

---

TEZA DE DOCTORAT

**Cercetări privind obținerea și  
caracterizarea unor extracte de  
*Prunus spinosa* în vederea utilizării  
ca aditiv alimentar**

(REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT)

---

Doctorand **Băbălău-Fuss Liliana-Vanda**

---

Conducător de doctorat **Prof.univ.dr. Tofană Maria**

---



## INTRODUCERE

Plantele medicinale oferă o serie de remedii naturale (SHAKERI, 2015), acestea putând fi folosite pentru prevenția sau tratarea unor afecțiuni (SPONCHIADO, 2016; FOUUDA, 2015). În afara faptului că posedă astfel de proprietăți benefice sănătății umane, acestea se pot utiliza și în ceaiuri aromate, produse cosmetice sau produse alimentare (URSO, 2016). Pe teritoriul țării noastre se cultivă cu succes o multitudine de plante medicinale, majoritatea crescând în mod spontan, neavând nevoie de o îngrijire specială. România deține o floră diversificată, cu peste 3600 de specii de plante dintre care peste 10% sunt utilizate în fitomedicină.

În ultimii ani, în medicină se dorește tot mai mult utilizarea fitoterapiei limitând folosirea excesivă a medicamentelor sintetizate chimic (AZIZ, 2016). Pe baza acestor considerente s-a ajuns la descoperirea unor noi forme de utilizare a plantelor medicinale, și anume: siropuri, granule, ceaiuri, uleiuri, extracte sau unguente (MORACZEWSKI, 2020; EL-GHAZOUANI, 2021). În ceea ce privește utilizarea acestor plante medicinale sub formă de extracte trebuie precizat că pentru valorificarea terapeutică și farmaceutică (TOFANĂ, 2006) este necesară o cunoaștere aprofundată a principiilor active în vederea alegerii corecte a tehnicii de extracție (BECZE, 2020).

Porumbarul, *Prunus spinosa*, este un arbust ale cărui componente sunt utilizate în terapia naturistă sub diferite forme (BĂBĂLĂU-FUSS, 2018). Utilizarea acestei plante este variată, principalele beneficii avându-le în special asupra sistemului digestiv, florile având acțiuni sedativă, laxativă, iar fructele, antidiareică și diuretică. Această plantă este puțin studiată sub aspect farmacodinamic, studiul proprietăților ei făcând subiectul prezentei lucrări. Compoziția chimică a plantei este variată, în flori regăsindu-se flavonoizi, quercitină, acizi organici, kamferol, săruri de potasiu și magneziu și glicozide (BĂBĂLĂU-FUSS, 2020), în timp ce fructele conțin cantități ridicate de zaharuri, antociani, polifenoli, acizi organici, prunicianină, taninuri, gumi-rezine, vitamina C și săruri de calciu și magneziu (BHUYAN, 2013).

## STRUCTURA LUCRĂRII

Lucrarea de față urmărește obținerea unor extracte de fructe de *Prunus spinosa* obținute prin tehnica extracției accelerată cu solvent (ASE) și extracția cu ajutorul fluidelor supercritice (CO<sub>2</sub>), caracterizarea acestor extracte și introducerea lor în produse alimentare sub formă de aditivi

alimentari. Probele de fructe de *Prunus spinosa* au fost prelevate din zona limitrofă a orașului Cluj-Napoca. Lucrarea "Cercetări privind obținerea și caracterizarea unor extracte de *Prunus spinosa* în vederea utilizării ca aditiv alimentar" conține un număr de 142 de pagini, fiind redactată conform normativelor USAMV Cluj-Napoca în vigoare și structurată în două părți.

Partea întâi "Stadiul actual al cunoașterii", este alcătuită din 2 capitole și se extinde pe 38 de pagini, această parte sintetizând aspectele generale privind plantele medicinale, extractele de plante și aditivii alimentari. Sunt descrise principalele caracteristici ale acestora, modul de clasificare, legislația privind aditivii alimentari și utilizarea lor în alimente.

A doua parte a tezei, "Contribuții personale" se extinde pe 89 de pagini și este structurată pe 10 capitole. În cadrul acestei părți sunt prezentate obiectivele, scopul lucrării, materialele și metodele utilizate, rezultatele obținute în urma determinărilor și discuțiile pe baza acestora. Rezultatele au fost comparate cu datele din literatură, acestea fiind sintetizate în 78 de figuri și 38 de tabele.

