ale compușilor SBA influențează capacitatea acestora de a inhiba radicalii liberi.

De asemenea, influența concentrației este mult mai pronunțată, valoarea F obținută (F=8,3) fiind mult superioară valorii critice (F crit=2,36), iar valoarea P extrem de mică ($P=2,6\times10^{-5}$) confirmă o semnificație statistică foarte ridicată. Această observație evidențiază un comportament tipic de răspuns dependent de doză, în care creșterea concentrației substanței conduce la o inhibare progresivă a radicalilor liberi, specifică mecanismelor de acțiune ale antioxidanților fenolici.

Componenta de eroare (MS=1105,28) se menține la un nivel relativ scăzut în raport cu valorile medii pătratice ale celor doi factori principali, ceea ce atestă robustețea rezultatelor experimentale și reproductibilitatea determinărilor spectofotometrice. În concluzie, analiza ANOVA susține validitatea ipotezei conform căreia activitatea antioxidantă a substanțelor testate este determinată atât de structura lor chimică, cât și de concentrația la care sunt aplicate, iar diferențele între tratamente sunt statistic semnificative.

Pentru evaluarea relațiilor dintre valorile de inhibare a radicalului DPPH (%) obținute în prezența diferitelor SBA, s-a aplicat analiza corelației Pearson, utilizând un program specializat de procesare a datelor experimentale. În matricea de corelație (tabelul 3.3) sunt prezentați coeficienții de corelație liniară calculați între rezultatele obținute pentru fiecare variantă experimentală, inclusiv martorul și cele opt substanțe testate.

Tabelul 3.3 Matricea coeficienților de corelație Pearson între martor și substanțele biologic active testate (format triunghiular inferior)*

	Martor	DHFA	Escină	Tomatină	Sclareol	Vanilină	Catechină	Betulină	Mentol
Martor	1								
DHFA	0,9987	1							
Escină	0,9808	0,9726	1						
Tomatină	0,9959	0,9902	0,9929	1					
Sclareol	0,9754	0,9657	0,9995	0,9902	1				
Vanilină	0,9917	0,9903	0,9547	0,9833	0,9487	1			
Catechin	0,9874	0,9871	0,9438	0,9764	0,9369	0,9993	1		
Betulină	0,9828	0,9764	0,9993	0,9925	0,9979	0,9549	0,9443	1	
Mentol	0,9922	0,9887	0,9626	0,9878	0,9579	0,9990	0,9972	0,9615	1

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Notă: Sunt afișate doar valorile din partea inferioară a matricei (sub diagonală), corespunzătoare corelațiilor dintre fiecare variabilă și cele anterioare. Matricea este simetrică, iar valoarea de pe diagonală (corelația unei variabile cu ea însăși) este 1.

Rezultatele au evidențiat coeficienți de corelație Pearson extrem de ridicați, cu valori cuprinse între 0,936 și 0,999, ceea ce indică o asociere pozitivă foarte puternică între profilurile de răspuns antioxidant ale SBA investigate. Această consistență statistică relevă o tendință sincronizată a variației activității radicalice în funcție de concentrație, valabilă pentru majoritatea compușilor analizați. Cu alte cuvinte, creșterea dozei aplicate determină o evoluție similară a inhibării DPPH, indiferent de structura chimică specifică a fiecărui SBA.

De exemplu, coeficientul de corelație dintre martor și DHFA este r =0,9987, iar între martor și mentol r =0,9922, ceea ce sugerează că tratamentele nu modifică radical modelul de răspuns

antioxidant, ci îl amplifică gradual în funcție de doză. Această observație poate fi interpretată ca dovadă a unei acțiuni modulatorii fine, mai degrabă decât a unei restructurări drastice a comportamentului antioxidant.

În mod particular, s-au remarcat corelații aproape perfecte între escină și sclareol (r =0,9995) sau între catechină și vanilină (r =0,9993), indicând mecanisme funcționale similare de neutralizare a radicalilor liberi sau o reactivitate comună în cadrul sistemului oxidativ. Aceste rezultate sugerează că o clasificare funcțională a substanțelor testate este posibilă, în baza asemănărilor comportamentale obținute prin corelație statistică, cu potențial de aplicare în selecția celor mai eficiente antioxidanți pentru formulări biologic active sau sisteme model.

Prin modelarea factorială s-a investigat efectul concentrației asupra activității antioxidante a opt SBA selectate, în baza rezultatelor obținute. În cadrul studiului, a fost analizat efectul a două niveluri de concentrație – minimă (50 mg/L) și maximă (300 mg/L) – asupra capacității de captare a radicalilor liberi, exprimată ca procent de inhibiție DPPH.

Modelarea matematică a influenței concentrației asupra eficienței antioxidante a substanțelor testate a fost realizată prin aplicarea metodei suprafeței de răspuns și a regresiei liniare și polinomiale, utilizând metoda pătratelor minime. Această abordare a permis descrierea relației dintre doza administrată și intensitatea răspunsului antioxidant, precum și estimarea potențialului maxim de inhibiție la concentrațiile testate. Intervalele de variație al factorilor principali care influențează activitatea antioxidantă sunt prezentate în tabelul 3.4.

Tabelul 3.4 Interdependența SBA și activitatea antioxidantă (apreciată prin radicalul DPPH)*

Codul parametrului	**Denumirea SBA**	**Intervalul de variație**	
		C, 50 mg/L	**C, 300 mg/L**
X_1	DHFA	12,0	39,0
X_2	Escină	8,0	28,0
X_3	Tomatină	9,0	37,0
X_4	Sclareol	10,0	39,0
X_5	Vanilină	6,0	33,0
X_6	Catechin	7,0	38,0
X_7	Betulină	6,0	31,0
X_8	Mentol	4,0	26,0

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

**p<0,05*

Modelarea matematică a relației dintre concentrația SBA și activitatea lor antioxidantă, exprimată prin procentul de inhibiție DPPH, a fost realizată utilizând ecuații de regresie liniară și sunt prezentate în tabelul 3.5.

Tabelul 3.5 Ecuațiile de regresie și valoarea coeficientului Pearson a SBA*

SBA	Ecuația de regresie	Coeficientul Pearson, R^2
DHFA	y = 0,1102x + 5,8475	0,997
Escină	y = 0,078x + 5,8305	0,962
Tomatină	y = 0,1092x + 4,7627	0,992
Sclareol	y = 0,1119x + 7,322	0,951
Vanilină	y = 0,1054x + 0,1186	0,983
Catechin	y = 0,1214x - 0,2203	0,975
Betulină	y = 0,099x + 2,9153	0,966
Mentol	y = 0,0847x - 0,2712	0,985

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Toate substanțele testate au prezentat o corelație semnificativă între creșterea dozei și intensificarea activității antioxidante, valorile coeficientului Pearson (R^2) fiind cuprinse între 0,951 și 0,997, ceea ce confirmă validitatea modelului liniar adoptat. Dintre compușii analizați, catechina a prezentat cea mai pronunțată creștere a activității antioxidante cu concentrația (panta: 0,1214), urmată de sclareol, DHFA și tomatină, toate cu pante apropiate ($\geq$ 0,109). Aceste rezultate indică o eficiență ridicată în captarea radicalilor liberi, proporțională cu doza administrată. În schimb, escinul și mentolul au prezentat o creștere mai lentă a activității antioxidante în funcție de concentrație, deși modelul statistic rămâne robust și pentru acești compuși. Astfel, se poate concluziona că variabilitatea eficienței antioxidante a SBA este doză-dependentă, iar intensitatea răspunsului poate fi estimată cu precizie prin modele de regresie liniară.

Pentru o validare suplimentară a datelor experimentale privind activitatea antioxidantă a SBA, a fost realizată o comparație grafică între valorile experimentale de inhibare DPPH (%) și cele calculate teoretic prin modelare matematică. Rezultatele sunt prezentate în figura 3.2 și evidențiază o corespondență foarte bună între valorile observate și cele modelate pentru toate cele opt substanțe investigate.

Diferențele între valorile experimentale și cele teoretice sunt minime, în special în cazul compușilor catechina, betulină, vanilină și mentolul, în care barele corespunzătoare sunt aproape suprapuse. Acest aspect susține validitatea modelelor de regresie aplicate și indică o predictibilitate ridicată a comportamentului antioxidant în funcție de concentrație. În cazul unor substanțe precum

tomatină și sclareol, se observă ușoare abateri între valorile estimate și cele experimentale, sugerând posibile influențe ale altor factori (ex. solubilitate, stabilitate chimică sau interferențe spectrofotometrice).

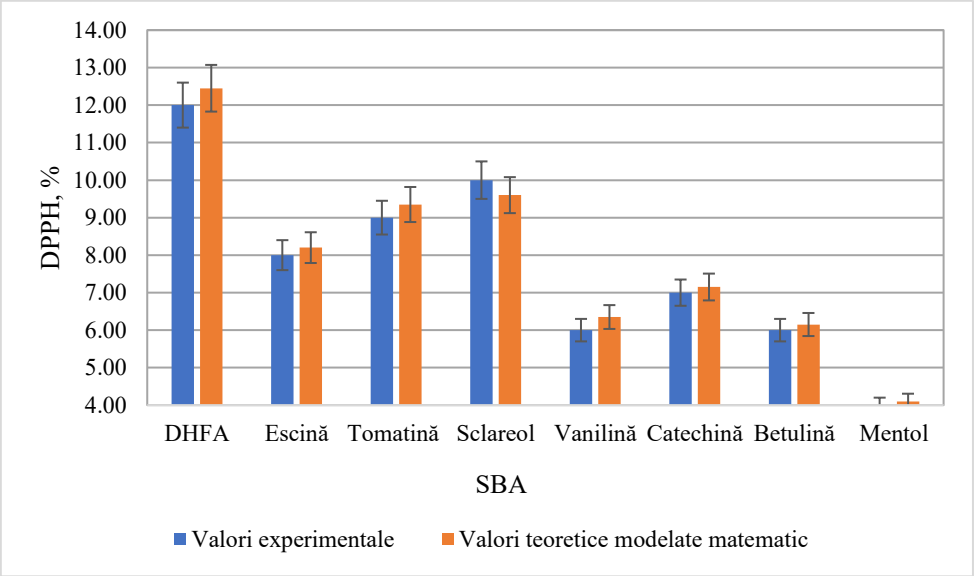


Figura 3.2 Compararea valorilor experimentale și modelate ale activității antioxidante (% inhibare DPPH) pentru substanțele biologic active testate (Duca et al., 2022)

În ansamblu, rezultatele susțin ideea că intensitatea răspunsului antioxidant al fiecărei SBA este doză-dependentă și poate fi estimată cu precizie prin modelare matematică, fapt confirmat și prin valorile ridicate ale coeficienților de corelație Pearson anterior discutați ($r > 0,95$). Astfel, datele experimentale nu doar că reflectă comportamente clare și reproductibile, ci pot fi integrate în modele predictive cu aplicabilitate în formularea extractelor antioxidante eficiente.

Deasemenea, a fost determinată mărimea IC_{50} (concentrația extractului care determină inhibarea a 50% de radicali liberi) pentru diferite SBA studiate, exprimată în µg/mL.

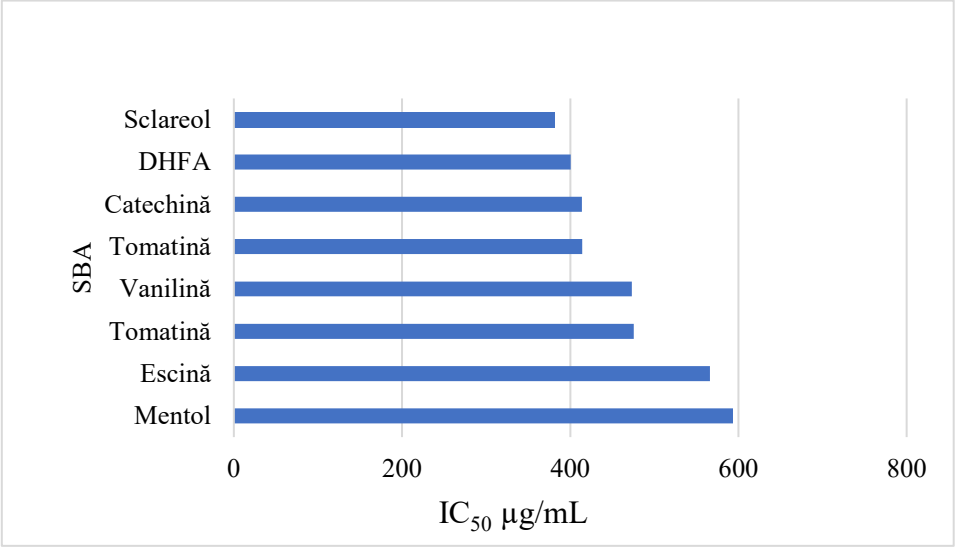


Figura 3.3 Activitatea antioxidantă (IC_{50}) a SBA analizate (Duca et al., 2022)

Rezultatele prezentate în figura 3.3, indică diferențe semnificative între compușii analizați. Cea mai mică valoare IC_{50} a fost înregistrată pentru sclareol de 366 µg/mL, indicând cea mai ridicată activitate antioxidantă dintre fracțiile analizate. Acidul dihidroxifumaric (374 µg/mL) și catehina (382 µg/mL) au înregistrat valori apropiate de cea a sclareolului. Acești trei compuși s-au distins printr-un nivel similar de activitate antioxidantă, indicând o eficiență antiradicalică ridicată în cadrul grupului analizat.

În schimb, mentolul a prezentat o valoare IC_{50} de 589 µg/mL, cu aproximativ 61% mai mare decât cea a sclareolului, ceea ce reflectă o capacitate redusă de neutralizare a radicalilor liberi. Deși în testul DPPH, mentolul a atins cele mai înalte procente de inhibiție la concentrații mari (până la 40% la 300 mg/L), valoarea IC_{50} ridicată indică faptul că este necesară o cantitate mai mare de compus pentru a atinge efectul de inhibiție de 50%. Aceasta sugerează o activitate antioxidantă bună, dar eficiență redusă la doze mici, în comparație cu compuși precum sclareolul sau acidul dihidroxifumaric, care au atins aceleași efecte la concentrații mai reduse. De asemenea, escină (553 µg/mL) s-a situat în zona superioară a spectrului de valori, indicând o activitate antioxidantă scăzută. Aceste variații între fracțiile testate subliniază relevanța compușilor cu activitate ridicată pentru aplicațiile ulterioare în procese fermentative, în care menținerea echilibrului redox este esențială.

3.3 Analiza impactului unor SBA asupra cineticii de fermentație aerobă a borhotului de cereale

Impactul unor SBA asupra procesului de fermentație a borhotului de cereale a fost investigat cu scopul de a evalua posibilitățile de optimizare a randamentului și eficienței procesului fermentativ. Studiile experimentale au fost realizate utilizând borhot de cereale rezultat din distilarea boabelor efectuată la întreprinderea „Garma Grup” (raionul Hâncești, satul Fîrlădeni, Republica Moldova). Experimentele privind influența SBA asupra procesului fermentativ au fost realizate utilizând instalația de laborator ilustrată în figura 2.4. În fiecare vas experimental a fost introdusă biomasa reziduală, amestecul nutritiv și câte un tip diferit de SBA. Amestecul fermentativ a inclus 30 mL suc proaspăt de struguri inoculat cu 10% drojdie de fermentație (10^{10} CFU/g), 20 mL de zahăr invertit cu o concentrație de 42%, 150 mL borhot de cereale și 2 mL soluție de SBA 3 mg/L. După omogenizare, biomasa a fost supusă fermentației aerobe în regim mezofil, la temperaturi cuprinse între 20 și 32 °C (Duca et al., 2022).

Conform literaturii de specialitate, în cadrul fermentației aerobe a borhotului de cereale, principalele produse ale metabolismului sunt compușii anorganici (fosfați, nitrați) și bioxidul de carbon (Van Lier et ak., 2001). În cadrul studiului de față, cinetica procesului de fermentație aerobă

a fost monitorizată prin determinarea volumului de CO_2 emis, utilizând metoda titrării cu soluție de NaOH, cu fenolftaleină ca indicator.

A fost investigat efectul stimulator al SBA asupra procesului de fermentație aerobă a borhotului de cereale. În mod general, fermentația aerobă a acestui tip de biomasă se desfășoară printr-o succesiune de reacții biochimice complexe, în care oxigenul joacă un rol esențial ca acceptor final de electroni. Spre deosebire de fermentația anaerobă, în care produșii principali sunt metanul, acizii organici, amoniacul și compușii de sulf reduși, fermentația aerobă conduce la formarea unor produși oxidați, precum dioxidul de carbon, nitrații și dioxidul de sulf.

Pe măsură ce sursele exogene de materie organică sunt consumate, microorganismele își redirecționează metabolismul către utilizarea rezervelor proprii de substanțe de depozit și a materialului celular (protoplasmă), pentru a-și menține activitatea vitală. În cele din urmă, celulele vor elibera materie organică degradabilă pentru utilizare de către alte microorganisme. Materialul, care rămâne după un proces complet de fermentație aerobă, este considerat stabil din punct de vedere biologic și poate fi evacuat ca deșeu inofensiv.

Procesele de fermentație aerobă pot fi ilustrate prin următoarele formule (Dietrich și Burlingame, 2015):

$$\text{Materii organice} + NH_4^+ + O_2 \rightarrow \text{Material celular} + CO_2 + H_2O \quad (3.1)$$

$$\text{Material celular} + O_2 \rightarrow \text{Nămol digestat} + CO_2 + H_2O + NO_3^- \quad (3.2)$$

Folosind formula $C_5H_7NO_2$ pentru a reprezenta materialul celular, procesul de digestie aerobă poate fi exprimat în oricare dintre următoarele ecuații (Brisolara și Qi, 2015):

$$C_5H_7NO_2 + 5O_2 \rightarrow 5CO_2 + 2H_2O + NH_3 + \text{Energie} \quad (3.3)$$

$$C_5H_7NO_2 + 7O_2 \rightarrow 5CO_2 + 3H_2O + NO_3^- + H^+ + \text{Energie} \quad (3.4)$$

Substanțele biologic active adăugate în amestecul fermentativ pot influența procesele metabolice microbiene prin stimularea sau inhibarea formării materialului celular și a nămolului digestat. Acestea pot acționa ca biocatalizatori, facilitând anumite etape biochimice. Interacțiunile dintre SBA și compușii din sistem pot conduce la formarea unor metaboliți intermediari, care sunt ulterior transformați în produși finali în cadrul procesului de fermentație.

În cadrul acestei etape a cercetării, au fost evaluate efectele a trei substanțe bioactive de origine naturală –betulină, escină și tomatină –asupra procesului de fermentație alcoolică, utilizând ca indicator principal volumul de CO_2 degajat în timp. Fermentația a fost monitorizată pe durata a 96 de ore, iar datele obținute au fost comparate cu un martor (fără adaos de SBA).

A fost testat sistemul de fermentație aerobă cu adaosul de SBA în următoarele concentrații: betulină 0,034 mmol/L escină –0,013 mmol/L și tomatină 0,015 mmol/L.

După cum se poate observa din figura 3.4, aditivii de escină și betulină suprimă procesul de fermentare cu emisie de CO_2 , în timp ce utilizarea tomatinei asigură o cantitate mai mare de gaz degajat sau un proces de fermentație mai intens, în comparație cu testul martor. Proba cu tomatină a înregistrat cel mai ridicat volum de CO_2 la 78 ore de fermentație și anume de 233,5 cm^3, depășind martorul cu aproximativ 12%. Probele cu escină (97,0 cm^3) și betulină (85,1 cm^3) au generat volume semnificativ mai mici, de 53% și respectiv 59% mai reduse decât martorul (Duca et al., 2022). Aceste variații sugerează că tomatina stimulează semnificativ metabolismul fermentativ, în timp ce betulina și escina au un efect inhibator pronunțat. De asemenea, dinamica CO_2 indică faptul că tomatina determină o prelungire a fazei active de fermentație, susținând producția de gaze chiar după atingerea vârfului la 54 h.

Stimularea și intensificarea procesului biochimic de fermentație observat, pot fi atribuite proprietăților redox și antioxidante ale tomatinei care, datorită implicării sale în reacții redox poate facilita transferul de electroni, îmbunătățind activitatea enzimatică și accelerând astfel etapele cheie ale procesului fermentativ.

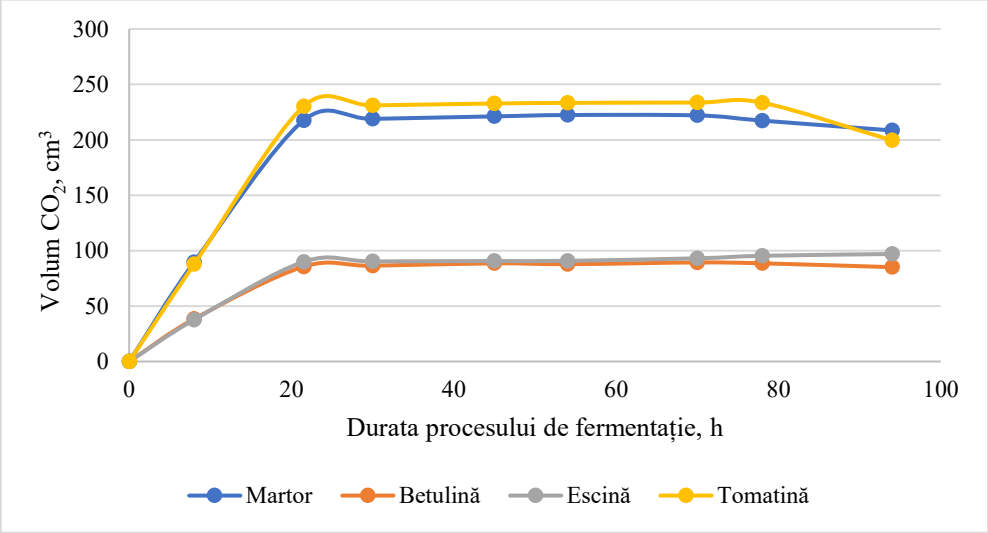


Figura 3.4 Volumul gazului degajat (CO_2) în timpul fermentației aerobe a borhotului în prezența SBA (Duca et al., 2023)

Evaluarea vitezei de reacție, prezentată în figura 3.5, evidențiază influențe diferențiate ale SBA asupra intensității procesului fermentativ, exprimată prin cantitatea de CO_2 generată (mmol/h). Datele obținute indică faptul că prezența acestor compuși poate modifica semnificativ comportamentul cinetic al fermentației, prin accelerarea sau inhibarea etapelor metabolice implicate (Duca et al., 2023).

Dintre substanțele testate, tomatina s-a evidențiat printr-un efect stimulator asupra fermentației aerobe, determinând o creștere a vitezei de reacție cu circa 11% față de martor. Acest rezultat sugerează o activare a metabolismului microbian. În schimb, escina și betulina au exercitat efecte inhibitoare semnificative, reducând viteza de reacție cu aproximativ 59% și, respectiv, 63% în comparație cu martorul. Scăderile marcante ale vitezei de reacție observate în prezența betulinei și a escinei pot fi corelate cu capacitatea antioxidantă redusă a acestor compuși, evidențiată prin valorile IC_{50} ridicate obținute în testul DPPH. Activitatea antiradicalică scăzută sugerează o capacitate limitată de neutralizare a speciilor reactive de oxigen, ceea ce poate favoriza acumularea stresului oxidativ în mediul fermentativ.

Prin urmare, rezultatele evidențiază diferențe funcționale clare între substanțele testate, reflectate în capacitatea acestora de a stimula sau de a inhiba procesul de fermentație aerobă. Astfel, tomatina prezintă potențial de utilizare în vederea intensificării proceselor fermentative.

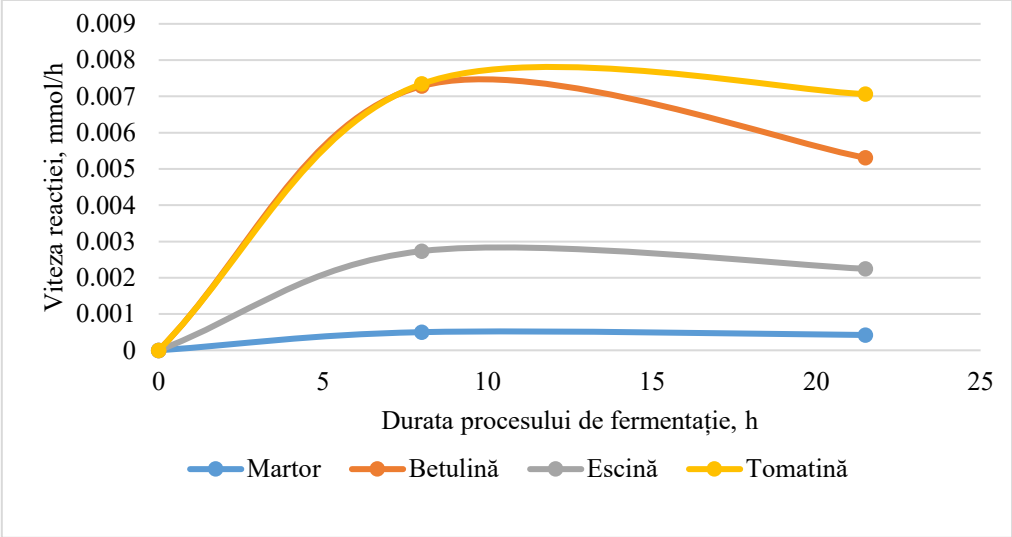


Figura 3.5 Dinamica vitezei de reacție a fermentației aerobe în prezența SBA
(Duca et al., 2023)

A fost analizată dinamica degajării de CO_2 pe parcursul a 93 de ore de fermentație, în prezența a trei SBA: mentol (0,19 mmol/L), escină (0,13 mmol/L) și sclareol (0,097 mmol/L), rezultatele fiind comparate cu o probă martor, figura 3.6 (Duca et al., 2023).

Datele obținute evidențiază comportamente cinetice distincte în funcție de tipul SBA aplicat. Mentolul a determinat o accelerare semnificativă a fermentației în primele 30 de ore, cu un volum de CO_2 emis cu până la 15% mai mare decât cel al martorului, sugerând un efect stimulator de scurtă durată asupra procesului de fermentație. Cu toate acestea, diferențele tind să se atenueze în a doua jumătate a perioadei de monitorizare, ceea ce poate indica o adaptare microbiană sau o epuizare parțială a efectului bioactiv.

În opoziție, escina a exercitat un efect inhibitor puternic și persistent, manifestat printr-o reducere cu peste 70% a volumului de CO_2 înregistrat în primele 24 de ore și menținerea unor valori considerabil mai scăzute pe întreaga durată a procesului de fermentație aerobă. Volumul final al CO_2 emis în prezența escinei a fost cu aproape 60% mai mic decât cel al martorului, ceea ce indică o suprimare consistentă a activității fermentative.

Sclareolul a prezentat o influență, caracterizată printr-o fază latentă prelungită, urmată de o creștere accelerată a degajării de CO_2 după 30 de ore. La finalul procesului de fermentație aerobă, volumul total de CO_2 emis în prezența sclareolului a fost aproape identic cu cel al martorului, sugerând o acțiune întârziată, dar eficientă.

