CZU: 542.943`78:663.2
https://doi.org/10.59295/PRTEP2023_23

23. POLIFENOLII DIN VINURILE MOLDOVENEȘTI ȘI IMPLICAREA LOR ÎN PROCESE ANTIOXIDANTE ȘI ANTI-STRES

Rodica STURZA[1], Ecaterina COVACI[1], Iurie SUBOTIN[1], Raisa DRUȚĂ[1], Gheorghe DUCA[2]
[1]Universitatea Tehnică a Moldovei
[2]Universitatea de Stat din Moldova

Rezumat. Prezentul studiu analizează proprietățile antioxidante și anti-stres corelate polifenolilor din struguri și vin, precum și impactul lor asupra proceselor oxidative din alimente, care afectează diferite clase de compuși: acizii grași, vitamine, aminoacizi. Sunt detaliate compoziția, activitatea antioxidantă și mecanismele posibile de reacție ale flavonoidelor, flavonolilor, flavonelor, antocianiadinelor. A fost cercetată compoziția polifenolilor individuali și activitatea antioxidantă a vinurilor moldovenești de soiuri autohtone. S-a constatat, că vinurile moldovenești autohtone: roșii - Rară Neagră, Fetească Neagră și albe - Feteasca Albă, Feteasca Regală, Viorica prezintă surse veritabile de compuși bioactivi, cu capacitate antioxidantă importantă. Dintre polifenolii importanți, compușii majoritari determinați în toate probele au fost acidul galic, resveratrolul, acidul cafeic, catehina, epicatehina și procianidinele.

Cuvintele cheie: polifenoli, activitate antioxidantă, vinuri moldovenești

POLYPHENOLS FROM MOLDOVA WINES AND THEIR INVOLVEMENT IN ANTIOXIDANT AND ANTI-STRESS PROCESSES

***Summary**. The present study analyzes the related antioxidant and anti-stress properties of grape and wine polyphenols, as well as their impact on oxidative processes in food, affecting different classes of compounds: fatty acids, vitamins, amino acids. The composition, antioxidant activity and possible reaction mechanisms of flavonoids, flavonols, flavones, anthocyanidins are detailed. The composition of individual polyphenols and the antioxidant activity of Moldovan wines of autochthonous varieties were investigated. It was found that the local Moldovan wines: red - Rara Neagra, Feteasca Neagra and white - Feteasca Alba, Feteasca Regala, Viorica present genuine sources of bioactive compounds, with important antioxidant capacity. Among the important polyphenols, the major compounds determined in all samples were gallic acid, resveratrol, caffeic acid, catechin, epicatechin and procyanidins.*

***Keywords**: polyphenols, antioxidant activity, Moldovan wines*

1. INTRODUCERE

În ultimul timp populația a devenit tot mai preocupată de o alimentație corectă și echilibrată. Pentru aceasta organismul uman are nevoie de proteine, grăsimi, glucide și substanțe biologic active. Substanțele biologic active sunt necesare organismului în cantități moderate pentru funcționarea sa optimă, şi deoarecet puține dintre ele sunt sintetizate în organism, este necesar un flux continuu de produse alimentare care să satisfacă aceste necesități [1]. O alimentație săracă în substanțe biologic active contribuie la amplificarea stresului și la apariția carențelor în sănătate [2].

Numeroase cercetări recente s-au concentrat pe studiul aşa-numitului „paradox francez”, fenomen ce se referă la faptul că în Franța incidența letală cauzată de boli cardiovasculare este foarte scăzută, chiar dacă factorii de risc, cum ar fi nivelul ridicat al colesterolului, hipertensiunea, fumatul, sunt aceiași ca şi în alte ţări înalt industrializate [3]. Analizele statistice ale diferitor factori au arătat că acest fenomen se datorează consumului regulat de vin.

Valoarea cardioprotectivă a vinului este datorată existenței substanțelor fenolice în compoziţia chimică a viței de vie (vin, struguri, seminţe, pieliţă), substanţe care participă şi în diverse procese degenerative şi mutagenice. Aceste substanțe posedă un efect antioxidant asupra organismului.

Astfel, au un rol foarte important în prevenirea îmbătrânirii. Mulți dintre medici recomandă ca persoanele ce suferă de scăderi de tensiune arterială, să consume un pahar de vin roșu înainte de masă în vederea reglării tensiunii. Totodată un pahar de vin roșu la o masă copioasă aduce un aport și asupra sistemului imunitar, ocrotind organismul de viroze sau răceli [4].

Pentru producerea vinurilor sunt consumate mai mult de 80% din producția globală de struguri [5]. La prelucrarea strugurilor este generată o cantitate semnificativă de reziduuri, în special tescovinei care constă în principal din coji, semințe și tulpini [6]. Aceste reziduuri sunt în general subestimate și utilizate în hrana animalelor (cu valoare nutritivă scăzută), transformată în îngrășământ și chiar aruncate în mediu cu toate problemele pe care le implică (creșterea acidității solului, fitotoxicitatea, formarea metanului, etc.).

Tescovină de struguri se caracterizează prin conținut ridicat de substanțe fenolice, fapt cauzat de extracția incompletă în procesul de producție [7]. 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. Prin urmare, tescovina de struguri constituie o sursă ieftină pentru extracția de compuși fitochimici care pot fi utilizați în industriile farmaceutice, cosmetice și alimentare [8,9].

2. REZULTATE ŞI DISCUŢII

2.1. Proprietățile antioxidante și anti stres corelate polifenolilor din struguri și vin

Stresul a devenit un fenomen curent în viața omului contemporan. Astăzi, întreaga societate suferă schimbări esențiale în cele mai diverse domenii, toate aceste transformări fiind însoțite de un stres pe care individul îl suportă la nivel psihic, fizic dar și spiritual. Studiile arată o înregistrare a tendinței de reconfigurare a comportamentului uman, ca urmare a dorinței de ″supraviețuire″ în condiții de suprasolicitare fizică și psihică [10]. Din acest motiv, este necesar ca tehnicile anti stres să fie adoptate la noi standarde de performanță. O solicitare psihică moderată poate induce competențe în adaptarea la noi situații și, totodată, poate deveni factor motivațional.

Consecințele stresului sunt multiple, ele fiind capabile să afecteze atât sănătatea individului și comportamentul acestuia, dar și performanțele profesionale. Efectele pot fi grupate în cinci mari categorii, și anume [11,12]:

- efecte subiective: anxietate, agresiune, indiferență, oboseală, indispoziție, scăderea încrederii in sine, nervozitate, sentimental de singurătate;

- efecte comportamentale: comportament impulsiv, tulburări emoționale, predispoziție spre erori, abuz de alcool și cafea, tendința excesiv de a se alimenta și/sau fuma;

- efecte cognitive: diminuarea abilității de a adopta decizii raționale, deficit de concentrare, scăderea atenției, hipersensibilitatea la critică, blocaje mentale;

- efecte fiziologice: creșterea pulsului, a tensiunii arteriale, a glicerinei, uscăciunea gurii, transpirații reci;

- efecte organizaționale: randament scăzut, izolare, lipsa satisfacerii în muncă, absenteism, reducerea responsabilității, scăderea loialității față de organizație, etc.

Antioxidanții sunt compușii ce se supun oxidării sau inhibă reacțiile inițiale de oxigen sau peroxizi, mulți din ei (cum sunt tocoferolii) fiind utilizați drept conservanți în diferite produse (grăsimi, produse alimentare, săpunuri). În industria chimică, antioxidanții se referă de obicei la compuși ce frânează autooxidarea unui produs chimic [13]. Autooxidarea este cauzată în primul rând de reacțiile dintre oxigen și substrat. În general, produsele naturale pot servi ca surse de antioxidanți naturali.

Efectele ale antioxidanților naturali depind de absorbția hidrogenului fenolic în reacțiile radicalice, de stabilitatea radicalului antioxidant natural format în timpul reacțiilor radicalice și de substituenții prezenți în structură. Aceasta este probabil contribuția cea mai semnificativă a capacității antioxidanților naturali de a interveni în reacțiile radicalice [13]. Oxidarea reprezintă un proces redox şi constă în transferul de electroni de la o substanţă la un agent oxidant și formarea posibilă a radicalilor liberi, care provoacă reacţii

distructive în lanţ. Antioxidanţii sunt capabili să stopeze aceste procese prin oxidarea cu radicalii liberi şi blocând astfel acţiunea lor. Aceste proprietăţi sunt caracteristice mai multor familii de compuşi chimici: tioli, fenoli, carotenoizi etc.

Deşi reacţiile de oxidare sunt importante pentru activitatea vitală, radicalii liberi prezintă un grad crescut de reactivitate, reacţionează uşor şi rapid cu alţi compuşi. Radicalii liberi se formează în organismul uman în condiţii fiziologice obișnuite, funcția lor în organism este clar definită; pentru dezagregarea şi neutralizarea lor natura a creat un mecanism de securitate/protecţie multinivelar. Se formează radicali liberi şi în mediul extern, de exemplu prin preluarea de energie din oxigenul molecular, din alte molecule în urma radiaţiilor ultraviolete sau radioactive, etc. [14]. Unii compuși farmaceutici, substanţe chimice utilizate în agricultură, anestetice, solvenţi industriali şi fumul de tutun sunt de asemenea considerați surse de radicali liberi [15].

Radicalii liberi atacă iniţial moleculele acizilor graşi din componența grăsimilor, fapt cauzat de sensibilitatea legăturilor duble prezente. Procesele de iniţiere a peroxidării lipidelor sunt declanşate de un agent extern sau intern (lumină UV, enzime ce catalizează unele procese fiziologice, ioni metalelor de tranziţie.

Ca urmare se formează radicali liberi cu compoziţie relativ simplă, cu masă moleculară mică, de exemplu hidroxil sau superoxid [16]. A doua treaptă, propagarea, constă în interacțiunea radicalilor liberi generaţi în prima fază (superoxid, hidroxil) cu legăturile duble ale acizilor graşi nesaturaţi, și generarea noilor radicali liberi (lipidhidroperoxid). În final, procesul se încheie cu formarea compușilor non-radicalici (de ex. aldehide). Ca urmare, compuși formați (de exemplu cetonele) pot reacționa cu compuşii semnificativi, precum grăsimile, proteinele, ADN.

Radicalii liberi pot modifica şi structura moleculele prezente în alimente [17]. Cel mai cunoscut proces de modificare a produselor alimentare este râncezeala, exprimată prin modificarea mirosului, culorii şi gustului, paralel generându-se produși nocivi pentru organism. Astfel de produși sunt de exemplu aldehidele, cetonele, care cauzează și gustul neplăcut. Procesele oxidative nu numai modifică structura acizilor graşi, dar afectează şi alți compuși, de exemplu vitaminele, şi aminoacizii din componența proteinelor.

Un șir de reacţii ale radicalilor liberi ce decurg în organismele vii sunt importante pentru funcționarea organismului. De exemplu, unele celule produc radicali liberi în scopul de protecție – lupta cu agenţii patogeni din organism. Procesele cu participarea radicalilor liberi şi reacţia de peroxidare a lipidelor din organism duce la formarea compuşilor indispensabili, de exemplu substanţelor de reglare a coagulării sângelui şi a tensiunii, hormoni [18].

Dacă procesele de formare a radicalilor liberi este perturbat, de exemplu de un agent patogen, efort extern sporit (fumatul, administrarea medicamentelor, radiaţii puternice ultraviolete, alimentaţie incorectă/dezechilibrată) şi se produce o cantitate sporită de

radicali, sistemul de protecţie a organismului nu este suficient pentru evitarea efectelor adverse. Astfel, modificarea moleculelor cauzează tulburări în procesele biochimice ale organismului, modifică direcţia multor procese fiziologice, şi în final duce la apariţia bolilor. Cercetările medicale au confirmat influienţa acţiunii radicalilor liberi în apariţia unui şir de boli. Printre acestea pot fi menţionate în primul rând, bolile cardiovasculare, de exemplu ateroscleroza, bolile neoplazice, malformaţii la nivelul ochilor, ale articulaţiilor şi a sistemului nervos [19].

Rezistenţa efectului antioxidanţilor poate fi caracterizată prin aşa-numitul timp de inducţie. Cu cât este mai eficient antioxidantul, cu atât este mai mare perioada de inducţie şi cu atât mai târziu se reflectă oxidarea moleculei oxidate. Potrivit mecanismului de acţiune, antioxidanţii pot fi de ordin primar sau secundar [20]. Cei primari, numiţi şi antioxidanţi de rupere a lanţului sunt compuşi capabili să neutralizeze radicalii liberi, în primul rând, prin anihilarea radicalulu cu transfer de hidrogen în compuşi activi.

