CZU: 544.43:665.33
https://doi.org/10.59295/PRTEP/2023_22

22. CINETICA OXIDĂRII FORŢATE A ULEIURILOR DE FLOAREA SOARELUI, SEMINŢE DE STRUGURI, NUC, PORUMB SUB ACŢIUNEA DIFERITOR FACTORI

Rodica STURZA, Raisa DRUŢĂ, Ecaterina COVACI, Iurie SUBOTIN
Universitatea Tehnică a Moldovei

Rezumat. În prezentul studiu s-a analizat influenţa factorului termic şi acţiunea unor antioxidanți în calitate de inhibitori ai oxidării uleiului din semințe de struguri, nuci și germeni de porumb. Oxidarea a fost studiată în regim forțat timp de 700 h, prin adăugare de peroxid de hidrogen și ioni de Cu^{2+}. Au fost stabilite condiţiile optime ale procesului de oxidare accelerată în sistemele analizate. Progresul oxidării lipidelor a fost evaluat prin măsurarea valorii peroxidului (PV) și a dienelor și trienelor conjugate (CD, CT). Au fost identificați o serie de produși secundari ai oxidării lipidelor: hexanal, octanal și hidroxi-nonadienal. A fost monitorizată intensitatea formării acestor compuși în timpul oxidării. De asemenea s-a studiat efectul stabilizator al extractelor lipofile din două tipuri de fructe de pădure, cătină și măceșe, asupra uleiului de floarea soarelui. Această cercetare a inclus analiza produselor și mecanismelor de oxidare a uleiului de floarea-soarelui, inclusiv determinarea modificărilor chimice care apar în procesul de oxidare a lipidelor prin LC-MS/MS folosind ionizarea electrospray în mod negativ și pozitiv.

Cuvintele cheie: oxidarea lipidelor, tratament termooxidativ, produşi secundari, antioxidanţi

FORCED OXIDATION KINETICS OF SUNFLOWER, GRAPE SEED, WALNUT, CORN OILS UNDER THE ACTION OF DIFFERENT FACTORS

***Summary**. In the present study, the influence of the thermal factor and the action of some antioxidants as inhibitors of oil oxidation from grape seeds, nuts and corn germs were analyzed. The oxidation was studied in forced mode for 700 h, by adding hydrogen peroxide and Cu^{2+} ions. The optimal conditions of the accelerated oxidation process in the analyzed systems were established. The progress of lipid oxidation was assessed by measuring peroxide value (PV) and conjugated dienes and trienes (CD, CT). A number of secondary products of lipid oxidation have been identified: hexanal, octanal and hydroxy-nonadienal. The intensity of the formation of these compounds during oxidation was monitored. The stabilizing effect of lipophilic extracts from two types of berries, sea buckthorn and rose hip, on sunflower oil was also studied. This research included the analysis of sunflower oil oxidation products and mechanisms, including the determination of chemical changes occurring in the lipid oxidation process by LC-MS/MS using electrospray ionization in negative and positive mode.*

***Keywords**: lipid oxidation, thermooxidative treatment, secondary products, antioxidants*

1. INTRODUCERE

Oxidarea lipidelor este una dintre cauzele majore ale scăderii valorii nutriționale a alimentelor, limitând durata lor de valabilitate. Acest fenomen duce la modificarea calității nutriționale și organoleptice ale uleiurilor. Consumul de metaboliți ai degradării oxidative a lipidelor este cauza stresului oxidativ al corpului uman și, respectiv, provoacă condiții morbide multiple pentru sănătatea umană [1].

Stabilitatea oxidativă a uleiurilor este rezistența la oxidare în timpul procesării și depozitării [2, 3]. Rezistența la oxidare poate fi exprimată ca perioada de timp necesară pentru a atinge punctul critic de oxidare, indiferent dacă este vorba de o schimbare senzorială sau de o accelerare bruscă a procesului oxidativ [4]. Stabilitatea oxidativă este un indicator important pentru a determina calitatea uleiului și durata de valabilitate deoarece compușii cu masă moleculară scăzută sunt produși în timpul oxidării.

Ratele de formare a radicalilor lipidic peroxidic și a hidroperoxidului depind doar de disponibilitatea oxigenului și temperatură [5]. La interacţiunea radicalilor se obţin specii non-radicale și reacția se stopează. Produsele primare de oxidare, hidroperoxizii lipidici, sunt relativ stabile la temperatura camerei și în absența metalelor. Cu toate acestea, în prezența metalelor sau la temperaturi ridicate, acestea sunt ușor descompuse în radicali alcoxi și apoi formează aldehide, cetone, acizi, esteri, alcooli și hidrocarburi cu lanț scurt [6].

În alimente oxidarea lipidelor reprezintă un proces, format dintr-un şir de etape, fiind influenţat de structura chimică a acizilor graşi nesaturaţi, starea fizică a lor (lichidă sau solidă), prezenţa sub o formă sau alta a unor prooxidanţi anorganici (ionii ai unor metale: Fe^{2+}, Cu^{2+}, Co^{2+}, Mn^{2+}) sau organici (hemoglobina, mioglobina), pre-existenţa unor radicali liberi, existenţa lipazelor, cantitatea şi calitatea substanţelor cu rol antioxidant din aliment, modul de procesare a alimentului, modul de ambalare şi condiţiile de depozitare a alimentului [7].

Stoparea sau inhibarea procesului de autooxidare a lipidelor are o importanţă practică pentru diferite aplicaţii industriale, în special pentru industria alimentară. Una din cele mai raţionale metode de inhibiţie a autooxidării lipidelor este folosirea unor antioxidanţi naturali accesibili, relativ ieftini, care nu afectează sănătatea potenţialilor consumatori.

În scopul studierii şi selectării unor antioxidanţi potenţial utili pentru inhibiţia procesului oxidativ a fost necesar de a studia şi de a înţelege mecanismul şi cinetica procesului de autooxidare a lipidelor, înfluienţa diferitor factori asupra cineticii procesului, atât în lipsa cât şi în prezenţa unor antioxidanţi.

Aferent prezentei lucrări, mecanismul procesului de oxidare a lipidelor a fost subiect al unor studii anterioare în cadrul Universității Tehnice din Moldova cât şi în alte laboratoare dotate în acest scop [1,7-12].

Schematic, procesul de oxidare presupune trei etape: inițierea, propagarea şi finalizarea oxidării [13].

Inițierea oxidării lipidelor. Oxidarea grăsimilor începe cu apariția radicalilor liberi, consecință a pierderii atomilor de hidrogen din structura acizilor graşi. De regulă, este eliminat atomul de hidrogen de la nivelul unui atom de carbon care participă la o legătură dublă, ceea ce explică sensibilitatea mai mare la oxidare a acizilor graşi nesaturați. Radicalii liberi, datorită faptului că au cel puțin un electron necuplat, se caracterizează print-o reactivitate ridicată. Radicalii liberi apar sub influența unor inițiatori ai oxidării (prooxidanţi) sau în prezența oxigenului activat [14].

Activarea oxigenului se poate realiza prin:

- trecerea oxigenului de la starea triplet la starea singlet;
- formarea de hidroxi-peroxizi, anioni superoxid sau hidroxi-radicali;
- formarea complecşilor feril oxigen-fier.