În **capitolul 3** sunt prezentate obiectivele, scopul și design-ul experimental al acestui studiu. **Capitolul 4** este dedicat studiului particularităților mediului natural în care a avut loc experimentarea, capitol în care au fost descrise cadrul natural al zonei de prelevare, clima și relieful. În cadrul **capitolului 5** a fost descrise materialul biologic, prelevarea probelor și metodologiile analitice utilizate pentru matricile supuse investigației. **Capitolul 6**, intitulat "Caracterizarea materiei prime folosite la obținerea unor extracte de *Prunus spinosa*" urmărește evaluarea comparativă a caracteristicilor materiei prime și evaluarea impactului factorilor de mediu asupra acesteia. **Capitolul 7** este destinat în totalitate obținerii și caracterizării extractelor din fructele de *Prunus spinosa*. Pentru obținerea extractelor s-au utilizat 2 tehnici distincte: tehnica extracției accelerată cu solvent și metoda de extracție cu ajutorul fluidelor supercritice. În **capitolul 8** au fost interpretate rezultatele cercetării privind evaluarea comparativă a extractelor de *Prunus spinosa*. A fost determinată concentrația polifenolilor totali și capacitatea antioxidantă pentru toate probele de extracte obținute din fructele aferente fiecărei locații de prelevare. **Capitolul 9** a fost destinat cercetărilor privind utilizarea extractelor de fructe de *Prunus spinosa* ca aditiv alimentar. Evaluarea efectelor extractului s-a realizat pe produse alimentare de origine vegetală și animală. În **capitolul 10** sunt evidențiate concluziile generale și recomandările derivate din această cercetare, **capitolul 11** fiind

dedicat aspectelor de originalitate și contribuțiilor inovative ale tezei, iar în **capitolul 12** sunt subliniate perspectivele viitoare de cercetare.

## REZULTATELE CERCETĂRII

**Capitolul 6** - Caracterizarea materiei prime folosite la obținerea unor extracte de *Prunus spinosa* a fost realizată prin evaluarea comparativă a caracteristicilor materialului biologic. Determinarea mineralelor esențiale din fructele de porumbur a evidențiat cantitatea impresionantă a potasiului și calciului din aceste fructe. Compararea concentrațiilor obținute ale mineralelor esențiale cu concentrația dozei zilnice recomandate a scos în evidență faptul că fructele conțin o cantitate semnificativ crescută a acestor minerale esențiale. Prin analiza concentrațiilor polifenolilor și a capacității antioxidante s-a remarcat creșterea direct proporțională a acestor doi parametri. Determinarea conținutului hidrocarburilor policiclice aromatice din fructe a demonstrat faptul că fenantrenul, fluorenil, naftalina, pirenul și fluorantenu sunt cei mai prezenți contaminanți din probe.

Evaluarea impactului factorilor de mediu asupra materiei prime (fructe de *Prunus spinosa*) a fost efectuată prin calculul unor factori de transfer al metalelor din sol în fructe și a hidrocarburilor policiclice aromatice din sol în fructe. În cazul calculului factorilor de transfer al metalelor esențiale din sol în fructe, cel mai mare raport a fost înregistrat pentru potasiu, în locația Borhanci (2.6459). Transferul hidrocarburilor policiclice aromatice din sol în fructe a indicat valori semnificativ crescute pentru majoritatea indicatorilor analizați în locația Florești. Poluarea acestei zone datorită traficului intens este regăsită și în vegetația zonei.

Rezultatele obținute, în integralitatea lor, au demonstrat că fructele de *Prunus spinosa* sunt o sursă valoroasă de vitamine și minerale, fiind recomandate în tratarea anumitor boli, însă locația de prelevare a acestora este un factor deosebit de important în alegerea fructelor, deoarece poluarea solului și a aerului pot influența calitatea proprietăților curative ale acestora.

**Capitolul 7** - Extractele de *Prunus spinosa* au fost realizate prin două tehnici: tehnica extracției accelerată cu solvent și metoda de extracție cu ajutorul lichidelor supercritice, utilizând dioxidul de carbon și o cantitate mică de solvent, etanolul. Extractele obținute prin extracția accelerată cu solvent, au fost analizate din punct de vedere al concentrației polifenolilor totali și capacității antioxidante pentru a se demonstra eficacitatea extracției. Rezultatele obținute nu au fost satisfăcătoare, extractele prezentând concentrații semnificative de polifenoli (154 mg/ml), iar

capacitatea antioxidantă a prezentat valori extrem de scăzute. Matricea de corelație a celor doi parametri a indicat o corelație de doar 0.42, fapt pentru care aceste extracte nu au fost utilizate în analizele viitoare, și implicit s-a renunțat la această tehnică de extracție.