Aceşti compuşi relativ stabili nu mai pot participa la propagarea peroxidării lipidice, ajungându-se astfel la stoparea reacţia în lanţ. Antioxidanţii de ordin primar posedă un impact în perioada de inducţie şi în prezenţa lor oxidarea începe mai târziu. Antioxidanţii de ordin primar sunt formaţi, în fond, din molecule fenolice, tocoferoli, acid galic şi derivaţii lui, flavonoizi şi alţi compuşi.

Antioxidanţii secundar împiedică oxidarea lipidelor într-un mod diferit de cel al antioxidanţilor primari, inhibând spre iniţierea (primul pas al peroxidării lipidelor) prin faptul că ei înşişi se oxidează în locul moleculelor lipidice sau transformă produsele intermediare sau finale generate în procesul reacţiilor în forme non-toxice, de exemplu prin reducţie [21]. În categoria antioxidanţilor naturali sunt incluse fosfolipidele care sinergizează cu antioxidanţii de ordin primar sau acidul citric.

Antioxidanții pot fi clasificați în două grupe mari [22]. După natura lor, antioxidanții pot fi: antioxidanți naturali (tocoferolii, polifenolii) și antioxidanți de sinteză (sintetici) (BHA, BHT, etc). Unii din ei sunt polifuncţionali și sunt adesea prezentați ca antioxidanți cu funcțiune multiplă. Datorită mecanismelor de acțiune variate, antioxidanțiii sunt capabili să intervină în toate etapele a reacțiilor radicalice.

După caracterul mecanismului de acțiune deosebim [23]:

- Antioxidanți propriu-ziși sau primari;
- Substanțe care au acțiune antioxidantă, dar care prezintă și alte funcții;
- Substanțe sinergice sau de complexare a metalelor, acestea pot întări acțiunea antioxidanților primari.

În figura 1 este prezentată clasificarea antioxidanţilor după compoziția chimică.

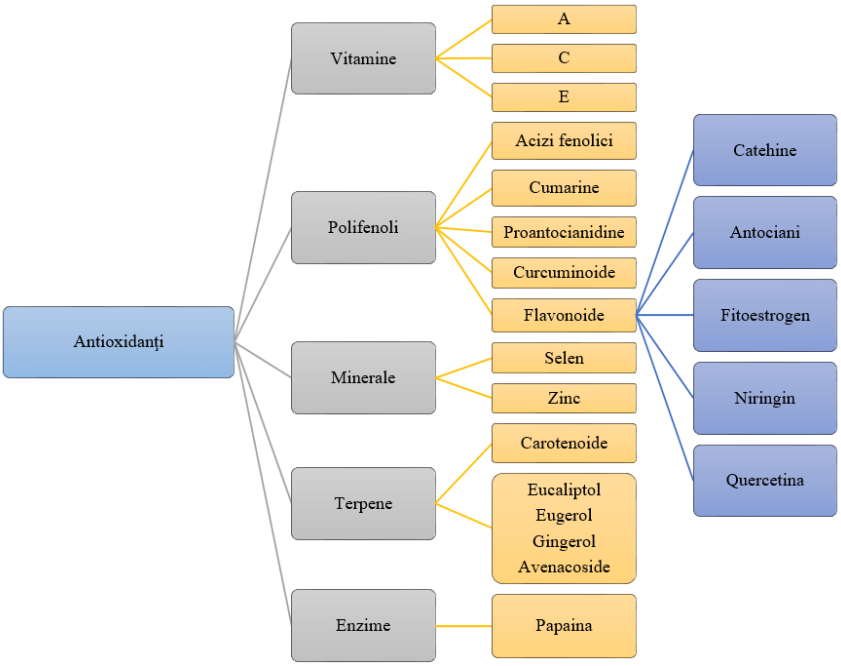


Fig. 1. *Clasificarea antioxidanţilor după natura lor*

Polifenolii reprezintă o clasă de compuşi cu structuri variate, ce manifestă efecte antioxidante multiple. Compuşii fenolici grupează un asamblu de compuşi cu caracter fenolic: acizi fenolici, fenoli volatili, flavone şi flavonoli, antociani şi proantocianidoli, taninuri catechinice şi microfenoli (stilbene, acidul shikimic). Se deosebesc două categorii mari de compuşi fenolici [24,25]:

- compuşi fenolici neflavonici incolori cu nucleu simplu C_6, care se formează în struguri la toate soiurile şi se regăsesc atât în soiurile albe cât şi cele roşii. Din această categorie fac parte acizii fenolici, taninurile, acidul shikimic şi stilbenele (resveratrolul);
- compuşii fenolici flavonici coloraţi cu nucleu C_6-C_3-C_6 (nucleu flavium), ce se formează preponderent în strugurii soiurilor destinate vinurilor roşii. Din această categorie fac parte flavonele şi flavanolii, antocianii şi antocianidinele.

2.2. Caracteristica compoziției și activității antioxidante a polifenolilor din struguri și vin

Compușii fenolici sunt în principal sintetizați din carbohidrați prin intermediul acidului shikimic. Acidul shikimique conduce după *trans*-aminare și desaminare la acizi cinamici și derivații acestora. Acetații conduc la policetesteri sau poliacetați (malonat). Structura compușilor fenolici derivă de la un singur nucleu aromatic cu masă moleculară mică până la taninuri complexe cu mase moleculare mari [26]. Compușii fenolici sunt capabili de

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

Flavonoidele sunt compuși polifenolici ce cuprind 15 atomi de carbon formând o structură C_6-C_3-C_6, două inele aromatice legate printr-o punte din 3 atomi de carbon. Aceştea sunt cei mai numeroşi din toți compușii fenolici. Flavonoidele acţionează diferit în plante ca metaboliți secundar, fiind implicat în procesele de protecţie împotriva razelor UV, pigmentare, fixarea azotului și rezistența la boli [27]. Structura din C_6-C_3-C_6 este produsul celor două căi de sinteză ale compușilor fenolici (Fig. 2). 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 sintetizată, generând astfel tetrahidroxicalcona, care poate să genereze la rândul său, alte flavonoide.

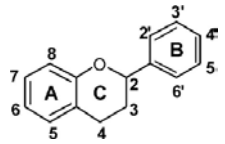


Fig. 2. *Structura flavonoidelor*

Exista mai multe grupe de flavonoide, cele mai însemnate fiind flavonele, flavonolii, flavan-3-oli, izoflavonele, flavanonele și antocianidinele. Izoflavonele nu se conţin în struguri. Structura de bază a flavonoidelor poate suferi multe substituții, grupările hidroxil, de obicei în pozițiile 4,5,7. Majoritatea flavonoidelor există ca glucoside, variind foarte mult în funcție de specie și de natura zaharurilor. Substituenţii modifică solubilitatea flavonoidelor, hidroxilarea și glicozidarea conduc la o hidrofilitate mai mare, în timp ce alți substituenți, cum ar fi metilici, măresc lipofilitatea [28].

Flavonolii sunt compuși extrem de răspândiți. Flavonoli, precum myricetina, qercetina, kaempferolul sunt în majoritatea cazurilor prezenți sub forma de O-glicozide [29]. Legatura este cel mai frecvent poziţionată la al 3 atom de carbon a nucleului aromatic, deși sunt posibile substituții şi în posițiile 5,7,4′,3′ și 5′. Numărul de agliconi este limitat, însă există un număr impunător de derivați. Astfel, doar caempferolul are peste 200 conjugate cu fragmente osidice diferite Există o variabilitate puternică a concentrației de flavonoli în funcție de anotimp și de soiul analizat. 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 poate varia între 10 și 285 mg/kg.

Flavanonele sunt primii produși în sinteza flavonoidelor. Ele se caracterizează prin absența legăturii duble dintre C_2 și C_3 și prin prezența unui centru de chiralitate C_2. La majoritatea flavanonelor depistate în natură inelul B este atașat de inelul aromatic C. Structura

flavanonelor este foarte reactivă și cauzează reacții de hidroxilare, O-metilare și glicozilare. Flavanonele sunt prezente în struguri la concentrații de câteva mg/kg.

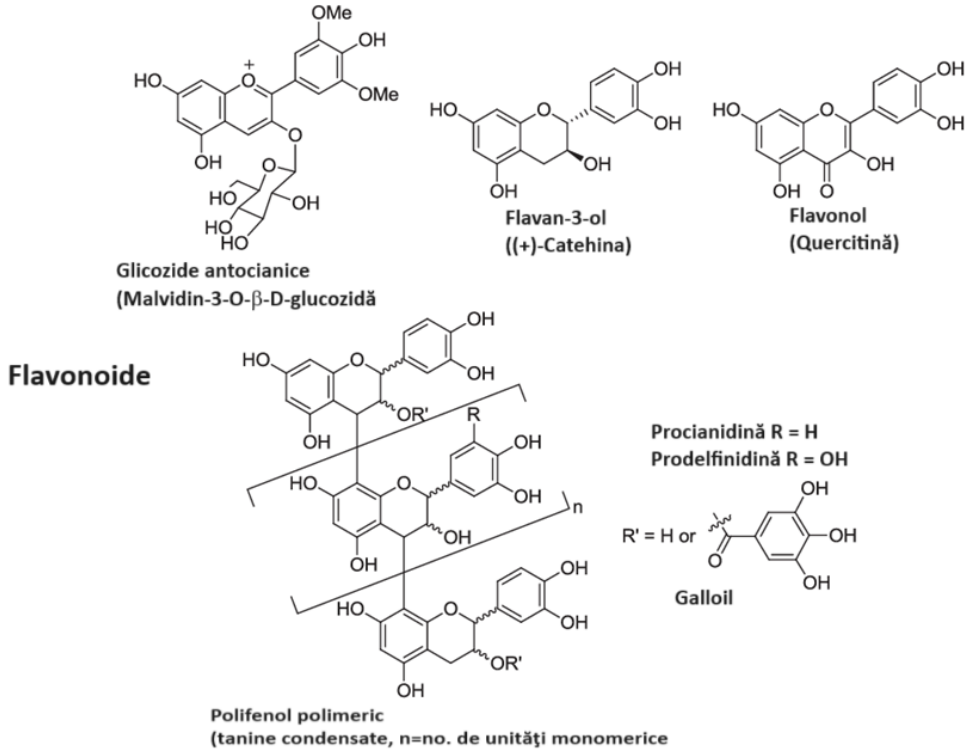


Fig. 3. *Principalele clase de flavonoide*

Flavan-3-olii sunt cea mai complexă grupă de flavonoide [30]. Acești compuși variază de la monomeri simpli (+) - catechină și izomerul său (-) - epicatechină, până la oligomeri și polimeri ai proantocianidinelor (Figura 3). Proantocianidinele sunt formate din catechină și epicatechină cu cuplari oxidative între pozițiile C_4 ale heterociclului și C_6 sau C_8 ale monomerului adiacent. Oligomerii procianidinelor sunt formați de la 2 până la 5 unități de catechine sau epicatechine, polimerii fiind formați din 6 sau mai multe unități. În plus, flavan-3-olii pot fi esterificați cu acid galic sau, alternativ, hidroxilați pentru a forma galocatechine şi galotaninuri. Flavan-3-olii din struguri se găsesc în principal 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). Numărul mediu de unități monomerice, definit ca gradul mediu de polimerizare (DPm), poate ajunge până la 18 într-o fracțiune rezultată din semințe și se apropie de 30 de unități într-un extract din pielița strugurilor.

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 [31]. Flavonele sunt prezente în principal sub formă de glucozide. Strugurii conțin cantități foarte mici de flavone.

Antocianiadinele sunt prezente în regnul vegetal, în principal sub formă de glicozide, exclusiv în strugurii negri la nivelul pieliței (strugurilor albi le lipsesc) [32]. Sunt responsabili de culorile roșu, albastru și violet în funcție de pH-ul mediului. Acești compuși sunt implicați în protecția plantelor de la excesul de lumină solară [33]. Cele mai cunoscute antocianidine sunt pelargonidinaa, cianidin, delphinidina, peonidina și malvidina, însă acești compuși sunt prezenți doar în forma de conjugați glucozilați, antocianidine. Antocianidinele sunt capabile să formeze conjugate cu acizi hidroxicinamici și acizi organici (acid malic și acid acetic).