În plus, oxidarea acizilor graşi poate surveni sub acțiunea unor sisteme enzimatice (peroxidaze, lipo-oxigenaze, etc.) ce pot activa oxigenul.

$$RH \rightarrow R\cdot + H\cdot \quad (1)$$

Propagarea. Odată formați, radicalii liberi de tip alchil produşi la etapa de inițiere, interacționează rapid cu oxigenul molecular, formând peroxi-radicali. Fiind instabili, aceştia captează rapid atomii de hidrogen de la acizii graşi nesaturați din vecinătate, formând hidroperoxizi şi noi radicali alchil liberi. Reacția se repetă multiplu.

$$R\cdot + {}^3O_2 \rightarrow ROO\cdot \quad (2)$$

$$ROO\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot \quad (3)$$

Finalizarea oxidării. Întreruperea reacțiilor de degradare în lanț a acizilor graşi se realizează prin inactivarea radicalilor liberi. Radicalii liberi pot interacţiona între ei, se dezactivează cu formarea de compuşi polimerici stabili:

$$ROO\cdot + R\cdot \rightarrow ROOR \quad (4)$$

$$R\cdot + R\cdot \rightarrow RR \quad (5)$$

(R: lipid alchil)

Hidroxiperoxizii formați în faza de propagare reprezintă produşii primari ai oxidării grăsimilor. Aceştia sunt instabili şi se descompun rapid formând produşii secundari ai oxidării, care sunt reprezentați, în majoritatea cazurilor, prin compuşii carbonilici (aldehide şi cetone) [14].

Peroxizii nu influențează substanțial proprietățile organoleptice ale grăsimilor, responsabili de modificările de aromă caracteristice grăsimilor râncede fiind compușii carbonilici.

Pentru modelarea cineticii oxidării lipidelor a fost utilizat un prooxidant (peroxidul de hidrogen) şi un catalizator (Cu^{2+}), care iniţiază procedura de formare a oxigenului singlet [15].

$$Cu^{2+} + RH \rightarrow Cu^{+} + R^{-} + H^{+} \quad (6)$$

$$Cu^{+} + {}^{3}O_2 \rightarrow Cu^{2+} + O_2^{-} \cdot \quad (7)$$

$$O_2^{-} + O_2^{-} \cdot + 2H^{+} \rightarrow {}^{1}O_2 + H_2O_2 \quad (8)$$

$$H_2O_2 + O_2^{-} \xrightarrow{\text{cataliza metalelor}} HO \cdot + OH^{-} + {}^{1}O_2 \quad (9)$$

$$Cu^{+} + H_2O_2 \rightarrow Cu^{2+} + OH^{-} + HO \cdot \quad (10)$$

De asemenea, metalele accelerează autooxidarea uleiului prin descompunerea hidroperoxizilor [16]:

$$ROOH + Cu^{+} \rightarrow RO \cdot + Cu^{2+} + OH^{-} \quad (11)$$

$$ROOH + Cu^{2+} \rightarrow ROO \cdot + Cu^{+} + H^{+} \quad (12)$$

În calitate de substrat au fost utilizate uleiurile din seminţe de struguri, din nucă şi din germeni de porumb. S-a realizat un studiu privind procesul de oxidare forțată a uleiurilor din semințe de struguri, miez de nucă și germeni de porumb în prezența peroxidului de hidrogen și a ionilor Cu (II). S-a cercetat acțiunea unor antioxidanți asupra procesului de oxidare asupra uleiurilor cercetate.

2. REZULTATE ŞI DISCUŢII

2.1. Oxidarea uleiului la acţiunea factorului termic

Unul dintre obiectivele acestui studiu a fost studierea oxidării forțate a uleiului de floarea soarelui. Cu acest scop s-a analizat stabilitatea termică la 90°C pentru o serie de probe de ulei timp de 50 de ore și s-au determinat următorii parametri: indicele de peroxid: indicele de aciditate, aciditatea uleiului, indicele de iod, indicele de saponificare, indicele de refracție, densitatea și umiditatea (tab. 1).

Conform valorilor din tabelul 1, indicele de peroxid a crescut esenţial (de 27 de ori), fapt ce indică o oxidare forțată drastică a probelor de floarea soarelui studiate. În cazul tratamentelor termice oxigenul este principalul agent oxidant, indiferent de modul de inițiere a proceselor de oxidare. În stare normală, oxigenul este sub formă de triplet ca $^{3}O_2$, unde ultimii doi electroni sunt pe orbitalii π*2p (yz) și au spini paraleli (S cu valoarea 1 a momentului total de spin). Astfel, molecula de oxigen în starea fundamentală poate interacționa cu ușurință cu specii care posedă electroni necuplați (radicali). Dar energia de

activare a reacțiilor dintre oxigenul molecular și moleculele cu electroni cuplati este foarte mare: între 146 și 273 kJ·mol^{-1} [17]. Deci, fixarea directă a oxigenului triplet de către lanțurile de acizi grași este imposibilă. Printre alte configurații electronice ale oxigenului există două forme: 1Δ g și 1Σ g+ care corespund stărilor singlet $^1O_2$. Prima include cei doi electroni cu spin anti-paralel, localizați pe același orbital anti-aglomerare, iar a doua – pe ambii orbitali anti-aglomerare.

Tabelul 1

Valoarea indicilor fizico-chimici ai probelor de ulei studiate

Indicii fizico-chimici analizaţi	Ulei de floarea-soarelui	Ulei de floarea soarelui oxidat
Caracteristici organoleptice	Fluid, galben pai	Fluid, culoare închisă și miros rânced
Indicele de peroxid, *meq. O_2·kg $^{-1}$*	5.30 ± 0.70	144.5 ± 2.00
Indicele de aciditate, *mg KOH·g $^{-1}$*	0.18 ± 0.04	2.46 ± 0.10
Aciditatea, grade T	0.09 ± 0.02	1.25 ± 0.06
Indicele de iod, *g I_2· 100 g $^{-1}$*	1.23 ± 1.20	0.80 ± 1.40
Indicele de săpunificare, *mg KOH·g $^{-1}$*	192.60 ± 2.00	183.79 ± 1.30
Indicele de refracţie	1.463 ± 0.035	1.476 ± 0.025
Densitatea, 20 °C	0.912 ± 0.020	0.983 ± 0.020
Umiditatea, %	0.100 ± 0.02	2.00 ± 0.20

Prima formă este extrem de electrofilă și reacționează cu legătură dubla, iar a doua este instabilă și se transformă în prima care ulterior poate inița oxidarea



Fig. 1. *Mecanismul de adiţie a oxigenului singlet la legătura dublă [14]*

Compuşii intermediari instabili se transformă imediat în hidroperoxizi mai stabili. Adiţionarea oxigenului singlet la acidul linoleic decurge de 1000-1500 de ori mai rapid decât adiţionarea oxigenului triplet. Produsele primare au amestecuri de hidroperoxizi conjugați și neconjugați.

Un alt mecanism de inițiere a oxidării lipidelor implică descompunerea termică a hidroperoxizilor [18]. Această reacție endotermă este favorizată de temperaturile ridicate de procesare a alimentelor:

$$2\ ROOH \rightarrow RO + H_2O + ROO\bullet \quad (13)$$

Radicalii alchil produși în etapa de inițiere interacționează rapid cu oxigenul molecular, formând radicali peroxil •ROO. Acestea, fiind instabile, captează rapid atomii de hidrogen din acizii grași nesaturați din vecinătate, formând hidroperoxizi și generând noi radicali lipidici:

$$R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet \quad (14)$$

$$ROO\bullet + RH \rightarrow ROOH + R\bullet \quad (15)$$

În cazul acizilor polinesaturați, oxigenul este fixat la un capăt al dublei legături conjugate. Ruperea hidrogenului din carbonul 11 generează formarea unui radical pentadienil delocalizat în cazul acidului linoleic. Fixarea oxigenului la acest radical în pozițiile 9 sau 13 duce la formarea a doi radicali: 9 (Z), 11 (E) 13 peroxil – și 10 (E), 12 (Z) 9 peroxil-linoleic care conduc, după fixarea hidrogenului la formarea hidroperoxizilor respectivi. Ruperea legăturii C-O într-unul dintre hidroperoxizii intermediari (β – fragmentare) generează radicalul pentadienil inițial. Dacă această scindare este urmată de o rotație a legăturii dintre atomii de carbon 12 şi 13, atunci se formează un nou radical cu poziţionare geometrică trans preferenţială. Adăugarea de hidrogen la carbonul 9 va genera formarea hidroperoxidului linoleic 10 (E), 12 (E) 9 similar mecanismelor descrise în sursele bibliografice [19,20].