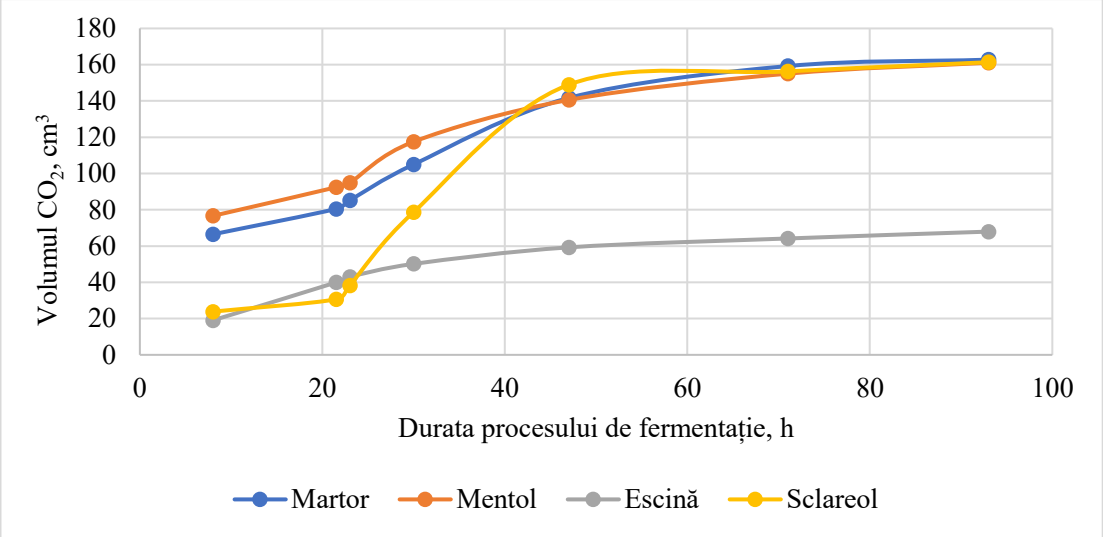


Figura 3.6 Volumul gazului degajat în timpul fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența adaosurilor de escină, mentol și sclareol (Duca et al., 2022)

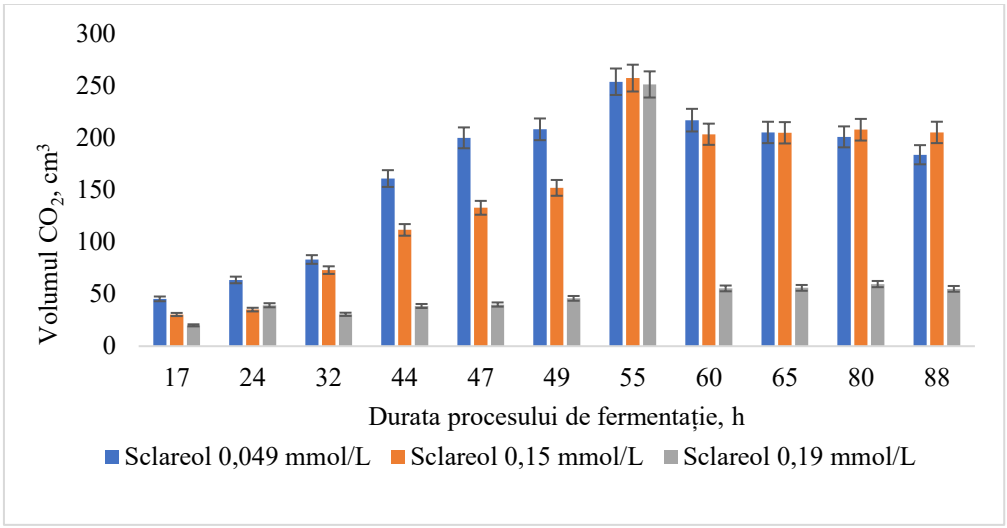
A fost investigată influența concentrației sclareolului și mentolului asupra procesului de fermentație aerobă. Cele două SBA au fost testate la concentrații diferite (figura 3.7), în scopul evaluării modului în care doza influențează intensitatea procesului de fermentație aerobă, utilizând CO_2 generat ca indicator direct al procesului (Duca et al., 2022).

Analiza comparativă a datelor (figura 3.7) arată că sclareolul, la concentrația de 0,049 mmol/L, prezinta cel mai mare volum de CO_2 degajat (253,60 cm^3). În schimb, la o concentrație mai mare de 0,19 mmol/L sclareol prezintă o inhibare severă a procesului de degajare de CO_2 (sub 40 cm^3), urmată de o creștere bruscă, peste 250 cm^3.

În cazul mentolului, 0,097 mmol/L susține o producție lent progresivă de CO_2, cu o creștere cumulativă de 4 ori mai mare față de valoarea inițială, ceea ce indică un efect moderat de stimulare. La 0,29 mmol/L, se înregistrează proces de fermentație mai intens, cu o creștere accelerată a volumului de CO_2. Pe de altă parte, concentrația de 0,38 mmol/L are un efect clar inhibitor, valorile rămânând joase pe tot parcursul testului.

Rezultatele obținute evidențiază că variația concentrației SBA testate nu are un efect direct proporțional asupra intensității procesului de fermentație anaerobă. Deși s-au utilizat trei niveluri de concentrație, creșterea dozei de SBA nu a condus la accelerarea fermentației aerobe și nici la o creștere semnificativă a volumului de CO_2 degajat.

a)



b)

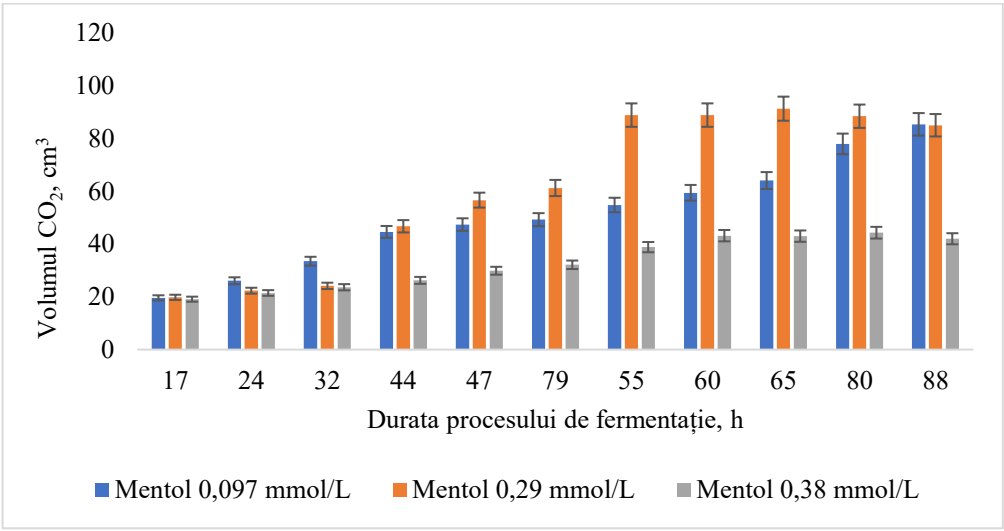


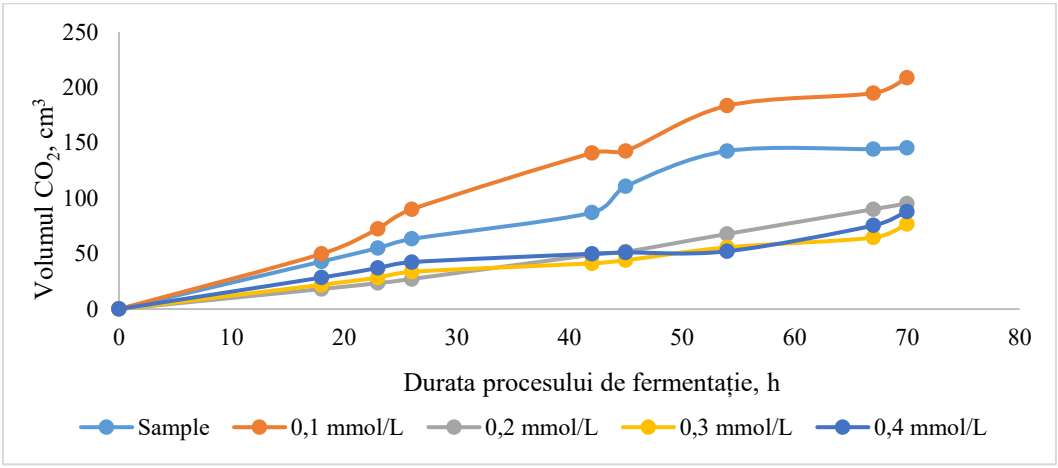
Figura 3.7 Volumul gazului degajat în timpul fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența adaosurilor de: a) sclareol, b)mentol *(rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

Figura 3.8, a) prezintă evoluția volumului de CO_2 degajat în timpul fermentației aerobe desfășurate pe parcursul a 70 de ore, în prezența DHFA utilizat în patru concentrații diferite (0,1- 0,4 mmol/L), comparativ cu proba martor. Volumul de CO_2 a fost utilizat ca indicator direct al intensității procesului fermentativ (Duca et al., 2023; Duca et al., 2022).

Datele experimentale arată că doar concentrația de 0,1 mmol/L a exercitat un efect stimulator semnificativ, conducând la o degajare totală de CO_2 de aproximativ 208,6 cm^3, cu peste 43% mai mult decât martorul (145,6 cm^3). Această creștere susținută a volumului de gaz sugerează că, la această doză, DHFA favorizează procesul de fermentație.

În schimb, concentrațiile mai mari de DHFA (0,2–0,4 mmol/L) nu au amplificat procesul de fermentație, ci au condus la scăderi evidente ale volumului de CO_2 degajat, mai mici decât proba martor.

a)



b)

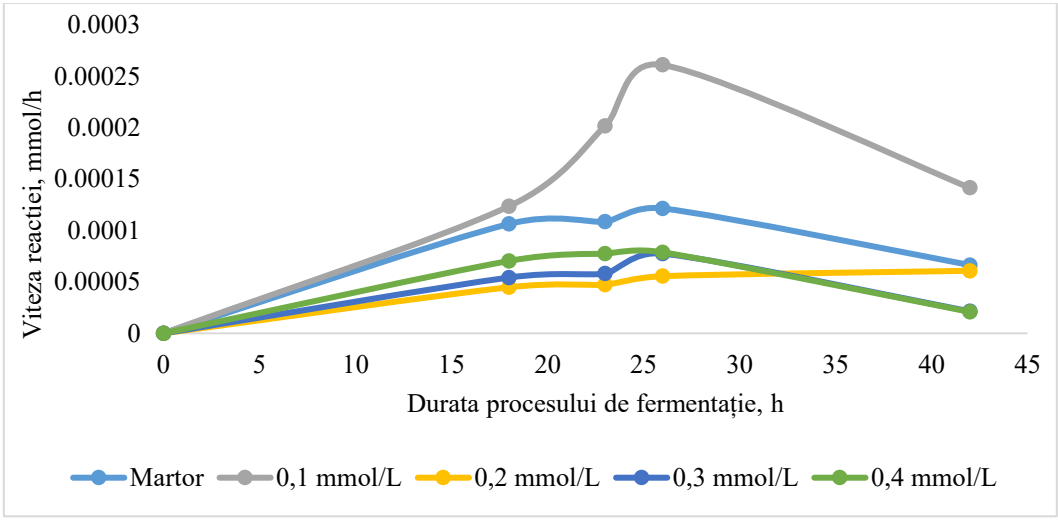


Figura 3.8 Reprezentarea grafică: a) Volumul gazului degajat în timpul fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența DHFA b) Dinamica vitezei de reacție a fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența DHFA (Duca et al., 2023)

Această tendință este susținută și de analiza vitezei de reacție (figura 3.8, b), care reflectă dinamica eliberării CO_2 în primele 42 de ore de fermentație. La concentrația de 0,1 mmol/L, DHFA a determinat cea mai mare viteză de reacție, atingând un maxim de aproximativ 0,00027 mmol/h în intervalul 24–26 ore, ceea ce confirmă un efect stimulator pronunțat asupra cineticii procesului fermentativ (Duca et al., 2023; Duca et al., 2022). Valoarea maximă depășește cu peste 100% valoarea înregistrată în martor, subliniind potențialul activator al acestei concentrații.

Prin urmare, datele cinetice confirmă concluziile obținute din analiza volumului total de CO_2: DHFA exercită un efect benefic asupra fermentației aerobe doar într-un interval optim de

concentrație, în special la 0,1 mmol/L, în timp ce valorile mai ridicate conduc la inhibarea procesului de fermentație aerobe.

În cazul introducerii vanilinei în amestecul fermentat (figura 3.8), datele obținute evidențiază o stimulare marcată a degajării de CO_2 în prezența la concentrația de 0,098 mmol/L, comparativ cu martorul, ceea ce indică un efect favorabil asupra intensității procesului fermentativ. În schimb, concentrațiile mai ridicate (0,19–0,39 mmol/L) determină o reducere semnificativă a volumului de gaz degajat, sugerând un efect inhibator dependent de doză, figura 3.9 (Duca et al., 2023; Duca et al., 2022).

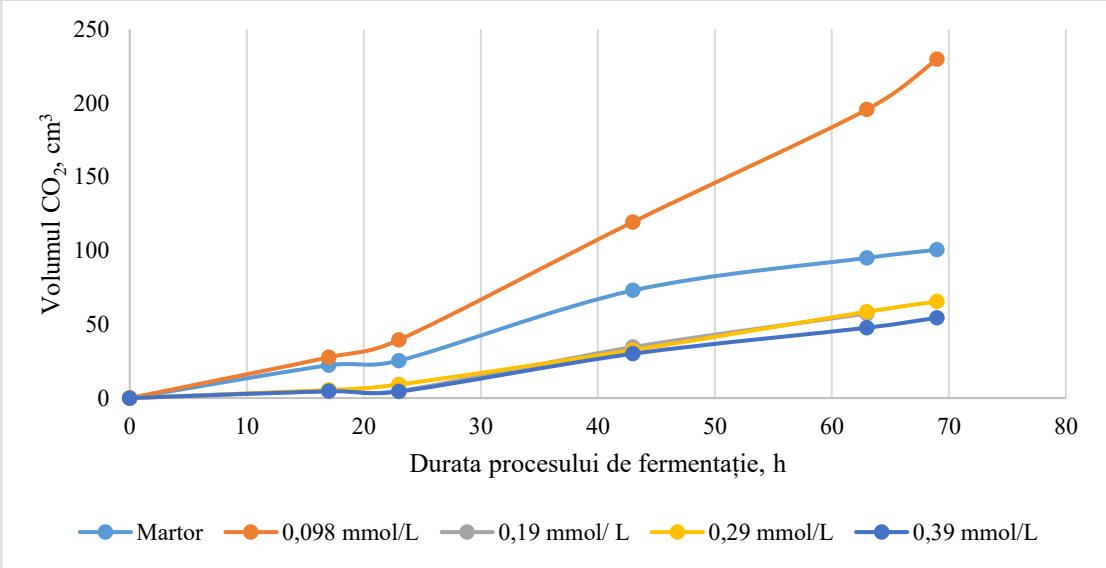


Figura 3.9 Volumul gazului degajat în timpul fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența aditivului de vanilină (Duca et al., 2022)

În prezența catechinei (figura 3.10), cinetica degajării de CO_2 evidențiază un comportament dependent de concentrație. La concentrația de 0,052 mmol/L, degajarea de gaz este constant superioară martorului pe tot parcursul experimentului, atingând un maxim de 180,31 cm^3 la 61 ore, comparativ cu 163,63 cm^3 pentru martor. Această diferență reflectă un efect de stimulare a procesului de fermentației aerobe (Duca et al., 2023; Duca et al., 2022).

La concentrații mai ridicate (0,1–0,21 mmol/L), s-a constatat o inhibare evidentă a procesului de fermentație aerobe. Comparativ cu vanilina, care prezintă un model similar de răspuns bifazic (figura 3.9), catechina manifestă un efect stimulator mai clar la concentrație mică și o inhibiție mai pronunțată la doze crescute. Aceasta sugerează o sensibilitate enzimatică ridicată față de structura polifenolică a catehinei, cu posibilă implicare în reglarea redox sau interacțiuni directe cu complexul enzimatic responsabil de fermentație.

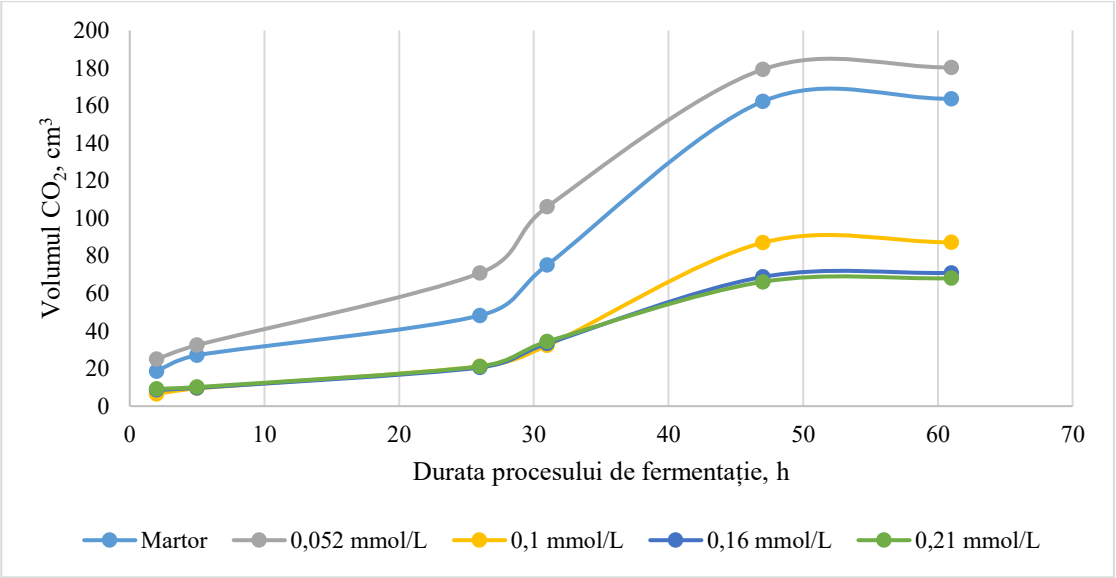


Figura 3.10 Volumul gazului degajat în timpul fermentației aerobe a borhotului de cereale în prezența aditivului de catechină *(rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

Rezultatele obținute demonstrează că substanțele de origine naturală cu proprietăți antioxidante, prezintă efecte pronunțate asupra fermentației aerobe în condiții mezofile. Cele mai eficiente concentrații de aditivi studiați sunt rezumate în tabelul 3.6 și figura 3.11 (Duca et al., 2023; Duca et al., 2022).

Tabelul 3.6 Eficiența comparativă a diferitelor tipuri de SBA în procesul de fermentație aerobe a borhotului de cereale*

Nr.	SBA	C, mg/L	Volumul total a CO_2 emis, cm^3	Durata de fermentare, ore
1.	DHFA	0,54±0,02	208,62±2,1	70
2.	Tomatină	0,45±0,01	233,46±1,2	78
3.	Sclareol	0,48±0,01	257,09±2,4	55
4.	Vanilină	0,68±0,02	229,64±1,3	69
5.	Catechina	0,70±0,02	180,31±1,6	61

** rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*
**p<0,05*

Tabelul comparativ sintetizează influența a cinci SBA asupra fermentației aerobe, prin raportarea volumului total de CO_2 emis, a duratei procesului și a cantității medii de gaz eliberat pe oră. Datele evidențiază faptul că, dintre toți compușii testați, sclareolul (0,48 mg/L) a generat cel mai ridicat volum de CO_2 (257,09 cm^3) într-un timp scurt (55 h), ceea ce reflectă un efect stimulator asupra procesului de fermentație. În timp ce în prezența catechinei volumul de CO_2 degajat este cel mai mic (180,31 cm^3 în 61 h), ceea ce poate reflecta o eficiență scăzută la concentrația aplicată.

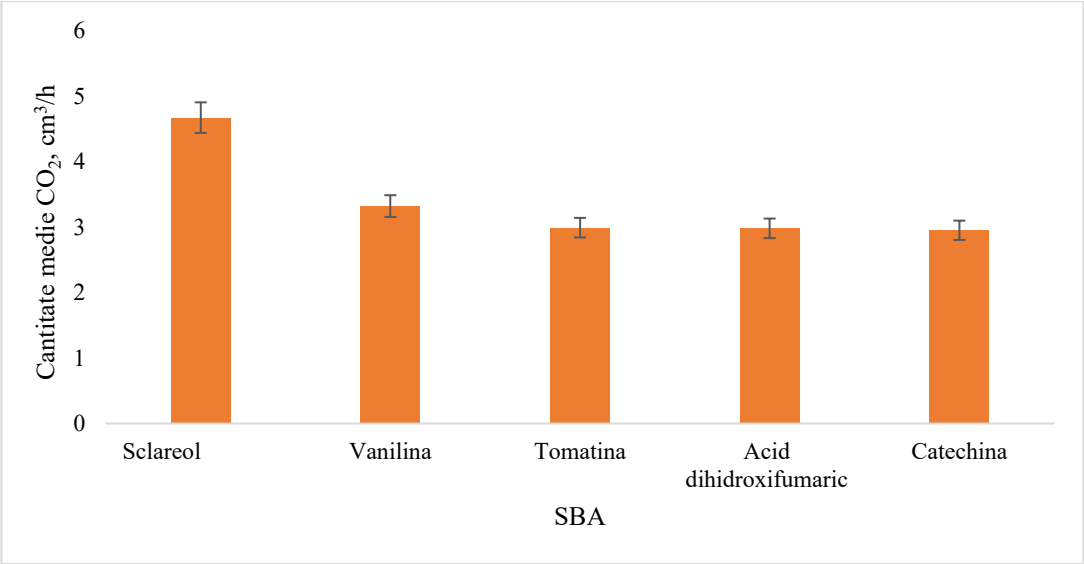


Figura 3.11 Cantitatea medie de CO_2 emis, cm^3/h în funcție de tipul de SBA introdus în biomasa fermentată *(rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

Diagrama din figura 3.11 evidențiază distribuția cantității medii de CO_2 eliberată pe oră în timpul fermentației aerobe, în prezența a cinci SBA. Dintre toate substanțele testate, sclareolul se remarcă printr-o valoare medie semnificativ superioară (4,67 cm^3 CO_2/h), ceea ce indică o activare rapidă și susținută a metabolismului fermentativ. Acest rezultat este în deplin acord cu volumul total ridicat de CO_2 și durata scurtă a fermentației observate anterior, confirmând eficiența ridicată a sclareolului ca stimulator metabolic.

Rezultatele obținute indică, de asemenea, că utilizarea în biomasa fermentată a SBA în concentrații mai mari nu se dovedește a fi eficientă, deoarece în general, aceasta nu determină o accelerare semnificativă a procesului de fermentație aerobe. Acest aspect sugerează existența unui prag optim de concentrație, peste care efectul aditivului nu mai contribuie la îmbunătățirea cineticii fermentative, iar utilizarea excesivă devine ineficientă atât din punct de vedere economic, cât și tehnologic.

Pe baza acestor observații, se poate sugera că eficiența aditivilor în accelerarea fermentației aerobe a biomasei din sectorul agroindustrial este strâns legată de structura lor moleculară și de proprietățile lor biologice, în special cele antioxidante, antihipoxante și antimutagene. Probabil, aceste caracteristici influențează interacțiunile dintre SBA și microorganismele implicate în procesul fermentativ, contribuind la stabilizarea condițiilor optime pentru activitatea metabolică a acestora. În acest context, o înțelegere mai profundă a relației dintre structura chimică a aditivilor și efectele lor asupra fermentației ar putea permite optimizarea utilizării acestora pentru îmbunătățirea eficienței proceselor biotehnologice.

3.4 Studiul impactului unor SBA asupra cineticii procesului de fermentație anaerobă a biomasei

Pentru a descompune borhotul din industria băuturilor alcoolice în zaharuri care pot fi transformate în continuare în biocombustibili gazosi sau lichizi sau în alte produse utile, este adesea folosită conversia biochimică de către microorganisme și enzime (Zhe et al., 2020; Merlin et al., 2014), deși alte abordări precum coagularea și oxidarea au fost de asemenea propuse. În general, digestia biochimică este un proces relativ lent care necesită un anumit timp pentru transformarea biomasei în produse. Dintre aceste tehnologii, fermentația aerobă și anaerobă sunt procesele cele mai populare, având ca rezultat producerea de biogaz care conține în principal biometan, dioxid de carbon și, în cantități mai mici de biohidrogen, hidrogen sulfurat (De Baere, 2000). În timpul fermentației anaerobe, bacteriile sunt aplicate pentru a hidroliza carbohidrații în zaharuri care sunt digerabile de alte bacterii metanogene care, la rândul lor, produc biogaz din componentele digerabile ale biomasei. În funcție de condițiile biochimice ale fermentației anaerobe, biogazul cu conținut ridicat de metan (Rafique et al., 2010) sau hidrogen (Chandra et al., 2012) poate fi produs în condiții fără oxigen, sau sub presiune ridicată (Pages et al., 2011) sau folosind alte abordări, cum ar fi adăugarea de compuși bioactivi, care accelerează digestia biochimică și fac posibilă obținerea de cantități mult mai mari de biometan și biohidrogen în timp mai scurt (Yadvika et al., 2004; Lu et al., 2008).

Procesul de fermentație anaerobă a borhotului de cereale este destul de complicat și include o serie de etape, care pot fi reprezentate printr-un șir de procese (tabelul 3.7) (Fuess et al., 2024):

Tabelul 3.7 Mecanismul procesului de fermentație anaerobă a borhotului de cereale*

Etapa	Reacția	ΔG^o (kJ mol^{-1})
Acetogeneză	$HPr + 3H_2O \rightarrow HAc + H^+ + HCO_3^-$	+76,1
	$HBu + 2H_2O \rightarrow 2\ HAc + H^+$	+48,3
	$EtOH + H_2O \rightarrow HAc + H^+ + 2H_2$	+9,6
	$HLa + 2H_2O \rightarrow HAc + HCO_3^- + H^+ + 2H_2$	−4,2
Homoacetogeneza	$2\ HCO_3^- + 4\ H_2 + H^+ \rightarrow HAc + 2H_2O$	−104,6
Sulfuridogeneza (oxidare incompletă a bacteriilor reducătoare de sulfați (SRB)	$3\ SO_4^{2-} + 4\ HPr \rightarrow 3HS^- + 4\ HCO_3^- + H^+ + 4\ Hac$	−150,6
	$SO_4^{2-} + 2\ HBu \rightarrow HS^- + H^+ + 4\ Hac$	−55,5
	$SO_4^{2-} + 2\ EtOH \rightarrow HS^- + 2\ H_2O + H^+ + 2\ Hac$	−132,7
	$SO_4^{2-} + 2\ HLa \rightarrow HS^- + 2\ HCO_3^- + H^+ + 2\ Hac$	−160,1
	$SO_4^{2-} + CH \rightarrow HS^- + 2\ HCO_3^- + 3H^+ + 2\ Hac$	−358,0

Continuare tabelului 3.7

Sulfuridogeneza (oxidare completă SRB)	SO_4^{2-}+ HAc → HS^-+ 2 HCO_3^-	−47,3
	7 SO_4^{2-}+ 4 HPr → 7 HS^-+ 12 HCO_3^-+ H^+	−341,0
	10 SO_4^{2-} 4 HBu → 10 HS^-+ 16 HCO_3^-+ 2H	−492,0
	3 SO_4^{2-}+ 2 EtOH → 3 HS^-+ 4 HCO_3^-+ H^++ 2 H_2O	−227,3
	3 SO_4^{2-}+ 2 HLa → 3 HS^-+ 6 HCO_3^-+ H^+	−255,3
	3 SO_4^{2-}+ CH → 3 HS^-+ 6 HCO_3^-+ 3 H^+	−452,5
	3 SO_4^{2-}+ 4 MeOH → 3 HS^-+ 4 HCO_3^-+ 4 H_2O + 4 H^+	−361,7
Sulfuridogeneza (SRB hidrogenotrofe)	SO_4^{2-}+ 4H_2+ H^+→ HS^-+ 4H_2O	−151,9
Metanogeneza acetoclastică	HAc + H_2O → HCO_3^-+ CH_4	−31,0
Metanogeneza hidrogenotrofică	HCO_3^-+ 4 H_2+ H^+→ CH_4+ 3H_2O	−135,6

**CH-carbohidraţi; EtOH-etanol; HAc-Acetat; HBu-butirat; HLa-lactat; HPr-propionat; MeOH-metanol*

Creșterea eficienței producției de biogaz poate fi realizată prin utilizarea diferitelor SBA de origine naturală (Yadvika et al., 2004). În această ordine de idei, în scopul eficientizării procesului de valorificare a borhotului din industria băuturilor prin fermentație anaerobă cu creşterea cantităţii de metan în biogaz şi de produse valoroase în sediment şi în faza lichidă, s-a recurs la stimularea procesului metanogenezei prin introducerea în lichidul aflat în faza metanogenă a fermentației unor microadaosuri de SBA.

A fost investigat procesul de fermentația anaerobă a biomasei reziduale, reprezentată de borhotul de cereale, în prezența unor SBA, în vederea obținerii biogazului, conform protocolului standardizat VDI 4630 (Oleszek et al., 2013). Fermentația a fost realizată în regim mezofil, la o temperatură constantă de 37 °C și un pH de aproximativ 7,0, utilizând un volum de lucru de 0,8 L. Amestecul fermentativ a inclus 3% material solid, iar raportul substrat/inocul (S:I) a fost stabilit la 1:2, conform cerințelor metodologice.

Ca sursă de inocul este utilizat reziduul post-fermentație provenit de la o instalație locală de biogaz, pentru a asigura o comunitate microbiană adaptată procesului anaerob. Substanțele biologic active au fost adăugate în concentrație unitară de 3 mg/L biomasă, în vederea evaluării efectului acestora asupra randamentului procesului metanogenic. Conținutul total de biogaz și fracția de metan au fost determinate utilizând analizatorul GFM 400, iar valorile obținute sunt prezentate în tabelul 3.8. Procesul a fost considerat finalizat în momentul în care volumul zilnic de biogaz a scăzut sub 1% din cantitatea totală cumulată. Rezultatele au fost exprimate în condiții

standard (1013 hPa, 273 K) și raportate la volumul de biogaz/metan produs per kilogram de borhot (dm^3/kg) (Duca et al., 2023).