Spre deosebire de alte specii (hibride) care au cantități ridicate de antociane 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 ei acil. Antocianidinele sunt prezente în struguri în cantităţi de la 500 până la 3.000 mg/kg, dar pot atinge și valori de până la 5.000 mg/kg.

Non-flavonoide. Principalele non-flavonoide de importanță alimentară sunt acizii fenolici, acizii hidroxicinamici și stilbenii (Figura 4) [34].

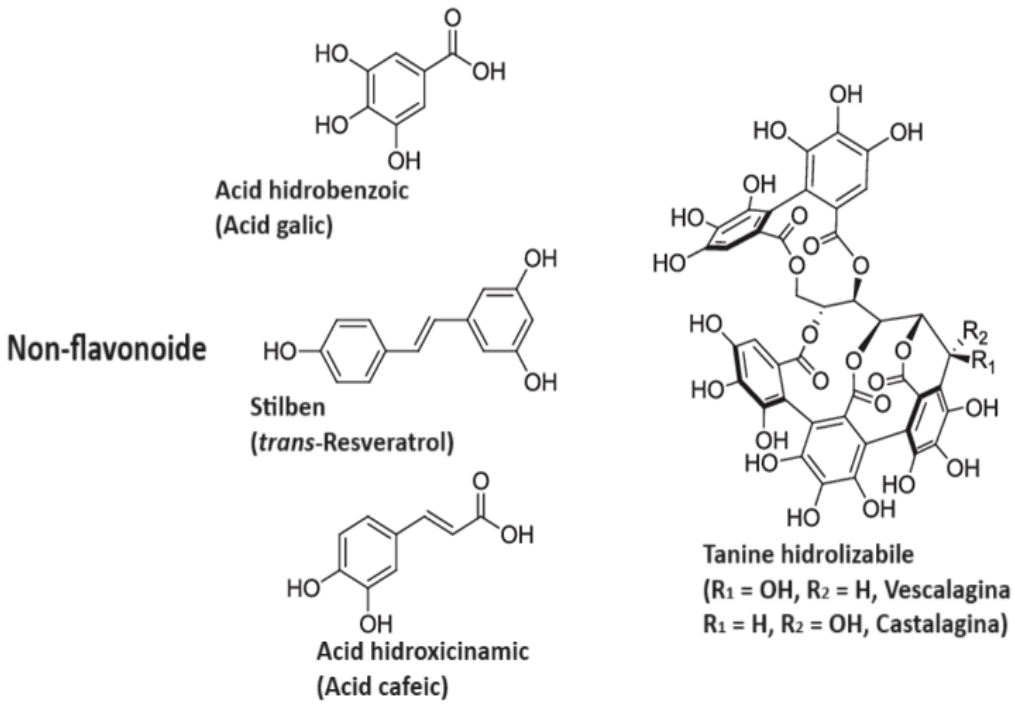


Fig.4. *Structura principalelor non-flavonoide*

Acizi fenolici

Acizii hidroxibenzoici posedă o structură C_6-C_1, compusă dintr-un inel benzenic de care este atașat un lanț alifatic [35]. Printre aceștia pot fi evidenţiaţi acidul vanilic, acidul siringic, acidul gentisic și acidul galic. Compusul principal este acidul galic, care se conține în struguri între 100 și 230 mg/kg.

Acizii hidroxicinamici. Acidul cinamic este un compus C_6-C_3 produs printr-o dezaminare a fenilalaninei catalizată de fenilalanină amoniacolază, acidul paracumaric (*p*-cumaric), fiind apoi produs prin hidroxilarea acidului cinamic [36]. 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 a alcoolului alifatic. Acizii hidroxicinamici cei mai răspândiți sunt acizii cafeic, p-cumaric, ferulic și sinapic. Sunt generați prin serii de hidroxilare și metilare și se acumulează frecvent sub formă de esteri ai acidului tartric: acizi coutaric, caftaric și fertaric, respectiv esterii acizilor *p*-cumaric, ferulic și sinapic. Acești constituenți sunt prezenți în fond în pulpa boabelor de struguri. Componenta majoră a acizilor hidroxicinamici din struguri este acidul caftaric (esterul cafeoil tartric) care poate fi depistat într-o cantitate de aproximativ 200 mg/kg [37].

Stilbenii sunt compuși polifenolici cu o structură C_6-C_2-C_6, două inele benzenice legate printr-o punte de metilen (Figura 4). Sunt produse în plante drept răspuns la atacurile fungice, bacteriene sau virale, fapt demonstrat pentru transresveratrol [38]. Resveratrolul este sintetizat prin condensarea 4-cumarilului cu 3 malonil CoA, 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 fond sub formă de *trans*-resveratrol-3-*O*-glucozide [37]. Au fost identificate în struguri și forme oligomerice ale stilbenilor, cum ar fi palidolul și viniferina, iar mai recent și un tetramer al resveratrolului - hopeafenolul [39].

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 [40]. O asemenea distribuție atestă faptul, că tescovina de struguri rezultată în procesul de vinificație prezintă o sursă extrem de concentrată de compuși bioactivi.

Proantocianidinele, cunoscute și sub numele de tanini condensați și sunt sintetizați ca metaboliți secundari polifenolici prin calea biosintetică flavonoidă. Descoperite în 1947 de către Jacques Masquelier, care a dezvoltat și brevetat tehnici pentru extragerea procianidinelor oligomerice din scoarța de pin și din semințele de struguri, procianidinele sunt importante datorită proprietăților lor biologice și fiziologice [41]. Proantocianidinele

sunt compuşi din fragmente de procianidină și prodelfinidină, legate între ele printr-o legătură C_4-C_8 (Figura 5).

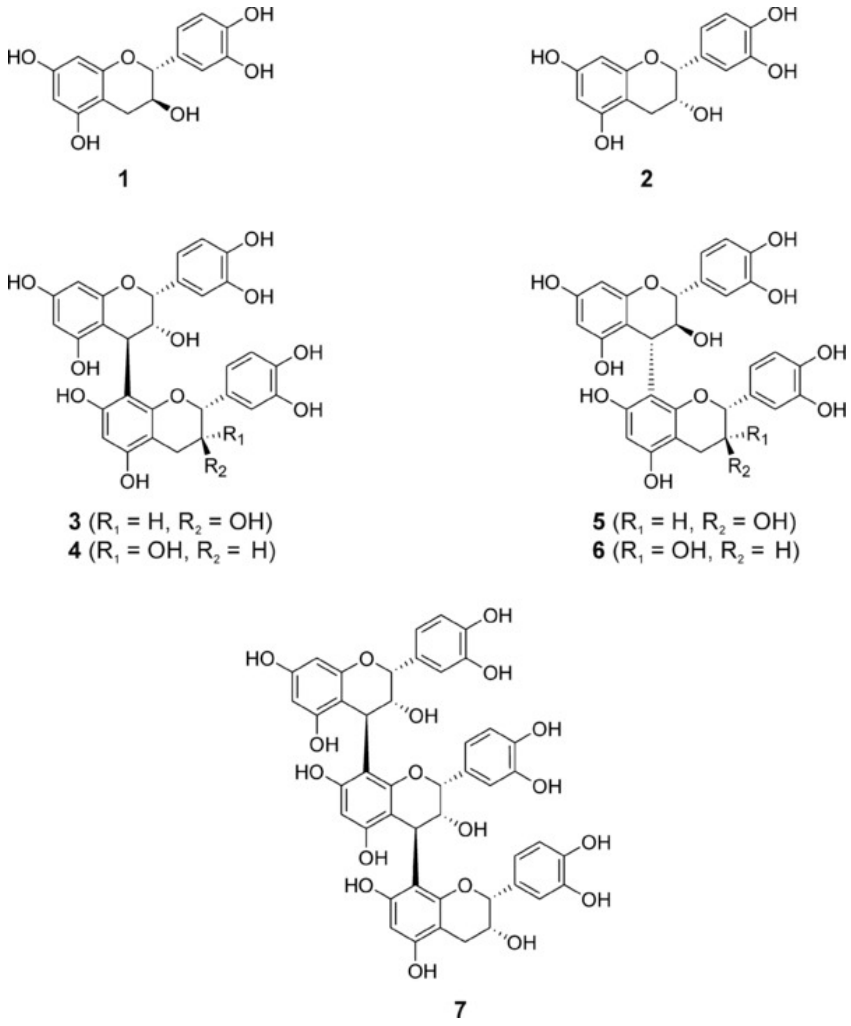


Fig. 5. *Structuri ale flavan-3-olilor și procianidinelor - constituenți principali ai extractului de semințe de struguri: (+) - catechina (1), (-) - epicatechina (2), procianidina B_1 (3), B_2 (4), B_3 (5), B_4 (6) și C_1 (7) [28]*

Taninurile din tescovină de struguri sunt compuse în fond din proantocianidine sau taninuri catehetice. Sunt compuși formați din unități monomerice sau polimerice de flavan-3-oli.

Compușii fenolici din struguri posedă incontestabile proprietăți terapeutice, în special pentru anumite patologii cronice precum ateroscleroza, diabetul, hipertensiunea arterială și anumite tipuri de cancer [42]. Dintre mecanismele de acţiune ale compuşilor fenolici, implicate în prevenirea patologiilor cronice putem menţiona:

– Efectul de captare directă a radicalilor liberi. Strugurii prezintă activitate antioxidantă maximală, 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. Pielița de struguri posedă activitate antioxidantă celulară asupra celulelor adenocarcinomului (EC_{50} = 56,4 mg TPC/mL), puternic corelată cu prezența flavonolilor și antocianilor [43].

– Un efect benefic al antioxidanților endogeni (vitamina E, vitamina C, β-caroten etc.) [44].

– Un efect de „economisire" a enzimelor antioxidante (SOD - superoxid dismutază, catalază, SeGSHPx – glutation peroxidază) [45].

– Un efect important de micşorare a colesterolului și de reechilibrare a lipidelor din sânge (HDL/LDL) [46].

– Efectul de chelatare a cofactorilor de oxidare, acizilor grași și anumitor ioni metalici (Fe^{2+}, Cu^{2+}) [47].

– Un efect inhibitor asupra enzimelor oxidative, cum ar fi ciclooxigenaze şi lipooxigenaze [45].

– Efect asupra sintezei NO în endoteliu la celulele peretelui arterial, ceea ce conduce la vasorelaxare și hiperpolarizare a membranei prin eliberare de potasiu extracelular [48].

– Un efect inhibitor în geneza producerii de NAPH oxidaza în celulele peretelui vascular (aorta toracica şi inimii), rezultând o micşorare a cantităţii de radicali liberi formaţi [49].

Un efect important se datorează prezenței *trans*-resveratrolului. S-a demonstrat că *trans*-resveratrolul posedă efecte benefice asupra bolilor legate de procesele oxidante și/sau inflamatorii. Un studiu a estimat aportul alimentar de 4 stilbene asupra populației adulte spaniole a permis de a media aportului și proveniența acestora [50]. Cel mai răspândit dintre cele patru stilbene studiate a fost *trans*-piceid (53,6 %), urmat de *trans*-resveratrol (20,9 %), *cis*-piceid (19,3 %) și *cis*-resveratrol (6,2 %). Drept surse principale de investigaţii a acestor compuşi au servit vinurile (98,4 %), strugurii și sucurile de struguri (1,6 %), alunele, fisticul și fructele de pădure (0,01 %). Numeroase studii au demonstrat că resveratrolul posedă un potențial antioxidant evidenţiat. Resveratrolul prezintă, de asemenea, activitate antitumorală și este considerat un potențial candidat pentru prevenirea și tratamentul mai multor tipuri de cancer [51]. 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 - antiinflamatoare, anticancerigene, cardioprotectoare, vasorelaxante, fitoestrogenice și neuroprotectoare. S-a raportat că resveratrolul inhibă agregarea de trombocite şi oxidarea

LDL, protejînd ficatul de peroxidarea lipidelor la şobolani, în afară de activităţile sale anticancerogene.

Oligomerii procianidinei din semințele de struguri manifestă efect antioxidant de 20, 50 de ori mai mare în comparaţie cu vitaminele C şi E [52]. Proantocianidinele monomere și polimerice din seminţele de struguri posedă o activitate de baleiaj a radicalilor de superoxid şi hydroxil. De asemenea, s-a reportat că anumiţi polifenoli, de exemplu, epicatechina-3-O-galat, procyanidins B2 și B2-3-O-galat, au posedat o activitate mai evidenţiată de capturare a radicalilor de superoxid la pH 9 decât la pH = 7,5 [52]. Un studiu *în vivo* privind efectele antioxidanţilor a confirmat, că proantocianidinele din seminţele de struguri au o acţiune protectoare mai intensă decît vitamina E, vitamina C, vitamina E si C si β-caroten împotriva peroxidării lipidelor și fragmentării ADN-ului la șoareci. Un alt studiu *in vitro* a arătat că procianidinele din seminţele de struguri ar putea reduce oxidarea acizilor grași polinesaturați din microzomii din ficatul şoarecelui [53].