Finalizarea reacției are loc în momentul interacțiunii dintre două specii de radicali, cu formarea de compuși stabili. Întrucât numărul speciilor prezente și al combinațiilor posibile este foarte mare, pot interveni diverse mecanisme:

$$RO\bullet + R\bullet \rightarrow ROR \quad (16)$$

$$2\ R\bullet \rightarrow RR \quad (17)$$

Astfel, se formează compuși cu greutate moleculară mai mare (dimeri și oligomeri), în care legăturile se formează pe bază de grupări eterice sau peroxid. Ele pot avea un impact semnificativ asupra metabolismului uman. Reacțiile de polimerizare sunt favorizate în special de temperaturile ridicate (la uleiurile de prăjit, de exemplu).

Rezultatele obținute în studiu au arătat un impact esenţial al oxidării lipidelor asupra indicatorilor fizico-chimici ai uleiului (tab. 1). Indicele de aciditate al uleiului proaspăt de floarea soarelui a crescut de 13,7 ori, cu o valoare de 2,46 mg $KOH \cdot g^{-1}$ ulei pentru probele termooxidate comparativ cu valoarea inițială de 0,180 mg $KOH \cdot g^{-1}$ ulei. Acidificarea probelor de ulei s-a datorat reacției de hidroliză a gliceridelor, acest proces fiind favorizat de apa conținută în ulei chiar și sub formă de urme. Intensitatea reacției de hidroliză

depinde de diverși factori, inclusiv de temperatura aplicată uleiului, precum și de conținutul de apă al acestuia. Acești doi factori contribuie la hidroliza trigliceridelor pentru a produce mono- și digliceride (acizi grași liberi și eventual glicerină). Acizii grași liberi se acumulează în ulei, crescându-i astfel aciditatea de peste 10 ori.

Tratamentul termooxidativ duce la reducerea gradului total de nesaturare a uleiului de floarea soarelui. Această modificare a fost evaluată prin măsurarea indicelui de iod. Acest indice permite măsurarea gradului de nesaturare generală a uleiului. Rezultatele noastre arată o scădere semnificativă a valorii acestui indice după termooxidarea probelor de ulei de floarea soarelui. Indicele de iod măsurat în uleiul proaspăt de floarea-soarelui este estimat la 1,23 mg $I_2 \cdot g^{-1}$, în timp ce în uleiul de floarea soarelui termooxidat este de doar 0,80 mg $I_2 \cdot g^{-1}$, fapt care poate fi explicat prin oxidarea legăturilor duble și/sau implicarea lor în procese active de polimerizare.

Creșterea umidității uleiului de floarea soarelui termooxidat în timpul studiului, poate fi explicată prin formarea apei și a unor produse volatile în timpul reacțiilor de oxidare. De fapt, apa și CO_2 sunt unii dintre produșii finali ai descompunerii hidroperoxizilor de acizi grași nesaturați. Umiditatea uleiului crește și datorită alimentării cu vapori de apă din aerul furnizat prin sistem.

Termooxidarea uleiului proaspăt de floarea soarelui a determinat o scădere a valorii indicelui de saponificare. În uleiul termooxidat s-a înregistrat o valoare de 183,79 mg $KOH \cdot g^{-1}$ de ulei. Indicele de saponificare oferă informații despre greutatea moleculară medie a acizilor grași care fac parte din gliceridele uleiului. Scăderea indicelui de saponificare în uleiul de floarea soarelui termooxidat indică un grad mai mare de polimerizare a acidului. Creșterea densității uleiului se explică și prin polimerizarea termo-oxidativă. Formarea polimerilor poate determina creșterea vâscozității concomitent cu creșterea lungimii lanțului și scăderea odată cu creșterea gradului de nesaturare a uleiului [21].

În timpul oxidării alchenelor se pot forma epoxizi prin adăugarea de hidroperoxizi la dublele legături, ceea ce contribuie la creșterea gradului de saturație și viscozitate a probelor conform mecanismelor descrise schematic mai jos:

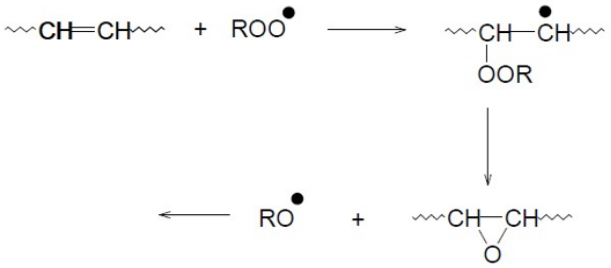


Fig. 2. *Formarea epoxicilor prin adăugarea de hidroperoxizi la legăturile duble*

Formarea epoxizilor în timpul termooxidării poate avea loc și în alte moduri descrise în figura 3. Aceste reacții chimice justifică, de asemenea, saturația lanțurilor de acizi grași și vâscozitatea uleiului în timpul termooxidării.

Analizând rezultatele, s-a constatat o creștere bruscă a valorii indicelui de peroxid concomitent cu scăderea indicelui de iod, ceea ce demonstrează existența unui proces oxidativ intens.

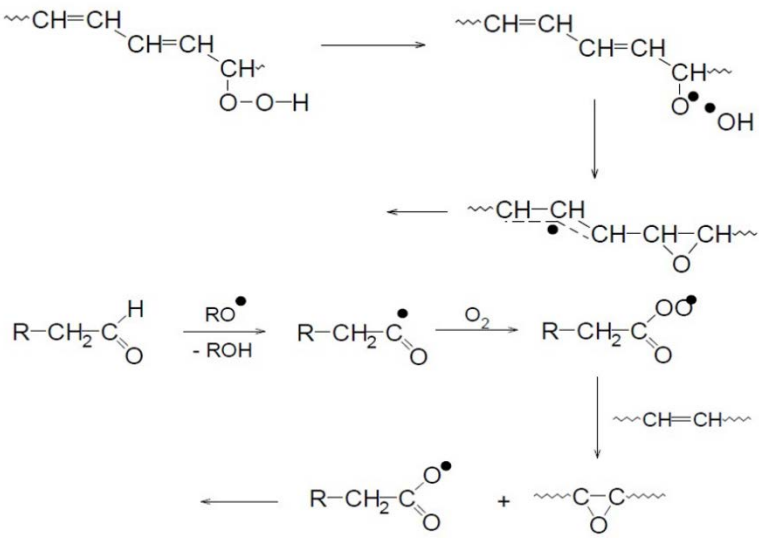


Fig. 3. *Căi posibile de formare a epoxicilor în timpul termooxidării*

Oxigenul prezent in uleiul proaspat de floarea soarelui si cel introdus experimental de aerul alimentat activeaza o serie de reactii, care genereaza radicali liberi si hidroperoxizi.

Indicele de peroxid este un indicator al prezenței hidroperoxizilor și hidroxiperoxizilor în ulei, numiți produși de degradare primară. Valoarea acestuia indică gradul de prospețime al unui ulei.

Indicele de peroxid variază între 5 și 20 pentru uleiurile native zdrobite și între 0 și 1 pentru uleiurile rafinate. Uleiul proaspăt de floarea soarelui folosit în studiu a avut un indice de peroxid de 5,30 meq.O_2·kg^{-1}, în timp ce în uleiul termooxidat acest indice crește și atinge nivelul de 144,5 meq.O_2·kg^{-1}. Această valoare indică o alterare profundă (râncezire) a uleiului încălzit. Atribuim această creștere esenţială a indicelui de peroxid efectelor combinate ale temperaturii ridicate și contactului cu aerul în timpul încălzirii prelungite a uleiului, ce induce formarea peroxizilor. Studiile similare asupra lipidelor termooxidate sugerează o creștere a temperaturii de oxidare duce la descompunerea hidroperoxizilor și deci la o scădere a indicelui de peroxid cu formarea de subproduși de oxidare precum aldehidele. Autorii [22] sugerează că energia de activare a reacției de descompunere a produselor de oxidare primară este semnificativ mai mare decât cea a formării lor. În

concluzie, având în vedere instabilitatea peroxizilor, sugerăm că indicele de peroxid nu poate servi ca un singur parametru al gradului de degradare oxidativă a uleiurilor. Prin urmare, sunt necesare alte analize complementare, precum spectrometria IR, care permite caracterizarea produșilor de descompunere termică a lipidelor. Pentru a evidenția impactul tratamentelor termice a fost efectuată analiza spectroscopiei IR a probelor de ulei proaspăt și ulei termooxidat (fig. 4 (a) și (b)).