Tabelul 3.8 Volumul de biogaz și conținutul de metan obținut sub influența SBA*

SBA	Randament biogaz, dm^3/kg biomasă	Metan, dm^3/kg biomasă
Control	320	190
DHFA	580	322
Escină	370	205
Tomatină	355	202
Sclareol	315	187
Vanilină	335	212
Catehina	329	198
Betulină	370	225
Mentol	319	186

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat; $p<0,05$*

Tabelul 3.8 prezintă influența mai multor SBA asupra volumului total de biogaz generat (dm^3/kg substrat) și asupra fracției de metan conținută în acesta. Parametrii analizați oferă o imagine de ansamblu asupra eficienței procesului anaerob de conversie a borhotului de cereale în biometan, în prezența unor aditivi cu potențial redox diferit.

Datele obținute indică faptul că adăugarea DHFA a avut cel mai pronunțat efect stimulator asupra procesului de fermentație anaerobă, determinând o creștere substanțială a volumului de biogaz până la 580 dm^3/kg, comparativ cu varianta martor (320 dm^3/kg). De asemenea, DHFA a condus la cel mai înalt randament metanogenic, atingând 322 dm^3/kg metan, ceea ce reflectă atât o activitate microbiană intensificată, cât și o conversie eficientă a substratului în principala componentă energetică.

În schimb, alte SBA, precum escină, tomatina, catechina și betulina, deși au condus la volume totale de biogaz apropiate (în intervalul 355–370 dm^3/kg), au generat cantități de metan semnificativ mai reduse (202–225 dm^3/kg), ceea ce sugerează o proporție mai mică de metan în biogazul rezultat. Vanilina a prezentat un randament constant, cu un volum total de biogaz de 335 dm^3/kg și un conținut de metan de 212 dm^3/kg, ușor superior martorului (190 dm^3/kg).

Substanțele sclareol și mentol au avut un efect limitat asupra randamentului procesului, generând valori apropiate de cele ale martorului atât în ceea ce privește volumul de biogaz total (315–319 dm^3/kg), cât și conținutul de metan (186–187 dm^3/kg). Aceste rezultate pot fi asociate

cu o interacțiune slabă sau chiar inhibatoare asupra consorțiului microbian anaerob implicat în metanogeneză.

Se poate concluziona că DHFA este cel mai eficient SBA testat, atât în ceea ce privește creșterea volumului total de biogaz, cât și a randamentului de metan, confirmând rolul său potențial ca agent de activare metabolică în procesele anaerobe.

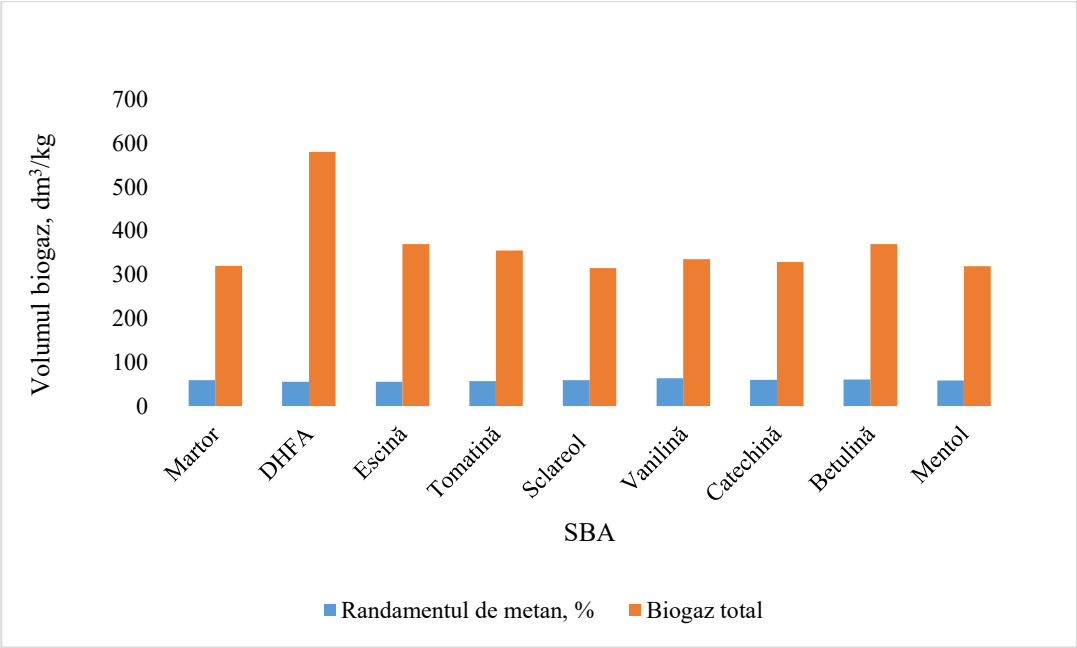


Figura 3.12 Randamentul de metan, % în volumul de biogaz total
(*rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

Figura 3.12 oferă o reprezentare comparativă a eficienței procesului de fermentație anaerobă a borhotului de cereale, exprimată prin volumul total de biogaz generat (dm^3/kg substrat) și randamentul de metan (%), în prezența mai multor SBA. Acești doi parametri sunt esențiali pentru evaluarea atât a cantității absolute de gaz obținut, cât și a valorii energetice a acestuia.

Acidul dihidroxifumaric s-a evidențiat prin obținerea celui mai ridicat volum de biogaz – 580 dm^3/kg, ceea ce indică un efect puternic de stimulare a activității microbiene anaerobe generale. Cu toate acestea, în pofida producției ridicate de biogaz, randamentul de metan a fost relativ scăzut – 55,5%, inferior valorii înregistrate pentru martor (59,4%).

Prin contrast, vanilina a determinat cel mai mare randament metanogenic – 63,3%, în contextul unui volum total de biogaz moderat (335 dm^3/kg). Această eficiență ridicată a conversiei sugerează o selectivitate superioară în favoarea metanogenezei, aspect esențial pentru aplicațiile energetice ale biogazului. În mod similar, catechina și betulina au condus la randamente de metan peste 60%, confirmând un impact pozitiv asupra etapelor finale ale fermentației anaerobe, chiar dacă volumul de gaz total a fost mai redus.

Sclareolul și mentolul au generat valori apropiate de martor atât în ceea ce privește volumul total de biogaz (315–319 dm^3/kg), cât și randamentul de metan (58,3–59,3%), sugerând un efect slab sau neutru asupra procesului de fermentație anaerob. Escina și tomatina, deși au produs volume moderate de biogaz, au înregistrat randamente de metan mai scăzute (55,4–56,9%), indicând o conversie parțială a substratului în produse nedorite din punct de vedere energetic

3.5 Calculul computational al mecanismului procesului de fermentație anaerobă în prezența substanțelor biologic active

Fermentația aerobă și anaerobă sunt procese celulare complexe, desfășurate în mai multe etape, fiecare implicând acțiunea unor enzime specifice ale microorganismelor. În cazul fermentației anaerobe, mecanismul cuprinde zece etape succesive, majoritatea dependente de enzime celulare. În ambele tipuri de fermentație, prima etapă — fosforilarea carbohidraților (precum glucoza), care acționează ca substrat de bază — este și cea mai lentă, devenind astfel factorul limitativ al vitezei globale a procesului. Având în vedere acest aspect, în cadrul acestei lucrări s-a studiat influența diferitelor SBA cu proprietăți antioxidante asupra desfășurării reacției de fosforilare.

Din perspectiva chimiei structurale, în această reacție are loc transferul grupului fosforil terminal (PO_3) de la molecula ATP la atomul de oxigen hidroxilic legat de atomul de carbon C_6 al glucozei.

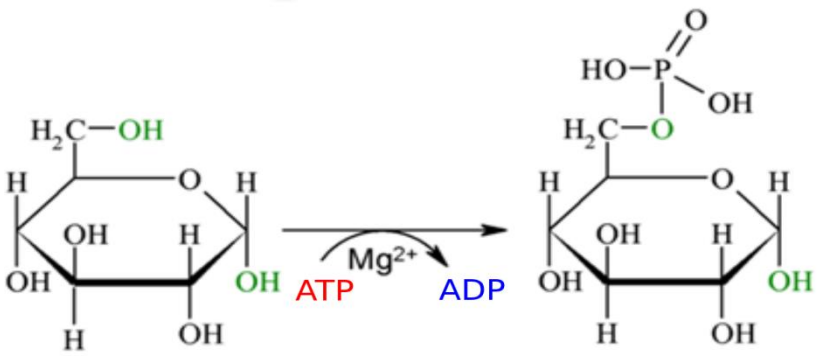


Figura 3.13 Reacția de transfer al grupului fosforil terminal (PO_3) de la molecula de ATP

Acest transfer se realizează intracelular prin intermediul enzimei hexokinazei în prezența obligatorie a ionilor de Mg^{2+}, care sunt cofactori, adică compuși anorganici, fără de care reacția enzimatică nu ar putea avea loc. Energia Gibbs ΔG^o pentru acest proces constituie -16,7 kJ/mol.

Ionii Mg^{2+}, interacționând cu anionii ATP_{an}^{4-}, care sunt, de asemenea, prezenți în plasma intracelulară (Sabirov și Okada, 2005), formează complexul $[MgATP_{an}]^{2-}$, prezentat în figura de mai jos (figura 3.14).

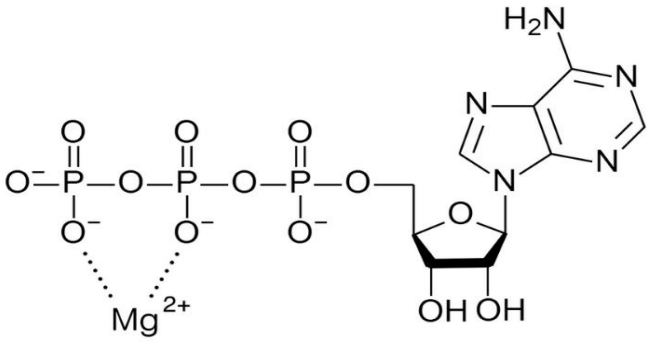


Figura 3.14 Interacțiunea ionilor Mg^{2+} (cofactor) cu anionii acidului adenozin trifosfatic

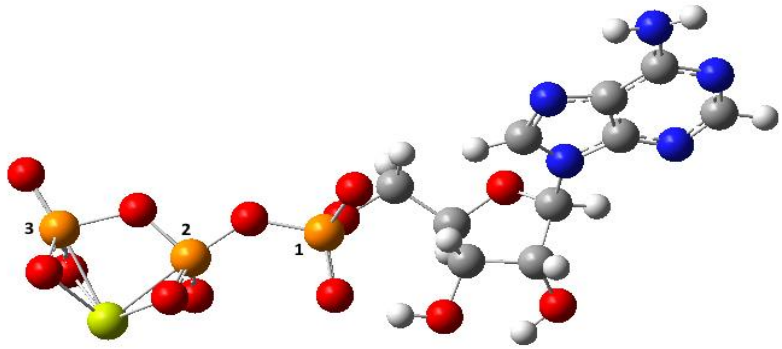
Complexul format $[MgATP_{an}]^{2-}$ reacţionează ulterior cu molecula de glucoză prin intermediul enzimei glucochinază. Această enzimă efectuează transferul grupului fosforil de la complexul $[MgATP_{an}]^{2-}$ la atomul de oxigen hidroxilic legat de atomul de carbon C_6 al glucozei. Ca rezultat al acestei reacții, se formează glucozo-6-fosfat și adenozin difosfat (ADP) ca produsele ale acestei reacții (figura 3.13).

În continuare, având în vedere multiplele posibilități de coordonare a cationului Mg^{2+} cu anionul ATP^{4-}, am considerat important să studiem structura electronică și geometrică a izomerilor complexului $[MgATP_{an}]^{2-}$.

În acest scop, am realizat calcule chimico- cuantice ale structurii electronice și geometrice a posibililor izomeri ale complexului $[MgATP_{an}]^{2-}$ folosind metoda DFT (B3LYP) (Lee et al., 1988) în baza orbitalilor atomici 6-31G(d) cu ajutorul programului GAUSSIAN 09 (Frisch et al., 2009).

În figura 3.15 este prezentată geometria optimizată și energia totală a complexului $[MgATP_{an}]^{2-}$ atunci când cationul Mg^{2+} este coordonat între atomii de fosfor P2 și P3. Este ușor de observat că, în acest caz de coordonare a cationului Mg^{2+} cu anionul ATP_{an}^{4-}, nu există rupturi în legăturile atomilor P2 și P3 cu atomii de oxigen cu care aceștia erau legați în anionul ATP_{an}^{4-}.

Totuși, coordonarea cationului Mg^{2+} între atomii de fosfor P1 și P2 din complexul $[MgATP_{an}]^{2-}$ schimbă radical structura lanțului de trifosfat (figura 3.16), ceea ce duce și la o energie totală mai mică – E_a acestui complex (comparativ cu sistemul din figura 3.15) cu 50,63 kcal/mol.



E = -2864.550630 a.u.

Figura 3.15 Structura optimizată a complexului format în rezultatul interacțiunii dintre Mg^{2+} și atomii de oxigen legați cu atomii de fosfor P2 și P3 ai anionului ATP_{an}^{4-} (*rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

Figura 3.16 arată că grupul fosforil PO_3, format din atomul de fosfor P3 și cei trei atomi de oxigen legați de el, se conectează cu celelalte grupuri fosfat prin legătura Mg—O*, având o lungime de 1,94 A. Sarcina acestei grupe fosforil este de -0,737.

Adică, gruparea fosforilă în cauză este capabilă să se desprindă cu ușurință de complexul $[MgATP_{an}]^{2-}$, de exemplu, atunci când interacționează cu protonii prezenți în plasma intracelulară, chiar înainte de momentul legării sale la enzima hexokinaza și transferul acestei grupe la molecula de glucoză efectuat de această enzimă (etapa 1 din figura 3.13).

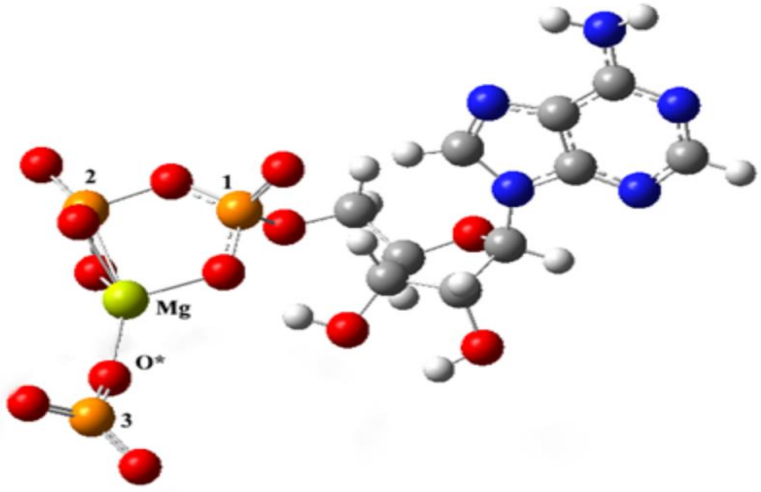


Figura 3.16 Structura optimizată a complexului format în rezultatul interacțiunii dintre Mg^{2+} și atomii de oxigen ce aparțin atomilor de fosfor P1 și P2 a anionului ATP^{4-}. Lungimea legăturii Mg---O* este egală cu 1,95A (*rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

Deoarece pH plasmei intracelulare a diferitelor organisme variază de la 6,8 la 7,1, probabilitatea eliminării preliminare (înainte de interacțiunea cu enzima) a grupării fosforil în cauză într-un mediu intracelular slab acid este foarte mare. În acest sens, ținând cont de efectul

catalitic al DHFA asupra procesului de fermentație aerobe pe care l-am descoperit experimental, am presupus că moleculele acestui acid, care interacționează cu complexul $[MgATP_{an}]^{2-}$ prezentat în figura 3.16, sunt capabile să prevină detașarea prematură a grupării fosforil,astfel crescând proporția complecșilor $[MgATP_{an}]^{2-}$ care ajung la enzima hexokinază cu gruparea fosforil intactă. Calculele DFT pe care le-am efectuat au confirmat pe deplin această ipoteză.

În figura 3.17 este prezentat sistemul molecular $[MgATP_{an}$ și DHFA$]^{2-}$care apare în urma interacțiunii complexului $[MgATP_{an}]^{2-}$ cu o moleculă de acid dihidroxifumaric. Legătura de hidrogen intramoleculară Op-H1-Oa stabilizează grupa fosforilă a atomului P3 și îl protejează de atacurile protonilor intracelulari.

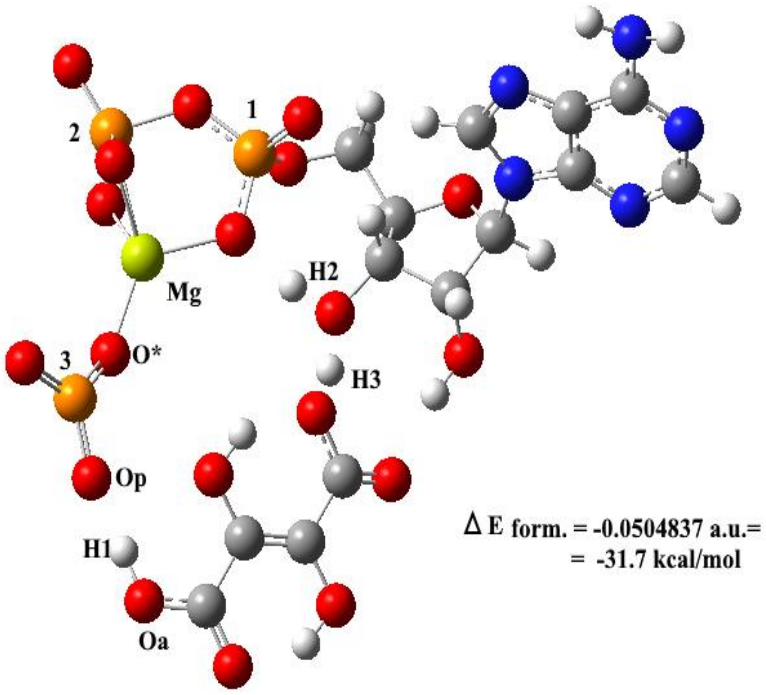


Figura 3.17 Structura optimizată a complexului format în rezultatul reacției dintre o moleculă a acidului dihidroxofumaric cu complexul $[MgATP_{an}]^{2-}$
(*rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

Rezultatele calculelor chimico- cuantice arată că energia totală a complexului $[MgATP_{an}$ și DHFA$]^{2-}$ este cu 31,68 kcal/mol mai mică decât energia totală a reactivilor inițiali care îl formează: $[MgATP_{an}]^{2-}$ și DHFA. În acest complex (ca într-un fel de „matrice”), un fragment al moleculei DHFA este aproape perfect „înglobat” între gruparea fosforil și una dintre grupările hidroxil ale ciclului ribozei, iar acest fragment formează două legături de hidrogen intramoleculare: legătura O*--- H1—Oa cu atom de oxigen O* din grupa fosforilă, precum și o legătura intramoleculară de hidrogen H2, care conectează un fragment de DHFA cu unul din atomi de oxigen din hidroxil a ciclului de riboză.

Astfel, fragmentul structural al DHFA inclus în complexul [$MgATP_{an}$ și DHFA]$^{2-}$ reduce semnificativ labilitatea grupării fosforil a atomului P3 și, de asemenea, protejează atomii de oxigen de atacul protonilor prezenți în plasma intracelulară.

Adică, de fapt, efectul catalitic al DHFA asupra procesului de fermentație constă în o creștere a numărului de complexe [$MgATP_{an}$]$^{2-}$ capabile să atingă centrul activ al enzimei hexokinaze fără scindarea grupărilor lor fosforil în timpul procesului de difuzie și să participe la procesul ulterior de fosforilare a glucozei.

Aceste rezultate teoretice coincid cu rezultatele experimentale obținute în cadrul tezei de doctorat care demonstrează capacitatea înaltă a DHFA de captare a radicalilor liberi și, ca urmare, un potențial antioxidant semnificativ. Totodată, DHFA a arătat rezultate care evidențiază o eficiență semnificativă în accelerarea proceselor de fermentare aerobe a biomasei (tabelul 3.6). Studiul impactului unor SBA asupra cineticii de fermentație anaerobă a biomasei a demonstrat că și în acest caz DHFA arată capacitate de accelerare a emiterii biogazului cu un conținut ridicat de metan (figura 3.12 și tabelul 3.8).

3.6 Concluzii la capitolul 3

1. Substanțele biologic active testate au influențat semnificativ fermentația aerobă a borhotului de cereale, determinând variații ale volumului de CO_2 emis și ale duratei procesului.

2. Tomatina a generat cel mai mare volum de CO_2 (291 cm^3 în 65 h), indicând un efect accelerativ asupra procesului de fermentație în condiții aerobe.

3. Substanțele biologic active testate au influențat diferențiat metabolismul fermentativ, evidențiindu-se prin volume și cinetici distincte ale degajării de CO_2. Astfel, DHFA a generat cel mai mare volum (266 cm^3) în 76 h, în timp ce în prezența escinei a fost generat un volum comparabil (251 cm^3) într-un timp mai scurt (55 h), sugerând o activare mai eficientă a procesului. Vanilina, sclareolul și catechina au prezentat o activitate fermentativă moderată, cu volume degajate mai reduse (180–232 cm^3) și o cinetică mai lentă, ceea ce indică o eficiență mai scăzută în stimularea procesului fermentativ anaerob comparativ cu tomatina.

4. Creșterea concentrației de SBA peste concentrația de 0,1-0,15 mmol/L nu a condus la o intensificare a fermentației, sugerând o limită de saturație enzimatică sau toxicitate.

5. Fermentația anaerobă a fost eficient stimulată de DHFA, escină și betulină, care au favorizat producția crescută de biogaz și biometan. DHFA a avut cel mai pronunțat efect stimulator asupra digestiei anaerobe, determinând o creștere substanțială a volumului de biogaz până la 580 dm^3/kg, comparativ cu varianta martor (320 dm^3/kg). De asemenea, DHFA a condus la cel mai

înalt randament metanogenic, atingând 322 dm^3/kg metan, ceea ce reflectă atât o activitate microbiană intensificată, cât și o conversie eficientă a substratului în componentul energetic dorit.

6. Modelările cuanto- chimice efectuate prin metoda DFT (B3LYP/6-31G*) au demonstrat că molecula de DHFA interacționează favorabil cu complexul $[MgATPan]^{2-}$, reducând energia totală a sistemului cu 31,7 kcal/mol, ceea ce indică formarea unui complex stabil. În cadrul acestei interacțiuni, gruparea fosforil a atomului P3 este stabilizată prin două legături de hidrogen intramoleculare, iar legătura Mg–O* are o lungime de 1,95 Å, ceea ce limitează labilitatea grupării PO_3^- și previne desprinderea sa prematură. Acest efect permite ca un număr mai mare de complexe $[MgATPan]^{2-}$ să ajungă intacte la enzima hexokinază, facilitând transferul grupării fosforil și accelerând astfel etapa-cheie a fosforilării glucozei în fermentația anaerobă.

7. Prezența fragmentului DHFA în complexul enzimatic reduce labilitatea fosforilului și protejează atomii de oxigen, contribuind la eficientizarea fosforilării glucozei în fermentația anaerobă.

4. ANALIZA PROCESULUI DE FERMENTAȚIE ANAEROBĂ A TESCOVINEI DE STRUGURI

4.1 Necesitatea de valorificare a produselor secundare vitivinicole

În afara produselor de bază, must și vin, de la prelucrarea strugurilor și condiționarea vinurilor rezultă și însemnate cantități de alte produse, grupate sub numele generic de produse secundare vitivinicole sau subproduse (Souza da Costa, 2022). Prin subprodus se înțelege ceea ce se obține dintr-un material în cursul prelucrării și care nu mai poate fi utilizat în acel proces de prelucrare. În vinificație ponderea produselor secundare depășește 18-20% din cantitatea strugurilor prelucrați. Potrivit Raportului anual de activitate al ONVV pentru anul 2020, suprafața totală ocupată de viță-de-vie în Republica Moldova a fost de aproximativ 122 mii hectare, dintre care 68 200 ha cu soiuri tehnice (Oficiul Național al Viei și Vinului, 2021). Dintre acestea, au fost produse 18 milioane dal de vin și 3,5 milioane dal de materiale vitivinicole pentru distilat în valoare de 200 milioane dolari. De asemenea, din această cantitate de producție de vin și coniac s-au obținut produse secundare vitivinicole: 80 mii tone de tescovină, 40 mii tone de tuns, 25 mii tone de semințe, 20 mii tone de drojdie și 10 mii tone de creste. Pentru 1000 dal de materiale vinicole se formează următoarea cantitate de sedimente de drojdie: drojdie lichidă la prima îndepărtare a vinului – 50 dal; precipitații în timpul eliminării ulterioare a vinului – 15 dal; sedimente de drojdie stoarse (presate) – 200 kg (Oficiul Național al Viei și Vinului, 2021). Pentru fiecare milion decalitri vin produs, se pot obține 50-80 tone de acid tartric prin procesarea deșeurilor vitivinicole.

Produsele secundare de bază în vinificație sunt: tescovina, care rezultă de la presarea strugurilor în cazul producerii vinurilor albe și roze (Gonçalves, 2024), a produselor fără alcool și de la presarea boștinei fermentate, în cazul producerii vinurilor roșii; sedimentele de limpezire; sedimentele de drojdii (Lachman et al., 2013). Cantitatea de deșeuri se poate calcula după indicatorul deșeurilor specifice, deținut ca raport între masa deșeurilor acumulate raportată la masa produsului comercializabil, tabelul 4.1.

Tabelul 4.1 Cantitatea de deșeuri după indicatorul deșeurilor specifice (I_{DS})

Deșeuri	I_{DS}
Tescovină	0,136-0,145
Sediment de limpezire	0,015-0,050
Sediment de drojdii	0,03-0,045

*Utilizarea complexă a tescovinei de struguri, mere și alte deșeuri agroindustriale. Ghid de bune practici. https://intelwastes.utm.md/

În cadrul studiului, a fost utilizată tescovină de struguri, recunoscută drept o sursă valoroasă de SBA cu proprietăți antioxidante. Probele au fost colectate din secția de microvinificație a Universității Tehnice a Moldovei și păstrate la o temperatură controlată de -18°C până la utilizare. Pentru analiza compoziției fenolice, s-au aplicat metode cromatografice de înaltă performanță (HPLC-DAD-MS-ESI), utilizând extracte obținute în medii hidroalcoolice și acetonice.

Cromatogramele extractelor etanolice analizate sunt prezentate în figura 4.1.

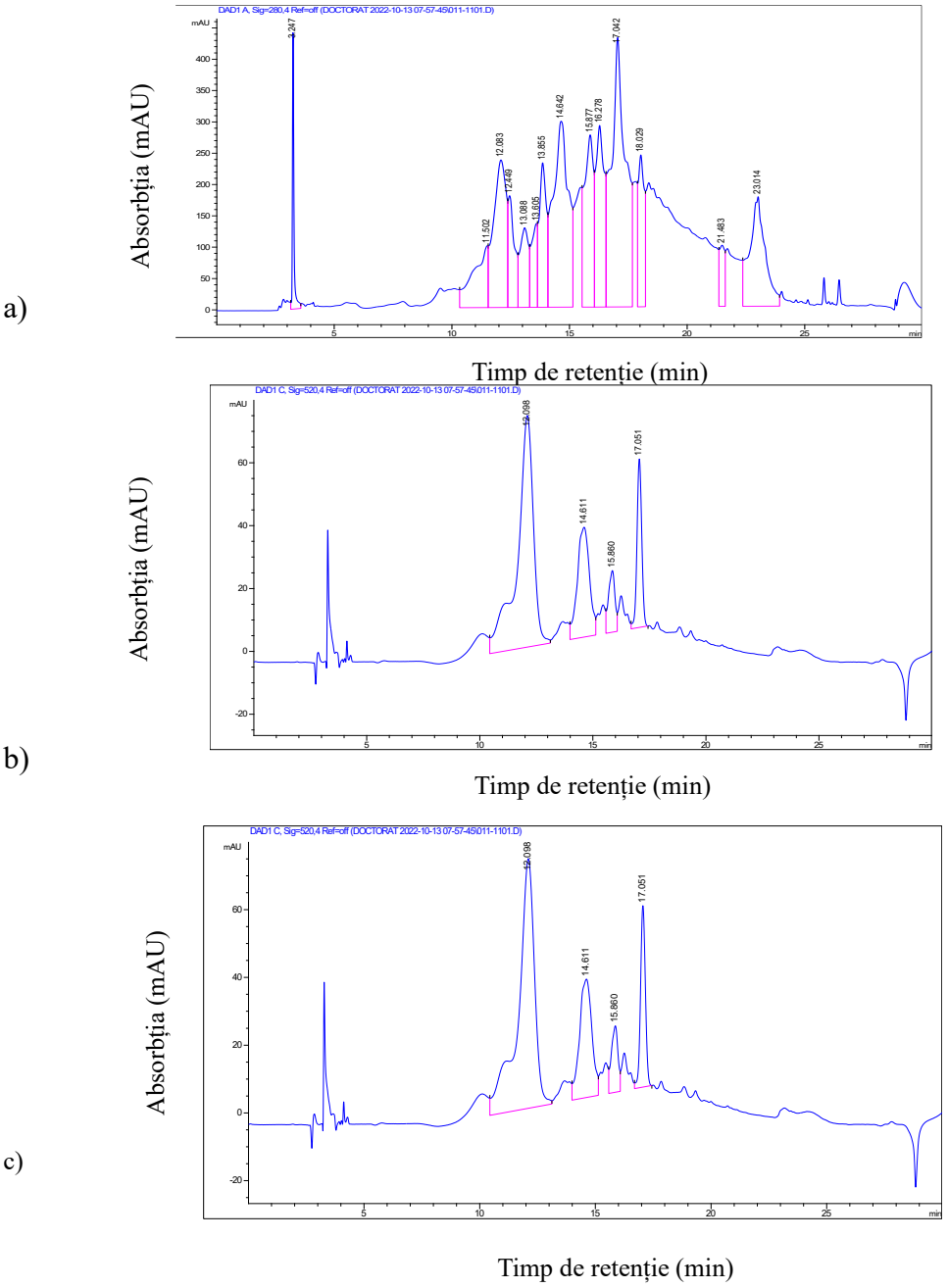


Figura 4.1 Cromatogramele extractelor etanolice a tescovinei de struguri roșii :a- λ = 280, b- λ =350, c- λ =520 nm *(rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

Cromatogramele extractelor în acetonă a tescovinei de struguri roșii sunt prezentate în figura 4.2.