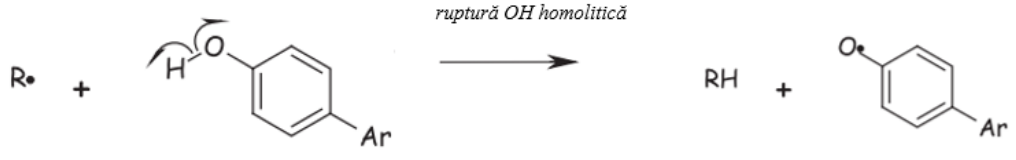
Pe lîngă alte capacităţi, procianidinele din semințe de struguri sunt de asemenea capabile de a inhiba unele enzime ce catalizează formarea unor compuşi care participă la vindecarea inflamaţiei, cum ar fi histamina, proteaza serică, prostaglandina şi leucotrenele [54]. Procianidina este capabilă să împiedice activitatea hialuronidazei, o enzimă protioglican violentă care „atacă" diferite ţesuturi în timpul inflamaţiei. Această activitate a fost asociată cu efectul antihistaminic sau cu capacitatea lor de a consolida membranele celulare de bazofile şi mastocite, care conţin alergeni, împiedicînd astfel hipersensibilitatea la polen şi alergeni alimentari [55].

2.3. Mecanisme de acțiune antioxidantă a polifenolilor din struguri și vin

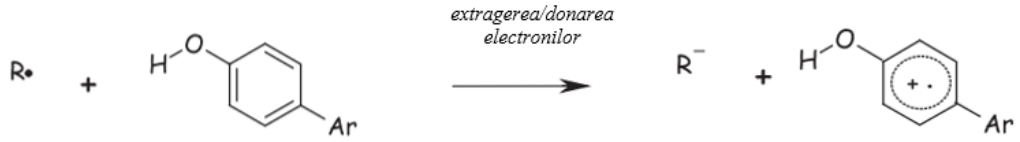
Efectele moleculare responsabile pentru proprietățile antioxidante ale polifenolilor sunt cunoscute prin trei mecanisme principale, care decurg din reacția directă cu radicalii liberi și chelatarea cu metalele libere, acestea din urmă implicate în reacții generând în final radicali liberi (Figura 6) [55].

În calitate de antioxidanți primari, polifenolii inactivează radicalii liberi prin transferul de atom de hidrogen (HAT) (1) şi prin mecanisme de transfer de electroni (SET) (2) [57]. În mecanismul 1, antioxidantul, ArOH, reacționează cu radicalul liber R● transferându-i un atom de hidrogen prin fragmentarea homolotică a legăturii O–H:

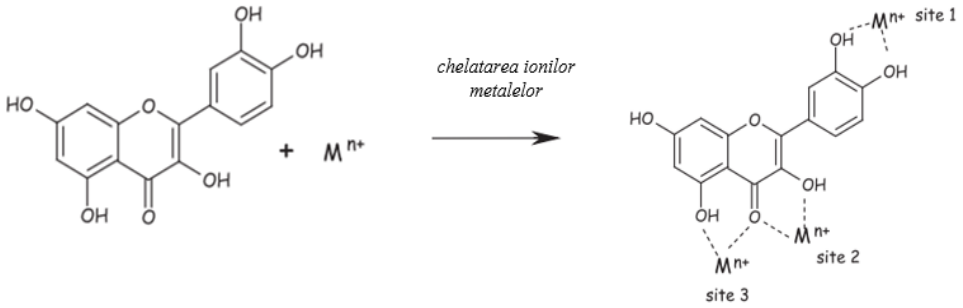
$$ArOH + R\bullet \rightarrow ArO\bullet + R \qquad (1)$$



(A) Transferul de atom de hidrogen (HAT) (1)



(B) Transfer de electroni (SET) (2)



(C) Chelatarea metalelor de tranziție

Fig. 6. *Mecanisme responsabile pentru proprietățile antioxidante ale polifenolilor [58]*

Produșii reacției sunt speciile inofensive RH și radicalul ArO• oxidat (Figura 6 A). Chiar dacă reacția duce la formarea unui alt radical, acesta este mai puțin reactiv față de R, fiind stabilizat de mai mulți factori. Entalpia de disociere a legăturilor (EDL) al legăturii fenolice O–H este un parametru important în evaluarea acțiunii antioxidante. Cu cât valoarea EDL este mai mică, cu atât mai ușor decurge disociația legăturii fenolice O–H și reacția cu radicalul liber.

Mecanismul SET (2) prevede donarea unui electron radicalului R•:

$$ArOH + R\bullet \rightarrow ArOH\bullet^{+} + R^{-} \qquad (2)$$

Anionul R^{-} este o specie energetic stabilă cu un numărul par de electroni, în timp ce radicalul cationic $ArOH\bullet^{+}$ prezintă specii radicalice mai puțin reactive, în special deoarece polifenolii sunt structuri aromatice în care electronul impar, provenit din reacțiile cu radicalii liberi, are posibilitatea de a fi distribuit în întreaga moleculă, rezultând o stabilizare radicalică (Figura 6 B) [59]. În mecanismul SET, potențialul de ionizare este cel mai semnificativ parametru pentru evaluarea activității de captare. Cu cât este mai mic potențialul de ionizare, cu atât este mai ușoară extragerea/donarea electronilor și reacția cu radicalii liberi.

Un alt mecanism antioxidant constă în chelatarea metalelor de tranziție, capabili de a genera radicali liberi. Ionii metalelor de tranziție pot fi chelatați de polifenoli, conducând la compuși compleși stabili (Figura 6 C) [60]. Unele metale în starea lor redusă de oxidare

(în principal, ionul Fe^{2+}) pot fi implicate în reacțiile Fenton, din care rezultă specii reactive de oxigen foarte periculoase (ROS) [61]:

$$H_2O_2 + M^{n+} \rightarrow HO^- + HO\bullet + M^{(n+1)+} \quad (3)$$

Radicalul HO• este în general acceptat ca fiind unul dintre cei mai reactivi radicali. Are un timp de înjumătățire foarte scurt (aproximativ 109 s) și o reactivitate foarte mare. Hidroperoxizii sunt metabolizați de superoxid dismutază, dar radicalii hidroxil nu pot fi eliminați prin reacții enzimatice şi vor reacționa cu orice tip de substrat [62].

Ionii metalelor de tranziție precum cuprul, manganul, cobaltul, în anumite condiţii, sunt capabili să catalizeze această reacție dacă nu sunt legați de proteine sau chelatori. Reacții similare pot provoca o acumulare specifică de radicali liberi, care inițiază procesele de deteriorare a biomoleculelor.

Reacțiile Fenton decurg în neuronii dopaminergici ai țesutului nervos, unde în mod normal catabolismul dopaminei produce anumite cantităţi de peroxid de hidrogen. Acumularea de radicali liberi în acești neuroni poate fi desemnată ca principalul agent etiologic al bolii Parkinson. Alte boli neurodegenerative, precum boala Alzheimer (AD) au ca semn distinctiv o creștere semnificativă a fierului în unele regiuni ale creierului [63].

Agenții de chelare a metalelor diminuează potențialele lor redox, inactivându-le. Mai mult, chelatorii naturali ai metalelor, cum ar fi flavonoidele, manifestă efecte benefice asupra organismului, în timp ce chelatorii sintetici pot prezenta unele probleme de toxicitate. Flavonoidele cu grupele lor hidroxil multiple și gruparea carbonil la poziția 4 pe inelul C pot oferi mai multe poziţii disponibile pentru complexarea metalelor.

Investigaţiile experimentale au indicat posibila existență a chelaților între două molecule de quercetină și Fe (II) [58]. Formarea chelaţilor din două molecule de quercetine deprotonate a demonstrat, că cele mai stabile complexe corespund stoichiometriei de 1:1, care implică atomii de oxigen legați de perechile de carbon 3-carbon 4 și carbon 4-carbon 5, precum și poziţiile „*cis*” și „*trans*” ale celor doi anioni de quercetină din jurul cationului. Geometria de coordonare este tetraedrică, implicând două grupări carbonil - O_{12} (2,035 și 2,032 Å) și două hidroxil - O_{13} (1,924 și 1,925 Å), iar sarcina ionului de fier este 1,41 eV, ceea ce sugerează un transfer de sarcină de la ligand la cation. Analiza orbitalilor de legătură a indicat prezența a două legături covalente între Fe^{2+} și atomul de oxigen a ambelor grupări 5-OH deprotonate. Suprapunerea implică cele două orbitale hibride *sp* (s-11,30%, p-88,7%) și *sd* (s-19,00%, d-81%) de oxigen și, respectiv, fier. De asemenea, calculele arată că poziția „-*cis*” a quercetinei este favorizată energetic în raport cu poziția „-*trans*”, datorită stabilităţii mai mari a coordonării tetraedrice [58].

Polifenolii sunt sisteme plane caracterizate printr-o conjugare extinsă și delocalizare a electronilor *p*, implicată de ciclurile aromatice și substituenți. Această delocalizare asigură îndepărtarea unui atom de hidrogen sau unui electron cu formarea de specii radicalice stabile. Electronul impar este delocalizat pe întreaga moleculă datorită geometriei plane a

moleculelor. Stabilitatea radicalilor este sporită de posibilitatea formării legături interne de hidrogen între atomul de oxigen radicalizat și hidroxilul vicinal.

Cele mai eficiente sisteme care pot funcționa prin mecanismul de transfer al atomului de hidrogen moleculele orto-dihidroxifuncționalitate. În aceste cazuri, valorile entalpiei de disociere a legăturilor sunt foarte mici față de compusul de referință – fenol, deoarece radicalizarea hidroxililor lor generează specii stabilizate de legături de hidrogen intramoleculare, altele decât prin efectele de rezonanță ale substituenților. Deci, hidroxitirosolul, acidul galic, acidul cafeic, epicatehina, quercetina sunt excelente captatoare de radicali liberi prin captare de atomi de hidrogen.

Transferul de electron este mai eficient pentru compușii cu conformație plană și delocalizare electronică extinsă, astfel încât valorile potențialelor de ionizare să fie mai mici în comparație cu fenolul de referință, astfel ca la tocoferol, reseveratrol, quercetină.

Majoritatea polifenolilor elimină radicalii liberi prin mecanismul de transfer al atomului de hidrogen, deoarece în procesul de transfer al unui singur electron sunt implicate energii înalte. Aceste concluzii ar putea avea o bază mai fermă prin calculele stărilor de tranziție și a intermediarilor pentru diferite etape ale reacție. Flavonolii prezintă efect antiradicalic mai puternici în comparație cu flavonele corespunzătoare datorită prezenței grupării 3-hidroxil. O grupare hidroxil suplimentară în inelul B (gruparea pirogalol) pare să „îmbunătățească" și mai mult capacitatea antioxidantă. Dimpotrivă, prezența unui singur hidroxil în inelul B diminuează capacitatea antioxidantă. Antocianidinele și glicozidele lor pot fi echipotente cu quercetina și galații de catehină, cu condiția ca în inel să fie prezentă o structură catecol.

Polifenolii sunt capabili să chelateze metalele de tranziție prin intermediul grupărilor OH multiple și fragmentului carbonil. Flavonolul quercetină, spre exemplu, poate forma complecși stabili cu cationii Fe^{2+} și Cu^{2+} atât în formă neutră, cât și în formă ionizată. Printre posibilele locuri de chelatare, pozițiile 3-OH/4-ceto și 5-OH/4-ceto sunt cele care prezintă o capacitate mai mare de complexare, în timp ce catecolul pare a fi un agent slab de chelatare.

2.4. Cercetări privind compoziția polifenolică și activitatea antioxidantă a vinurilor moldovenești de soiuri autohtone

În ultimele decenii Republica Moldova a realizat un salt enorm în dezvoltarea cultivării soiurilor de struguri autohtoni, iar vinurile produse sunt apreciate la un nivel înalt de specialiștii din întreaga lume. Potrivit datelor prezentate de Ministerul Agriculturii, 11 mii hectare sunt plantate cu soiuri de viță de vie moldovenească. Cele mai populare din acestea sunt: Fetească Albă, Feteasca Regală, Feteasca Neagră, Rară Neagră și Viorica [64]. Aceste soiuri sunt plantate si utilizate pe larg de vinăriile autohtone la producerea unor vinuri de calitate, deja apreciate pe piața internațională.