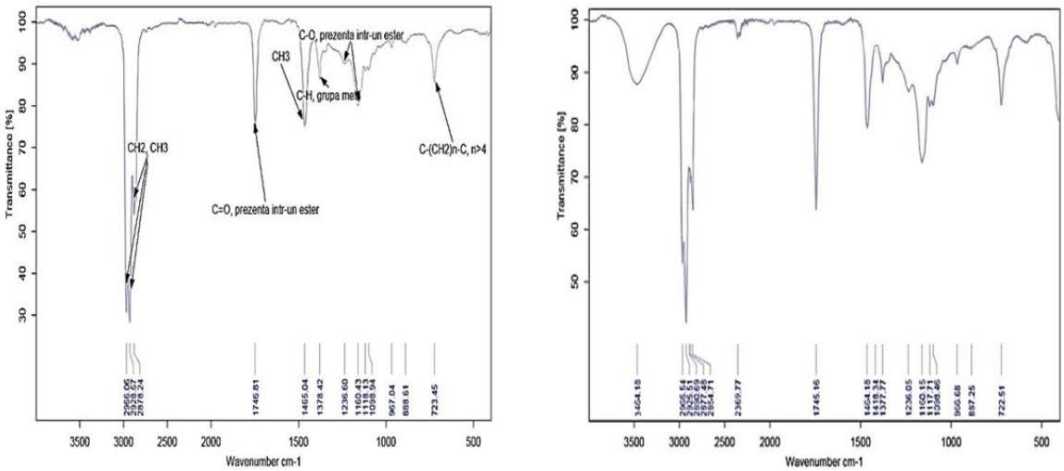


***Fig.4**. Spectrele IR ale probelor de ulei proaspăt (a) și termooxidat* (b)

Prospețimea uleiului de floarea soarelui utilizat în studiul nostru a fost confirmată de intensitățile joase ale benzilor de 3500 cm^{-1} și absența benzilor intense de absorbție în zona frecvențelor joase alocate (< 600 cm^{-1}), respectiv, ale primarului și respectiv. produse de oxidare secundară. Acest rezultat confirmă valoarea scăzută a hidroperoxizilor din uleiul proaspăt. Auto-oxidarea sau râncezirea oxidativă este principala cauză a pierderii calității uleiurilor native și rafinate în timpul depozitării [23].

Tratamentul termo-oxidativ aplicat uleiului a determinat apariția vibrațiilor moleculare și rotaționale în structura inițială a trigliceridelor și acizilor grași, ceea ce explică modificarea intensității sau apariția unor noi benzi de absorbție în regiunea de joasă frecvență (la valori mai mici decât 500 cm^{-1}) de spectru infraroșu al uleiului termooxidat de floarea soarelui [24]. În spectrul IR (fig. 4) al uleiului oxidat se constată o creștere marcată a intensității benzii largi de absorbție în intervalul 3600 ÷ 3200 cm^{-1} și maxim la 3465 cm^{-1}. Apariția sa se datorează vibrației de alungire a grupărilor OH din hidroperoxizi, apă sau trigliceride care conțin grupări hidroxil. Deoarece în condițiile oxidării termice accelerate procesul hidrolitic este favorizat, absorbția crescută la aceste lungimi de undă poate fi atribuită și acumulării de acizi grași liberi. Din analiza comparativă a spectrelor IR se poate observa că intensitățile vârfurilor la 2928 cm^{-1} și 2878 cm^{-1} din spectrul uleiului oxidat au scăzut, odată cu scurtarea lanțurilor hidrocarburice ale acizilor grași și scăderea totalului. numărul de duble legături trigliceride. Acest rezultat este confirmat de scăderea indicelui de iod și

susținut de creșterea absorbanței la 1745 cm^{-1}, atribuită creșterii concentrației de aldehide, care sunt compuși de oxidare secundară responsabili de efectul de râncezire.

Ținând cont de creșterea vâscozității uleiului de floarea soarelui termooxidat, se poate afirma că condițiile de termooxidare stabilite în studiul nostru au favorizat acumularea de produse cu greutate moleculară mare. Benzile de absorbție la 1464 cm^{-1} și 1377 cm^{-1} în spectrul IR al uleiului termooxidat sunt mai largi și au intensități puțin mai mari decât cele înregistrate la 1465 cm^{-1} și 1378 cm^{-1} în spectrul IR al uleiului proaspăt de floarea soarelui. Pe lângă aceste benzi, termooxidarea a indus apariția de noi benzi la 2369 cm^{-1} și 2335 cm^{-1} și corespunzătoare vibrației grupărilor – CH_2 și vibrației de alungire asimetrică a grupurilor de atomi – CH din triacilgliceride.

Formarea în timpul termo-oxidării a izomerilor trans ai acizilor polinesaturați a condus la apariția unei benzi de deformare a vibrației bandă =CH la 966 cm^{-1} în spectrul uleiului termooxidat, paralel cu o ușoară reducere a intensității a vibrației de deformare a benzii, grupa =CH la 1098 cm^{-1} din izomerul -cis. Acesta este un parametru care afectează calitatea uleiului. Ar fi necesar să se evalueze modalitatea practică de declanșare a hidrolizei trigliceridelor oxidate în mediul fiziologic [25].

2.2. Dinamica formării compuşilor carbonilici alifatici la oxidarea uleirilor

Majoritatea produșilor de descompunere a hidroperoxizilor au fost responsabili pentru aroma râncedă a uleiului comestibil oxidat. Compușii carbonilici alifatici au avut o influență mai mare asupra aromei uleiului oxidat datorită valorilor scăzute ale acestora. Au fost cuantificați următorii produși ai oxidării lipidelor din uleiurile vegetale: hexanal, octanal și hidroxi-nonadienal (tab. 2).

Tabelul 2

Caracteristicile produselor secundare ale oxidării lipidelor uleiurilor vegetale [26]

Aldehida	Masa molară, g/mol	Formula chimică	Calea de formare	RT
Hexanal	100	$C_6H_{12}O$	Trunchiere	2.89
Octenal	128	$C_8H_{16}O$	Trunchiere	4.65
Hidroxi-nonadienal (HNE)	154	$C_9H_{14}O_2$	Trunchiere, OH aduţionare	3.13

Oxidarea lipidelor, în special a uleiurilor ce conţin acizi graşi nesaturați, duce la formarea unei game largi de compuși aldehidici. Formarea acestor compuși a fost monitorizată în timpul procesului de oxidare forțată pentru o perioadă de 48 de ore (fig. 5). Analizând dinamica formării hexanalului în timpul oxidării uleiurilor, am observat că conţinutul de hexanal format în urma oxidării lipidelor din uleiul de struguri crește nesemnificativ în

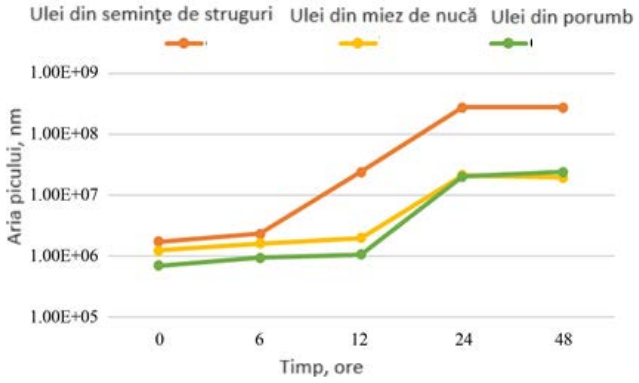
primele 6 ore, urmată de o creștere bruscă în următoarele 18 ore, finalizând cu o valoare constantă în ultimele 24 de ore.