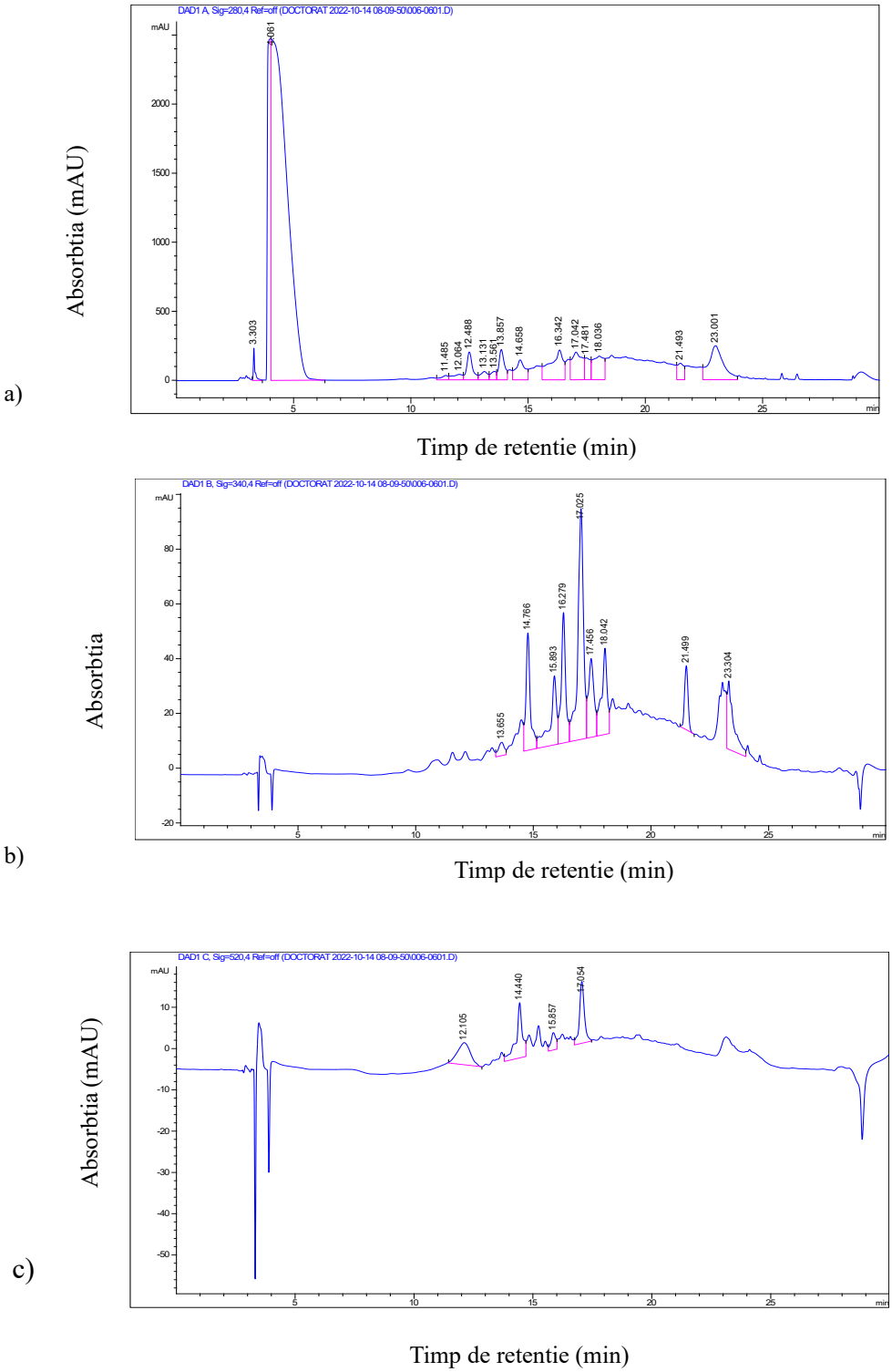


Figura 4.2 Cromatogramele extractelor în acetonă a tescovinei de struguri roșii a- λ = 280, b- λ = 350, c- λ = 520 nm) *(rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

Caracteristicile DAD și MS/ESI, compușii individuali atestați, precum și subclasa din care fac parte acesti 21 derivați fenolici identificați sunt prezentați în tabelul 4.2. Au fost identificați: 6 antociani, sub formă de glicozide, 11 flavanoli și 3 acizi hidroxicinamici.

Tabelul 4.2 Datele DAD și MS obținute după ionizarea pozitivă a extractelor din tescovina de struguri roșii *

Vârful nr.	Timp de retenție R_t (min)	UV λ_{max} (nm)	$[M+H]^+$ (m/z)	Compus fenolic	Subclasă
1.	3,24	270	139	Acid 2-hidroxibenzoic	Acid hidroxibenzoic
2.	11,46	280	579	Dimer de procianidină, izomer I	Flavonoide
3.	12,10	530; 280	493 463	Malvidină-glucozidă Peonidină-glucozidă	Antocianine Antocianine
4.	12,48	280	291	Catechină	Flavonoide
5.	13,07	280	579	Dimer de procianidină, izomer II	Flavonoide
6.	13,57	323	343	Acid cafeic-glucozidă	Acid hidroxicinamic
7.	13,86	280	291	Epicatechină	Flavonoide
8.	14,42	530; 280	535	Malvidină-malonil-glucozidă	Antocianine
9.	14,74	350;250	493	Izorhamnetină-glucuronidă	Flavonoide
10.	15,85	530;280	535	Malvidină-diglucozidă	Antocianine
11.	15,90	360; 260	611; *303*	Quercetină-rutinozidă (Rutină)	Flavonoide
12.	16,28	360; 260	465; 303 625; 317	Quercetină-glucozidă Izorhamnetină-rutinozidă	Flavonoide Flavonoide
13.	17,03	530; 280	639; 609	Malvidină-cumaroil-glucozidă Peonidină-cumaroil-glucozidă	Antocianine Antocianine
14.	17,06	360; 260	479; 303	Quercetină-glucuronidă	Flavonoide
15.	18,03	332	339	Acid cumaroilchinic	Acid hidroxicinamic
16.	21,49	360; 260	303	Quercetină	Flavonoide
17.	23,32	350; 250	317	Izorhamnetină	Flavonoide

* *rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Conținutul de compuși fenolici din extractele de struguri rosii, exprimat în mg/g S.U. este prezentat în tabelul 4.3.

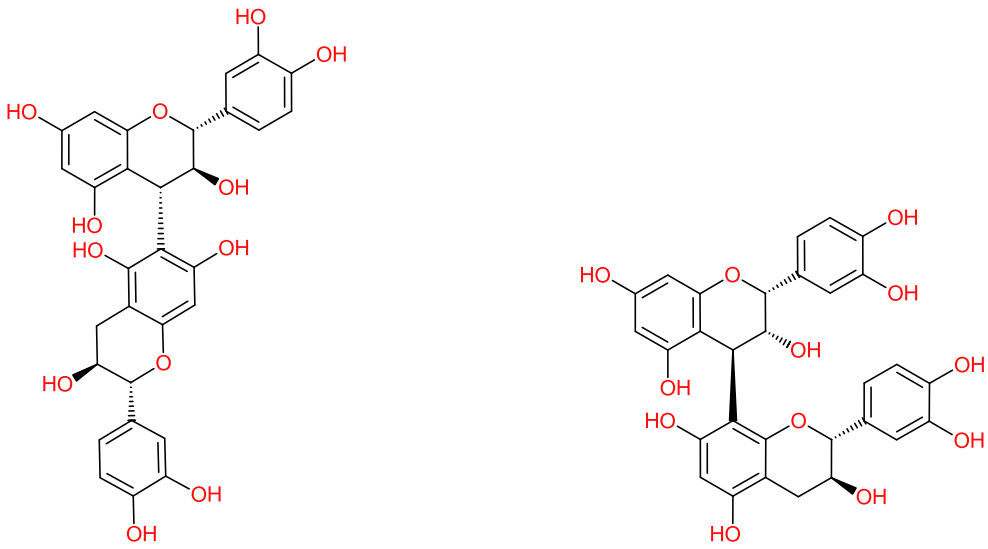
Tabelul 4.3 Conținutul de compuși fenolici în extractele de tescovină de struguri roșii obținute după fermentație: I- Merlot/Cabernet 60/40 (MCa) și II- Cabernet (Ca)*

Vârful nr.	R_t (min)	Compus fenolic, mg/g substanță uscată	MCa, etanol	MCa, acetonă	Ca , etanol	Ca, acetonă
1.	3,24	Acid 2-hidroxibenzoic	0,343	0,478	0,459	0,361
2.	11,46	Dimer de procianidină, izomer I	1,003	0,974	1,351	1,677
3.	12,10	Malvidină-glucozidă Peonidină-glucozidă	0,146	0,107	0,218	0,167
4.	12,48	Catechină	1,929	1,964	2,562	3,308
5.	13,07	Dimer de procianidină, izomer II	2,164	2,286	2,494	3,034
6.	13,57	Acid cafeic-glucozidă	0,173	0,195	0,163	0,265
7.	13,86	Epicatechină	3,169	3,254	3,680	4,449
8.	14,42	Malvidină-malonil-glucozidă	0,106	0,085	0,137	0,161
9.	14,74	Izorhamnetină-glucuronidă	0,422	0,443	0,788	0,863
10.	15,85	Malvidină-diglucozidă	0,074	0,070	0,080	0,083
11.	15,90	Quercetină-rutinozidă (Rutină)	0,275	0,541	0,451	0,860
12.	16,28	Quercetină-glucozidă Izorhamnetină-rutinozidă	0,168	0,329	0,217	0,479
13.	17,03	Malvidină-cumaroil-glucozidă Peonidină-cumaroil-glucozidă	0,120	0,117	0,155	0,170
14.	17,06	Quercetină-glucuronidă	0,551	0,866	0,665	1,059
15.	18,03	Acid cumaroilchinic	0,257	0,409	0,203	0,839
16.	21,49	Quercetină	0,308	0,702	0,465	0,892
17.	23,32	Izorhamnetină	0,367	0,570	0,398	0,547
		Fenolici total	***11,574***	***13,391***	***14,487***	***19,214***

***** *rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Conținutul de compuși fenolici din tescovinele de struguri este esențial și variază între 11,6-19,2 mg/g substanță uscată. Extracția în acetonă este mai intensă decât în soluție etanolică (60% vol).

S-a constatat prezența unor cantități esențiale de compuși fenolici, printre care predomină epicatehina (3,2-4,5 mg/g substanță uscată), catehinele (1,9-3,3 mg/g substanță uscată) și dimer de procianidină, izomer I (1,0-1,7 mg/g s.u.) și dimer de procianidină, izomer II (2,2-3,0 mg/g s.u.). Structura acestor procianidine este prezentată în figura 4.3.



A B

Figura 4.3 Structura dimerilor procianidinei I (A) şi II (B) (Chedea, 2016)

Activitatea antiradicalică şi antioxidantă a extractelor hidroalcoolice din produse secundare vitivinicole a fost determinată la diferite valori ale pH: acid pH =2 şi bazic pH =8. Valorile pH au fost selectate din considerentul corespunderii acestora mediului gastric si intestinal.

Tabelul 4.4 Activitatea antiradicalică şi antioxidantă a extractelor de tescovină de struguri în diferite medii *

Extracte	**Activitatea antiradicalică, % DPPH inhibat**		**Activitatea antioxidantă, % peroxid de hidrogen inhibat**	
	Mediu acid, pH= 2	**Mediu bazic, pH=8**	**Mediu acid, pH=2**	**Mediu bazic, pH=8**
MCa/etanol	75,65±1,53	70,80±2,52	42,64±0,39	37,47±0,40
MCa/acetonă	77,03±0,95	69,66±1,60	46,89±0,38	40,74±0,47
Ca/etanol	82,25±1,11	66,22±1,10	49,73±0,28	42,51±0,21
Ca/acetonă	89,77±1,30	82,65±2,27	46,97±0,76	43,97±0,26

* *rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Activitatea antiradicalică determinată prin testul DPPH variază între 77-90% de radical inhibat în mediu acid și 66-90% de radical inhibat în mediu bazic. Extractele obținute în acetonă manifestă o creștere nesemnificativă față de extractele etanolice, ceea ce poate fi explicat prin conținutul sporit de SBA. Activitatea de captare a radicalilor liberi, deținută de flavonoidele din aceste extracte de plante, depinde de concentrația și capacitatea de captare a radicalilor de către compușii individuali prezenți în fiecare extract.

Cercetările au arătat că activitatea anti-radicalică a procianidinelor (flavonoidele anti-radicale primare prezente în extractele din semințe de struguri și din coajă de pin) este puternică pentru concentrații mari (> 1000 mg/L). Când concentrațiile de procianidine sunt mai mici (200–1000 mg/L), activitatea este mai slabă. Cu toate acestea, atunci când concentrațiile sunt sub 200 mg/L, activitatea antiradicalică crește (Yeddes et al., 2013).

Activitatea antioxidantă este, de asemenea, dependentă de structura compușilor de captare a radicalilor liberi, de substituenții prezenți pe inelele flavanoizilor și de gradul de polimerizare. Deși există discuții în ceea ce privește dacă gradul de polimerizare influențează capacitatea antioxidantă, se pare că epicatechina și polimerii epicatehinei prezintă proprietăți antioxidante mai puternice decât catechina și polimerii catechinei. Procianidinele B sunt antioxidanți mai buni decât procianidina A (Chedea, 2016). Criteriile structurale pentru cei mai de succes captatori de radicali liberi pot fi:

(1) - o grupare 3-hidroxi pe inelul C nesaturat,

(2) - o legătură 2,3-dublă cu gruparea 3-OH și 4-una în inelul C,

(3) - un model de substituție orto-OH în inelul B în care grupele OH nu sunt fixate de către glucide (Masuoka et al., 2012; Wood et al., 2002).

Activitatea antioxidantă, exprimată prin procentul de peroxid de hidrogen inhibat variază între 37-50%. Nu se atestă diferențe esențiale între activitatea antioxidantă a extractelor în funcție de mediu. Valoarea relativ redusă a activității antioxidante ar putea fi explicate prin faptul, că peroxidul de hidrogen poate fi captat de flavonoide. Catalaza catalizează descompunerea peroxidului de hidrogen în apă și oxigen. Prin urmare, este posibil ca activitatea antioxidantă să depindă într-o măsură mai mica de compușii individuali prezenți în extracte.

4.2 Analiza capacității fermentative și modelarea cineticii procesului de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri

Fermentația anaerobă este un proces biologic pentru valorificarea tescovinei de struguri care promovează trecerea la surse regenerabile de energie. În lucrare a fost testată tescovina de struguri pentru producerea de biogaz prin fermentație anaerobă. Tescovina dezghețată a fost utilizată ca inocul și substrat cu o concentrație de 7,5% (m/v).

Au fost testate tescovina de struguri integrală (I – MCa și II – Ca), precum și în mod separate pielița și semințele, separate manual din tescovina de struguri I (MCa). Parametrii tehnologici importanți pentru analiza procesului de fermentație anaerobă sunt prezentați în tabelul 4.5.

Tabelul 4.5 Parametri fizico-chimici și caracteristicile biochimice ale produselor secundare vitivinicole utilizate pentru fermentația anaerobă*

Parametru, unit.	Tescovină de struguri I	Tescovină de struguri II	Pelița din tescovină de struguri I	Semințe de struguri I
pH	3,88±0,01	3,68±0,01	3,59±0,01	4,56±0,01
Conținut total de solide (CTS), g/kg	398±7	407±7	328±4	598±7
Necesarul biologic de oxigen (NBO), g O_2/kg	597±25	622±25	387±15	980±25
Compuși solubili totali (polizaharide, CST), g/kg CTS	412±11	437±8	580±12	182±14
Hemiceluloză, g/kg CTS	52±3	48±2	65±3	32±2
Celuloză, g/kg CTS	147±7	145±5	112±12	296±14
Lignină, g/kg CTS	142±14	135±11	112±8	181±9
Polifenoli totali, g/kg CTS	18,5±0,5	21,0±0,4	24,5±0,5	3,2±0,3
Azot total, g N/kg	6,8±0,1	7,5±0,1	5,1±0,1	12,8±0,1
Fosfor total, g P/kg	1,9±0,1	2,1±0,1	1,7±0,1	2,3±0,1

* *rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Tabelul 4.6 prezintă valorile parametrilor fizico-chimici caracterizați pentru două tipuri de tescovină de struguri (I și II), precum și pentru fracțiile separate ale tescovinei I – pielița și semințele. Se observă diferențe semnificative între fracții în ceea ce privește pH, CTS, CST, precum și conținutul în hemiceluloză, celuloză, lignină și polifenoli. Pielița prezintă cel mai ridicat conținut de CST (580 g/kg CTS) și polifenoli (24,5 g/kg CTS), indicând un potențial fermentativ sporit, în timp ce semințele au un CTS și NBO ridicat, dar un conținut redus de compuși fermentescibili și un nivel crescut de componente recalcitrante (celuloză – 296 g/kg CTS, lignină – 181 g/kg CTS). Aceste diferențe structurale și compoziționale justifică variațiile observate în dinamica procesului de fermentație anaerobă și randamentul de biogaz, fiind relevante pentru evaluarea și optimizarea substratului lignocelulozic în vederea valorificării energetice.

În figura 4.4 este prezentată dinamica acumulării volumului de gaz pe durata fermentării anaerobe a tescovinei de struguri I, a pieliței din tescovina de struguri I și a semințelor din tescovina de struguri I (separare manual, după zdrobire).

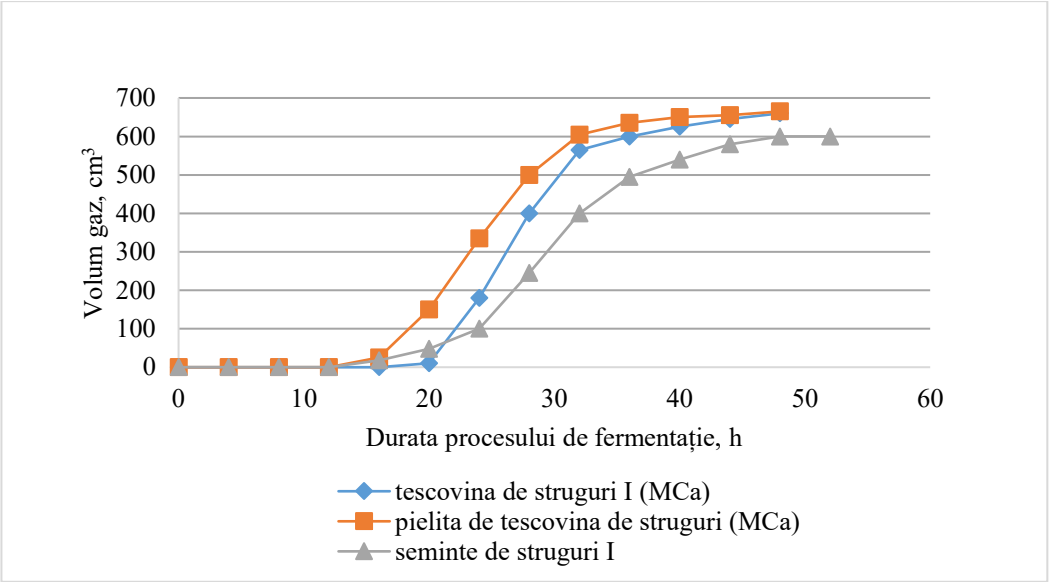


Figura 4.4 Volumul de gaz degajat în procesul de fermentație anaerobă a subproduselor vinicole *(rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

S-a constatat, că deși în cazul pieliței de struguri procesul decurge mai intens, volumul de gaz acumulat este identic cu cel care corespunde tescovinei integrale de struguri. În cazul semințelor de struguri procesul decurge mai lent, iar volumul de gaz acumulat este mai redus. Aceasta corelează cu creșterea NBO, care depinde de conținutul total de solide (tabelul 4.6).

Pentru o înțelegere mai aprofundată a comportamentului fermentativ al acestor fracții, a fost realizată o modelare cinetică a procesului, cu scopul de a descrie evoluția reacției în funcție de parametrii experimentali.

Fermentația anaerobă a tescovinei de struguri poate fi reprezentată printr-o ecuație de gradul I, deoarece concentrația substratului este constantă, iar reacţiile biochimice în procesele de fermentație anaerobă nu sunt exoterme și, prin urmare, nu generează căldură:

$$S \overset{k_T}{\leftrightarrow} CH_{4(g)} \tag{4.1}$$

Astfel, cinetica chimică după un model de ordinul întâi poate fi reprezentată prin ecuațiile:

$$-\frac{d[S]}{dt} = k_T \times [S] \tag{4.2}$$

$$-\frac{d[S]}{[S]} = k_T \times dt \tag{4.3}$$

$$\int_{So}^{S} -\ln[S] = k_t \times t \tag{4.4}$$

Reieșind din ecuațiile 4.1-4.4, rezultă:

$$-\ln[S_t] + \ln[S_0] = k_T \times t \tag{4.5}$$

$$\ln\frac{[S_0]}{[S_t]} = k_t \times t \tag{4.6}$$

$$[S_t] = [S_0]e^{-k_T t} \quad (4.7)$$

unde: $[S_t]$ este concentrația substratului la momentul t,

$[S_0]$ concentrația inițială a substratului

k_T - constanta de viteză.

Volumul teoretic de gaz poate fi definit prin ecuația 4.8:

$$V_{CH_4}^{th} = f \times q \times m_0(S) \quad (4.8)$$

unde : f este factorul legat de necesarul chimic de oxigen (CCO) ,

q - factorul care reprezintă raportul CCO substrat/g substrat ;

$m_0(S)$ - masa de substrat, g.

Astfel, volumul de gaz obținut în procesul de digestive anaerobă a substratului din tescovină de struguri poate fi determinat din relațiile 4.9-4.10:

$$\frac{V_{CH_4}^{exp}}{V_{CH_4}^{theo}} = \frac{[S_0]-[S_1]}{[S_0]} = \frac{V_{CH_4}^{exp}}{f \times q \times m_0} = 1 - \frac{[S_1]}{[S_0]} \quad (4.9)$$

$$\frac{V_{CH_4}^{exp}}{f \times q \times m_0} = 1 - \frac{[S_1]}{[S_0]} \quad (4.10)$$

unde: $[S_0] - [S_1]$ - cantitatea de substrat digerată și transformată în CH_4;

t- timpul de transformare.

Conform ecuației 4.5:

$$\frac{[S_1]}{[S_0]} = e^{-k_T \times 24} \quad (4.11)$$

astfel, volumul de gaz degajat experimental poate fi calculat din relația 4.12:

$$V_{CH_4}^{exp} = f \times q \times m_0 \times (1 - e^{-k_T \times 24}) \quad (4.12)$$

Pentru a calcula, spre exemplu, constanta de viteză a procesului de hidroliză anaerobă a substratului tescovinei de struguri pe parcursul a 24 h, se va aplica relația 4.13:

$$k_T = -\frac{1}{24} \times \ln(1 - \frac{V_{CH_4}^{exp}}{f \times q \times m_0}) \quad (4.13)$$

Din ecuația 4.13 pot fi determinate valorile k_T pentru diferite temperaturi ale digestiei. Corelația dintre k_T și T în intervalul de temperatură 25 - 37°C este prezentat în figura 4.5.

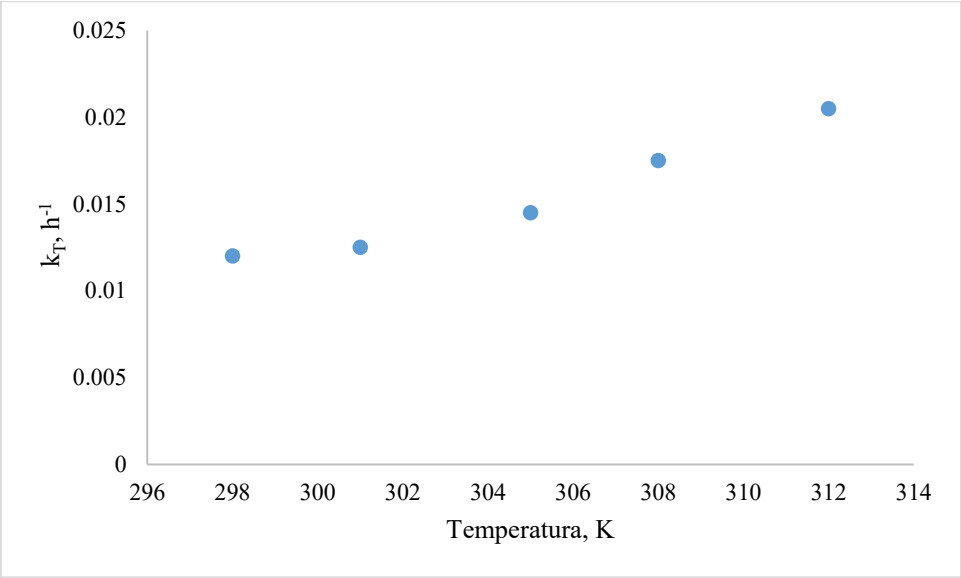


Figura 4.5 Variația constantei de viteză a procesului de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri la temperatura de 296-313 K *(rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat)*

Constanta de viteză crește la majorarea temperaturii, în conformitate cu legea lui Arrhenius:

$$k_T = A \times e^{\frac{-Ea}{RT}} \tag{4.14}$$

ceea ce permite de a calcula energia de activare a procesului:

$$Ea = \frac{R \times \ln\frac{k_{T_1}}{k_{T_2}}}{\frac{T_1 - T_2}{T_1 \times T_2}} \tag{4.15}$$

Valorile calculate sunt prezentate în tabelul 4.6.

Tabelul 4.6 Valorile experimentale ale temperaturii și constantei de reacție (k_T) și valorile medii calculate ale parametrilor cinetici (E_a și A) *

T, K	k_T, h^{-1}	E_a, kJ/mol	A, h^{-1}
298	0,0120	29,76	1905
301	0,0125		
305	0,0145		
308	0,0175		
312	0,0205		

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Valorile experimentale determinate au permis calculul E_a și constantei Arrenius (A) a procesului de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri: E_a= 29,76 kJ/mol și A =1905 h^{-1}. Valoarea energiei de activare calculată confirmă corespunderea procesului de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri unei reacții de ordinul întâi (Mahmoud et al., 2004). Rezultatele obținute sunt apropiate de cele identificate în studiile anterioare asupra digestiei, care au demonstrat că

energia de activare a unei game largi de deșeuri organice solide a variat între 25 și 346 kJ mol^{-1} în timpul digestiei anaerobe (Ma et al., 2011).