Un interes major îl prezintă elucidarea compoziției și a proprietăților antioxidante a substanțelor biologic active din vinuri roșii de soiurile Rară Neagră, Feteasca Neagră în comparație cu soiurile europene, precum şi soiurile de struguri albi Viorica, Feteasca Regală si Feteasca Albă.

Pentru cercetări au fost utilizate vinuri din struguri de soiuri de selecţie autohtonă (roada anului 2018-2020), produse în secția de microvinificație a Centrului de excelență în oenologie, UTM, precum și vin sec rosu Rara Neagră de Purcari, produse la Î.M. Vinăria Purcari S.R.L., r-nul Ștefan Vodă, s. Purcari, Republica Moldova. La prima etapă, au fost evaluate caracteristicile senzoriale ale vinurilor analizate. Analiza senzoriala a fost realizată de 10 sommelieri și degustatori de la UASM Cluj-Napoca și UTM. În Tabelul 1 sunt prezentaţi descriptorii aromatici ai vinurilor studiate, în conformitate cu libera exprimare a evaluatorilor.

Tabelul 1

Analiza organoleptica a vinurilor Rară Neagră, Feteasca Negră, Feteasca Regală, Feteasca Albă, Virica

Denumirea vinului	**Caracteristica organoleptica**			
	Limpeditate	Culoare	Aromă	Gustul
Rară Neagră	Limpede, fără sediment şi incluziuni străine	Roșie intensă, cu reflexii violacee, culoarea rodiei	Nuanţe de coacăză neagră și de fructe uscate, prune şi ciocolata	Nuanţe de mură, în general, echilibrat, consistent şi viguros
Feteasca Neagră	Limpede, fără sediment şi incluziuni străine	Roșie foarte intense	Caracteristică soiului cu nuanţe de coacăză neagră și de fructe uscate și în special prune uscate	Nuanţă de mură, este, în general, echilibrat, consistent şi viguros, gust de "copt"
Feteasca Regală	Limpede, fără sediment.	Alb-verzui cu nuanțe gălbui sau galben-verzui.	Originală, de tip floral, ușor de recunoscut.	Gustul plăcut, bine conturat, plin de finețe, este acrișor, asemănător cu a mărului românesc de vară.
Feteasca Albă	Limpede	Culoare galbena, cu reflexii verzui	Flori de câmp şi a fructelor bine coapte, precum aroma perelor	Vin catifelat şi corpolent, bine conturat de

				accentele fructelor citrice
Viorica	Limpede, fără sediment	Culoare galben pai cu reflexii verzui, transparent, auriu-deschis	Flori de salcam, iasomie, tei; citrice, busuioc, cimbru	Gust inedit, proaspăt de fructe, cu note de citrice puțin condimentate

Caracteristicile senzoriale ale vinurilor sunt într-o corespundere cu soiul analizat. Toate vinurile se caracterizează cu o limpeditate relativă, sunt lipsite de sediment şi incluziuni mecanice.

Aroma vinurilor obținute din soiul Fetească Neagră este placută, complexă și originală, contribuind la aceasta şi aroma strugurilor din care provin, cu nuanțe de coacază neagră sau aroma de prune uscate.

Gustul cu nuanţe de mură, este, în general, echilibrat, consistent şi viguros. Aciditatea potrivită, caracteristică soiului, intervine benefic, cu o amintire placuta si persistentă. În condiţiile Republicii Moldova soiurile tehnice acumulează o cantitae mare de compuşi fenolici, fapt ce se depistează în gustul vinului şi să exprimă cu o astringenţă înaltă, extractivitate şi persistenţă în gust îndelungată.

În Tabelul 2 sunt prezentate rezultatele cantitative ale evaluării vinurilor autohtone drept media aritmetica a notelor acordate de evaluatori.

Tabelul 2

Analiza senzoriala a vinurilor autohtone Fetească Albă, Fetească Regală, Viorica, Fetească Neagră, Rară Neagră

Denumire vin	Vizual			Olfactiv			Gustativ				Armonie/ Evaluare globală	Punctaj total	Evaluatori (n)
	Limpiditate	Aspect	Culoare	Tipicitate	Intensitate	Calitate	Tipicitate	Intensitate	Persistență	Calitate			
Fetească Albă	4,36	4,27	4,27	5,09	6,82	13,27	4,91	6,45	6,36	18,18	9,73	81,50	11
Fetească Regală	4,00	4,00	4,10	4,80	6,50	12,60	4,30	6,00	6,00	15,70	9,50	77,50	10
Viorica	3,80	3,80	3,80	4,80	6,50	13,20	4,70	6,50	6,70	17,50	9,80	81,10	10
Fetească Neagră	3,50	3,80	3,80	3,80	5,40	12,40	3,60	5,40	5,70	15,10	8,50	71,00	10
Rară Neagră 2018	2,80	2,90	3,20	3,80	5,00	11,20	3,80	5,30	5,60	14,50	8,50	66,60	10
Rară Neagră 2020	4,09	4,18	4,18	5,36	6,91	13,27	5,09	7,18	6,91	18,73	10,00	84,67	11
Punctaj maxim OIV	5	5	5	6	8	16	6	8	8	22	11	100	

Pentru vinurile roșii se atestă o diferență semnificativă la criteriul Gustativ, si anume Tipicitatea, Intensitatea si Calitatea cu diferențe a câte 2 unități. Pentru vinurile albe, o

diferență mai semnificativa se observa la fel pentru criteriul Gustativ şi anume Calitatea cu o diferență de 3 uniăți dintre Fetească Regală şi Fetească Albă. Pe primul loc dintre vinurile roșii se situează Rară Neagră, iar dintre vinurile albe - Fetească Albă.

Indicii fizico-chimici ai vinurilor examinate au corespuns categoriilor propuse. Toate vinurile au posedat un grad înalt de alcool (12-14% vol.), ceea ce asigură o stabilitate fizico-chimică a vinului. Aciditatea titrabilă a probelor analizate se află în limitele admisibile (min. 4,0 g/dm^3). Aciditatea volatilă prezintă valori medii (0,4-0,5 g/dm^3), ce nu depăşesc normele stabilite (1,2 g/dm^3). Conţinutul de acid sulfuros liber şi total în probele analizate reprezintă valori medii (60-80 g/dm^3).

Conținutul total de polifenoli (CTP) a fost determinată prin metoda Folin Ciocalteu. Conținutul total de polifenoli al vinurilor roșii a reprezentat valori de până la 10 ori mai mare în comparaţie cu cele rozé și albe. Aceste diferențe sunt rezultatul unei mai bune extracții a compușilor fenolici, timpului de contact mai mare cu pielița și semințele strugurilor, condițiilor de fermentare și temperaturii, pentru vinurile roșii, spre deosebire de cele albe. Valorile CTP pentru vinurile roșii nu a variat esenţial, conținutul fenolic al vinului Fetească Neagră fiind mai mare cu cateva unitati în comparaţie cu vinul Rară Neagră. Valoarea CTP a variat între diferitele probe de vin, în funcție de soiul de struguri, factorii de mediu în podgorie, tehnicile de procesare a vinului (Figura 7).

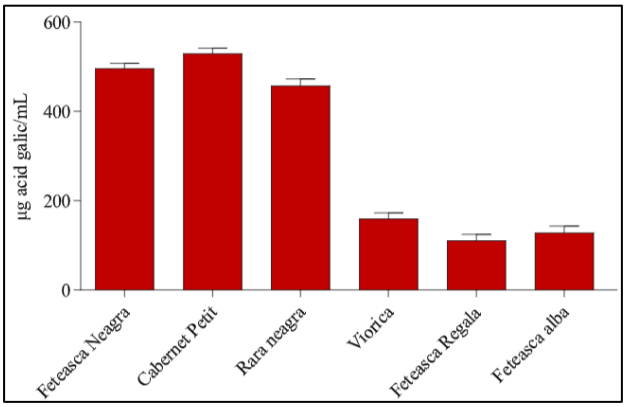


Fig.7. *Conținutul de polifenoli totali, exprimată în µg acid galic/mL probă*

Studiile anterioare ne sugerează că aproape 70% din polifenolii prezenţi rămân în deșeuri după procesare. Acești polifenoli pot fi utilizati în alte domenii şi anume farmaceutică, alimentară, deoarece prezintă o sursă de compuşi biologici activi. Pigmenții roşii din pielita strugurilor, de exemplu antocianii, degradează ușor, din acest motiv este necesar de luat în considerare operațiile tehnologice optime şi alte ingrediente din alimente ce pot influența capacitatea antioxidantă şi proprietățile senzoriale.

Conținutul de flavonoide totale în soiurile autohtone Fetească Neagră și Rară Neagră a fost relativ mai redus în comparaţie cu soiul Cabernet Petit (Figura 8).

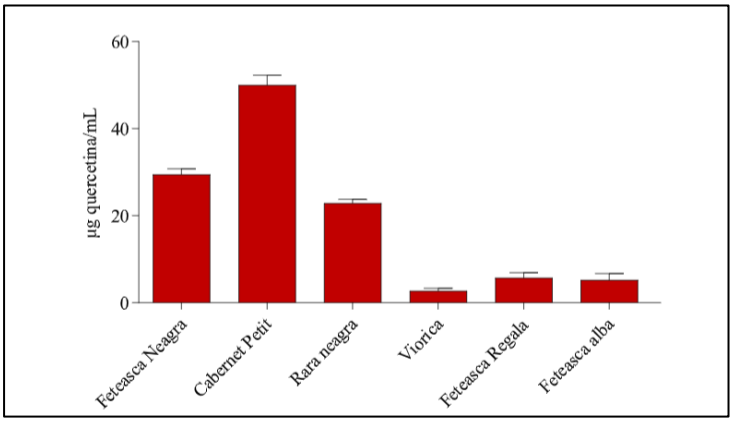


Fig.8. *Cantitantea de flavonoide totale exprimate în µg quercetină/mL probă*

În general, flavonoidele şi procianidinele sunt considerate a fi doua grupe principale de constituenți activi din struguri. Timpul şi temperatura sunt factori foarte importanţi ce acționează asupra conţinutului flavonoidelor în vinuri.

Studiul efectuat de Spigno și colab. [65] a arătat legătura între activitatea antioxidantă şi conţinutul de polifenoli în tescovină, iar procesul de liofilizare nu afectează compoziția și activitatea antioxidantă a extractelor din această materie primă. În procesul studiului a fost evaluată activitatea antioxidantă a vinurilor prin metoda DPPH [66]. Rezultatele obţinute sunt prezentate în figura 9.

S-a constatat, că capacitatea antioxidantă a vinurilor autohtone Feteasca Neagră și Rară Neagră, desi mai redusă decât a vinurilor din soiul Cabernet Petit, constituie cca 500- 620 µM Trolox echivalent, cee ce denotă un efect antioxidant marcant al acestor vinuri. Este necesar de constata, că capacitatea antioxidantă a vinurilor autohtone albe este considerabil mai redusă.

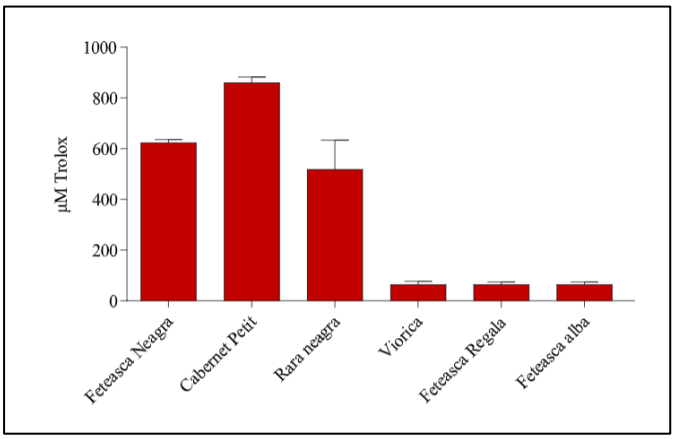


Fig. 9. *Capacitatea antoxidanta (metoda DPPH) exprimată în µM Trolox*

Un interes deosebit prezintă identificarea compușilor polifenolici individuali din vinurile moldovenești autohtone. În acest context, probele de vin au fost analizate prin metoda HPLC-DAD-ESI, evident, după o pregătire specială**.** Proba de vin s-a filtrat prin filtru Chromafil extra nylon 0.45 µm si 20 µl şi ulterior analizat. S-a utilizat cromatograful Agilent 1200 echipat cu pompa quaternară, degazor pentru solventi, autosempler, detector UV-Vis cu fotodioda (DAD) cuplat cu detector de masa (MS) single quadrupole Agilent model 6110 (Agilent Techologies, CA, USA).