Este necesar de menţionat că timp ce uleiurile de nucă și de porumb generează cantităţi identice de hexanal, în cazul uleiului de semințe de struguri valorile sunt mult mai mari, mai ales după 6 ore (figura 5 (a)).

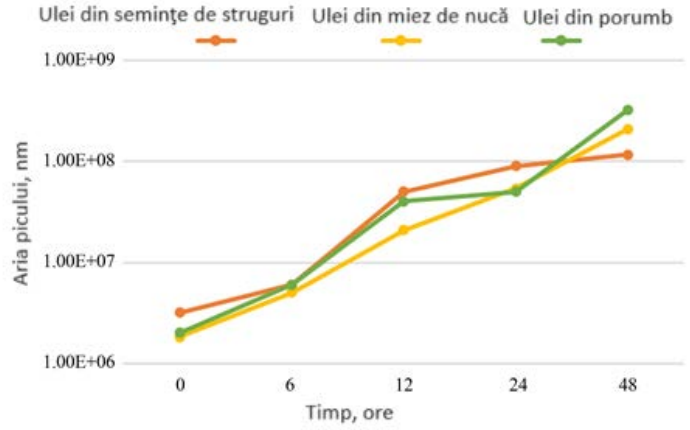
La etapa inițială, conținutul de octenal este puțin mai mare în uleiul din semințe de struguri în comparație cu celelalte mostre. După 24 de ore de oxidare, s-a depistat o creștere semnificativă a cantității de octenal în toate cele trei probe de ulei. Ulterior în ultimele 24 de ore pentru uleiul de struguri procesul de oxidare decurge relativ mai lent (figura 5 (b)).

Hidroxi-nonadienalul (HNE) este un compus mutagen și citotoxic și se formează în urma oxidării acidului linoleic. Creșterea conținutului de HNE în cazul lipidelor din uleiul din seminţe de struguri a prezentat o evoluție considerabilă în primele 12 ore de expunere. După 24 de ore de expunere, s-a depistat o scădere ușoară a conținutului de HNE, care poate fi explicată prin degradarea ulterioară a aldehidelor și formarea de noi compuși (fig. 5 (c)).

a)



b)



c)

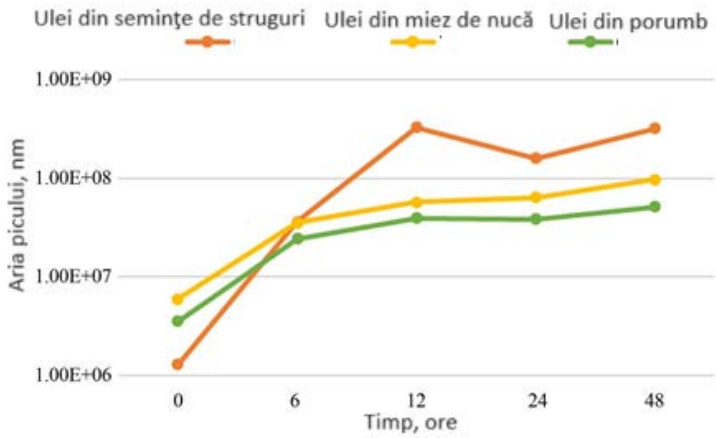


Fig.5. *Dinamica acumulării compușilor volatili în uleiurile din seminţe de struguri, germeni de porumb și nucă: (a) hexanal; (b) octenal; (c) hidroxi-nonadienal*

Procesul de oxidare a lipidelor din uleiul din seminţe de struguri a fost cercetat şi prin intermediul spectrelor UV (fig. 6).

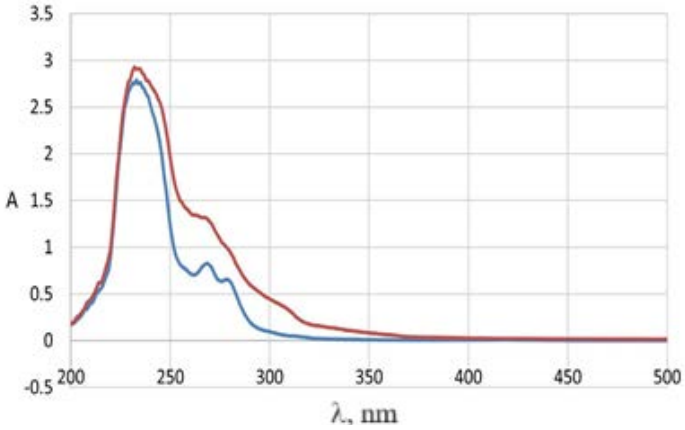


Fig. 6. *Spectrul UV al uleiului din seminţe de struguri oxidat/neoxidat (solvent - hexan)*

Creșterea valorilor absorbanței la lungimi de undă la 232/270 nm a demonstrat oxidarea accelerată a uleiului, care se exprimă prin acumularea cantității de diene (CD) și triene conjugate (CT) (tabelul 2). Astfel, în uleiul din seminţe de struguri conținutul de CD a crescut de 2,3 ori, iar pentru CT - 1,6 ori.

2.3. Oxidarea uleiurilor în prezența H_2O_2 şi ionilor de cupru Cu^{2+}

A fost analizată variația indicelui de peroxid (PV) pentru uleiurile neoxidate în funcție de timp (figura 6). S-a constatat că procesul de oxidare forțată a uleiurilor din semințe de

struguri, miez de nucă și germeni de porumb s-a finalizat în aproximativ 700 de ore. Pentru a stabili condițiile de oxidare rapidă a uleiurilor, a fost analizată influența concentrației de H_2O_2 și a ionilor de Cu^{2+} (concentrația selectată de H_2O_2 și Cu^{2+} a fost de 1 mmol/L.) (fig. 7).

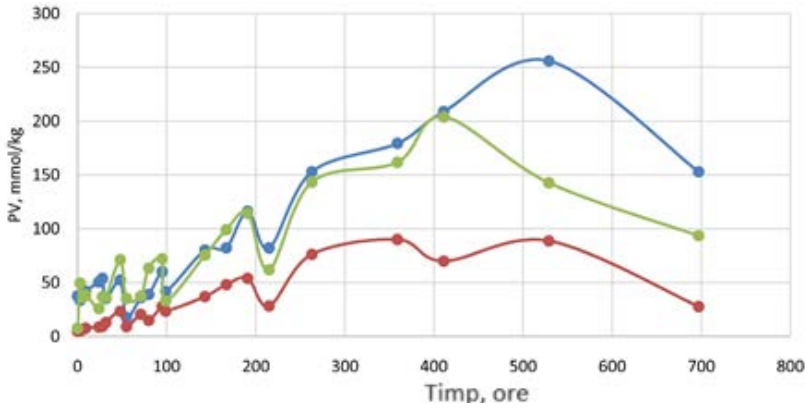


Fig. 7. *Variația PV în timpul experimentului: ulei din semințe de struguri + [H_2O_2] = 1 mmol/L, [Cu^{2+}] = 1 mmol/L; ulei din germeni de porumb + [H_2O_2] = 1 mmol/L, [Cu^{2+}] = 1 mmol/L; ulei de nucă + [H_2O_2] = 1 mmol/L, [Cu^{2+}] = 1 mmol/L*

Calea cea mai probabilă de descompunere a hidroperoxizilor constă în scindarea homolitică a legăturii oxigen-oxigen cu formarea radicalilor alcoxi și hidroxi. Radicalul alcoxi suferă apoi scindarea β -homolitică a legăturii carbon-carbon cu formarea oxo-compușilor și radicalilor alchil saturați sau nesaturați. Produșii de peroxidare a lipidelor au fost în fond aldehidele cu masă moleculară mică, cetonele, alcoolii și hidrocarburile cu lanț scurt.