4.3 Concluzii la capitolul 4

1. Tescovina de struguri a fost confirmată ca o sursă valoroasă de SBA activi, fiind identificați 21 de derivați prin analiză cromatografică.
2. Cele două extracte obținute – MCa (Merlot/Cabernet 60/40) și Ca (Cabernet) – au prezentat variații semnificative în compoziția fenolică. Astfel, extractul MCa a avut un conținut total de compuși fenolici de 370,86 mg GAE/100 g p.e., comparativ cu 215,32 mg GAE/100 g p.e. în extractul Ca.
3. Activitatea antiradicalică, exprimată ca procent de inhibare a radicalului DPPH, a fost mai mare în extractul MCa constituind valoarea de 71,9% comparativ cu proba Ca de 52,5%.
4. Activitatea antioxidantă față de peroxidul de hidrogen a fost de asemenea mai pronunțată în extractul MCa (68,7%) față de Ca (49,4%).
5. Compoziția fracționată a tescovinei de struguri influențează semnificativ cinetica fermentației anaerobe, demonstrând că fracția pieliței de struguri, bogată în compuși solubili și polizaharide fermentabile, favorizează un proces de fermentație anaerobă mai intens, în timp ce fracția semințelor, cu un conținut ridicat de celuloză și lignină, dar redus în polifenoli și compuși solubili, conduce la o fermentație mai lentă și o acumulare mai mică de biogaz.
6. Deși dinamica fermentației anaerobe variază între fracțiile tescovinei, volumul de gaz obținut din pieliță este comparabil cu cel al tescovinei integrale, indicând contribuția majoritară a pieliței la potențialul metanogen. Corelația cu valorile ridicate ale CCO confirmă conținutul crescut de substanțe organice fermentescibile.
7. Analiza cinetică a fermentației anaerobe a tescovinei de struguri a evidențiat o valoare a energiei de activare (E_a) de 29,76 kJ/mol și o constantă preexponențială (A) de 1905 h^{-1}, indicând că procesul se încadrează în cinetica unei reacții de ordinul întâi. Această valoare este comparabilă cu datele din literatura de specialitate referitoare la digestia anaerobă a deșeurilor organice solide, confirmând validitatea modelului propus pentru substratul analizat.
8. Stabilirea parametrilor cinetici (E_a și A) a procesului de fermentație anaerobe oferă o bază esențială pentru optimizarea procesului biotehnologic, permițând anticiparea comportamentului fermentativ în funcție de variația temperaturii. Aceste date susțin proiectarea controlată a procesului, în vederea maximizării randamentului de biogaz și eficientizării valorificării energetice a tescovinei de struguri.

5. VALORIFICAREA COMPLEXĂ A DEȘEURILOR DIN INDUSTRIA DE PRODUCERE A ALCOOLULUI

5.1 Descrierea procesului de implementare a rezultatelor științifice la scară industrială

Industria producătoare de alcool generează, pe lângă produsul principal, volume semnificative de subproduse lichide și solide, care pot constitui o sursă importantă de poluare dacă nu sunt gestionate corespunzător. În contextul actual al tranziției către o economie circulară și al intensificării preocupărilor legate de protecția mediului, valorificarea eficientă a acestor subproduse agroindustriale capătă un rol strategic. Acest capitol este dedicat explorării unor soluții tehnologice integrate care urmăresc nu doar reducerea impactului ecologic, ci și transformarea acestor subproduse în resurse utile, cu aplicabilitate în diverse domenii industriale. Abordarea propusă se bazează pe principiile bioeconomiei circulare, urmărind recuperarea compușilor valoroși prin metode biotehnologice și chimice, contribuind astfel la optimizarea proceselor și la dezvoltarea sustenabilă a sectorului.

Implementarea rezultatelor experimentale în producție a fost realizată în cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup”, localizată în satul Fîrlădeni, raionul Hîncești. Această unitate integrează în mod funcțional activitățile unei ferme de bovine și ale unei distilării pentru producerea alcoolului etilic, asigurând un flux închis de gestionare și valorificare a subproduselor generate în propriul sistem tehnologic. Materia primă utilizată în procesul de fermentație anaerobă constă exclusiv în dejecțiile provenite de la ferma de bovine și în borhotul de cereale rezultat în urma procesului de distilare (Tașca, 2025).

Subprodusele rezultate în cadrul proceselor tehnologice, constituie sursa principală pentru instalația de fermentație anaerobă aflată în exploatarea întreprinderii. Prin acest proces, se obține zilnic o cantitate de până la 80 mii m^3 de biogaz, care este valorificat energetic direct în cadrul platformei industriale. Biogazul, astfel captat, este utilizat în cazangeria internă a fabricii de alcool pentru generarea aburului necesar distilării, iar o parte este convertită în energie electrică regenerabilă, contribuind astfel la reducerea consumului de resurse convenționale și la sporirea eficienței energetice a procesului integrat.

Această configurație operațională a oferit condițiile optime pentru desfășurarea unui experiment aplicativ, orientat spre validarea tehnologică a unor soluții de valorificare complexă a subproduselor agroindustriale, cu accent pe integrarea principiilor bioeconomiei circulare într-un cadru real, de producție continuă.

Instalația de fermentație anaerobă utilizată în cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup” este bazată pe un sistem de digestoare cu funcționare continuă, proiectate pentru asigurarea unui proces stabil și eficient de conversie a subproduselor de distilerie în biogaz. Tipologia aleasă permite alimentarea constantă cu materie primă și evacuarea controlată a digestatului, asigurând un regim operațional optim pentru condițiile tehnologice ale întreprinderii.

Fiecare digestor are o construcție cilindrică, cu un diametru de 24 metri și o înălțime de 10 metri (figura 5.1), fiind prevăzut cu un volum util de procesare de aproximativ 3200 m^3. Această capacitate permite gestionarea eficientă a amestecului format din borhot de cereale și dejecții provenite de la ferma de bovine, constituind astfel un sistem tehnologic integrat, capabil să funcționeze în regim stabil pe termen lung.



Figura 5.1 Imaginea foto a digestoarelor cu funcționare continua a întreprinderii SRL „Garma Grup”

Prin utilizarea acestor instalații, întreprinderea asigură un nivel ridicat de eficiență în conversia biomasei în biogaz, contribuind la valorificarea energetică sustenabilă a subproduselor proprii și la reducerea impactului asupra mediului înconjurător.

În prima etapă a procesului tehnologic are loc separarea borhotului de cereale rezultat din distilarea alcoolului în două fracții – solidă și lichidă (figura 5.2). În vederea valorificării anaerobe, este utilizată exclusiv fracția lichidă, aceasta fiind caracterizată printr-un conținut ridicat de materie organică solubilă, ușor degradabilă în condiții anaerobe.

Fracția lichidă este direcționată într-un bazin deschis de amestec, unde este combinată cu dejecțiile proaspete colectate de la ferma de bovine (figura 5.2). Această etapă are ca scop obținerea unui substrat omogen, cu proprietăți fizico-chimice adecvate pentru procesul de fermentație

anaerobă. Omogenizarea substratului este esențială pentru prevenirea blocajelor tehnologice, asigurarea unei distribuții uniforme a microorganismelor și crearea unor condiții optime pentru desfășurarea fermentației anaerobe.

a)  b) 

Figura 5.2 Imagini foto: a) zona tehnologică de pregătire a substratului, b) colectarea borhotului de cereale și realizarea amestecului de fermentație

După finalizarea etapei de pregătire a substratului, amestecul omogen format din faza lichidă a borhotului de cereale și dejecțiile de la ferma de bovine a fost utilizat în cadrul experimentului pentru evaluarea influența unei SBA asupra procesului de fermentație anaerobă. Pentru lotul experimental, s-au utilizat 2324,67 m^3 borhot lichid și 988,33 m^3 dejecții bovine. Pentru testarea influenței SBA, a fost selectat DHFA, substratul a fost tratat cu SBA în cantitatea de 113,28 g per lot experimental (Tașca, 2025). Substanța a fost introdusă direct în amestecul omogenizat, anterior alimentării fermentatorului, și dispersată uniform pentru a garanta o distribuție echilibrată în întreg volumul reactiv.

Obiectivul principal al acestui experiment a fost investigarea influența SBA - DHFA, cu proprietăți antioxidante, asupra eficienței procesului de digestie anaerobă, în condiții controlate, la scară industrială. În mod specific, s-a urmărit evaluarea volumului total de biogaz generat, precum și determinarea variațiilor în conținutul de metan în prezența SBA.

Un aspect tehnologic esențial al implementării a fost prezența unui sistem automat de amestecare cu pompă, implementat pe toate digestoarele instalației, configurat să funcționeze în regim secvențial, pe trei nivele verticale: inferior (Mixer Jos), mediu (prin injecție de gaz – GasMix) și superior (Mixer Sus). Comanda electronică a acestui sistem, ilustrată în figura 5.3, asigură alternanța ciclică între fazele de agitare și repaus, cu frecvențe reglabile între 45–46 Hz și durate programate de până la 15 minute. Aceste funcții sunt operate prin intermediul unei pompe

de recirculare cu turație variabilă, comandată electronic, ceea ce permite adaptarea frecvenței de amestec la dinamica procesului biologic.

Fiecare ciclu de amestecare este programat cu durate fixe (ex. 15 min, 10 min, 8 min), urmate de o pauză de 5 minute, asigurând astfel un echilibru între consumul energetic și eficiența hidrodinamică. Funcționarea secvențială în regim automat permite o omogenizare completă a masei fermentabile, prevenind formarea de zone moarte, stratificări sau acumulări de spumă.

Prin această configurare, se realizează o distribuție uniformă a încărcăturii organice, a microorganismelor și a temperaturii, aspecte esențiale pentru desfășurarea optimă a etapelor de acidogeneză și metanogeneză. În contextul experimentului de aplicare a DHFA, sistemul automat de amestecare a asigurat dispersia eficientă și uniformă a SBA în întregul volum de reacție, contribuind la validitatea experimentală a rezultatelor obținute.

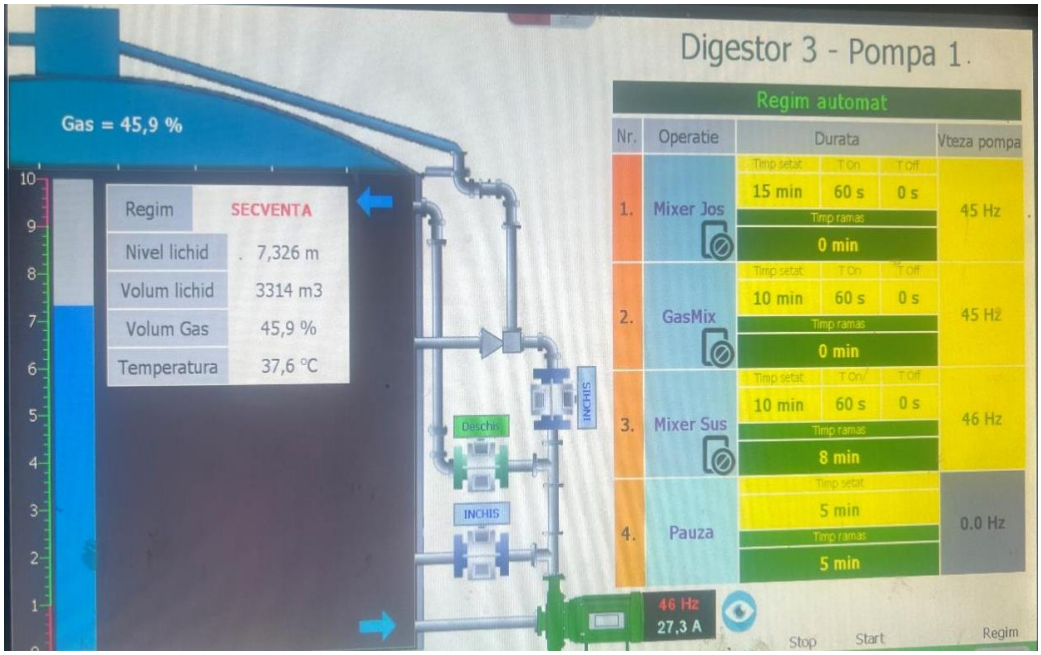


Figura 5.3 Interfața de control digital al sistemului de amestecare automat pe nivele, utilizat în toate digestoarele instalației de biogaz de la SRL „Garma Grup”

Această soluție tehnologică avansată a garantat o distribuție uniformă a încărcăturii organice, a microorganismelor și a SBA în volumul total de substrat, prevenind formarea zonelor stagnante și optimizând transferul de masă și căldură în reactor. În contextul aplicării DHFA, sistemul de amestecare automatizat a jucat un rol crucial în asigurarea unei dispersii omogene a SBA, ceea ce a permis ca efectele sale biologice să fie evaluate obiectiv, fără variații locale sau incertitudini experimentale.

Astfel, infrastructura tehnologică disponibilă la nivelul întreprinderii SRL „Garma Grup” nu doar că a permis desfășurarea experimentului în condiții comparabile cu cele din laborator, ci

a oferit un cadru operațional controlabil, reproductibil și industrial validat, necesar pentru extrapolarea rezultatelor către aplicații practice de scară largă.

Aplicarea DHFA a avut drept fundament ipoteza că proprietățile sale antioxidante pot modula activitatea microbiologică implicată în etapele cheie ale fermentației anaerobe– în special în metanogeneză –contribuind astfel la o creștere a randamentului energetic al procesului.

Pentru a evalua influența DHFA –o substanță biologic activă cu potențial antioxidant – asupra procesului de fermentație anaerobă, au fost monitorizați parametrii tehnologici în timp real în cadrul instalației de biogaz a întreprinderii SRL „Garma Grup”. Figura 5.4 prezintă datele de funcționare ale celor două digestoare implicate în experiment (Tașca, 2025).

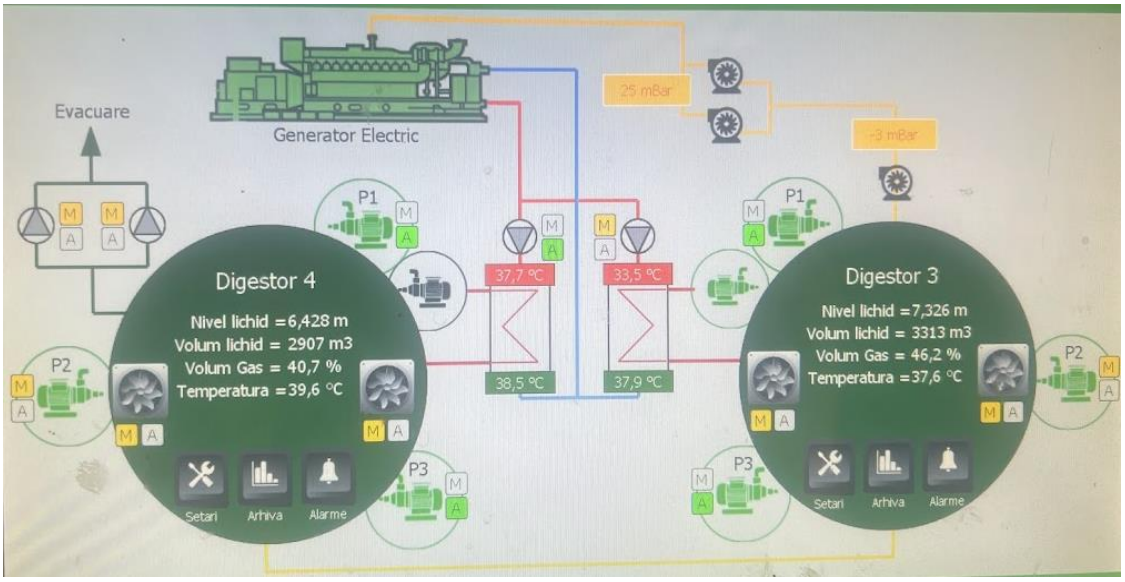


Figura 5.4 Interfața digitală de monitorizare a funcționării în timp real a stației de digestie anaerobă din cadrul SRL „Garma Grup” *(rezultate comparative a celor de studiu cu cel martor)*

În cazul digestorului 3, în care a fost aplicată substanța biologic activă, substratul introdus a fost prelucrat în regim mezofil, la o temperatură de 37,6 °C, și a avut un volum lichid procesat de 3313 m^3. Parametrul esențial urmărit – volumul de biogaz generat – a atins valoarea de 46,2%, indicând o activitate fermentativă intensă și o conversie eficientă a materiei organice în gaz.

Prin comparație, digestorul 4, care a funcționat ca lot martor, fără aplicarea DHFA, a fost alimentat cu un volum de 2907 m^3, la o temperatură de 39,6 °C, și a produs un volum de biogaz de 40,7%, inferior celui obținut în digestorul tratat (Tașca, 2025).

Aceste rezultate preliminare susțin ipoteza conform căreia DHFA poate stimula activitatea microbiologică implicată în fermentația anaerobă, în special în etapele de acidogeneză și metanogeneză. Monitorizarea digitală în timp real a permis nu doar observarea evoluției procesului, ci și validarea aplicabilității acestei substanțe în condiții reale, la scară industrială.

Pentru evaluarea calității biogazului rezultat în urma fermentației anaerobe a substratului, cu și fără aplicarea SBA, a fost determinată compoziția în gaze principale: metan (CH_4), dioxid de carbon CO_2, oxigen rezidual O_2 și hidrogen sulfurat (H_2S). Acești parametri sunt esențiali pentru estimarea valorii energetice a biogazului, a stabilității procesului și a riscului de coroziune asupra echipamentelor metalice.

Determinarea compoziției gazelor a fost realizată cu ajutorul unui analizor portabil de biogaz de tip Madur GA-21 plus, care permite măsurători directe în conductele de gaz sau în rezervoarele de acumulare, cu afișare digitală a concentrațiilor exprimate în procente volumice prezentate în tabelul 5.1 (Tașca, 2025).

Tabelul 5.1 Compoziția chimică a biogazului*

Componente	Unitate	Proba martor (digestor 4)	Proba tratată cu SBA (digestor 3)
Metan (CH_4)	% vol	60,2	65,8
Dioxid de carbon (CO_2)	% vol	37,5	32,1
Oxigen rezidual (O_2)	% vol	1,1	0,8
Hidrogen sulfurat (HS)	% vol	0,25	0,18

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*
**p<0,052*

Rezultatele obținute evidențiază o diferență semnificativă în compoziția biogazului între proba martor și cea tratată cu DHFA. În lotul experimental (digestor 3), s-a remarcat o creștere a conținutului de metan până la 65,8%, comparativ cu doar 60,2% în lotul martor, care a crescut cu 5,8% față de lotul martor, ceea ce indică o eficiență superioară a conversiei materiei organice în energie utilă.

Totodată, s-a observat o scădere a concentrației de dioxid de carbon (CO_2) și a oxigenului rezidual (O_2), sugerând un echilibru fermentativ favorabil formării CH_4. Deosebit de relevant este și faptul că nivelul de hidrogen sulfurat (H_2S) a fost mai redus în lotul tratat, deși în ambele cazuri valorile brute sunt ridicate și necesită tratare ulterioară (0,18 % vol față de 0,25 % vol), ceea ce poate fi corelat cu efectul antioxidant al DHFA, care limitează oxidarea anaerobă a sulfaților și formarea excesivă de H_2S. Scăderea H_2S în prezența SBA ar putea indica o inhibare selectivă a bacteriilor sulfat-reducătoare, acest efect poate fi corelat cu acțiunea antioxidantă a DHFA (Tașca, 2025).

Biogazul obținut în urma procesului de fermentație anaerobă prezintă, în forma sa brută, concentrații ridicate de hidrogen sulfurat (H_2S), care pot ajunge până la 0,25 % vol, în funcție de compoziția substratului utilizat. Acest compus este deosebit de coroziv, toxic și poate afecta semnificativ atât echipamentele tehnologice (cazane, motoare cu ardere internă), cât și eficiența generală a valorificării energetice a gazului.

Pentru a face biogazul compatibil cu utilizarea industrială, în cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup” este implementat un sistem integrat de purificare și condiționare, care permite reducerea conținutului de H_2S până la valori de 0,0030–0,0040 % vol, considerate sigure din punct de vedere operațional (figura 5.5).



Figura 5.5 Instalația de purificare a biogazului din cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup”

Instalația este alcătuită dintr-o coloană verticală de epurare, conectată la un sistem de conducte etanșe din inox, care transportă biogazul brut de la digestoare spre unitatea de tratament. Sistemul este completat de o unitate de răcire și deshidratare, ce are rolul de a condensa vaporii de apă prezenți în biogaz, reducând astfel riscul de formare a acizilor sulfurici în conducte. În cadrul procesului de epurare, gazul este supus unei adsorbții chimice pe suport de oxid de fier.

Prin acest tratament, biogazul își păstrează valoarea calorică, dar devine mai stabil din punct de vedere chimic, reducând riscul de coroziune, blocaje și uzură prematură a echipamentelor energetice. Totodată, diminuarea concentrației de H_2S contribuie la creșterea duratei de viață a instalației și la eficiența economică a întregului proces de valorificare.

Studiul de caz, realizat în acest capitol, validează aplicabilitatea (figura 5.6) practică a bioeconomiei circulare în sectorul agroindustrial, prin transformarea fluxurilor reziduale în surse regenerabile de energie și substanțe utile. Implementarea controlată a unei SBA cu rol antioxidant a condus la îmbunătățirea parametrilor de fermentație și a calității biogazului produs. Rezultatele

obținute susțin necesitatea extinderii cercetărilor asupra mecanismului de acțiune al DHFA, precum și analiza economică a eficienței sale în raport cu cantitatea de energie generată. Astfel, această abordare deschide perspective reale pentru integrarea tratamentelor biologic active în optimizarea proceselor de valorificare energetică a subproduselor agroindustriale, contribuind la tranziția către un sistem de producție mai durabil și mai eficient energetic.

5.2 Studiul fezabilității implementării tehnologiei propuse în cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup”

În vederea validării aplicative a rezultatelor științifice obținute în cadrul cercetării experimentale, a fost realizată implementarea controlată a tehnologiei propuse în condiții reale, în cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup”. Aplicarea substanței biologic active–DHFA, în procesul de fermentație anaerobă a fost documentată prin actul oficial de implementare (Anexa 1), care confirmă aplicarea tehnologiei și rezultatele privind creșterea randamentului procesului fermentativ și a calității biogazului produs.

În baza acestui act, a fost posibilă estimarea unui bilanț energetic și economic preliminar privind procesul industrial aplicat. Astfel, utilizarea a 113,28 g de DHFA (echivalent cu o concentrație de 0,0003 mmol/L) în fermentația anaerobă a unui volum total de 3313 m^3 de substrat a condus la obținerea unui volum de circa 80 000 m^3 de biogaz, cu un conținut mediu de 65% metan. Energia totală conținută în acest volum de biogaz a fost estimată la aproximativ 160 000 kWh, folosind un factor mediu de conversie de 6 kWh/m^3 CH_4. La un preț mediu actual de 0,10 euro/kWh pentru energia regenerabilă (Eurostat, 2024), valoarea economică a energiei obținute este de circa 48 000 euro. În contrast, costul estimativ al aditivului utilizat DHFA este sub 34 euro.

Aceste rezultate susțin oportunitatea extinderii metodei la scară industrială și demonstrează valoarea adăugată, generată prin integrarea SBA în procesele de fermentație anaerobă, atât din perspectiva eficienței energetice, cât și a reducerii impactului ecologic al deșeurilor agroindustriale. Rezultatele se aliniază tendințelor actuale din bioeconomie, susținând tranziția către sisteme sustenabile și circulare (Venkata Mohan et al., 2016; Reena et al., 2018; Eurostat, 2024).

Tabelul 5.2 Eficiența energetică a fermentației anaerobe cu și fără aditiv SBA*

Parametru	Volum biogaz, m^3	Volum metan, m^3	Conținut de metan (%)	Energie generată (kWh)	Randament energetic specific (kWh/m^3 biogaz)	Randament economic specific (€/ m^3 biogaz)
Proba martor	60000	36000	60	120000	2,0	0,2
Proba cu SBA	80000	52000	65	48000	3,6	0,6

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Tabelul 5.2 evidențiază impactul adăugării SBA-DHFA asupra eficienței procesului de fermentație anaerobă a borhotului de cereale, prin comparație cu proba martor. Se observă că introducerea aditivului a condus la o creștere substanțială a volumului total de biogaz produs, de la 60 000 m^3 în martor la 80 000 m^3 în proba experimentală, ceea ce reprezintă o sporire cu 33%. În paralel, s-a înregistrat o creștere a conținutului de metan de la 60% la 65%, care a determinat un volum total de metan generat de 52 000 m^3 în proba cu SBA, față de 36 000 m^3 în martor, ceea ce semnalează o creștere a potențialului metanogen cu peste 44%.

Această îmbunătățire se reflectă direct în valoarea energiei generată, care a crescut de la 120 000 kWh în martor la 480 000 kWh în prezența SBA, adică de patru ori. Randamentul energetic specific a fost, de asemenea, ameliorat considerabil, de la 2,0 kWh/m^3 biogaz la 3,6 kWh/m^3 biogaz, sugerând o utilizare mai eficientă a substratului organic pentru conversia în energie. Din punct de vedere economic, s-a observat o creștere a randamentului economic specific de la 0,2 €/m^3 biogaz la 0,6 €/m^3 biogaz, ceea ce justifică aplicabilitatea aditivului biologic nu doar în scop energetic, ci și ca strategie de valorificare profitabilă a subproduselor fermentabile.

Acești parametri confirmați experimental susțin ipoteza conform căreia SBA stimulează activitatea microbiotei anaerobe, îmbunătățind atât cinetica conversiei biomasei, cât și calitatea biogazului rezultat. În consecință, acest rezultat validează aplicabilitatea procesului optimizat în context industrial și al bioeconomiei circulare, susținând fezabilitatea tehnologică a utilizării borhotului de cereale în procese de fermentație anaerobă intensificată.

5.3 Concluzii la capitolul 5

1. Implementarea procesului de fermentației anaerobă la scară industrială, în cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup”, a fost realizată cu succes, folosind un substrat compus din aproximativ 2324,67 m^3 borhot lichid și 988,33 m^3 dejecții bovine per lot de 3313 m^3, demonstrând astfel posibilitatea valorificării exclusive a fluxurilor reziduale proprii.

2. Aplicarea DHFA (113,28 g per lot) a condus la o creștere a producției de biogaz de 6 % (46,2%) comparativ cu proba martor de 40,7%, raportat la volumul digestorului, ceea ce confirmă influența pozitivă a SBA asupra procesului de fermentație.

3. Conținutul de metan în biogaz a crescut semnificativ în prezența SBA – de la 60,2% în lotul martor la 65,8% în proba tratată, evidențiind o eficiență mai mare a etapei de metanogeneză și o calitate superioară a biogazului generat.

4. Concentrația de dioxid de carbon (CO_2) a scăzut de la 37,5% în lotul martor la 32,1% în lotul tratat, iar oxigenul rezidual s-a redus de la 1,1% la 0,8%. Aceste rezultate reflectă o intensificare a condițiilor strict anaerobe și o funcționare mai eficientă a procesului fermentativ în prezența SBA.

5. Hidrogenul sulfurat (H_2S) în biogazul brut a fost redus cu aproximativ 0,07% vol în lotul tratat (de la 0,25% vol la 0,18 % vol), ceea ce demonstrează că DHFA poate limita indirect activitatea bacteriilor sulfat-reducătoare sau disponibilitatea precursorilor de sulf.

6. Datele obținute la scară industrială validează rezultatele experimentale anterioare obținute în laborator, confirmând că DHFA își menține efectul antioxidant și în sisteme complexe, cu sarcină organică ridicată și volum mare de reacție.

7. Adaosul de SBA nu a intervine în procesul operațional, fiind compatibilă cu fluxul tehnologic existent și putând fi integrată fără modificări structurale asupra instalației.

8. Prin creșterea cantității de biogaz și a conținutului de metan, utilizarea SBA contribuie direct la sporirea eficienței energetice a procesului, cu potențial de reducere a consumului extern de resurse și creștere a autonomiei energetice a instalației.

9. Valorificarea complexă a borhotului și dejecțiilor prin digestie anaerobă, cu adaos de SBA, se confirmă ca o direcție promițătoare în optimizarea proceselor circulare în industria agroalimentară, contribuind atât la reducerea impactului de mediu, cât și la recuperarea eficientă a resurselor.

SINTEZA REZULTATELOR

Secțiunea de față oferă o sinteză integratoare a rezultatelor obținute în cadrul cercetării, cu evidențierea celor mai relevante constatări experimentale și a corelațiilor stabilite între parametrii analizați. Scopul acestei sinteze este de a reuni datele esențiale privind caracteristicile fizico-chimice ale biomasei agroindustriale investigate, influența aditivilor biologic activi asupra proceselor fermentative, comportamentul redox al sistemelor și implementarea practică a rezultatelor.

Analiza a fost structurată astfel încât să permită o comparație directă între diferitele tipuri de biomasă studiate (borhot de cereale, suc de struguri, tescovină și fracțiile sale), prezentând datele centralizate privind compoziția, potențialul fermentescibil și conținutul de compuși bioactivi (Cap. 3 și 4). De asemenea, sunt sintetizate rezultatele obținute în urma testării SBA în cadrul proceselor de fermentație aerobă și anaerobă (Cap. 3), corelate cu efectele asupra volumelor de CO_2 și CH_4 generate, respectiv asupra dinamicii cinetice a reacțiilor.