Separarea compusilor s-a efectuat pe o coloana Kinetex XB C18, dimensiuni 4.6x 150 mm, cu particule de 5 µm (Phenomenex, USA), utilizand fazele mobile (A) apa + 0.1% acid acetic si (B) acetonitril + 0.1% acid acetic in gradientul de mai jos, timp de 30 minute, la o temperatura de 25 0 C, cu un debit de 0.5 ml/min. Gradient (exprimat in % B): 0 min, 5% B; 0-2 min, 5% B; 2-18 min, 5%-40% B; 18-20 min, 40%-90% B; 20-24 min, 90% B; 24-25 min, 90%-5% B; 25-30 min, 5% B.

Valorile spectrale s-au inregistrat pe domeniul 200-600 nm pentru toate peak-urile. Cromatogramele s-au înregistrat la lungimea de unda λ = 280, 340 si 520 nm. Lungimea de unda λ=280 nm este specifică pentru toate subclasele de compuşi fenolici (acizi hidroxibenzoici, acizi hidroxicinamici, flavanoli, flavonoli si antocianine), λ=340 nm este specifică acizilor hidroxicinamici şi flavonolilor, iar lungimea de unda λ=520 nm este specifică antocianelor.

Compuşii fenolici s-au identificat după timpul de retenţie, spectrele de absorbţie UV-Vis și spectrele de masă înregistrate pentru fiecare peak. Pentru MS s-a utilizat modul ESI pozitiv de ionizare full scan în urmatoarele condiţii de lucru: tensiune capilară 3000 V, temperatură 350 °C, debit azot 7 l/min şi m/z 120-1200. Achiziţia datelor şi interpretarea rezultatelor s-a realizat utilizand softul Agilent ChemStation.

Cuantificarea acizilor hidroxibenzoici şi flavanolilor s-a efectuat cu ajutorul curbei de calibrare pentru acid gallic (R^2 = 0.9978), acizii hidroxicinamici s-au cuantificat ca echivalent al acidului chlorogenic (R^2 = 0.9937), flavonolii - ca echivalent de rutină (R^2 = 0.9981), iar pentru antocianine s-a obţinut o curbă de calibrare cu cianidina (R^2 = 0.9951).

Identificarea și cuantificarea compușilor bioactivi s-a efectuat pentru următoarele subclase de polifenoli: acizii fenolici (hidroxicinamic, hidroxibenzoic) și derivații lor, stilbena, flavanoli, antocianine. Exemplul de cromatograme ale viniului roșii Rară Neagră este prezentat în figura 10. Vinul autohton Rara Neagră ne uimeste cu prezența unui număr impunător de compuşi fenolici (λ=280 nm), precum: acizii hidroxicinamici (cafeic, caftaric, cutaric, cumaric, ferulic) și compuşi flavanolici (catechina, epicatechina) (λ=340 nm), responsabili de activitatea antioxidantă a substanţelor biologic active. Rară Neagră este un soi deosebi de bogat și în antocianine (λ=520 nm). Conținutul total de compusi polifenolici în probele analizate constituie 1355 mg/dm^3.

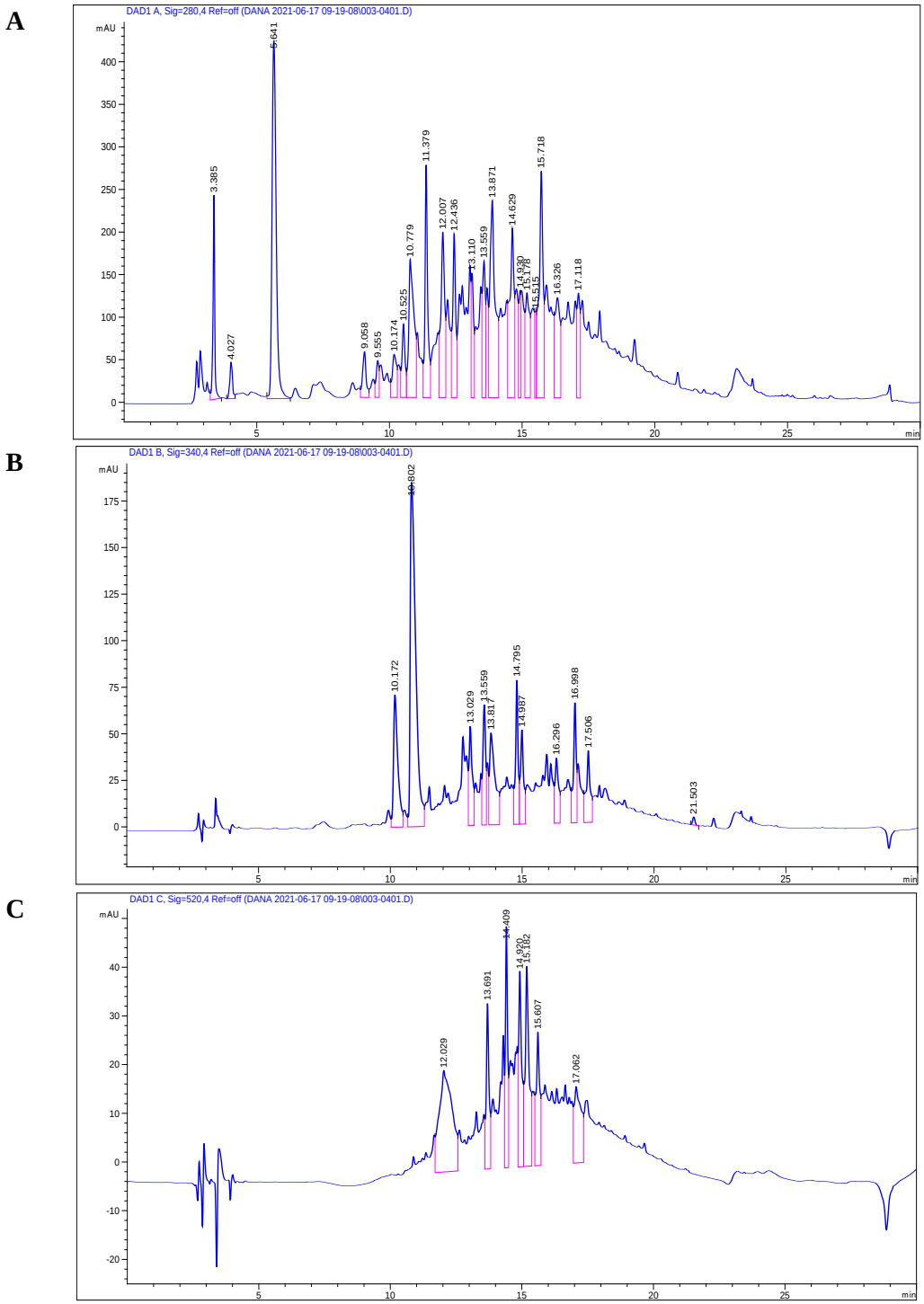


Fig.10. *Cromatograma probei de vin Rară Neagră, a.r. 2020: A (λ=280 nm), B (λ=340 nm), C (λ=520 nm)*

Cromatograma vinului alb (Feteasca Albă, a. r 2020) este prezentată în figura 11.

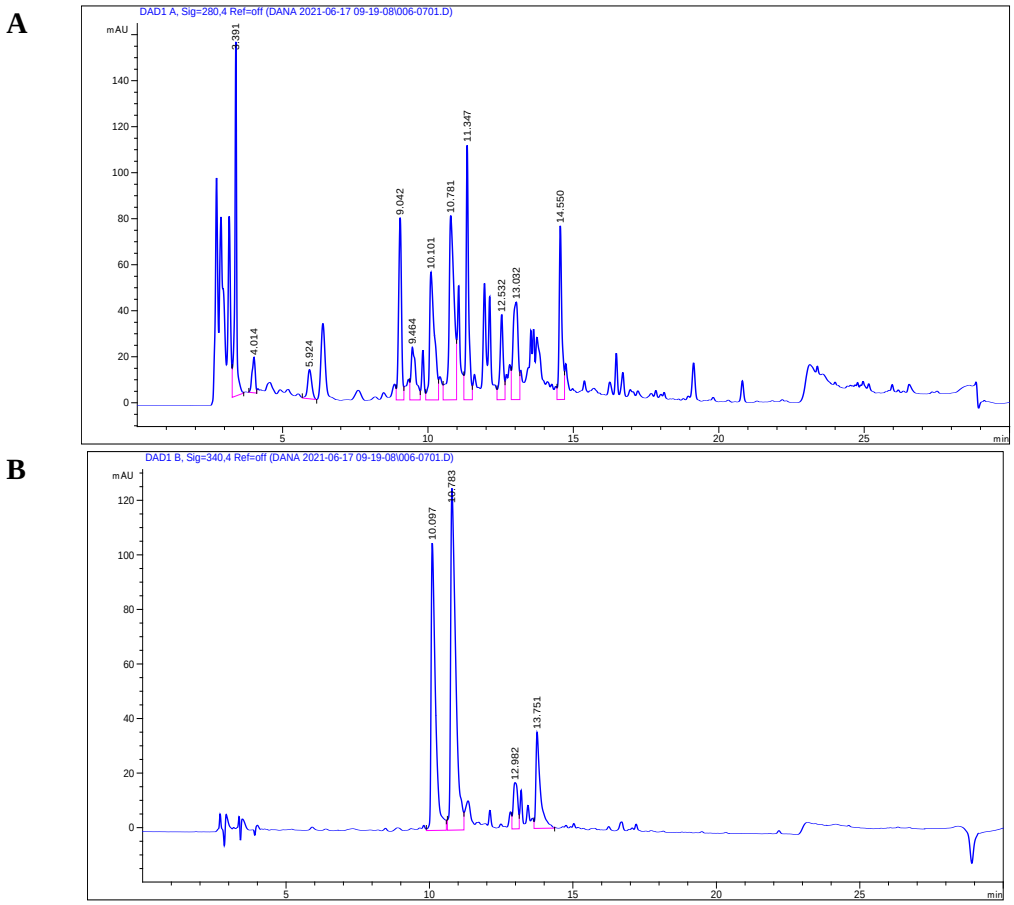


***Fig. 11**. Cromatograma probei de vin Feteasca Albă, a.r.2020: A (λ=280 nm), B (λ=340 nm)*

În vinurile roșii au fost cuantificați cca 25 de compuși polifenolici. Analiza datelor obținute demonstrează, că conţinutul polifenolilor (chiar şi în cazul aplicării aceleiași tehnologii) depinde de anul recoltării. Astfel, compararea probelor de vin Rară Neagră, anul recoltării 2018 și 2020, a constatat micşorarea esențială a conținutului total de polifenoli: de la 1355 mg/dm^3 (a. r. 2020) la 605 mg/dm^3 (a. r. 2018). În special se reduce conținutul de esteri ai acizilor hidroxicinamici (exemplu - etilgalat), dimerul procianidinei, epicatechina, quercetina, quercetin-arabinosidă, quercetin-glucoside, quercetin- glucuronide și unii acizi hidroxicinamici (exemplu – acidul siringic).

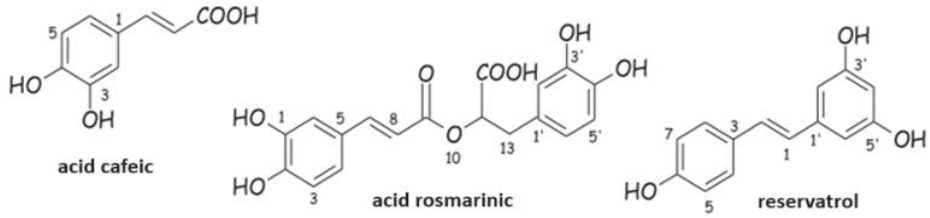
Compararea soiurilor autohtone cu vinul obținut din soiul Cabernet Petit atestă cantități apropiate de polifenoli totali (a.r.2020, vinul Rară Neagră – 1355 mg/dm^3 vis-a-vis de Cabernet Petit- 1249 mg/dm^3). În cazul soiului Feteasca Neagră conținutul total de polifenoli este mai redus - 792 mg/dm^3, însă acest vin se caracterizează printr-un conținut

important de resveratrol, care depășește de 4 ori conținutul de resveratrol în vinul din soiul Cabernet Petit și de 2 ori - vinurile din soiul Rară Neagră.