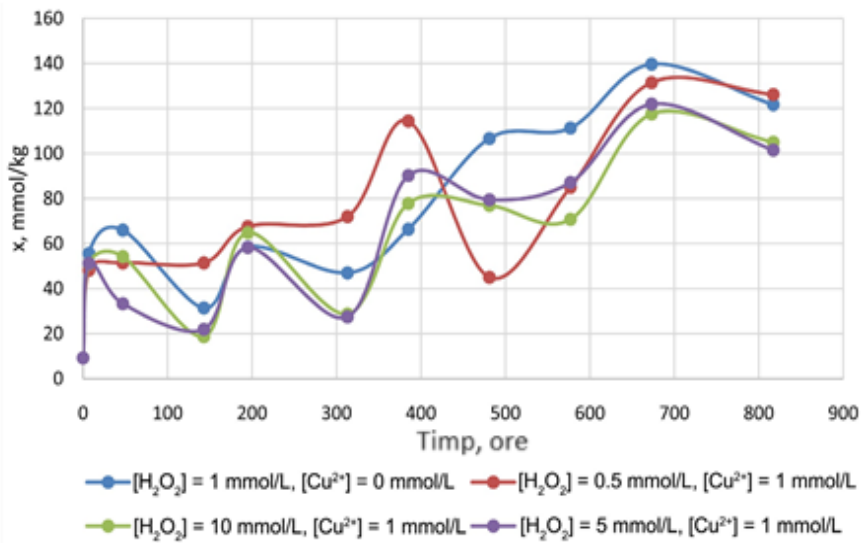


Fig. 8. *Oxidarea uleiului din semințe de struguri cu diferite concentratii de H_2O_2 in prezenta ionilor de cupru (Cu^{2+})*

2.4. Oxidarea uleiurilor în prezenţa antioxidanţilor

La studierea procesului de inhibare a oxidării uleiurilor s-a analizat acțiunea a-tocoferolului, n-octil galatului, 6-palmitatului de acid L-ascorbic și extractului de matcha (ceai verde). În urma analizei influenței antioxidanților asupra uleiurilor analizate, sa stabilit că cei mai eficienți inhibitori de oxidare sunt galatul de n-octil și 6-palmitatul de acid L-ascorbic. O acțiune mai puțin pronunțată a fost găsită în cazurile de a-tocoferol și extract de matcha (ceai verde) (fig. 9, 10).

Cantitatea maximală de monohidroperoxizi a fost determinată în primele 48 de ore de oxidare forțată. Ulterior, s-a înregistrat o scădere a PV (72 h), urmată de o evoluție mai lentă. Această modificare a procesului de oxidare corespunde inițierii procesului de scindare a monohidroperoxizilor, confirmată prin formarea de produși secundari de oxidare a lipidelor [26].

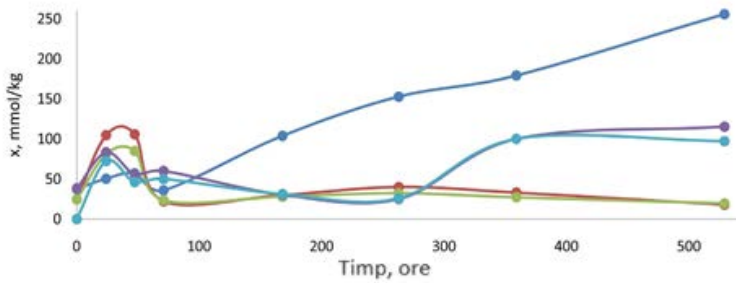


Fig. 9. *Oxidarea (PV) a uleiului de seminţe din seminţe de struguri în prezenta H_2O_2 si antioxidanti: 6-palmitat de acid L-ascorbic (0,1%); n-octil galat (0,1%); a -tocoferol (1%); extract de matcha (1%) (-•- ulei + $[H_2O_2]$ = 1 mmol/l; -•- ulei + $[H_2O_2]$ = 1 mmol/l + LAAP; -•- ulei + $[H_2O_2]$ = 1 mmol/l + Matcha; -•- ulei + $[H_2O_2]$ = 1 mmol/l + OcGA; -•- ulei + $[H_2O_2]$ = 1 mmol/l + a-tocoferol).*

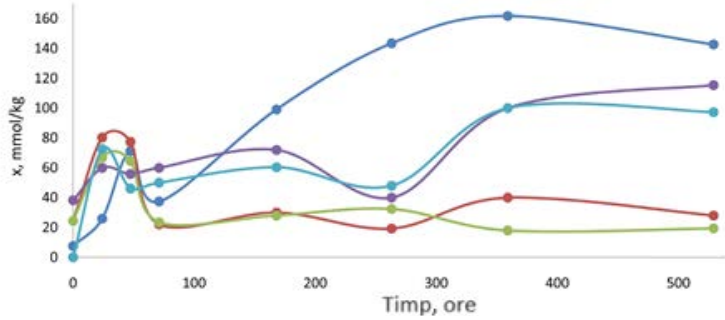


Fig. 10. *Oxidarea (PV) a uleiului din miez de nucă în prezența H_2O_2 și antioxidanților: 6-palmitat de acid L-ascorbic (0,1%); n-octil galat (0,1%); a -tocoferol (1%); extract de matcha (1%). (-•- ulei + $[H_2O_2]$ = 1 mmol/L; -•- ulei + $[H_2O_2]$ = 1 mmol/L + LAAP; -•- ulei + $[H_2O_2]$ = 1 mmol/L + Matcha; -•- ulei + $[H_2O_2]$ = 1 mmol/L + OcGA; -•- ulei + $[H_2O_2]$ = 1 mmol/L + a-tocoferol).*

S-a constatat că probele de ulei cu adaos de antioxidanți au prezentat valori PV considerabil mai mici comparativ cu proba de ulei oxidată, ceea ce s-a explicat prin micşorarea vitezei de formare a produselor de oxidare a lipidelor: peroxizi și hidroperoxizi.

2.5. Acţiunea stabilizatorie a compuşilor biologic activi extraşi din surse vegetale asupra oxidării uleiului de floarea soarelui

Sau analizat profilurile individuale ale carotenoidelor extrase din fructele de cătină și măcese şi acţiunii asupra procesului de oxidare. Au fost analizate concentrațiile de carotenoizi totali și individuali și activitatea antioxidantă a pulberii uscate de cătină (tab. 3).

Tabelul 3

Carotenoizii individuali și activitatea antioxidantă a fructelor de cătină

Indici	**Cantitatea**
Mutatoxantină, mg/100 g masa proaspătă (MP)	0.33 ± 0.06
Luteina, mg/100 g MP	0.38 ± 0.03
Zeaxantina, mg/100 g MP	2.54 ± 0.08
β-Criptoxantina, mg/100 g MP	0.25 ± 0.04
cis-β-Caroten, mg/100 g MP	0.14 ± 0.02
all-*trans*-β-Caroten, mg/100 g MP	0.45 ± 0.05
γ-Carotene, mg/100 g MP	0.12 ± 0.01
Licopene, mg/100 g MP	0.11 ± 0.01
DPPH activitatea antioxidantă, mmol trolox echivalenţi (TE)/100 g MP	144.2 ± 0.4

Rezultatele denotă că pulberea uscată de cătină conținea o concentrație mare de carotenoizi (66,93 mg/100 g MP). Pop și colab. [27] au determinat conținutul total de carotenoizi din extractele din șase soiuri de cătină congelată, constatând că acesta a variat între 53 și 97 mg/100 g MP. Mai mult, Criste et al. [28] au analizat conținutul total de carotenoizi în patru soiuri de cătină, demonstrând că valorile variază între 35,78 și 5,63 mg/100 g. S-a presupus că variațiile conținutului total de carotenoizi în cătină sunt dependente de compoziția sa genetică, originea, condițiile de creștere, stadiul de maturitate la recoltare, condițiile de depozitare și metodele cu care este analizat.