În final, sunt sintetizate concluziile practice ale procesului de implementare (Cap. 5), incluzând o analiză energetică și economică a aplicării DHFA în condiții reale.

Tabelul S.1 prezintă o sinteză comparativă a principalilor parametri fizico-chimici analizați în cadrul tipurilor de biomasă studiate: borhot de cereale, suc de struguri, tescovină de struguri, peliță și semințe provenite din tescovină. Analizele experimentale, descrise în Capitolul 2, au permis evidențierea unor diferențe semnificative în ceea ce privește compoziția chimică, conținutul de zaharuri fermentescibile, aciditate, compuși azotați și profilul fibrelor structurale (hemiceluloză, celuloză, lignină), compuși solubili și necesarul chimic de oxigen.

Borhotul de cereale și sucul de struguri s-au evidențiat printr-un conținut semnificativ de zaharuri, susținând potențialul fermentescibil ridicat, conform rezultatelor prezentate în (Capitolul 3, subcapitolul 3.1). Tescovina de struguri și fracțiile solide (peliță și semințe) au prezentat valori ridicate pentru CTS, CCO și compuși structurali recalcitranți, diferențe structurale și compoziționale care justifică variațiile observate în dinamica procesului de fermentație anaerobă și randamentul de biogaz (Capitolul 4, subcapitolul 4.3).

Fracțiunea de peliță s-a remarcat printr-un conținut crescut de polifenoli și compuși solubili, caracteristici care susțin un potențial antioxidant și fermentativ sporit (Capitolul 4, subcapitolul 4.3), în timp ce semințele au indicat o structură mai rigidă și un conținut mai ridicat de azot, ceea ce poate susține procesele microbiene în fazele ulterioare ale digestiei (Capitolul 4, subcapitolul 4.3).

Această analiză comparativă oferă o fundamentare solidă pentru selecția substraturilor optime utilizate în etapele experimentale ulterioare (Capitolele 3–4) și susține interpretarea diferențelor observate în cinetica fermentației și producerea de biogaz.

Tabelul S.1 Tabel de sinteză a parametrilor analizați în diferite tipuri de biomasă*

Indicator	Borhot de cereale	Tescovină de struguri	Pelița din tescovină de struguri	Semințe de struguri
Conținut de zahăr, g/L	26,27 ± 0,91			
pH	3,91 ± 0,07	3,88±0,01	3,59±0,01	4,56±0,01
Aciditate titrabilă, g/L acid sulfuric	3,42± 0,24			
Conținut în azot aminic, mg/L	492,2± 3,6			
Conținut total de solide (CTS), g/kg		398±7	328±4	598±7
Necesarul chimic de oxigen (CCO), g O_2/kg		597±25	387±15	980±25
Compuși solubili totali (polizaharide, CST), g/kg CTS		412±11	580±12	182±14
Hemiceluloză, g/kg CTS		52±3	65±3	32±2
Celuloză, g/kg CTS		147±7	112±12	296±14
Lignină, g/kg CTS		142±14	112±8	181±9
Polifenoli totali, g/kg CTS		18,5±0,5	24,5±0,5	3,2±0,3
Azot total, g N/kg		6,8±0,1	5,1±0,1	12,8±0,1

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Studiul efectuat în Capitolul 3, subcapitolele 3.2 și 3.3, a evidențiat influența diferitelor SBA asupra proceselor fermentative ale borhotului de cereale, analizate atât în regim aerob, cât și anaerob (Tabelul S.2).

În ceea ce privește fermentația aerobă, cele mai ridicate volume de CO_2 au fost înregistrate în prezența tomatinei, sclareolului și vanilinei, ceea ce sugerează o activare accentuată a proceselor biochimice și o accelerare a procesului fermentativ (Capitolul 3, subcap. 3.2). Deși DHFA nu a condus la cel mai mare volum de CO_2, performanțele sale în regim anaerob au fost net superioare.

Tabelul S.2 Tabel de sinteză privind influența substanțelor biologic active asupra emisiilor de CO_2, producției de biogaz și conținutului de metan*

SBA	CO_2, cm^3	Biogaz, dm^3/kg	Metan, dm^3/kg
DHFA	208,62	580	322
Escină	59,27	370	205
Tomatină	233,46	355	202
Sclareol	257,09	315	187
Vanilină	229,64	335	212
Catehina	180,31	329	198
Betulină	86,42	370	225
Mentol	140,56	319	186

**rezultate obținute în cadrul tezei de doctorat*

Fermentația anaerobă a fost marcat influențată de DHFA, care a determinat cea mai ridicată producție de biogaz și cel mai mare conținut de metan, demonstrând o eficiență de conversie remarcabilă a substratului organic în component energetic valoros (Capitolul 3, subcap. 3.3). Betulină și escină au prezentat, de asemenea, un comportament favorabil în regim anaerob, asigurând randamente bune de biometan, însă fără a atinge nivelul generat de DHFA.

Tomatină, deși performantă în generarea de CO_2, a înregistrat o eficiență mai modestă în producerea de metan, ceea ce indică o disociere între comportamentul substanțelor în condiții aerobe și anaerobe. Pe de altă parte, catehina și mentolul au prezentat atât emisii moderate de CO_2, cât și randamente scăzute de biogaz și metan, situându-se astfel în categoria aditivilor cu influență limitată asupra proceselor biochimice analizate. Compararea celor trei indicatori-cheie – CO_2 emis, volumul de biogaz și conținutul de metan – relevă faptul că DHFA reprezintă cel mai eficient aditiv testat, având un impact pozitiv semnificativ asupra ambelor tipuri de fermentație. Această performanță susține ipoteza formulată în introducerea tezei și validează aplicabilitatea DHFA în optimizarea fermentării biomasei, în vederea producerii de bioenergie.

Studiile prezentate în cadrul Capitolului al 4-lea au vizat potențialul fermentativ al biomasei rezultate din industria vitivinicolă – tescovina de struguri, prin compararea a trei fracții distincte: tescovina integrală, pielița și semințele. Experimentele s-au desfășurat în absența aditivilor biologic activi, în vederea evaluării capacității acestor substraturi de a genera biogaz în condiții mezofile. (Capitolul 4, figura 4.10).

Rezultatele au evidențiat diferențe semnificative între cele trei tipuri de biomase. Pielița din tescovină a demonstrat cea mai intensă activitate fermentativă, atât în ceea ce privește cinetica de generare a gazului, cât și volumul total acumulat, ceea ce sugerează o disponibilitate superioară a compușilor organici fermentescibili. În schimb, semințele de struguri s-au remarcat printr-un

randament fermentativ scăzut, cu o acumulare lentă a biogazului și atingerea unui platou prematur, posibil din cauza conținutului ridicat în componente recalcitrante, cum ar fi lignina și uleiurile vegetale.

Tescovina integrală s-a situat la un nivel intermediar, reflectând influența cumulată a fracțiilor solide asupra procesului de digestie anaerobă. Deși nu s-au adăugat substanțe biologic active, performanțele obținute confirmă faptul că biomasa din sectorul vitivinicol este, prin compoziția sa naturală, o sursă valoroasă de substanțe cu activitate biologică, în special polifenoli și azot organic (Capitolul 4, subcap. 4.2–4.3), care contribuie indirect la stimularea fermentației. Aceste constatări susțin premisele utilizării tescovinei ca substrat pentru producerea de biogaz, dar și ca sursă de compuși biologic activi, cu aplicații în biotehnologii integrate în economia circulară.

Rezultatele obținute în cadrul Capitolului al 5-lea demonstrează aplicabilitatea industrială a tehnologiei propuse, axată pe valorificarea deșeurilor din industria alcoolului, în conformitate cu principiile bioeconomiei circulare. Implementarea experimentală, realizată în cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup” (subcap. 5.1), a validat eficiența utilizării acidului dihidroxifumaric ca aditiv biologic activ în procesul de digestie anaerobă a unui substrat mixt format din borhot de cereale și dejecții bovine.

Substanța biologic activă a fost aplicată într-un regim operațional controlat, utilizând instalații tehnologice industriale de tip digestor cu funcționare continuă, iar influența sa a fost analizată prin comparația parametrilor fermentativi ai digestorului tratat (lot experimental) și al celui martor (subcap. 5.1, figura 5.4). În urma tratamentului, s-a constatat o creștere a volumului de biogaz generat și o îmbunătățire semnificativă a compoziției acestuia – în special creșterea conținutului în metan de la 60,2% la 65,8%, reducerea CO_2 și a H_2S (subcap. 5.1, tabelul 5.1). Aceste constatări susțin ipoteza formulată în Capitolul 1, conform căreia aplicarea SBA cu proprietăți antioxidante poate conduce la o intensificare a proceselor fermentative și la obținerea unui biogaz de calitate superioară. În plus, a fost realizată o analiză cost-beneficiu (subcap. 5.2), în baza datelor din actul oficial de implementare, care a evidențiat un raport favorabil între valoarea energiei generate (peste 518 000 kWh, estimat la circa 51 800 euro) și costul aditivului utilizat (sub 34 euro). Această eficiență economică ridicată confirmă potențialul tehnologiei propuse pentru extindere la scară industrială și pentru contribuția sa la reducerea impactului ecologic al deșeurilor agroindustriale.

În concluzie, datele experimentale prezentate în Capitolul al 5-lea, corelate cu cele obținute în cadrul testelor de laborator (Capitolul 3 și 4), oferă o validare concludentă a aplicabilității substanțelor biologic active în optimizarea proceselor de digestie anaerobă, atât din punct de vedere tehnologic, cât și economic.

CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE

Lucrarea de față a abordat complex problema valorificării subproduselor de distilerie și produselor secundare vitivinicole din industria alcoolului, în special borhotul de cereale, prin intermediul fermentației anaerobe, optimizate cu ajutorul SBA cu proprietăți antioxidante. Aceste cercetări au urmărit nu doar obținerea de biogaz de calitate superioară, ci și integrarea proceselor într-un sistem sustenabil care să se alinieze principiilor bioeconomiei circulare. Pe parcursul tuturor etapelor experimentale și analitice, datele obținute au fost relevante și concludente, susținând ipotezele formulate și oferind perspective clare pentru aplicabilitate industrială.

Astfel, în baza cercetărilor efectuate, pot fi formulate următoarele concluzii generale, în concordanță cu obiectivele enunțate:

1. Caracterizarea deșeurilor din industria băuturilor, relevante pentru fermentația aerobă și anaerobă. Au fost identificate și caracterizate tipuri variate de deșeuri agroindustriale (borhot de cereale, suc de struguri, tescovină, pieliță și semințe de struguri), evidențiind diferențe semnificative în compoziția chimică, pH, conținut în zaharuri fermentescibile, polifenoli, fibre structurale și potențial redox. Tescovina și borhotul de cereale s-au dovedit cele mai promițătoare surse de substrat pentru fermentație (Capitolul 2, 3, 4).

2. Caracterizarea și selectarea substanțelor bioactive cu funcționalități redox relevante în fermentație. Au fost selectate opt substanțe biologic active cu potențial redox – DHFA, tomatină, catechina, escină, vanilina, sclareolul, mentolul și betulină – fiecare având caracteristici structurale distincte, ce influențează comportamentul în procesele fermentative. Dintre acestea, DHFA a demonstrat cea mai înaltă capacitate antioxidantă, înregistrând cel mai mare procent de inhibiție a radicalilor DPPH și cea mai mică valoare IC_{50}, ceea ce reflectă o eficiență superioară în captarea radicalilor liberi. Această proprietate antiradicalică accentuată a fost corelată ulterior cu un efect favorabil asupra cineticii fermentației și eficienței procesului anaerob (Capitolul 2, Capitolul 3, Capitolul 5).

3. Analiza proceselor de fermentație aerobă și anaerobă a deșeurilor din industria producției alcoolice. Procesele de fermentație studiate au evidențiat o eficiență variabilă în funcție de natura substratului și de prezența substanțelor biologic active. În fermentația aerobă a borhotului de cereale, tomatină și sclareolul au determinat cele mai ridicate emisii de CO_2, evidențiind un efect accelerativ asupra metabolismului fermentativ (Capitolul 3). În fermentația anaerobă, acidul dihidroxifumaric și betulină s-au remarcat prin capacitatea de a stimula producția de biogaz și de a crește semnificativ conținutul de metan, reflectând un impact favorabil asupra etapei de metanogeneză (Capitolul 3). Astfel, caracterul redox al SBA influențează diferențiat cinetica și

eficiența proceselor fermentative, în funcție de regimul de oxigenare aplicat (Capitolul al-3-lea și al 4-lea).

4. Studiul cineticii de fermentație a biomasei și influenței substanțelor bioactive. Rezultatele au evidențiat influențe diferențiate ale SBA asupra cineticii procesului de fermentație, atât prin accelerarea emisiilor de CO_2, cât și prin sporirea volumului de biogaz și metan. DHFA, escină și betulină s-au remarcat prin efecte semnificative asupra intensificării procesului (Capitolul 3). Totodată, s-a constatat că efectul SBA este dependent de concentrație, cu o eficiență maximă atinsă în intervalul 0,1–0,15 mmol/L, depășirea acestui prag nu a condus la îmbunătățiri suplimentare, sugerând o posibilă saturație enzimatică (Capitolul 3).

5. Calculul computațional al mecanismului procesului de fermentație anaerobă în prezența SBA și descriptorilor de reactivitate. Prin metode DFT au fost calculate valorile HOMO, LUMO, ΔE și potențialul electrostatic pentru structurile moleculare ale SBA selectate. Rezultatele au permis corelarea reactivității teoretice cu comportamentul cinetic observat experimental, contribuind la elucidarea mecanismelor posibile de interacțiune cu enzimele fermentative (Capitolul 4).

6. Caracterizarea concentrației de SBA și a capacității de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri**.** Analizele efectuate au confirmat că tescovina constituie un substrat valoros pentru digestia anaerobă, datorită conținutului ridicat de compuși polifenolici naturali și fibre fermentescibile. Fracțiunile solide – pielița și semințele – s-au remarcat prin concentrații ridicate de polizaharide, azot total și polifenoli, în special catechină, cu potențial redox dovedit. Aceste caracteristici compoziționale susțin atât reactivitatea biologică, cât și conversia eficientă în biogaz, fără necesitatea adăugării externe de substanțe biologic active. Astfel, biomasa vitivinicolă locală se dovedește a fi nu doar un substrat energetic viabil, ci și o sursă naturală de SBA, cu rol catalitic în procesele redox anaerobe (Capitolul 4).

7. Modelarea cineticii procesului de fermentație anaerobă a tescovinei de struguri**.** A fost elaborat un model matematic al cineticii de fermentație anaerobă pe baza parametrilor experimentali, oferind o estimare predictivă a comportamentului tescovinei în digestie. Modelul a evidențiat o bună corelare între datele teoretice și valorile experimentale (Capitolul 4).

8. Studiul implementării controlate a SBA cu efect antioxidant asupra fermentării anaerobe la scară industrială. Aplicarea experimentală a DHFA în cadrul întreprinderii SRL „Garma Grup” a demonstrat fezabilitatea industrială a metodei. A fost obținut un randament de biogaz de 80.000 m^3, cu un conținut de 65,8% metan, ceea ce reflectă eficiența energetică și aplicabilitatea economică a integrării SBA în proces (Capitolul 5).

Recomandări practice

- Se recomandă extinderea cercetărilor asupra unei game mai largi de substanțe biologic active cu funcționalități redox, în special din resurse vegetale autohtone, care pot prezenta un potențial semnificativ de stimulare a proceselor fermentative.
- Tescovina de struguri, în special componentele pieliță și semințe, ar trebui utilizate ca surse valoroase de substrat fermentabil și polifenoli pentru aplicații în digestia anaerobă.
- Optimizarea concentrațiilor de SBA aplicate în funcție de tipul substratului și regimul de fermentație (aerob/anaerob) este esențială pentru evitarea fenomenelor de saturație enzimatică sau inhibiție. Intervalul optim identificat (0,1–0,15 mmol/L) ar trebui utilizat ca reper în aplicații industriale
- Se recomandă extinderea aplicării acidului dihidroxifumaric și în alte tipuri de biomasă agroindustrială, pentru validarea universalității efectului său.
- Digestatul rezultat în urma proceselor de fermentație anaerobă prezintă caracteristici agrochimice promițătoare și necesită a fi evaluat sistematic pentru utilizare ca fertilizant organic, contribuind la închiderea ciclului agricol într-un mod sustenabil
- Se sugerează continuarea cercetărilor pentru optimizarea costurilor de aplicare a SBA în sisteme industriale, inclusiv dezvoltarea de biocatalizatori derivați din surse naturale.
- Se propune integrarea tehnologiei de fermentație anaerobă utilizând SBA în sistemele agroindustriale regionale, în vederea atingerii obiectivelor europene privind neutralitatea climatică și dezvoltarea unei economii circulare.

BIBLIOGRAFIE

1. ADEKUNLE, Kolawole, OKOLIE, John. A review of biochemical process of anaerobic digestion. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2015, vol. 6, pp. 205–212. https://doi.org/10.4236/abb.2015.63020.

2. AHERN, N. A., NUTTELMAN, B. L., BUCKNER, C. D., KLOPFENSTEIN, T., ERICKSON, G. Use of dry-rolled corn, dry or wet distillers grains plus solubles as an energy source in high forage diets for growing cattle. *Nebraska Beef Cattle Reports*, 2011, vol. 600.

3. AHMAD, B., YADAV, V., YADAV, A., RAHMAN, M. U., YUAN, W. Z., LI, Z., & WANG, X. (2020). Integrated biorefinery approach to valorize winery waste: A review from waste to energy perspectives. *Science of the Total Environment*, 2020, vol. 719, p. 137315. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137315.

4. ALAM, M. Z., AHMAD, S., MALIK, A., AHMAD, M. Mutagenicity and genotoxicity of tannery effluents used for irrigation at Kanpur, India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2010, vol. 73, nr. 5, pp. 1620–1628. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.07.009.

5. AL-AWWADI, N., ARAIZ, C., BORNET, A., DELBOS, S., CRISTOL, J.-P., LINCK, N., CROS, G. Extracts enriched in different polyphenolic families normalize increased cardiac NADPH oxidase expression while having differential effects on insulin resistance, hypertension and cardiac hypertrophy in high fructose-fed rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, vol. 53, nr. 1, pp. 151–157. https://doi.org/10.1021/jf048919f.

6. ALONSO, Á., DOMÍNGUEZ, C., GUILLÉN, D., BARROSO, C. Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, vol. 50, nr. 11, pp. 3112–3115. https://doi.org/10.1021/jf0116101.

7. AMBREEN, R., HUSSAIN, S., SARFRAZ, S. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *International Journal of Economic and Environmental Geology*, 2018, vol. 9, nr. 2, pp. 61–65. ISSN 2223-957X.

8. AMENDOLA, D., DE FAVERI, D., SPIGNO, G. Grape marc phenolics: Extraction kinetics, quality and stability of extracts. *Journal of Food Engineering*, 2010, vol. 97, nr. 3, pp. 384–392. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.10.033.

9. AMULYA, K., JUKURI, S., VENKATA MOHAN, S. Sustainable multistage process for enhanced productivity of bioplastics from waste remediation through aerobic dynamic

feeding strategy: Process integration for up-scaling. *Bioresource Technology*, 2015, vol. 188, p. 23. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.070.

10. ANASTASIADI, M., PRATSINIS, H., KLETSAS, D., SKALTSOUNIS, A.-L., HAROUTOUNIAN, S. Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their in vitro antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, 2012, vol. 48, nr. 2, pp. 316–322. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.006.

11. ANDERSON, J. L., SCHINGOETHE, D. J., KALSCHEUR, K. F., HIPPEN, A. R. Evaluation of dried and wet distillers grains included at two concentrations in the diets of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2006, vol. 89, nr. 8, pp. 3133–3142. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72587-5.

12. ANDREWS, John. Kinetic models of biological waste treatment processes. *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, 1971, vol. 2, pp. 5–33.

13. ANGELIDAKI, Ioannis. Effects of free long-chain fatty acids on thermophilic anaerobic digestion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1992, vol. 37, pp. 808–812. https://doi.org/10.1007/BF00174850.

14. APOLINAR-VALIENTE, R., ROMERO-CASCALES, I., GÓMEZ-PLAZA, E., LÓPEZ-ROCA, J. M., RUIZ-GARCÍA, J. M. The composition of cell walls from grape marcs is affected by grape origin and enological technique. *Food Chemistry*, 2015, vol. 167, pp. 370–377. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.030.

15. ARDEKANI, A. M., ZULKALI, M. D. Design aspects of bioreactors for solid-state fermentation: A review. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 2011, vol. 25, nr. 2, pp. 255–266.

16. ARIAS, R. P., LEMENAGER, R. P., UNRUH-SNYDER, L., LAKE, S. L. *The effects of co-ensiling wet distiller's grains plus solubles with corn silage on growth performance of bred beef heifers during late pregnancy*. *In: Proceedings*, 2008, p. 59.

17. ARIMI, M., ZHANG, Y., SVEN-UWE, G. Color removal of melanoidin-rich industrial effluent by natural manganese oxides. *Separation and Purification Technology*, 2015, vol. 150, pp. 286–291. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.07.013.

18. ARIUNBAATAR, J., PANICO, A., ESPOSITO, G., PIROZZI, F., LENS, P. N. L. Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste. *Applied Energy*, 2014, vol. 123, pp. 143–156. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.02.035.

19. ASAM, Z., POULSEN, T., NZAMI, A.-S., RAXIQUE, R., KIELY, G. How can we improve biomethane production per unit of feedstock in biogas plants? *Applied Energy*, 2011, vol. 88, pp. 2013–2018. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.036.

20. ASBAGHI, O., NAZARIAN, B., REINER, Ž., AMIRANI, E., KOLAHDOOZ, F., CHAMANI, M., ASEMI, Z. The effects of grape seed extract on glycemic control, serum lipoproteins, inflammation, and body weight: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytotherapy Research*, 2020, vol. 34, pp. 239–253. https://doi.org/10.1002/ptr.6518.

21. ATKINS, Peter, DE PAULA, Julio. *Atkins' Physical Chemistry*. 10th ed. Oxford: Oxford University Press, 2014. 1064 p. ISBN 978-0-19-969740-3.

22. BACA-BOCANEGRA, B., NOGALES-BUENO, J., HEREDIA, F. J., HERNÁNDEZ-HIERRO, J. M. Optimization of protein extraction of oenological interest from grape seed meal using design of experiments and response surface methodology. *Foods*, 2021, vol. 10, nr. 1, art. 79. https://doi.org/10.3390/foods10010079.

23. BARAJAS-ÁLVAREZ, P., GONZÁLEZ-ÁVILA, M., ESPINOSA-ANDREWS, H. Recent advances in probiotic encapsulation to improve viability under storage and gastrointestinal conditions and their impact on functional food formulation. *Food Reviews International*, 2021, vol. 39, nr. 2, pp. 1–22. https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1928691.

24. BARCIA, M. T., PERTUZATTI, P. B., GÓMEZ-ALONSO, S., GODOY, H. T., HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of grape and winemaking by-products of Brazilian hybrid cultivars BRS Violeta and BRS Lorena. *Food Chemistry*, 2014, vol. 159, pp. 95–105. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.163.

25. BARROS, A., GIRONÉS-VILAPLANA, A., TEIXEIRA, A., COLLADO-GONZÁLEZ, J., MORENO, D., GIL-IZQUIERDO, A., DOMÍNGUEZ-PERLES, R. Evaluation of grape (Vitis vinifera L.) stems from Portuguese varieties as a resource of (poly)phenolic compounds: A comparative study. *Food Research International*, 2014, vol. 65, pp. 375–384. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.021.

26. BERES, C., COSTA, G., CABEZUDO, I., DA SILVA-JAMES, N., TELES, A., CRUZ, A. P., FREITAS, S. P. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 2017, vol. 68, pp. 581–594. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.017.

27. BERES, C., FREITAS, S. P., GODOY, R. L. O., OLIVEIRA, D. C. R., DELIZA, R., IACOMINI, M., MELLINGER-SILVA, C., CABRAL, L. M. C. Antioxidant dietary fibre from grape pomace flour or extract: Does it make any difference on the nutritional and functional value? *Journal of Functional Foods*, 2019, vol. 56, pp. 276–285. https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.03.014.

28. BHADRA, R., MUTHUKUMARAPPAN, K., ROSENTRATER, K. A. Characterization of chemical and physical properties of distillers dried grain with solubles (DDGS) for value added uses. *Transactions of the ASABE*, 2007, vol. 50, nr. 6, pp. 1983–1992. https://doi.org/10.13031/2013.22861.

29. BHARAGAVA, R. N., CHANDRA, R., RAI, V. Isolation and characterization of aerobic bacteria capable of the degradation of synthetic and natural melanoidins from distillery effluent. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, vol. 25, pp. 737–744. https://doi.org/10.1007/s11274-008-9944-7.

30. BHARAGAVA, Ram Naresh, CHANDRA, Ramesh. Effect of bacteria treated and untreated post-methanated distillery effluent (PMDE) on seed germination, seedling growth and amylase activity in Phaseolus mungo L. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, vol. 180, nr. 1–3, pp. 730–734. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.04.100.

31. BIANCO, Antonella, UCCELLA, Nicola. Biophenolic components of olives. *Food Research International*, 2000, vol. 33, nr. 6, pp. 475–485. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00072-7.

32. BIRGHILĂ, Semaghiul. *Chimie analitică cantitativă: gravimetrie și volumetrie*. Constanța: Ovidius University Press, 2011. 178 p. ISBN 978-606-11-1893-9.

33. BLACKBURN, Ethel V., TIMMONS, Charles J. The photocyclisation of stilbene analogues. Quarterly Reviews, *Chemical Society*, 1969, vol. 23, pp. 482–503. https://doi.org/10.1039/QR9692300482.

34. BOLOCAN, N., DUCA, Gh. Dihydroxyfumaric Acid. Transformations, Importance and Applications, New Derivatives: Review of Experimental and Theoretical Research. În: *Fundamental and Biomedical Aspects of Redox Processes*, Duca Gh., Vaseashta A. (ed.). U.S.A.: IGI Global, 2023, vol. 1, cap. 9, pp. 198–223.

35. BOOKWALTER, G. N., WARNER, K., WALL, J. S., WU, Y. V., KWOLEK, W. F. Corn distillers' grains and other by-products of alcohol production in blended foods. II. Sensory, stability and processing studies. *Cereal Chemistry*, 1984, vol. 61, nr. 6, pp. 509–513.

36. BOTHAST, Roger S. Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005, vol. 67, pp. 19–25. https://doi.org/10.1007/s00253-004-1819-8.

37. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 1995, vol. 28, nr. 1, pp. 25–30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

38. BRÁNYIK, T., SILVA, D., BASZCZYŇSKI, M., LEHNERT, R., SILVA, J. A. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. *Journal of Food Engineering*, 2012, vol. 108, pp. 493–506. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.020.

39. BRÁNYIK, T., VICENTE, A. A., DOSTÁLEK, P., TEIXEIRA, J. A. A review of flavour formation in continuous beer fermentations. *Journal of the Institute of Brewing*, 2008, vol. 114, nr. 1, pp. 3–13. https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00299.x.

40. BRENES, A., VIVEROS, A., GOÑI, I., CENTENO, C., SÁYAGO-AYERDI, S., ARIJA, I., SAURA-CALIXTO, F. Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. *Poultry Science*, 2008, vol. 87, nr. 2, pp. 307–316. https://doi.org/10.3382/ps.2007-00297.

41. BRISOLARA, Kari Fitzmorris, QI, Yinan. Biosolids and Sludge Management. *Water Environment Research*, 2015, vol. 87, nr. 10, pp. 1147–1166. https://doi.org/10.2175/106143015X14338845155507.

42. BRUMMELER, Everhardus H. Methanogenesis in an upflow anaerobic sludge blanket reactor at pH 6 on an acetate-propionate mixture. *Applied and Environmental Microbiology*, 1985, vol. 49, nr. 6, pp. 1472–1477. https://doi.org/10.1128/aem.49.6.1472-1477.1985.

43. BRYERS, James D. Structured modelling of the anaerobic digestion of biomass particulates. *Biotechnology and Bioengineering*, 1985, vol. 27, pp. 638–649. https://doi.org/10.1002/bit.260270616.

44. BUENAVISTA, R. M. E., SILIVERU, K., ZHENG, Y. Utilization of distiller's dried grains with solubles: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2021, vol. 5, 100195 p. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100195.

45. BUFFIÈRE, P., LOISEL, D., BERNET, N., DELGENÈS, J. P. A comprehensive method for organic matter characterization in solid wastes in view of assessing their anaerobic biodegradability. *Water Science and Technology*, 2008, vol. 58, nr. 7, pp. 1379–1384. https://doi.org/10.2166/wst.2008.517.