Prezența acelorași antocianine a fost atestată în toate vinurile roșii. Concentrațiile unor antocianine detectate în vinul Cabernet Petit au depășit valorile din vinurile autohtone, de exemplu - pelargonidin-glucoside, peonidin-acethyl-glucoside, peonidin-cumaroil-glucosida. Totuși conținutul de malvidin-acettil-glucosidă a fost mai ridicat în vinul de soi Rară Neagră.

Conținutul total de polifenoli a vinurilor albe autohtone variază în intervalul 250- 296 mg/dm^3, fiind atestați aceeași compuși, cu excepția, evident, a antocianinelor (figura 11). Fetească Albă se caracterizează prin cantități mai mari de acid *p*-hidroxibenzoic; Fetească Regală – prin cantităţi mai mari de acizi galic şi *trans*-caftaric; Viorica – prin prezența net superioară a acidului siringic. Prezența resveratrolului a fost atestată în cantități ce nu depășeai 1,5-1,8 mg/dm^3 în vinurile de soi Rară Neagră și Viorica. Rezultatele cercetăriror demonstrează, că vinurile moldovenești prezintă surse extrem de bogate în compuși bioactivi.

Resveratrolul posedă un puternic efect antiinflamator şi antibacterian, menţine elasticitatea şi fermitatea pielii şi împiedică îmbătrânirea ei prematură, este, de asemenea, un bun antialergic, recomandat şi persoanelor ce suferă de astm bronşic [67].

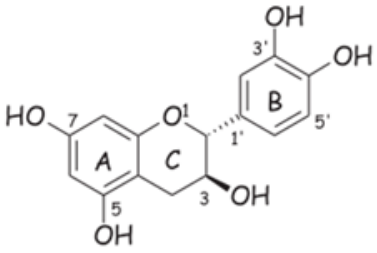


Datorită proprietăţilor sale amfifile, resveratrolul ofera o protecție antioxidanta mai puternică decât vitaminele E şi C. Structura sa este caracterizată de două inele fenolice, conectate printr-o legătură dublă, fiind caracterizată prin planaritate, conjugare și delocalizare electronică. Poziția reciprocă a grupelor hidroxile nu permite formarea legăturilor de hidrogen intramoleculare. Însă radicalizarea grupărilor OH generează radicali extrem de stabili [68]).

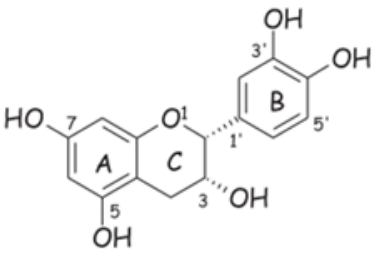
Radicalizarea acidului cafeic generează doi radicali - 3-OH și 4-OH. Efectul de delocalizare electronică al grupării –CH=CH–COOH este responsabil pentru stabilitatea energetică a radicalului format. Prezența punții -CH=CH- între benzen și gruparea carboxil din acidul cafeic favorizează rezonanța și efectele de conjugare. Grupurile OH sunt implicate în formarea legăturilor de hidrogen.

Pentru comparare, în acidul rosmarinic, extras din *Rose marinus officinalis L.* numai la prima specie formele de rezonanță arată electronul nepereche răspândit pe întregul moleculă [69].

Astfel, acidul cafeic și derivații lui prezintă proprietăți antioxidante marcante. Catehina și epicatehina acţionează drept antioxidant şi participă la neutralizarea radicalilor liberi, compusi chimici instabili care pot distruge membranele celulare şi ADN-ul, cauzând moartea celulelor [70]. Motivul constă în faptul că radicalizarea moleculelor de catechină și epicatechină conduce la formarea unor specii radicalice izoenergetice extrem de stabile. În absența conjugării cu inelul C, principalul factor de stabilizare este legătura internă de hidrogen la inelul B.

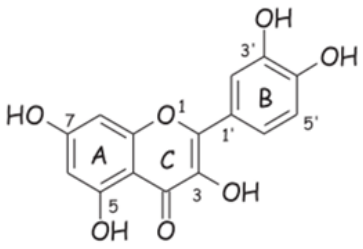


catehina



epicatehina

Mai multe studii clinice au evidentiat faptul, că acţiunea antioxidantă a quercitinei este mult mai evidenţiată în comparaţie cu ce a vitaminelor C si E, dar şi a betacarotenului. Calculele teoretice indică faptul că quercetina poate exista în doi stări de conformare, care se pot interconverti cu uşurinţă [71]. Zece radicali pot să se formeze rupând legăturile 3-, 3^1-, 4^1-, 5- și 7- O–H, toate caracterizate drept specii plane. Golurile energetice între radicalii formați la radicalizarea inelelor B și C se încadrează în 8 kcal/mol, în timp ce radicalizarea inelul A produce radicali cu energie înaltă (13–25 kcal/mol) [72].



quercitină

Acești din urmă radicali prezintă o distribuție de spin care lasă electronul impar pe locul de radicalizare.

CONCLUZII

Vinurile moldovenești autohtone: roșii - Rară Neagră, Fetească Neagră și albe - Fetească Albă, Fetească Regală, Viorica prezintă surse veritabile de compuși bioactivi, cu capacitate antioxidantă importantă. Conținutul total de polifenoli în vinurile roșii a fost de până la 10

ori mai mare în comparaţie cu cele albe. Aceste diferențe sunt rezultatul unei mai bune extracții a compușilor fenolici, timpului de contact mai mare cu pielița și semințele strugurilor, condițiilor de fermentare și temperaturii, pentru vinurile roșii, spre deosebire de cele albe. Dintre polifenolii importanti, compușii majoritari determinați în toate probele au fost acizii galic, resveratrol, acid cafeic, catehina, epicatehina și procianidina.

Polifenolii din struguri și vin prezintă sisteme plane caracterizate printr-o conjugare extinsă și delocalizare a electronilor *p*, care implicată de ciclurile aromatice și substituenți. Acestea generează specii radicalicee stabile la îndepărtarea unui atom de hidrogen sau un electron [73]. Electronul impar pare a fi delocalizat pe întreaga moleculă datorită conformației geometrice plane. Stabilitatea radicalilor formați este sporită de posibilitatea de a stabili legături interne de hidrogen între atomul de oxigen radicalizat și hidroxilul vicinal.

Cele mai eficiente sisteme care pot funcționa prin mecanismul de transfer al atomului de hidrogen sunt compușii *orto*-dihidroxifuncţionalitați. În aceste cazuri, valorile energiei de legătură sunt foarte mici faţă de compusul de referinţă (fenol), deoarece radicalizarea hidroxililor generează specii stabilizate prin legături de hidrogen intramoleculare, altele decât efectele de rezonanță ale substituenților.

Majoritatea polifenolilor par să capteze radicalii liberi prin mecanisme de transfer a atomului de hidrogen, deoarece în procesul de transfer a unui electron sunt implicate energii înalte. În cadrul mecanismului de transfer de electron, optimali sunt compuși care prezintă conformație plană și delocalizare electronică, astfel încât valorile poitențialelor de ionizare să fie mai mici decât pentru fenolul de referință, așa cum apare în tocoferol, reseveratrol, quercetină.

NOTA DE APRECIERE

Această lucrare a fost realizată în cadrul proiectului național de cercetare **Nr. 20.80009.5007.27** „Mecanisme fizico-chimice ale proceselor redox cu transfer de electroni implicate în sistemele vitale, tehnologice și de mediu”.

REFERINŢE BIBLIOGRAFICE

1. LOCKE, A; SCHNEIDERHAN, J; ZICK, S.M. Diets for health: goals and guidelines. *Am. Fam. Physician,* Jun., 01, 2018, 97(11), 721-728.
2. CENA, H; CALDER, P.C. Defining a Healthy Diet: Evidence for the role of contemporary dietary patterns in health and disease. *Nutrients,* 2020, Jan. 27, 12(2).
3. DAVIES, J.M.S.; CILLARD, J.; FRIGUET, B. The oxygen paradox, the French paradox, and age-related diseases. *GeroScience*, 2017, 39, 499-550.

4. DROSTE, D.W.; ILIESCU, C.; VAILLANT, M.; GANTENBEIN, M.; DE BREMAEKER, N.; LIEUNARD, C.; VELEZ, T.; MEYER, M.; GUTH, T.; KUEMMERLE, A.; CHIOTI, A. A daily glass of red wine and lifestyle changes do not affect arterial blood pressure and heart rate in patients with carotid arteriosclerosis after 4 and 20 weeks. Cerebrovasc Dis Extra, 2013, 3(1), 121-9.
5. The state of Food Insecurity in the World, FAO, Report 2014.
6. PERRA, M.; BACCHETTA, G.; MUNTONI, A.; DE GIOANNIS, G.; CASTANGIA, I.; RAJHA, H., MANCA, M.L.; MANCONI, M. An outlook on modern and sustainable approaches to the management of grape pomace by integrating green processes, biotechnologies and advanced biomedical approaches. *Journal of Functional Foods*, 2022, 98,105276.
7. FONTANA, A.R.; ANTONIOLLI, A.; BOTTINI, R. Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. *Agric. Food Chem.*, 2013, 61(38), 8987-9003.
8. CHIAVAROLI, A.; BALAHA, M.; ACQUAVIVA, A.; FERRANTE, C.; CATALDI, A.; MENGHINI, L.; RAPINO, M.; ORLANDO, G.; BRUNETTI, L.; LEONE, S.; RECINELLA, L.; di GIACOMO, V. Phenolic characterization and neuroprotective properties of grape pomace extracts. *Molecules*, 2021, 26(20), 6216.
9. CAPONIO, G.R.; NOVIELLO, M.; CALABRESE, F.M.; GAMBACORTA, G.; GIANNELLI, G.; de ANGELIS, M. Effects of grape pomace polyphenols and in vitro gastrointestinal digestion on antimicrobial activity: recovery of bioactive compounds. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(3), 567.
10. BHUI, K.; DINOS, S.; GALANT-MIECZNIKOWSKA, M.; de JONGH, B.; STANSFELD, S. Perceptions of work stress causes and effective interventions in employees working in public, private and non-governmental organisations: a qualitative study. *BJ Psych Bull*., 2016, 40(6).
11. YARIBEYGI, H.; PANAHI, Y.; SAHRAEI, H.; JOHNSTON, T.P.; SAHEBKAR, A. The impact of stress on body function: a review. *EXCLI J*, 2017, 16, 1057-1072.
12. MEHTA, S. K.; GOWDER, S. J. T. Members of antioxidant machinery and their functions Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress. *In Tech*, 2015.
13. KOSTIC, K.; BRBORIC, J.; DELOGU, G.; SIMIC, M.R.; SAMARDZIC, S.; MAKSIMOVIC, Z.; DETTORI, M.A.; FABBRI, D.; KOTUR-STEVULJEVIC, J.; SASO, L. Antioxidant activity of natural phenols and derived hydroxylated biphenyls. *Molecules*, 2023, 28(6), 2646.
14. LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn Rev*., 2010, 4(8), 118-26.

15. DEVASAGAYAM, T.P.; TILAK, J.C.; BOLOOR, K.K.; SANE, K.S.; GHASKADBI, S.S.; LELE, R.D. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J. Assoc. Physicians India*, 2004, 52, 794–803.

16. Di MEO, S.; VENDITTI, P. Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxid. Med. Cell Longev*., 2020, 9829176.

17. MARTEMUCCI, G.; COSTAGLIOLA, C.; MARIANO, M.; D'ANDREA, L.; NAPOLITANO, P.; D'ALESSANDRO, A.G. Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2022, 2, 48-78.

18. PHANIENDRA, A.; JESTADI, D.B.; PERIYASAMY, L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem*., 2015, 30(1), 11-26.

19. DOMEJ, W.; OETTL, K.; RENNER, W. Oxidative stress and free radicals in COPD--implications and relevance for treatment. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis*., 2014, 9, 1207-24.

20. LOSADA-BARREIRO, S.; SEZGIN-BAYINDIR, Z.; PAIVA-MARTINS, F.; BRAVO-DÍAZ, C. Biochemistry of antioxidants: mechanisms and pharmaceutical applications. *Biomedicines.*, 2022, 10(12), 3051.

21. HUNYADI, A. The mechanism(s) of action of antioxidants: from scavenging reactive oxygen/nitrogen species to redox signaling and the generation of bioactive secondary metabolites. *Med. Res. Rev*., 2019, 39, 2505–2533.