Identificarea și cuantificarea carotenoizilor din extractele saponificate din boabe de cătină au fost efectuate prin cromatografie lichidă de înaltă performanță în fază inversă (RP-HPLC). Cantități semnificative de zeaxantină (2,54 mg/100 g MP) și alltrans-β-caroten (0,45 mg/100 g MP) și cantități mici de cis-β-caroten (0,14 mg/100 g) MP, γ-caroten (0,12 mg /100 g MP) și licopen (0,11 mg/100 g MP) au fost determinate în extractele de cătină [29]. Esterii β-criptoxantinei, zeaxantinei și mutaxantinei nu au fost identificați în extractele saponificate deoarece au fost hidrolizați, formând cantități considerabile de

zeaxantină liberă, β-criptoxantină (0,25 mg/100 g MP) și mutatoxantină (0,33 mg/100 g) MP). Folosind cromatografia lichidă de înaltă performanță cu detectie tandem cu fotodiode (HPLC-PAD), Criste și colab. [28] a identificat cinci compuși carotenoizi, și anume, luteină, zeaxantina, β-criptoxantina, cis-β-caroten și β-caroten, în extractele saponificate din patru soiuri de fructe de cătină. Folosind metoda HPLC-PAD pentru analiză, Pop et al. [27] au raportat că douăzeci și șapte de compuși carotenoizi au fost identificați în extractele nesaponificate din șase soiuri de cătină, printre care luteina liberă, zeaxantina, β-criptoxantina, α-carotenul, γ-carotenul, β-carotenul și licopenul. Fracția esterului carotenoid a fost reprezentată în principal de esterii zeaxantinei, urmați de esterii luteinei și criptoxantinei.

În plus, activitatea antioxidantă DPPH a fost determinată într-un extract hidroetanolic obținut din fructe de cătină (care a fost egal cu 144,2 TE/100 g MP). Carotenoizii sunt cunoscuți a fi captatori excelente de oxigen singlet, care poate preveni formarea acestuia prin neutralizarea sensibilizatorilor excitați [30]. Deși captează insuficient radicalii liberi, carotenoizii pot interacționa cu și neutraliza diferite specii de radicali care pot fi generate în interiorul celulelor, cu excepția radicalului peroxil [31].

Analiza modificărilor proprietăților fizico-chimice ale probelor investigate în timpul păstrării timp de 9 luni la o temperatură de 4 ◦C și în absența luminii a arătat că în aceste condiții, carotenoizii din extractele de cătină și măceș au influențat pozitiv influența oxidativă, stabilitatea extractelor în raport cu uleiul de floarea soarelui [29].

În baza datelor obținute s-a stabilit că pe perioada decurgerii experimentului în extractele de cătină și măceș, conținutul de carotenoizi individuali a scăzut. Concentrația de β-caroten a scăzut de la 8,45 la 6,51 mg/100 g MP (SLE) și de la 21,56 la 16,26 mg/100 g MP (RLE); cea a licopenului a scăzut de la 9,40 la 6,41 mg/100 g MP (SLE) și de la 24,01 la 16,43 mg/100 g MP (RLE); cea a zeaxantinei a scăzut de la 9,55 la 7,35 mg/100 g MP (SLE) și 24,36 la 18,38 mg/100 g MP (RLE); cea a β-criptoxantinei a scăzut de la 8,87 la 6,26 mg/100 g MP (SLE) și 22,68 la 14,96 (RLE); iar cea a luteinei a scăzut de la 7,76 la 5,29 mg/100 g MP (LES).

Reducerea conținutului de carotenoizi al extractelor lipofile în timpul depozitării sa datorat cel mai probabil izomerizării și oxidării geometrice. Gradul de izomerizare este direct corelat cu intensitatea si durata tratamentului termic aplicat. Inițial, unele dintre toate-trans-carotenoidele sunt izomerizate în configurația cis, iar atât configurația cis, cât și configurația trans sunt supuse procesului de oxidare [31]. Oxidarea carotenoidelor începe cu epoxidarea și scindarea la apocarotenale. Detectarea epoxicarotenoidelor și apocarotenalelor cu grupări hidroxil indică faptul că este implicată și reacția de hidroxilare [44]. Fragmentările ulterioare generează compuși cu masă moleculară mică (asemănători cu cei formați în timpul oxidării acizilor grași). Clivajul, care poate avea loc în diferite poziții ale lanțului polienic, produce direct fragmente scurte, volatile. Compușii volatili

sunt reprezentați în principal de aldehide, cetone, alcooli și hidrocarburi, care contribuie la formarea mirosurilor neplăcute în alimente.

Activitatea antioxidantă a carotenoizilor este o consecință directă a lanțului lor lung de polienă, care este un sistem foarte reactiv, bogat în electroni de legături duble conjugate, care sunt susceptibile de a fi atacate de reactivii electrofili și formează radicali stabilizați. Această caracteristică structurală este responsabilă în principal de reactivitatea chimică a carotenoizilor față de agenții oxidanți și radicalii liberi [31].

CONCLUZII

În urma oxidării forțate a uleiurilor analizate, s-au identificat produșii reacției de oxidare: hexanal, octenal și hidroxinonadienal. Dinamica formării compușilor de oxidare a lipidelor a fost stabilită pe o perioadă de 48 de ore. S-a constatat că modificările esențiale au loc în primele 12 ore de expunere la condiții prooxidante.

Valoarea PV variază în timpul oxidării forțate, fiind atestată maxim peste 48 de ore, urmată de o scădere semnificativă (72 ore) și o evoluție ascendentă ulterioară mai lentă. Această atracție este cauzată de scindarea intensă a monohidroperoxizilor cu formarea de produși volatili ai oxidării lipidelor. Conținutul de CD în uleiurile oxidate a crescut de 2,3 - 5,5 ori, iar pentru CT - de 1,5 - 1,6 ori.

Au fost evaluați produșii volatili dominanti ai reacției de oxidare: hexanal, octenal și hidroxinonadienal. Pe parcursul a 48 de ore curbele de formare a hexanalului și hidroxi-nonadienalului au atins valoarea maximală. S-a depistat o creștere semnificativă a cantității de octenal pentru lipide din uleiurile de nucă și porumb și o valoare mai mică pentru uleiul din semințe de struguri.

A fost cercetată acțiunea inhibitorie a antioxidanților α-tocoferol, 6-palmitat de acid L-ascorbic, galat de n-octil și extract de matcha asupra probelor de ulei. Sa stabilit acțiunea eficientă a 6-palmitatului de acid L-ascorbic și a galatului de n-octil. Concentrațiile lor optime au fost de 0,1%. S-a stabilit că α-tocoferol și extractul de matcha au fost mai puțin eficiente, concentrațiile optime fiind de 1%.

Profilurile individuale ale carotenoizilor din cătină au fost determinate folosind RP-HPLC, care a identificat zeaxantina și all-trans-β-carotenul ca carotenoizi majori, în timp ce cantități mai mici de cis-β-caroten, γ-caroten și licopen au fost identificate. Activitatea antioxidantă DPPH observată a fost de 144,2 ± 0,4 mmol TE/100 g FW. Creșterea temperaturii de la 30 °C la 45 °C a avut un efect pozitiv asupra extracției carotenoidelor din fructe de pădure, creșterea ulterioară a temperaturii până la 65 °C a afectat negativ conținutul total și individual de carotenoizi.