46. CALDAS, T., TONON, R. V., MUJICA-PAZ, H., HUBINGER, M. D. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 2018, vol. 111, pp. 86–91. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.012.

47. CAÑADAS, R., GONZÁLEZ-MIQUEL, M., GONZÁLEZ, E. J., DÍAZ, I., RODRÍGUEZ, M. Hydrophobic eutectic solvents for extraction of natural phenolic antioxidants

from winery wastewater. *Separation and Purification Technology*, 2021, vol. 254, p. 117590 https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117590.

48. CARMONA-JIMÉNEZ, Y., IGARTUBURU, J. M., GUILLÉN-SÁNCHEZ, D., GARCÍA-MORENO, M. Fatty acid and tocopherol composition of pomace and seed oil from five grape varieties from Southern Spain. *Molecules*, 2022, vol. 27, nr. 20, p. 6980. https://doi.org/10.3390/molecules27206980.

49. CAZAUDEHORE, G., SCHRAAUWERS, B., PEYRELASSE, C., LAGNET, C., MONLAU, F. Determination of chemical oxygen demand of agricultural wastes by combining acid hydrolysis and commercial COD kit analysis. *Journal of Environmental Management*, 2019, vol. 250, p. 109464. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109464.

50. CHACAR, S., HAJAL, J., SALIBA, Y., BOIS, P., LOUKA, N., MAROUN, R. G., FARES, N. Long-term intake of phenolic compounds attenuates age-related cardiac remodeling. *Aging Cell*, 2019, vol. 18, nr. 2, p. e12894. https://doi.org/10.1111/acel.12894.

51. CHALVIN, C., DREVENSEK, S., CHOLLET, C., GILARD, F., ŠOLIĆ, E. M., DRON, M., SABATHÉ, F., ROLAND, J. C., PÉTRON, L., ROLIN, D., JULLIEN, F. Study of the genetic and phenotypic variation among wild and cultivated clary sages provides interesting avenues for breeding programs of a perfume, medicinal and aromatic plant. *PLoS ONE*, 2021, vol. 16, nr. 7, p. e0248954. ISSN 1932-6203. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248954.

52. CHANDRA, R., BHARAGAVA, R., RAI, V. Melanoidins as major colourant in sugarcane molasses-based distillery effluent and its degradation. *Bioresource Technology*, 2008, vol. 99, pp. 4649–4660. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.057.

53. CHANDRA, R., TAKEUCHI, H., HASEGAWA, T. Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: a review in context to second generation of biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2012, vol. 16, nr. 2, pp. 1462–1476. https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.11.035.

54. CHANG, Shuo-Kui, ZHANG, Yanyan. Protein analysis. In: NIELSEN, S. Suzanne (ed.). *Food analysis*. Cham: Springer, 2017, pp. 315–331. ISBN 978-3-319-45774-7. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_18.

55. CHAUDHARY, Richa, ARORA, Meenakshi. Study on distillery effluent: chemical analysis and impact on environment. *International Journal of Advanced Engineering Technology*, 2011, vol. 2, nr. 2, pp. 352–356.

56. CHEDEA, V., TOMOIAGĂ, L., MACOVEI, Ș., MĂGUREANU, D., ILIESCU, M., BOCSAN, I., POP, R. Antioxidant/pro-oxidant actions of polyphenols from grapevine and wine by-products – base for complementary therapy in ischemic

heart diseases. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2021, vol. 8, p. 750508. https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.750508.

57. CHEDEA, Veronica Sanda. *Procyanidins: characterisation, antioxidant properties and health benefits*. Hauppauge, NY: Nova Science Publishers, 2016. ISBN 978-1-5361-0282-6.

58. CHENGOLOVA, Z., IVANOV, Y., GODJEVARGOVA, T. Comparison of identification and quantification of polyphenolic compounds in skins and seeds of four grape varieties. *Molecules*, 2023, vol. 28, nr. 10, p. 4061. https://doi.org/10.3390/molecules28104061.

59. CHIRA, K., SUH, J.-H., SAUCIER, C., TEISSEDRE, P.-L. Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 2008, vol. 6, nr. 2, pp. 75–82. https://doi.org/10.1007/s10298-008-0293-3.

60. CHOWDHARY, P., RAJ, A., BHARAGAVA, R. N. Environmental pollution and health hazards from distillery wastewater and treatment approaches to combat the environmental. *Chemosphere*, 2018, vol. 194, pp. 229–246. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.163.

61. CHOWDHARY, P., YADAV, A., KAITHWAS, G., BHARAGAVA, R. N. Distillery wastewater: a major source of environmental pollution and its biological treatment for environmental safety. In: *Green technologies and environmental sustainability*. Singapore: Springer, 2017, pp. 409–435. https://doi.org/10.1007/978-3-319-50654-8_18.

62. CHURCH, Frank C., SWAISGOOD, Harold E., PORTER, David H., CATIGNANI, George L. Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 1983, vol. 66, nr. 6, pp. 1219–1227. ISSN 0022-0302. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81926-2.

63. COSTA, M. D., DAVIS, R. B., GOLDBERGER, A. L. Heart rate fragmentation: a symbolic dynamical approach. *Frontiers in Physiology*, 2017, vol. 8, p. 827. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00827.

64. CROTEAU, R., DAVIS, E., RINGER, K., WILDUNG, M. (-)-Mentol biosynthesis and molecular genetics. *Naturwissenschaften*, 2005, vol. 92, pp. 562–577. https://doi.org/10.1007/s00114-005-0055-0.

65. CUI, K., LUO, X., XU, K., VEN MURTHY, M. R. Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical

antioxidants. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2004, vol. 28, nr. 5, pp. 771–799. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.05.023.

66. DAS, Aritra, MONDAL, Chanchal. Biogas production from co-digestion of substrates: a review. *International Research Journal of Environmental Sciences*, 2016, vol. 5, nr. 1, pp. 49–57. ISSN 2319–1414.

67. DE BERE, Luc. Anaerobic digestion of solid waste: state of the art. *Water Science and Technology*, 2000, vol. 41, nr. 3, pp. 283–290. https://doi.org/10.2166/wst.2000.0082.

68. DE GAETANO, G., DI CASTELNUOVO, A., DONATI, M. B., IACOVIELLO, L. The Mediterranean lecture: wine and thrombosis – from epidemiology to physiology and back. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*, 2003, vol. 33, nr. 5–6, pp. 466–471. https://doi.org/10.1159/000083847.

69. DE OLIVEIRA, V. R., FERREIRA, F. C., COPLE, M. C., LABRE, T. M., GAMALLO, O., SALDANHA, T. Use of natural antioxidants in the inhibition of cholesterol oxidation: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2018, vol. 17, nr. 6, pp. 1465–1483. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12386.

70. DE SÁ, M., JUSTINO, V., SPRANGER, M. I., ZHAO, Y., HAN, L., SUN, B. Extraction yields and antioxidant activity of proanthocyanidins from different parts of grape pomace: effect of mechanical treatments. *Phytochemical Analysis*, 2014, vol. 25, pp. 134–140. https://doi.org/10.1002/pca.2479.

71. DE VRIES, S., PUSTJENS, A. M., SCHOLS, H. A., HENDRIKS, W. H., GERRITS, W. J. J. Improving digestive utilization of fiber-rich feedstuffs in pigs and poultry by processing and enzyme technologies: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 2012, vol. 178, nr. 3–4, pp. 123–138. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.10.004.

72. DEL MAR CONTRERAS, M., ROMERO-GARCÍA, J. M., LÓPEZ-LINARES, J. C., ROMERO, I., CASTRO, E. Residues from grapevine and wine production as feedstock for a biorefinery. *Food and Bioproducts Processing*, 2022, vol. 134, pp. 56–79. ISSN 0960-3085. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.05.005.

73. DEMIRBAS, Ayhan. Potential applications of renewable energy sources, biomass combustion problems in boiler power systems and combustion related environmental issues. *Progress in Energy and Combustion Science*, 2005, vol. 31, pp. 171–192. https://doi.org/10.1016/j.pecs.2005.02.002.

74. DIETRICH, Andrea M., BURLINGAME, Gary A. Critical review and rethinking of USEPA secondary standards for maintaining organoleptic quality of drinking water.

Environmental Science & Technology, 2015, vol. 49, nr. 2, pp. 708–720. ISSN 0013-936X. https://doi.org/10.1021/es504403t.

75. DUCA, G., COVALIOV, V., COVALIOVA, O., ROMANCIUC, L., **TAȘCA, C.** Studiul proceselor redox în sisteme biochimice în prezența antioxidanților. In: *Procese redox cu transfer de electroni și proton: monografie*. Chișinău: Editura USM, 2023, pp. 211–237. ISBN 978-9975-62-658-3.

76. DUCA, G., COVALIOVA, O., COVACI, E., ROMANCIUC, L., **TAȘCA, C.** Effect of bioactive additives on biomass fermentation from agro-industrial sector. *Journal of Engineering Science*, 2022, vol. 29, nr. 3, pp. 176–188. ISSN 2587-3474. https://doi.org/10.52326/jes.utm.2022.29(3).15.

77. DUCA, G., STURZA, R., COVALIOVA, O., COVACI, E., ROMANCIUC, L., **TAȘCA, C**. Modification of waste biomass digestion in the presence of additives of bioactive substances. In: *Redox processes within environmental and technological contexts*. Vol. 2, cap. 9. SUA: IGI Global, 2023, pp. 149–165. ISSN 2326-9162; eISSN 2326-9170. https://doi.org/10.4018/979-8-3693-0512-6.ch009.

78. ELEJALDE, E., VILLARÁN, M., ALONSO, R. Grape polyphenols supplementation for exercise-induced oxidative stress. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2021, vol. 18, nr. 1. https://doi.org/10.1186/s12970-020-00395-0.

79. ESAZADEH, K., DOLATABADI, J.E.N., ANDISHMAND, H., MOHAMMADZADEH-AGHDASH, H., MAHMOUDOPOUR, M. Cytotoxic and genotoxic effects of tert-butylhydroquinone, butylated hydroxyanisole and propyl gallate as synthetic food antioxidants. *Food Science & Nutrition*, 2024, vol. 12, nr. 10, pp. 7004–7016. ISSN 2048-7177. https://doi.org/10.1002/fsn3.4373.

80. EWALD, P., DELKER, U., WINTERHALTER, P. Quantification of stilbenoids in grapevine canes and grape cluster stems with a focus on long-term storage effects on stilbenoid concentration in grapevine canes. *International Food Research Journal*, 2017, vol. 100, nr. 3, pp. 326–331. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.003.

81. FIRDOS, S., KHAN, A. U., ALI, F. Pharmacological investigation of Aesculus indica aqueous-ethanol extract for its anti-nociceptive action. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 2018, vol. 28, nr. 2, pp. 610–615. ISSN 1018-7081.

82. FOGELMAN, S., ZHAO, H., BLUMENSTEIN, M. A rapid analytical method for predicting the oxygen demand of wastewater. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2006, vol. 386, pp. 1773–1779. https://doi.org/10.1007/s00216-006-0817-3.

83. FRISCH, M. J., TRUCKS, G. W., SCHLEGEL, H. B., SCUSERIA, G. E., ROBB, M. A., CHEESEMAN, J. R. et al. *Gaussian 09, Revision B.01*. Wallingford: Gaussian, Inc., 2009.

84. FUESS, L. T., ROGERI, R. C., ENG, F., DO VALE BORGES, A., BOVIO-WINKLER, P., ETCHEBEHERE, C., ZAIAT, M. Thermophilic fermentation of sugarcane vinasse: process flexibility explained through characterizing microbial community and predicting metabolic functions. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2024, vol. 77, pp. 1339–1351. ISSN 0360-3199. https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2024.06.200.

85. GAMBIER, Fanny. *Valorisation des marcs de raisins épuisés: vers un procédé d'extraction de tannins condensés à grande échelle pour la production d'adhésifs pour panneaux de particules*. Thèse de doctorat. Nancy: Université de Lorraine, 2014.

86. GEORGE, B., KAUR, C., KHURDIYA, D. S., KAPOOR, H. C. Antioxidants in tomato (Lycopersicon esculentum) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 2004, vol. 84, nr. 1, pp. 45–51. ISSN 0308-8146. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00165-1.

87. GÓMEZ-BRANDÓN, M., LORES, M., INSAM, H., DOMÍNGUEZ, J. Strategies for recycling and valorization of grape marc. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2019, vol. 39, nr. 4, pp. 437–450. https://doi.org/10.1080/07388551.2018.1555514.

88. GOMEZ-PINILLA, Fernando, NGUYEN, Tiffany T. Natural mood foods: the actions of polyphenols against psychiatric and cognitive disorders. *Nutrition Neuroscience*, 2012, vol. 15, nr. 3, pp. 127–133. https://doi.org/10.1179/1476830511Y.0000000035.

89. GONÇALVES, Mariana Beatriz da Silva. Wine industry by-products as a source of active ingredients for topical applications. *Phytochemistry Reviews*, 2024, pp. 1–35. https://doi.org/10.1007/s11101-024-10030-4.

90. GONZÁLEZ-CENTENO, M. R., JOURDES, M., FEMENIA, A., SIMAL, S., ROSSELLÓ, C., TEISSEDRE, P.-L. Characterization of polyphenols and antioxidant potential of white grape pomace byproducts (Vitis vinifera L.). *Journal*

of Agricultural and Food Chemistry, 2013, vol. 61, nr. 47, pp. 11579–11587. https://doi.org/10.1021/jf403168k.

91. GUDEJ, Jerzy, TOMCZYK, Michał. Determination of flavonoids, tannins and ellagic acid in leaves from Rubus L. species. *Archives of Pharmacal Research*, 2004, vol. 27, nr. 11, pp. 1114–1119. https://doi.org/10.1007/BF02975114.

92. GUEBAILIA, H., CHIRA, K., RICHARD, T., MABROUK, T., FURIGA, A., VITRAC, X., MÉRILLON, J.-M. Hopeaphenol: the first resveratrol tetramer in wines from North Africa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, vol. 54, nr. 25, pp. 9559–9564. https://doi.org/10.1021/jf062024gn.

93. GUNASEELAN, Velayutham. Anaerobic digestion of biomass for methane production: a review. *Biomass and Bioenergy*, 1997, vol. 13, nr. 1–2, pp. 83–114. https://doi.org/10.1016/S0961-9534(97)00020-2.

94. GURAN, Selma. Sustainable waste-to-energy technologies: gasification and pyrolysis. In: *Sustainable food waste-to-energy systems*. Academic Press, 2018, pp. 141–158. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811157-4.00008-5.

95. HALLIWELL, Barry. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Research*, 1996, vol. 25, nr. 1, pp. 57–74. https://doi.org/10.3109/10715769609145656.

96. HERMANN, L., HERMANN, R., SCHOUMANS, O. F. *Report on regulations governing anaerobic digesters and nutrient recovery and reuse in EU member states*. Wageningen: Wageningen Environmental Research, 2019. https://doi.org/10.18174/476673.

97. HERRERA-BRAVO, J., BELTRÁN-LISSABET, J. F., SAAVEDRA, K., SAAVEDRA, N., HEVIA, M., ALVEAR, M., SALAZAR, L. A. Protective effect of Pinot noir pomace extract against the cytotoxicity induced by polycyclic aromatic hydrocarbons on endothelial cells. *Food and Chemical Toxicology*, 2021, vol. 148, p. 111939. https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111947.

98. HERVERT-HERNÁNDEZ, D., PINTADO, C., ROTGER, R., GOÑI, I. Stimulatory role of grape pomace polyphenols on *Lactobacillus acidophilus* growth. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, vol. 136, nr. 1, pp. 119–122. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.016.

99. HOGAN, S., CANNING, C., SUN, S., SUN, X., ZHOU, K. Effects of grape pomace antioxidant extract on oxidative stress and inflammation in diet-induced obese mice.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, vol. 58, nr. 21, pp. 11250–11256. https://doi.org/10.1021/jf102759e.

100. HOLTON, Thomas A., CORNISH, Elizabeth. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *Plant Cell*, 1995, vol. 7, nr. 7, pp. 1071–1083. https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1071.

101. HU, C., YAN, B., WANG, K. J., XIAO, X. M. Modeling the performance of anaerobic digestion reactor by the anaerobic digestion system model (ADSM). *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2018, vol. 6, nr. 2, pp. 2095–2104. https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.03.018.

102. HUSSAIN, M., CHOLETTE, S., CASTALDI, R. M. An analysis of globalization forces in the wine industry: implications and recommendations for wineries. *Journal of Global Marketing*, 2008, vol. 21, nr. 1, pp. 33–47. https://doi.org/10.1300/J042v21n01_04.

103. IÑIGUEZ-FRANCO, F., SOTO-VALDEZ, H., AURAS, R. Antioxidant activity and diffusion of catechin and epicatechin from antioxidant active films made of poly (l-lactic acid). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, vol. 60, nr. 26, pp. 6515–6523. https://doi.org/10.1021/jf300668u.

104. JAYAPRAKASHA, G. K., SELVI, T., SAKARIAH, K. K. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, 2003, vol. 36, pp. 117–122. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00116-3.

105. JAYAPRAKASHA, G. K., SINGH, R. P., SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, 2001, vol. 73, nr. 3, pp. 285–290. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00298-3.

106. KAMUSOKO, R., JINGURA, R. M., PARAWIRA, W., CHIKWAMBI, Z. Strategies for valorization of crop residues into biofuels and other value-added products. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2021, vol. 15, nr. 6, pp. 1950–1964. https://doi.org/10.1002/bbb.2282.

107. KARATAŞ, Hakan, ERTEKIN, Süleyman. Antimicrobial activities of the essential oils of four *Salvia* species from Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2010, vol. 4, nr. 12, pp. 1238–1240. https://doi.org/10.5897/JMPR10.086.

108. KELZER, J. M., KONONOFF, P. J., GEHMAN, A. M., TEDESCHI, L. O., KARGES, K., GIBSON, M. L. Effects of feeding three types of corn-milling coproducts on milk production and ruminal fermentation of lactating Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 2009, vol. 92, nr. 10, pp. 5120–5132. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2208.

109. KIM, J., PARK, C., KIM, T.-H., LEE, M., KIM, S., KIM, S.-W., LEE, J. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2003, vol. 95, nr. 3, pp. 271–275. https://doi.org/10.1016/S1389-1723(03)80028-2.

110. LACHMAN, J., HEJTMÁNKOVÁ, A., KOTÍKOVÁ, Z., PIVEC, V., FERNANDEZ, E. C. Towards complex utilisation of winemaking residues: characterisation of grape seeds by total phenols, tocols and essential elements content as a by-product of winemaking. *Industrial Crops and Products*, 2013, vol. 49, pp. 445–453. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.022.

111. LAFKA, T.-I., SINANOGLOU, V., LAZOS, E. S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*, 2007, vol. 104, nr. 3, pp. 1206–1214. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.068.

112. LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. Folin–Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. In: *Measurement of antioxidant activity & capacity: recent trends and applications*. 2018, pp. 107–115. ISBN 978-1-4987-5760-5. https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch6.

113. LAPORNIK, B., PROŠEK, M., WONDRA, A. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 2005, vol. 71, nr. 2, pp. 214–222. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036.

114. LAPUERTA, M., RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, J., RAMOS, Á., DONOSO, D., CANOIRA, L. WLTC and real-driving emissions for an autochthonous biofuel from wine-industry waste. *Scientific Reports*, 2021, vol. 11, nr. 1, art. 7528. https://doi.org/10.1038/s41598-021-87008-1.

115. LEE, C., YANG, W., PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*, 1988, vol. 37, pp. 785–789. ISSN 0163-1829. https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785.

116. LEMES, A. C., EGEA, M. B., OLIVEIRA FILHO, J. G. D., GAUTÉRIO, G. V., RIBEIRO, B. D., COELHO, M. A. Z. Biological approaches for extraction of bioactive compounds from agro-industrial by-products: a review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, vol. 9, art. 802543. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.802543.

117. LI, Jinhui, ENGELBERTH, Abigail S. Quantification and purification of lutein and zeaxanthin recovered from distillers dried grains with solubles (DDGS). *Bioresources and Bioprocessing*, 2018, vol. 5, art. 1. https://doi.org/10.1186/s40643-018-0219-3.

118. LI, L., WANG, K., ZHAO, Q., GAO, Q., ZHOU, H., JIANG, J., MEI, W. A critical review of experimental and CFD techniques to characterize the mixing performance of anaerobic digesters for biogas production. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2022, vol. 21, pp. 665–689. https://doi.org/10.1007/s11157-022-09626-z.

119. LIPPI, G., FRANCHINI, M., FAVALORO, E. J., TARGHER, G. Moderate red wine consumption and cardiovascular disease risk: beyond the "French paradox". *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 2010, vol. 31, nr. 1, pp. 59–70. https://doi.org/10.1055/s-0030-1248725.

120. LIU, KeShun. Chemical composition of distillers grains, a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, vol. 59, nr. 5, pp. 1508–1526. https://doi.org/10.1021/jf103512z.

121. LLOBERA, Antoni, CAÑELLAS, Josep. Antioxidant activity and dietary fibre of *Prensal Blanc* white grape (*Vitis vinifera*) by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 2008, vol. 43, nr. 11, pp. 1953–1959. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01798.x.

122. LLOBERA, Antoni, CAÑELLAS, Josep. Dietary fibre content and antioxidant activity of *Manto Negro* red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. *Food Chemistry*, 2007, vol. 101, nr. 2, pp. 659–666. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.025.

123. LU, J., GAVALA, H. N., SKIADAS, I. V., MLADENOVSKA, Z., AHRING, B. K. Improving anaerobic sewage sludge digestion by implementation of a hyper-thermophilic prehydrolysis step. *Journal of Environmental Management*, 2008, vol. 88, nr. 4, pp. 881–889. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2007.04.020.

124. LUPOLI, R., CICIOLA, P., COSTABILE, G., GIACCO, R., MINNO, M. D., CAPALDO, B. Impact of grape products on lipid profile: a meta-analysis of randomized controlled studies. *Journal of Clinical Medicine*, 2020, vol. 9, nr. 2, art. 313. https://doi.org/10.3390/jcm9020313.

125. LUTHRIA, Devanand L. Phenolic acids and antioxidant capacity of distillers dried grains with solubles (DDGS) as compared with corn. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2012, vol. 89, nr. 7, pp. 1297–1304. https://doi.org/10.1007/s11746-012-2025-y.

126. LUTTERODT, H., SLAVIN, M., WHENT, M., TURNER, E., YU, L. Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chemistry*, 2011, vol. 128, nr. 2, pp. 391–399. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.040.

127. MA, J., DUONG, T. H., SMITS, M., VERSTRAETE, W., CARBALLA, M. Enhanced biomethanation of kitchen waste by different pre-treatments. *Bioresource Technology*, 2011, vol. 102, nr. 2, pp. 592–599. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.122.

128. MA, J., ZHAO, Q. B., LAURENS, L. L. M., JARVIS, E. E., NAGLE, N. J., CHEN, S., FREAR, C. S. Mechanism, kinetics and microbiology of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion of algal biomass. *Biotechnology for Biofuels*, 2015, vol. 8, art. 141. https://doi.org/10.1186/s13068-015-0322-z.

129. MAGWAZA, Lembe Samukelo, OPARA, Umezuruike Linus. Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products – a review. *Scientia Horticulturae*, 2015, vol. 184, pp. 179–192. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.01.001.

130. MAHMOUD, N., ZEEMAN, G., GIJZEN, H., LETTINGA, G. Anaerobic stabilisation and conversion of biopolymers in primary sludge – effect of temperature and sludge retention time. *Water Research*, 2004, vol. 38, nr. 4, pp. 983–991. ISSN 0043-1354. https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.10.016.

131. MARWA, B., GAMBIER, F., BROSSE, N. Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium. *Industrial Crops and Products*, 2014, vol. 52, pp. 18–22. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.030.

132. MASUOKA, N., MATSUDA, M., KUBO, I. Characterisation of the antioxidant activity of flavonoids. *Food Chemistry*, 2012, vol. 131, nr. 2, pp. 541–545. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.020.

133. MAZZOLENI, S., LANDI, C., CARTENÌ, F., DE ALTERIIS, E., GIANNINO, F., PACIELLO, L., PARASCANDOLA, P. A novel process-based model of microbial growth: self-inhibition in *Saccharomyces cerevisiae* aerobic fed-batch cultures. *Microbial Cell Factories*, 2015, vol. 14, pp. 1–14. https://doi.org/10.1186/s12934-015-0295-4.

134. MEDOUNI-ADRAR, S., BOULEKBACHE-MAKHLOUF, L., CADOT, Y., MEDOUNI-HAROUNE, L., DAHMOUNE, F., MAKHOUKHE, A., MADANI, K. Optimization of the recovery of phenolic compounds from Algerian grape by-products. *Industrial Crops and Products*, 2015, vol. 77, pp. 123–132. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.039.

135. MENDES, J. A. S., XAVIER, A. M. R. B., EVTUGUIN, D. V., LOPES, L. P. Integrated utilization of grape skins from white grape pomaces. *Industrial Crops and Products*, 2013, vol. 49, pp. 286–291. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.003.

136. MERICO, A., SULO, P., PIŠKUR, J., COMPAGNO, C. Fermentative lifestyle in yeasts belonging to the *Saccharomyces* complex. *The FEBS Journal*, 2007, vol. 274, pp. 976–989. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05645.x.

137. MERLI, R., PREZIOSI, M., ACAMPORA, A. How do scholars approach the circular economy? A systematic literature review. *Journal of Cleaner Production*, 2018, vol. 178, pp. 703–722. ISSN 0959-6526. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.12.112.

138. MERLIN CHRISTY, P., GOPINATH, L. R., DIVYA, D. A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2014, vol. 34, pp. 167–173. https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.010.

139. MERTENS, David R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 2002, vol. 85, nr. 6, pp. 1217–1240. https://doi.org/10.1093/jaoac/85.6.1217.

140. MILINČIĆ, D. D., STANISAVLJEVIĆ, N. S., KOSTIĆ, A. Ž., SOKOVIĆ BAJIĆ, S. S., KOJIĆ, M. O., GAŠIĆ, U. M., PEȘIĆ, M. B. Phenolic compounds and biopotential of grape pomace extracts from *Prokupac* red grape variety. *LWT – Food Science and Technology*, 2021, vol. 138, p. 110739. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110739.

141. MOHAMMADI SHAD, Z., VENKITASAMY, C., WEN, Z. Corn distillers dried grains with solubles: production, properties, and potential uses. *Cereal Chemistry*, 2021, vol. 98, nr. 5, pp. 999–1019. https://doi.org/10.1002/cche.10445.

142. MOLLICA, A., SCIOLI, G., DELLA VALLE, A., CICHELLI, A., NOVELLINO, E., BAUER, M., STEFANUCCI, A. Phenolic analysis and in vitro biological activity of red wine pomace and grape seeds oil derived from *Vitis vinifera L.* cv. Montepulciano d'Abruzzo. *Antioxidants*, 2021, vol. 10, nr. 11, art. 1704. https://doi.org/10.3390/antiox10111704.

143. MONTEIRO, G., MINATEL, I., PIMENTEL, A., GOMEZ, H. A. G., DE CAMARGO, J. M. R., DIAMANTE, M. S., PEREIRA LIMA, G. P. Bioactive compounds and antioxidant capacity of grape pomace flours. *LWT – Food Science and Technology*, 2021, vol. 135, p. 110053. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110053.

144. MUÑOZ, P. A., PÉREZ, K., CASSANO, A., RUBY-FIGUEROA, R. Recovery of anthocyanins and monosaccharides from grape marc extract by nanofiltration membranes. *Molecules*, 2021, vol. 26, art. 2003. https://doi.org/10.3390/molecules26072003.

145. MURASHKINA, T. I., BADEEV, V. A., BADEEVA, E. A., SEREBRYAKOV, D. I. Calibration procedure of a fiber-optic refractometric sensor. In: *2024 International Seminar on Electron Devices Design and Production (SED)*, 2024, pp. 1–5. IEEE. https://doi.org/10.1109/SED63331.2024.10741076.

146. MUSEE, N., LORENZEN, L., ALDRICH, C. Cellar waste minimization in the wine industry: a systems approach. *Journal of Cleaner Production*, 2007, vol. 15, nr. 5, pp. 417–431. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2005.11.004.

147. NAM, A., KWEON, J., RYU, J., LADE, H., LEE, C. Reduction of biofouling using vanilină as a quorum sensing inhibitory agent in membrane bioreactors for wastewater treatment. *Membrane Water Treatment*, 2015, vol. 6, nr. 3, pp. 189–203. https://doi.org/10.12989/mwt.2015.6.3.189.

148. NEL, A. P., VAN RENSBURG, P., LAMBRECHTS, M. G. The influence of different winemaking techniques on the extraction of grape tannins and anthocyanins. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2014, vol. 35, nr. 2, pp. 304–320. ISSN 2224-7904.