22. MOUSSA, Z.; JUDEH, Z. M.A.; AHMED, S. A. Nonenzymatic exogenous and endogenous antioxidants, free radical medicine and biology. *Intech. Open*, 2020, 15.

23. LU, J.M.; LIN, P.H.; YAO, Q.; Chen, C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J. Cell. Mol. Med*., 2010, 14(4), 840-60.

24. TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2010, 2(12), 1231-46.

25. Al MAMARI, H. H. Phenolic compounds: classification, chemistry, and updated techniques of analysis and synthesis. Phenolic compounds - chemistry, synthesis, diversity, non-conventional industrial, pharmaceutical and therapeutic applications. *Intech Open*, 2022, 23.

26. FRANCENIA SANTOS-SÁNCHEZ, N.; SALAS-CORONADO R.; HERNÁNDEZ-CARLOS, B.; VILLANUEVA-CAÑONGO, C. Shikimic Acid Pathway in Biosynthesis of Phenolic Compounds. Plant physiological aspects of phenolic compounds. *IntechOpen*, 2019, 04, 2.

27. KUMAR, S.; PANDEY, A.K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Scientific World Journal*, 2013, 162750.

28. DIAS, M.C.; PINTO, D.C.G.A.; SILVA, A.M.S. Plant flavonoids: chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 2021, 26(17), 5377.

29. GERVASI, T.; CALDERARO, A.; BARRECA, D.; TELLONE, E.; TROMBETTA, D.; FICARRA, S.; SMERIGLIO, A.; MANDALARI, G.; GATTUSO, G. Biotechnological applications and health-promoting properties of flavonols: an updated view. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, 23(3), 1710.

30. BIE. J.; SEPODES, B.; FERNANDES, P.C.B.; RIBEIRO, M.H.L. Polyphenols in health and disease: gut microbiota, bioaccessibility, and bioavailability. *Compounds*, 2023, 3(1), 40-72.

31. KRIZOVA, L.; DADAKOVA, K.; KASPAROVSKA, J.; KASPAROVSKY, T. Isoflavones. *Molecules*, 2019, 24, 1076.

32. KHOO, H.E.; AZLAN, A.; TANG, S.T.; LIM, S.M. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr. Res*., 2017, 61, 1361779.

33. MATTIOLI, R.; FRANCIOSO, A.; MOSCA, L.; SILVA, P. Anthocyanins: a comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Molecules*, 2020, 25(17), 3809.

34. HORNEDO-ORTEGA, R.; REYES GONZÁLEZ-CENTENO, M.; CHIRA, K.; JOURDES, M.; TEISSEDRE, P.L. Phenolic compounds of grapes and wines: key compounds and implications in sensory perception, Chemistry and biochemistry of winemaking, wine stabilization and aging. *IntechOpen*, 2021.

35. KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: vatural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol. Rep. (Amst).*, 2019, 24, e00370.

36. VANNELLI, T.; WEI, Q.W.; SWEIGARD, J.; GATENBY, A.A.; SARIASLANI, F.S. Production of p-hydroxycinnamic acid from glucose in Saccharomyces cerevisiae and Escherichia coli by expression of heterologous genes from plants and fungi. *Metab. Eng.*, 2007, 9(2), 142-51.

37. VENDRAMIN, V.; VIEL, A.; VINCENZI, S. Caftaric acid isolation from unripe grape: a “green” alternative for hydroxycinnamic acids recovery. *Molecules*, 2021, 26(4), 1148.36.

38. GABASTON, J.; FONAYET, J.V.; FRANC, C.; WAFFO-TEGUO, P.; REVEL, G. Characterization of stilbene composition in grape berries from wild *vitis* species in year-to-year harvest. *J. Agric. Food Chem*., 2020, 68(47), 13408–13417.

39. Al-KHAYRI, J.M.; MASCARENHAS, R.; HARISH, H.M.; GOWDA, Y.; LAKSHMAIAH, V.V.; NAGELLA, P. Stilbenes, a versatile class of natural metabolites for inflammation - an overview. *Molecules*, 2023, 28(9), 378

40. GABASTON, J.; TAILLIS, D.; CANTOS-VILLAR, E. Vitis wastes as a source of stilbenes: natural occurrence, factors affecting biosynthesis, and valorization in agri-food sector, In book: *Agricultural Waste: Environmental Impact, Useful Metabolites and Energy Production*, 2023, 279-330.

41. RODRÍGUEZ-PÉREZ, C.; GARCÍA-VILLANOVA, B.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; VERARDO, V. Grape seeds proanthocyanidins: an overview of in vivo bioactivity in animal models. *Nutrients*, 2019.

42. XIA, E.Q.; DENG, G.F.; GUO, Y.J.; LI, H.B. Biological activities of polyphenols from grapes. *Int. J. Mol. Sci*., 2010, 11(2), 622-46.

43. ZHANG, A.; FANG, Y.; WANG, H.; LI, H.; ZHANG, Z. Free-radical scavenging properties and reducing power of grape cane extracts from 11 selected grape cultivars widely grown in China. *Molecules*, 2011, 16(12), 10104-22.

44. BAGCHI, D.; GARG. A.; KROHN, R.L.; BAGCHI, M.; BAGCHI, D.J.; BALMOORI, J.; STOHS, S.J. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *Gen. Pharmacol*., 1998, 30(5), 771-6.

45. CHOI, S.K.; ZHANG, X.H.; SEO, J.S. Suppression of oxidative stress by grape seed supplementation in rats. *Nutr. Res. Pract*., 2012, 6(1), 3-8.

46. LUPOLI, R.; CICIOLA, P.; COSTABILE. G.; GIACCO, R.; MINNO, M.N.D.D.; CAPALDO, B. Impact of grape products on lipid profile: a meta-analysis of randomized controlled studies. *J. Clin. Med*., 2020, 9(2), 313.

47. GARAVAGLIA, J.; MARKOSKI, M.M.; OLIVEIRA, A.; MARCADENTI, A. Grape seed oil compounds: biological and chemical actions for health. *Nutr. Metab. Insights.*, 2016, 9, 59-64.

48. DOHADWALA, M.M.; VITA, J.A. Grapes and cardiovascular disease. *J. Nutr.*, 2009, 139(9), 1788S-93S.

49. CHEDEA, V.S.; TOMOIAGA, L.L.; MACOVEI, S.O.; MĂGUREANU, D.C.; ILIESCU, M.L. Antioxidant/pro-oxidant actions of polyphenols from grapevine and wine by-products-base for complementary therapy in ischemic heart diseases. *Front. Cardiovasc. Med.*, 2021, 8, 750508.

50. ZAMORA-ROS, R.; ANDRES-LACUEVA, C.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M.; BERENGUER, T.; JAKSZYN, P.; MARTINEZ, C.; SANCHEZ, M.J.; NAVARRO,

C.; CHIRLAQUE, M.D. 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. *Br. J. Nutr.*, 2008, 100(1), 188-96.

51. SALEHI, B.; MISHRA, A.P.; NIGAM, M.; SENER, B.; KILIC, M.; SHARIFI-RAD, M.; FOKOU, P.V.T.; MARTINS, N.; SHARIFI-RAD, J. Resveratrol: a double-edged sword in health benefits. *Biomedicines*, 2018, 6(3), 91.

52. UNUSAN, N. Proanthocyanidins in grape seeds: an updated review of their health benefits and potential uses in the food industry. *Journal of Functional Foods*, 2020, 67, 103861.

53. AROLA, M. Proanthocyanidins in health and disease. *Biofactors*, 2016, 42 (1), 5-12.

54. ABD-ALLAH, A.A.M.; EL-DEEN, N.A.M.N.; MOHAMED, W.A.M.; NAGUIB, F.M. Mast cells and pro-inflammatory cytokines roles in assessment of grape seeds extract anti-inflammatory activity in rat model of carrageenan-induced paw edema. *Iran J. Basic Med. Sci*., 2018, 21(1), 97-107.

55. TERRA, X.; PALOZZA, P.; FERNANDEZ-LARREA, J.; ARDEVOL, A.; BLADE, C. Procyanidin dimer B_1 and trimer C_1 impair inflammatory response signalling in human monocytes. *Free Radic. Res*., 2011, 45(5), 611-9.

56. COSTA, M.; SEZGIN-BAYINDIR, Z.; LOSADA-BARREIRO, S.; PAIVA-MARTINS, F.; SASO, L.; BRAVO-DÍAZ, C. Polyphenols as antioxidants for extending food shelf-life and in the prevention of health diseases: encapsulation and interfacial phenomena. *Biomedicines*, 2021, 9(12), 1909.

57. SANTOS-SANCHEZ, F.N.; SALAS-CORONADO, R.; VILLANUEVA-CANONGO, C.; HERNÁNDEZ-CARLOS, B. Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *Antioxidants, IntechOpen*, 2019.

58. LEOPOLDINI, M.; RUSSO, N.; TOSCANO, M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 2011, 125(2), 288–306.

59. OLVERA-AGUIRRE, G.; PINEIRO-VÁZQUEZ, A.T.; SANGINES-GARCIA, J.R.; SANCHEZ ZÁRATE, A.; OCHOA-FLORES, A.A.; SEGURA-CAMPOS, M.R.; VARGAS-BELLO-PÉREZ, E.; CHAY-CANUL, A.J. Using plant-based compounds as preservatives for meat products: a review. *Heliyon*, 2023, 9(6), e17071.

60. FLORA, S.J. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxid. Med. Cell Longev*., 2009, 2(4), 191-206.

61. OLUFUNMILAYO, E.O.; GERKE-DUNCAN, M.B.; HOLSINGER, R.M.D. Oxidative stress and antioxidants in neurodegenerative disorders. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(2), 517.

62. ALI AL-MAMARY, M.; MOUSSA, Z. Antioxidant activity: the presence and impact of hydroxyl groups in small molecules of natural and synthetic origin, Antioxidants - benefits, sources, mechanisms of action. *IntechOpen*, 2021.

63. DIAS, V.; JUNN, E.; MOURADIAN, M.M. The role of oxidative stress in Parkinson's disease. *J. Parkinsons Dis*., 2013, 3(4), 461-91.

64. *Raport anual al ONVV din Republica Moldova*. https://wineofmoldova.com/wp-content/uploads/2021/02/Raport-Anual-2019.pdf.

65. SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; De FAVERI, D.M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *J. Food Eng.*, 2007, 81(1), 200-208.

66. GHENDOV‐MOSANU, A.; COJOCARI, D.; BALAN, G.; PATRAS, A.; LUNG, I.; SORAN, M.‐L.; OPRIŞ, O.; CRISTEA, E.; STURZA, R. Chemometric Optimization of Biologically Active Compounds Extraction from Grape Marc: Composition and Antimicrobial Activity. *Molecules.* 2022, 27, 1610.

67. GUTIERREZ-ESCOBAR, R.; ALIANO-GONZALEZ, M.J.; CANTOS-VILLAR, E. Wine polyphenol content and its influence on wine quality and properties: a review. *Molecules*, 2021, 26(3), 718.

68. SALEHI, B.; MISHRA, A.P.; NIGAM, M.; SENER, B.; KILIC, M.; SHARIFI-RAD, M. Resveratrol: a double-edged sword in health benefits. *Biomedicines*, 2018, 6(3), 91.

69. ANDRADE, J.M.; FAUSTINO, C.; GARCIA, C.; LADEIRAS, D.; REIS, C.P..; RIJO, P. *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Future Sci. OA*, 2018, 4(4), FSO283.

70. BERNATONIENE, J.; KOPUSTINSKIENE.; D.M. The role of catechins in cellular responses to oxidative stress. *Molecules*, 2018, 23(4), 965.

71. CHEN, X.; DENG, Z.; ZHENG, L.; ZHANG, B.; LUO, T.; LI, H. Interaction between flavonoids and carotenoids on ameliorating oxidative stress and cellular uptake in different cells. *Foods*, 2021, 10(12), 3096.

72. LI, Z.; MOALIN, M.; ZHANG, M.; VERVOORT, L.; HURSEL, E.; MOMMERS, A.; HAENEN, G.R.M.M. The flow of the redox energy in quercetin during its antioxidant activity in water. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, 21(17), 6015.

73. STURZA, R.; SCUTARU, IU.; DUCA, G. Redox processes in grapes processing. In *Environmental and technological aspects of redox processes*; Duca, G., Vaseashta, A., Eds.; IGI Global - Engineering Science Reference: USA, 2023; 1, 276-306.