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”.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. YIN, H.; XU, L.; PORTER, N. Free Radical Lipid Peroxidation: Mechanisms and Analysis. *Chemical Reviews,* 2011, 111, 5944-5972. DOI: 10.1021/cr200084z.
2. MASZEWSKA, M.; FLOROWSKA, A.; DŁUŻEWSKA, E.; WRONIAK, M.; MARCINIAK-LUKASIAK, K. and ŻBIKOWSKA, A. Oxidative Stability of Selected Edible Oils. *Molecules*, 2018, 23, 1746. DOI: 10.3390/molecules23071746.
3. STURZA, R.; DRUȚĂ, R.; COVACI, E.; DUCA, Gh. and SUBOTIN, I. Mechanisms of Sunflower Oil Transforming into Forced Thermal Oxidation Processes. *Journal of Engineering Science*, 2020, 27, 238-251.
4. GUILLEN, M. and CABO, N. Fourier Transform Infrared Spectra Data versus Anisidine Values to Determine Oxidative Stability of Edible Oil. *Food Chemistry*, 2002, 77, 503-510. DOI: 10.1016/S0308-8146(01)00371-5.
5. AYALA, A.; MUÑOZ, M.F. and ARGÜELLES, S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, Article ID: 360438. DOI: 10.1155/2014/360438.
6. REPETTO, M.; SEMPRINE, J. and BOVERIS, A. Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. In: *Catala, A.,* Ed., Lipid Peroxidation , IntechOpen, London, 2012, 4-30. DOI: 10.5772/45943.
7. AHMED, M.; PICKOVA, J.; AHMAD, T.; LIAQUAT, M.; FARID, A. and JAHANGIR, M. Oxidation of Lipids in Foods. *Sarhad Journal of Agriculture*, 2016, 32, 230-238. DOI: 10.17582/journal.sja/2016.32.3.230.238.
8. SHAHIDI, F. and ZHONG, Y. Lipid Oxidation and Improving the Oxidative Sta-bility. *Chemical Society Reviews*, 2010, 39, 4067-4079. DOI: 10.1039/b922183m.
9. HAJEYAH, A.; GRIFFITHS, W.; WANG, Y.; FINCH, A. and O’DONNELL, V. The Bio-synthesis of Enzymatically Oxidized Lipids. *Frontiers in Endocrinology*, 2020, 11, Article ID: 591819. DOI: 10.3389/fendo.2020.591819.
10. SHANKAR, R.; SHIM, W.J.; AN, J.G. and YIM, U.H. A Practical Review on Photooxidation of Crude Oil: Laboratory Lamp Setup and Factors Affecting It. *Water Research,* 2015, 68, 304-315. DOI: 10.1016/j.watres.2014.10.012.
11. GHNIMI, S.; BUDILARTO, E. and KAMAL-ELDIN, A. The New Paradigm for Lipid Oxidation and Insights to Microencapsulation of Omega-3 Fatty Acids. *Compre-hensive*

Reviews in Food Science and Food Safety, 2017, 16, 1206-1218. DOI: 10.1111/1541-4337.12300.

12. POIANA, M.A. Enhancing Oxidative Stability of Sunflower Oil during Con ective and Microwave Heating Using Grape Seed Extract. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13, 9240-9259. DOI: 10.3390/ijms13079240.

13. FRANKEL, E.N. Hydroperoxide decomposition. *Lipid Oxidation*, 2012, 67-98, Elsevier. DOI: 10.1533/9780857097927.67.

14. FRANKEL, E.N. Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. *Progress in Lipid Research*, 2004, 23, 197-221.

15. LUI, X. Progress in the Mechanism and Kinetics of Fenton reaction. *MOJ Ecology & Environmental Sciences*, 2018, 3, art. N. 00060. DOI: 10.15406/mojes.2018.03.00060.

16. BASTOS, L.C.S.; PEREIRA, P.A. Influence of heating time and metal ions on the amount of free fatty acids and formation rates of selected carbonyl compounds during the thermal oxidation of canola oil. *Journal of Agricultura and Food Chemistry*, 2010, 58, 12777-12783. DOI: 10.1021/jf1028575.

17. KARLRESKIND, P. *Manuel des corps gras.* Vol. I et II, Technique et documentation, Paris, Lavoisier, 1992.

18. CRAPISTE, G.; BREVEDAN, M. and CARELLI, A. Oxidation of sunflower oil during storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1999, 76, 1437 – 1443.

19. ITO, J. et al. Direct separation of the diastereomers of phosphatidylcholine hydroperoxide bearing 13hydroperoxy – 9Z, 11 E-octadecadienoic acid using chiral stationary phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1386, pp. 53 – 61.

20. BELITZ, H.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. *Lipids.* Food chemistry. 3RD Edition, Berlin, 2004, 157 – 244.

21. BASTIDA S.; S NCHEZ-MUNIZ F. Thermal oxidation of olive oil, sunflower oil and a mix of both oils during forty discontinuous domestic fryings of different foods. *Food Science and Technology International*, 2001, 7(1), 15 – 21.

22. SM SR EN ISO 662:2012. *Animal and vegetable fats and* oils. Determination of water and volatile substances content. [In Romanian].

23. LI, J.; LIU, J.; SUN, X.; LIU, Y. The mathematical prediction model for the oxidative stability of vegetable oils by the main fatty acids composition and thermogravimetric analysis. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 2018, 96, 51 – 57.

24. MALVIS A.; SIMON P.; DUBAJ T. et al. Determination of the thermal oxidation stability and the kinetic parameters of commercial extra virgin olive oils from different

varieties of Hindawi. *Journal of Chemistry,* 2019. Article ID 45679. 8 pages. DOI: 10.1155/2019/4567973.

25. HARITONOV, S.; STURZA, R. In vitro bioavailability of sunflower oil fortified with iodine. *Journal of Engineering Science,* 2018, XXV(4), 94-99. DOI: 10.5281/zenodo.2576750.

26. SUBOTIN, I.; DRUTA, R.; POPOVICI, V.; COVACI, E.; STURZA, R. Kinetic of Forced Oxidation of Grape Seeds, Walnuts and Corn Germs Oils in the Presence of Antioxidants. *Food and Nutrition Sciences*, 2021, 12, 1326-1339. DOI: 10.4236/fns.2021.1212097.

27. POP, R.M.; WEESEPOEL, Y.; SOCACIU, C.; PINTEA, A.; VINCKEN, J.-P.; GRUPPEN, H. Carotenoid Composition of Berries and Leaves from Six Romanian Sea Buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) Varieties. *Food Chem.* 2014, 147, 1–9.

28. CRISTE, A.; URCAN, A.C.; BUNEA, A.; PRIPON FURTUNA, F.R.; OLAH, N.K.; MADDEN, R.H.; CORCIONIVOSCHI, N. Phytochemical Composition and Biological Activity of Berries and Leaves from Four Romanian Sea Buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) Varieties. *Molecules* 2020, 25, 1170.

29. GHENDOV-MOSANU, A.; POPOVICI, V.; CONSTANTINESCU (POP), C.G.; DESEATNICOVA, O.; SIMINIUC, R.; SUBOTIN, Iu.; DRUTA, R.; PINTEA, A.; SOCACIU, C.; STURZA, R. Stabilization of Sunflower Oil with Biologically Active Compounds from Berries. *Molecules,* 2023, 28, 3596. DOI: 10.3390/molecules28083596.

30. BEUTNER, S.; BLOEDORN, B.; FRIXEL, S.; HERNÁNDEZ BLANCO, I.; HOFFMANN, T.; MARTIN, H.-D.; MAYER, B.; NOACK, P.; RUCK, C.; SCHMIDT, M.; et al. Quantitative Assessment of Antioxidant Properties of Natural Colorants and Phytochemicals: Carotenoids, Flavonoids, Phenols and Indigoids. The Role of β-Carotene in Antioxidant Functions: Antioxidant Properties of Natural Colorants and Phytochemicals. *J. Sci. Food Agric*. 2001, 81, 559–568.

31. RODRIGUEZ-AMAYA, D. *Food Carotenoids: Chemistry, Biology and Technology*; IFT Press: Chichester, UK; Wiley Blackwell: Hoboken, NJ, USA, 2016; 327p.