149. NUEZ, O., WENCESLAO, G., YU, P. Nutrient variation and availability of wheat DDGS, corn DDGS and blend DDGS from bioethanol plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2009, vol. 89, nr. 10, pp. 1754–1761. https://doi.org/10.1002/jsfa.3652.

150. OFICIUL NAȚIONAL AL VIEI ȘI VINULUI. *Raport anual de activitate pentru anul 2020.* Chișinău: ONVV, 2021. 38 p. Disponibil: https://wineofmoldova.com/wp-content/uploads/2021/10/RAPORT-ANUAL-ONVV-pentru-anul-2020.pdf.

151. OLESZEK, M., TYS, J., WIĄCEK, D., KULIK, M. Lab-scale measurement of biogas yield. *Przemysł Chemiczny*, 2013, vol. 92, nr. 1, pp. 126–130.

152. PAGES DÍAZ, J., PEREDA REYES, I., LUNDIN, M., SARVARI HORVATH, I. Co-digestion of different waste mixtures from agro-industrial activities: kinetic evaluation and synergetic effects. *Bioresource Technology*, 2011, vol. 102, pp. 10834–10840. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.031.

153. PANCHE, A. N., DIWAN, A. D., CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 2016, vol. 5, art. e47. https://doi.org/10.1017/jns.2016.41.

154. PARRY, J., LI, H., LI, J.-R., ZHAO, K., ZHANG, L., REN, S. Antioxidant activity, antiproliferation of colon cancer cells, and chemical composition of grape pomace. *Food and Nutrition Sciences*, 2011, vol. 2, nr. 6, pp. 592–603. https://doi.org/10.4236/fns.2011.26076.

155. PATTI, A.-F., ISSA, G., SMERNIK, R., WILKINSON, K. Chemical composition of composted grape marc. *Water Science and Technology*, 2009, vol. 60, nr. 5, pp. 1265–1271. https://doi.org/10.2166/wst.2009.564.

156. PEIXOTO, C. M., DIAS, M. I., ALVES, M. J., CALHELHA, R. C., BARROS, L., PINHO, S. P., FERREIRA, I. C. F. R. Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. *Food Chemistry*, 2018, vol. 253, pp. 132–138. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.163.

157. PÉREZ-GREGORIO, R., GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L., RIVERO-PÉREZ, M. D., GARCÍA-LOMILLO, J., MUÑIZ, P. The effects of heat treatment on the phenolic composition and antioxidant capacity of red wine pomace seasonings. *Food Chemistry*, 2017, vol. 221, pp. 1723–1732. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.113.

158. PETTIGREW, James E. The role of distillers dried grains with solubles in swine nutrition. *Journal of Animal Science*, 2008, vol. 86, nr. 7, pp. 2254–2263. https://doi.org/10.2527/jas.2007-0717.

159. PIETTA, Pier-Giorgio. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 2000, vol. 63, nr. 7, pp. 1035–1042. https://doi.org/10.1021/np9904509.

160. PING, L., BROSSE, N., SANNIGRAHI, P., RAGAUSKAS, A. J. Evaluation of grape stalks as a bioresource. *Industrial Crops and Products*, 2011, vol. 33, nr. 1, pp. 200–204. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.009.

161. PLĂMĂDEALĂ, V., SIURIS, A., RUSU, A., BULAT, L. Cercetări privind valorificarea ca îngrăşământ a deşeurilor din industria vinicolă şi cea de producere a alcoolului etilic. In: *Ştiinţa Agricolă*, 2016, nr. 1, pp. 3–8. ISSN 1857-0003.

162. POP, C., ROTAR, A. M., SALANŢĂ, L., SOCACI, S., RANGA, F., SOCACIU, C. Thermal stability study of the grape seeds extracts in the aqueous solutions. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 2015, vol. 72, nr. 1, pp. 91–92. https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:11119.

163. PROZIL, S. O., EVTUGUIN, D. V., CRUZ LOPES, L. P. Chemical composition of grape stalks of *Vitis vinifera* L. from red grape pomaces. *Industrial Crops and Products*, 2012, vol. 35, nr. 1, pp. 178–184. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.035.

164. RAFIQUE, R., POULSEN, T. G., NIZAMI, A.-S., ASAM, Z.-Z., MURPHY, J. D., KIELY, G. Effect of thermal, chemical and thermo-chemical pretreatments to enhance methane production. *Energy*, 2010, vol. 35, nr. 11, pp. 4556–4561. https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.07.011.

165. RAUF, A., IMRAN, M., ABU-IZNEID, T., HAQ, I.-U., PATEL, S., PAN, X., SULERIA, H. A. R. Proanthocyanidins: a comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, vol. 116, p. 108999. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108999.

166. RAUSCH, Kurt D., BELYEA, Robert L. The future of coproducts from corn processing. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2006, vol. 128, nr. 1, pp. 47–86. https://doi.org/10.1385/ABAB:128:1:047.

167. REN, J., LI, Z., LI, X., YANG, L., BU, Z., WU, Y., LI, Y., ZHANG, S., MENG, X. Exploring the mechanisms of the antioxidants BHA, BHT, and TBHQ in hepatotoxicity,

nephrotoxicity, and neurotoxicity from the perspective of network toxicology. *Foods*, 2025, vol. 74, nr. 7, p. 1095. ISSN 2304-8158. https://doi.org/10.3390/foods14071095.

168. RIBEIRO, V., BEDE, T., ROCHA, G., BARROSO, S., VALENÇA, S., AZEREDO, V. High fat diet and high polyphenols beverages effects in enzymatic and non-enzymatic antioxidant activity. *Nutrición Hospitalaria*, 2017, vol. 35, nr. 1, pp. 169–175. https://doi.org/10.20960/nh.1219.

169. RIVERA-DOMÍNGUEZ, M., YAHIA, E. M., WLODARCHAK, N., KUSHAD, M. M. Identification and quantification of phenolic compounds in grapes. *Acta Horticulturae*, 2010, vol. 877, pp. 1233–1240. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.877.168.

170. ROBBINS, R. John. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, vol. 51, nr. 10, pp. 2866–2887. https://doi.org/10.1021/jf026182t.

171. RODRÍGUEZ-ESPARZA, E., ZANELLA-CALZADA, L. A., OLIVA, D., HEIDARI, A. A., ZALDIVAR, D., PÉREZ-CISNEROS, M., KOK FOONG, L. An efficient Harris hawks-inspired image segmentation method. *Expert Systems with Applications*, 2020, vol. 155, p. 113428. https://doi.org/10.1016/j.eswa.2020.113428.

172. RONDEAU, P., GAMBIER, F., JOLIBERT, F., BROSSE, N. Compositions and chemical variability of grape pomaces from French vineyard. *Industrial Crops and Products*, 2013, vol. 43, pp. 251–254. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.053.

173. ROSENTRATER, Kurt A., KRISHNAN, Padmanaban G. *Incorporating distillers grains in food products.* Cereal Foods World, 2006, vol. 51, nr. 2, 52–61 p.

174. RUCH, R.J., CHENG, S.J., KLAUNIG, J.E. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. În: Carcinogenesis, 1989, vol. 10, nr. 6, p. 1003–1008. ISSN 0143-3334. DOI: https://doi.org/10.1093/carcin/10.6.1003.

175. RZEPPA, S., BITTNER, K., DOLL, S., DÄNICKE, S., HUMPF, H.-U. *Urinary excretion and metabolism of procyanidins in pigs.* Molecular Nutrition & Food Research, 2012, vol. 56, nr. 4, 653–665 p. https://doi.org/10.1002/mnfr.201100471.

176. SABIROV, Rustam Z., OKADA, Yasunobu. *ATP release via anion channels*. Purinergic Signalling, 2005, vol. 1, 311–328 p. ISSN 1573-9546. https://doi.org/10.1007/s11302-005-1557-0.

177. SALEHI, B., MISHRA, A. P., NIGAM, M., SENER, B., KILIC, M., SHARIFI-RAD, M., SHARIFI-RAD, J. *Resveratrol: A double-edged sword in health*

benefits. Biomedicines, 2018, vol. 6, nr. 3, art. 91.https://doi.org/10.3390/biomedicines6030091.

178. SALIM, H. M., KRUK, Z. A., LEE, B. D. *Nutritive value of corn distillers dried grains with solubles as an ingredient of poultry diets: A review.* World's Poultry Science Journal, 2010, vol. 66, nr. 3, 411–432 p.https://doi.org/10.1017/S0043933910000504.

179. SALTER, Andrew M., DALE, Michael. *Anaerobic digestion of verge cuttings for transport fuel.* Waste and Resource Management, 2007, vol. 160, nr. 2, 105–112 p. https://doi.org/10.1680/warm.2007.160.3.105.

180. SAMALA, A., SRINIVASAN, R., YADAV, M. P., KIM, T. J., PREWITT, L. *Xylo-oligosaccharides production by autohydrolysis of corn fiber separated from DDGS.* BioResources, 2012, vol. 7, nr. 3, 3038–3050 p.DOI:10.1016/j.fbp.2014.04.004.

181. SAUNDERS, J. A., ROSENTRETER, K. A., KRISHNAN, P. G. *Removal of color pigments from corn distillers dried grains with solubles (DDGS) to produce an upgraded food ingredient.* Journal of Food Research, 2013, vol. 2, nr. 5, 111–123 p.DOI:10.5539/jfr.v2n5p111.

182. SHIN, E. C., SHURSON, G. C., GALLAHER, D. D. *Antioxidant capacity and phytochemical content of 16 sources of corn distillers dried grains with solubles (DDGS).* Animal Nutrition, 2018, vol. 4, nr. 4, 435–441 p.https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.07.003..

183. SINGH, Ruchira, WANGEMANN, Philine. Free radical stress-mediated loss of Kcnj10 protein expression in stria vascularis contributes to deafness in Pendred syndrome mouse model. *American Journal of Physiology – Renal Physiology*, 2008, vol. 294, nr. 1, pp. F139–F148. https://doi.org/10.1152/ajprenal.00433.2007.

184. SINGHA, P., MUTHUKUMARAPPAN, K., KRISHNAN, P. Influence of processing conditions on apparent viscosity and system parameters during extrusion of distiller's dried grains-based snacks. *Food Science & Nutrition*, 2018, vol. 6, nr. 1, pp. 101–110. https://doi.org/10.1002/fsn3.534.

185. SIQUEIRA, J. G., RODRIGUES, C., DE SOUZA VANDENBERGHE, L. P., WOICIECHOWSKI, A. L., SOCCOL, C. R. Current advances in on-site cellulase production and application on lignocellulosic biomass conversion to biofuels: a review. *Biomass and Bioenergy*, 2020, vol. 132, art. 105419. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105419.

186. SMOLKA, T., SCHALLER, T., SUSTMANN, R., BLÄSER, D., BOESE, R. Structure and properties of cocrystals of phenazine and fumaric-, 2,3-dihydroxyfumaric-, and oxalic acid. *Crystal Growth & Design*, 2005, vol. 5, nr. 1, pp. 31–37. ISSN 1528-7483. https://doi.org/10.1021/cg049794b.

187. SOUSA, R., AMARAL, C., FERNANDES, J., FRAGA, I., SEMITELA, S., BRAGA, F., SAMPAIO, A. Hazardous impact of vinasse from distilled winemaking by-products in terrestrial plants and aquatic organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, vol. 183, art. 109493. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109493.

188. SOUZA DA COSTA, B. S., SOLDEVILLA MURO, G., OLIVÁN GARCÍA, M., MOTILVA, M. J. Winemaking by-products as a source of phenolic compounds: comparative study of dehydration processes. *LWT – Food Science and Technology*, 2022, vol. 165, art. 113774. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113774.

189. SPATAFORA, C., BARBAGALLO, E., AMICO, V., TRINGALI, C. Grape stems from Sicilian *Vitis vinifera* cultivars as a source of polyphenol-enriched fractions with enhanced antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 2013, vol. 54, nr. 2, pp. 542–548. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.007.

190. SPIGNO, G., TRAMELLI, L., FAVERI, D. M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 2007, vol. 81, nr. 1, pp. 200–208. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021.

191. SPIGNO, Gabriella, DE FAVERI, Domenico M. Antioxidants from grape stalks and marc: influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineering*, 2007, vol. 81, nr. 1, pp. 793–801. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.020.

192. SRI HARSHA, Prakash, LAVELLI, Valentina. Use of grape pomace phenolics to counteract endogenous and exogenous formation of advanced glycation end-products. *Nutrients*, 2019, vol. 11, nr. 8, art. 1917. https://doi.org/10.3390/nu11081917.

193. STEIN, Hans H., SHURSON, Gerald C. The use and application of distillers dried grains with solubles in swine and poultry diets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2009, vol. 2, nr. 1, pp. 1–11. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1290.

194. STURZA, R., COVACI, E., SUBOTIN, Iu., DRUŢĂ, R., DUCA, Gh. Polifenolii din vinurile moldovenești și implicarea lor în procese antioxidante și anti-stres. In: *Procese redox cu transfer de electroni și protoni*. Chișinău: CEP USM, 2023, pp. 443–474. https://doi.org/10.59295/PRTEP2023_14.

195. TAOFIQ, O., GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M., BARREIRO, M. F., FERREIRA, I. C. F. R. Hydroxycinnamic acids and their derivatives: cosmeceutical significance, challenges and future perspectives – a review. *Molecules*, 2017, vol. 22, art. 281. https://doi.org/10.3390/molecules22020281.

196. **TAȘCA, C**. Characteristics of biomass resulting from agro-industrial processes and possibilities of its evaluation in the context of the circular bioeconomy. *Journal of Engineering Science*, 2024, vol. 31, nr. 3, pp. 156–178. ISSN 2587-3474. https://doi.org/10.52326/jes.utm.2024.31(3).12.

197. **TAȘCA, C**. Valorificarea complexă a deșeurilor din industria de producere a alcoolului. *Journal of Social Sciences*, 2025, nr. 2 (în curs de apariție).

198. TEKA, T., ZHANG, L., GE, X., LI, Y., HAN, L., YAN, X. Stilbenes: source plants, chemistry, biosynthesis, pharmacology, application and problems related to their clinical application – a comprehensive review. *Phytochemistry*, 2022, vol. 197, art. 113128. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113128.

199. THIMOTHE, J., BONSI, I. A., PADILLA-ZAKOUR, O. I., KOO, H. Chemical characterization of red wine grape (*Vitis vinifera* and *Vitis interspecific hybrids*) and pomace phenolic extracts and their biological activity against *Streptococcus mutans*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, vol. 55, nr. 25, pp. 10200–10207. https://doi.org/10.1021/jf0722405.

200. TULI, H. S., SAK, K., GUPTA, D., KAUR, G., AGGARWAL, D., CHATURVEDI PARASHAR, N., SETHI, G. Anti-inflammatory and anticancer properties of birch bark-derived betulină: recent developments. *Plants (Basel)*, 2021, vol. 10, nr. 12, art. 2663. https://doi.org/10.3390/plants10122663.

201. TWIZERIMANA, M., M'ARIMI, M. M., NGANYI, E. O., OMARA, T., OLOMO, E., KAWELAMZENJE, N. A. Anaerobic digestion of cotton yarn wastes for biogas production: feasibility of using sawdust to control digester temperature at room temperature. *Open Access Library Journal*, 2021, vol. 8, pp. 1–15. https://doi.org/10.4236/oalib.1107654.

202. VAN LIER, J. B., TILCHE, A., AHRING, B. K., MACARIE, H., MOLETTA, R., DOHANÝOS, M., VERSTRAETE, W. New perspectives in anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, 2001, vol. 43, nr. 1, pp. 1–18. https://doi.org/10.2166/wst.2001.0001.

203. VAN ROERMUND, CORNELIS W., IJLST, L., LINKA, N., WANDERS, R. J. A., WATERHAM, H. R. *Peroxisomal ATP uptake is provided by two adenine nucleotide transporters and the ABCD transporters*. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2022, vol. 9, article 788921. ISSN 2296-634X. DOI: https://doi.org/10.3389/fcell.2021.788921

204. VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 1991, vol. 74, nr. 10, pp. 3583–3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.

205. VENKATA MOHAN, S., GOUD, R. K., CHIRANJEEVI, P., REDDY, C. N., ROHIT, M. V., KUMAR, A. N., SARKAR, O. Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: critical review and future perspectives. *Bioresource Technology*, 2016, vol. 215, pp. 2–12. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.130.

206. VICOL, C., SÂRGHI, A., FIFERE, A., DUCA, G. Antioxidant co-actions of ascorbic and dihydroxyfumaric acids investigated by EPR spectroscopy. *Chemistry Journal of Moldova*, 2024, vol. 19, nr.1, pp. 29-36. https://doi.org/10.19261/cjm.2024.1190.

207. VICOL, C., GORINCIOI, E., CIMPOIU, C., DUCA, G., BARBA, A. Harnessing synergy: investigating the antioxidant interactions of trans-resveratrol and L-ascorbic acid via UV-Vis and NMR spectroscopies. SSRN preprint, 2024, 17 p. https://doi.org/10.2139/ssrn.4821032.

208. VITTALADEVARAM, Venkata. Fermentative production of microbial enzymes and their applications: present status and future prospects. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 2017, vol. 5, nr. 4, pp. 90–94. https://doi.org/10.7324/JABB.2017.50414.

209. WELCH, Clifford R., WU, Qingli, SIMON, James E. Recent advances in anthocyanin analysis and characterization. *Current Analytical Chemistry*, 2008, vol. 4, nr. 2, pp. 75–101. https://doi.org/10.2174/157341108784587795.

210. WESTERGAARD, Steen L., OLSSON, Lisbeth. A systems biology approach to study glucose repression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and Bioengineering*, 2007, vol. 96, pp. 134–145. https://doi.org/10.1002/bit.21135.

211. WOOD, J., SENTHILMOHAN, S., PESKIN, A. Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pH. *Food Chemistry*, 2002, vol. 77, pp. 155–161. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00329-6.

212. XIE, Shang-Hua. Anaerobic co-digestion: a critical review of mathematical modelling for performance optimization. *Bioresource Technology*, 2016, vol. 222, pp. 498–512. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.015.

213. YAASHIKAA, Prabha R., KUMAR, Pradeep S., VARJANI, Sunita, SARAVANAN, A. Sustainable approaches for removing toxic heavy metal from contaminated water: a comprehensive review of bioremediation and biosorption techniques. *Chemosphere*, 2024, vol. 351, art. 141933. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141933.

214. YAN, L., LIU, Y., WEN, Y., REN, Y., HAO, G., ZHANG, Y. Role and significance of extracellular polymeric substances from granular sludge for simultaneous removal of organic matter and ammonia nitrogen. *Bioresource Technology*, 2015, vol. 179, pp. 460–466. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.042.

215. YEDDES, N., CHÉRIF, J. K., GUYOT, S., SOTIN, H., AYADI, M. T. Comparative study of antioxidant power, polyphenols, flavonoids and betacyanins of the peel and pulp of three Tunisian *Opuntia* forms. *Antioxidants*, 2013, vol. 2, nr. 2, pp. 37–51. https://doi.org/10.3390/antiox2020037.

216. YILMAZ, Yavuz, TOLEDO, Romeo T. Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products. *Food Chemistry*, 2005, vol. 93, nr. 2, pp. 273–278. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.043.

217. YU, Jianmei, AHMEDNA, Mohamed. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. *International Journal of Food Science and Technology*, 2013, vol. 48, pp. 221–237. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03197.x.

218. ZAMORA-ROS, R., ANDRES-LACUEVA, C., LAMUELA-RAVENTÓS, R. M., BERENGUER, T., JAKSZYN, P., MARTÍNEZ, C., GONZALEZ, C. A. Concentrations of resveratrol and derivatives in foods and estimation of dietary intake in a Spanish population: European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Spain cohort. *British Journal of Nutrition*, 2008, vol. 100, nr. 1, pp. 188–196. https://doi.org/10.1017/S0007114507882997.

219. ZÄNGLEIN, M., WILKENS, A., WINTERHALTER, P. Non-flavonoid phenolic compounds. În: MORENO-ARRIBAS, M. V., POLO, M. C. (eds.). *Wine Chemistry and Biochemistry*. New York: Springer, 2009, pp. 509–527. ISBN 978-0-387-74116-1. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74118-5_23.

220. ZHANG, S. Z., PENNER, G. B., YANG, W. Z., OBA, M. Effects of partially replacing barley silage or barley grain with dried distillers grains with solubles on rumen fermentation and milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2010, vol. 93, nr. 7, pp. 3231–3242. https://doi.org/10.3168/jds.2009-3005.

221. ZHAO, H., RUAN, S., TANG, S., GUO, C., LIU, M., QIU, T., MA, T., XU, H. Peppermint essential oil: its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022, vol. 154, art. 113559. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113559.

222. ZHE, Z., XIAN, M., LIU, M., ZHAO, G. Biochemical routes for uptake. *Biotechnology for Biofuels*, 2020, vol. 13, art. 140. https://doi.org/10.1186/s13068-020-1662-x.

223. ZORRAQUÍN-PEÑA, I., ESTEBAN-FERNÁNDEZ, A., GONZÁLEZ DE LLANO, D., BARTOLOMÉ, B., MORENO-ARRIBAS, M. V. Wine-derived phenolic metabolites in the digestive and brain function. *Beverages*, 2019, vol. 5, art. 7. https://doi.org/10.3390/beverages5010007.

ANEXE

Anexa 1

ACT DE IMPLEMENTARE A REZULTATELOR ȘTIINȚIFICE

Data: 25.04.2025

Întreprinderea: „Garma Grup" SRL
Adresa: s. Fîrlădeni, r-nul Hîncești, Republica Moldova
Cod fiscal: 1003605004560
Doctorand: TAȘCA Corina
Instituție: Universitatea de Stat din Moldova
Școala Doctorală: Științe Biologice, Geonomice, Chimice și Tehnologice
Specialitatea 145.01.: Chimie ecologică
Titlul tezei: „Studiul proceselor de oxido-reducere în fermentarea anaerobă a biomasei în prezența antioxidanților"

Subsemnatul, Ungureanu Valentin, în calitate de administrator al întreprinderii „Garma Grup" SRL, confirm prin prezentul act de implementare că rezultatele științifice obținute în cadrul tezei de doctorat menționate mai sus au fost implementate experimental în cadrul procesului tehnologic de fermentare anaerobă a borhotului de cereale.

În mod specific, au fost realizate experimente de fermentare anaerobă pe utilajul tehnologic de tip fermentator, cu un diametru de 24 m și înălțimea 10 m și o capacitate de procesare utilă de 3200 m^3. Volumul de borhot utilizat per lot experimental a fost de aproximativ 2324,67 m^3 și borhot lichid și 988,33 m^3 dejecții bovine, iar substanțele biologic active (SBA) și anume acidul dihiroxifumaric $C_4H_2O_5$ cu proprietăți antioxidante, a fost administrat în concentrație de 0,0003 mmol/L, echivalent cu 113,28 g.

Au fost analizate efectele adăugării substanțelor biologic active asupra cineticii fermentative și asupra compoziției finale a biogazului, în special în ceea ce privește concentrația de metan (CH_4) și valoarea energetică a acestuia. Evaluarea a vizat dinamica procesului de fermentare anaerobă și eficiența conversiei biomasei în gaz combustibil, în prezența compușilor cu activitate antioxidantă.

Implimentarea acestei metode a contribuit la sporirea procesului fermentativ, cu obținerea unui volum estimativ de 80 000 m^3 biogaz, având în vedere un randament de 30 m^3 biogaz/m^3 substrat și o compoziție de 65 % metan.

Rezultatele obținute prezintă un caracter aplicativ valoros și pot contribui la optimizarea proceselor tehnologice în cadrul întreprinderii.

Prezentul act este eliberat pentru a fi anexat la dosarul tezei de doctorat și este validat științific de conducătorii tezei:

Conducători științifici:

DUCA Gheorghe – *academician, dr. hab.*

STURZA Rodica – *doctor habilitat, profesor universitar*

Administrator, "Garma Grup" SRL

Ungureanu Valentin

Doctorand:

Tașca Corina

Conducători științifici:

DUCA Gheorghe

STURZA Rodica

DECLARAŢIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnata, TAȘCA Corina, declar pe răspundere personală, că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări şi realizări științifice. Conștientizez, că în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Numele, prenumele TAȘCA Corina

Semnătura _____

Data _____

Informații personale



Informații personale

Nume, prenume	**TAȘCA CORINA**
Adresă	Str. Alexandru cel Bun nr. 44/2, or. Hîncești, R. Moldova, cod MD 3401
Telefon	Mobil: (+37368)406440
E-mailuri	corina.tasca@ansa.gov.md ; zubic.corina@gmail.com
Naţionalitate	Republica Moldova
Data naşterii	24 iulie 1992
Sex	Feminin

Experienţa profesională

Perioada	**2020 – Prezent**
Funcția sau postul ocupat	Inspector principal Direcția controlul siguranței și calității producției vitivinicole, alcool etilic și producției alcoolice
Numele și adresa angajatorului	Agenția Națională pentru Siguranța Alimentelor
Tipul activității sau sectorul de activitate	
Perioada	**2024 – Prezent**
Funcția sau postul ocupat	Profesor , maistru – instructor
Numele și adresa angajatorului	Școala Profesională Hîncești, Hîncești
Tipul activității sau sectorul de activitate	
Perioada	**01/2021 – 01/2024**
Funcția sau postul ocupat	Cercetător științific stagiar
Numele și adresa angajatorului	Institutul de chimie, Laboratorul chimie fizică și cuantică
Tipul activității sau sectorul de activitate	

Perioada	**09/2015 – 06/2021**
Funcția sau postul ocupat	Profesor, maistru – instructor
Numele și adresa angajatorului	Școala Profesională Hîncești, Hîncești
Tipul activității sau sectorul de activitate	
Perioada	**01/2015 – 07/2020**
Funcția sau postul ocupat	Manager Filială Alimentație Publică – Procesul de producere și comercializarea produselor alimentare
Numele și adresa angajatorului	Cooperativa Raională de Consum, Hîncești
Tipul activității sau sectorul de activitate	

Educaţie şi formare

Perioada	**03/2024**
Calificarea/diploma obținută	Certificat expert degustător
Numele și tipul instituției de invațamînt/Furnizorul de formare	Program de perfecționare „Expert degustător în vinuri și băuturi alcoolice”
Perioada	**08/2023**
Calificare/diploma obținută	Certificat de participare
Numele şi tipul instituţiei de învăţământ / furnizorului de formare	Cursul de instruire bilaterală in limba rusă „Управление оборотом алкогольной продукции для Республики Молдова , China Ntaional Research Institute of food and Fermentation Industrie Corporation Limited, Republica Chineză
Perioada	**06/2021**
Calificare/diploma obținută	Certificat de participare
Numele și tipul instituției de invațamînt/Furnizorul de formare	Verificarea respectării cerințelor caietelor de sarcini pentru producerea strugurilor și produselor vitivinicole cu IGP / DOP, Oficiul Național al Viei și Vinului, Chișinău
Perioada	**2015 - 2017**
Calificarea / diploma obţinută	Diplomă de master
Disciplinele principale studiate / competenţe profesionale dobândite	Calitatea și securitatea produselor alimentare. Tehnologii de fabricare și prelucrare

Numele şi tipul instituţiei de învăţământ / furnizorului de formare	Universitatea Tehnică a Moldovei, Republica Moldova
Perioada	**2011-2015**
Calificarea / diploma obţinută	Diplomă de licență
Disciplinele principale studiate / competenţe profesionale dobândite	**Ingineria produselor alimentare**
Numele şi tipul instituţiei de învăţământ / furnizorului de formare	Universitatea Politehnica din București , România
Aptitudini şi competenţe personale	Spirit organizațional și leadership dobândit prin formare în cercetare și management educațional. Abilitatea de a interacționa cu cei din jur, flexibilitate, empatie față de persoane, comunicabilă.
Limba maternă	Română
Limbi străine cunoscute	Rusa, engleza, franceza

Autoevaluare	Înţelegere		Vorbire		Scriere
	Ascultare	Citire	Participare la conversaţie	Discurs oral	
Limba rusă	**B2**	**B2**	**B1**	**B1**	**B1**
Limba engleză	**B2**	**B2**	**B1**	**B1**	**B1**

Competenţe şi aptitudini organizatorice	• Lucru în echipă • Punctualitate • Colaborare naţională şi internaţională • Coordonare
Competenţe şi aptitudini PC	Windows, MS Office applications: Word, Power Point.
Informaţii suplimentare	1. Proiectul de stat **20.80009.5107.09**: *Studiul proceselor redox în sistemele biologice în prezența compușilor bioactivi naturali și sintetici*, finanțat din bugetul de stat (2020–2023).; funcția – cercetător științific stagiar. 2. Participare în cadrul proiectului bilateral moldo – român nr. PN-IV-P8-8.3-ROMD-2023-0045: Cuști organice și metal – organice redox – active cu derivați ai azulenei pentru inginerie cristalină (AZMETCA)