**Fig. 1. Extractele obținute prin extracția CO<sub>2</sub>**    **Fig. 2. Extractele obținute prin extracția ASE**

Cea de-a doua tehnică de extracție, cea cu ajutorul fluidelor supercritice, a fost dezvoltată cu ajutorul dioxidului de carbon ca lichid supercritic și o cantitate mică de solvent. Extractele au fost analizate în vederea determinării caracteristicilor de interes pentru prezenta lucrare. Au fost determinate concentrațiile polifenolilor totali (1212 mg/ml) și capacitatea antioxidantă (2407 μg/ml) și s-a putut observa faptul că acești parametri prezintă valori maxime în ultima campanie de prelevare, noiembrie 2019. Semnificația acestor valori crescute, după prima brumă, confirmă faptul că aceste fructe ajung la maturitate deplină doar după ce au luat contact cu temperaturi scăzute. Rezultatele obținute cu ajutorul acestui tip de extracție au fost semnificativ pozitive, motiv pentru care au fost determinate și concentrațiile de metale grele esențiale și toxice.



**Fig.3. Situația comparativă a parametrilor de evaluare a extractelor obținute prin tehnica ASE**



**Fig.4. Situația comparativă a parametrilor de evaluare a extractelor obținute prin tehnica CO<sub>2</sub>**

Având în vedere datele obținute privind caracterizarea extractelor, se poate afirma că extracția favorabilă acestui tip de fructe este extracția cu

ajutorul dioxidului de carbon utilizat ca lichid supercritic. Parametrii extracției realizate cu ajutorul dioxidului de carbon utilizat ca lichid supercritic ajută la transferul mineralelor și proprietăților benefice ale fructelor în extracte, făcând din acestea un produs valoros alimentației umane, iar datorită proprietăților antioxidante, extractul obținut prin cercetarea care stă la baza prezentei teze poate fi consumat ca atare sau poate fi introdus în produse alimentare.

**Capitolul 8** - Concentrația polifenolilor totali a fost determinată din toate fructele și extractele obținute, rezultatele fiind interpretate comparativ pentru a se putea demonstra transferul acestor compuși în noul produs obținut. Pentru locația Chinteni, valorile concentrațiilor polifenolilor din fructe și din extracte cresc direct proporțional, cea mai mare valoare fiind înregistrată în ultima campanie de prelevare (fruct – 628 mg/kg, extract – 909 mg/ml). Aceeași pantă ascendentă se observă și în cazul probelor din zona de prelevare Pata (fruct – 782 mg/kg, extract – 1071 mg/ml). Locația Borhanci prezintă concentrații scăzute ale concentrațiilor polifenolilor în campania de prelevare octombrie 2018. Același fenomen este întâlnit și la locația de prelevare Florești în luna octombrie 2018. Pentru toate locațiile de prelevare, concentrația polifenolilor din fructe și implicit, extracte este crescută în ultima lună de prelevare, noiembrie 2019. Situația comparată a mediilor concentrațiilor polifenolilor, arată că locația Borhanci este locația cu valorile cele mai ridicate atât ale concentrațiilor din fructe, cât și ale extractelor. Matricea de corelație a celor doi parametri indică o corelație pozitivă 0.81.



Fig. 5. Situația comparată a polifenolilor din fructele din perioada de prelevare 2018-2019 și extracte

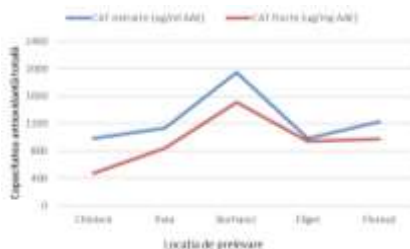


Fig. 6. Situația comparată a capacității antioxidante din fructe din perioada de prelevare 2018-2019 și extracte

Capacitatea antioxidantă a extractelor a fost determinată comparativ cu cea a fructelor, în cazul locației Chinteni situația fiind similară cu cea a concentrației polifenolilor totali. Creșterea capacității

antioxidante este progresivă, valoarea maximă fiind înregistrată în ultima lună de prelevare. Locația Pata prezintă o scădere a capacității antioxidante a extractelor față de cea a fructelor, în ultima lună de prelevare (octombrie 2018 fruct – 645  $\mu\text{g}/\text{mg}$  AAE, extract – 594  $\mu\text{g}/\text{ml}$  AAE) situația fiind total opusă în ultima campanie de prelevare (noiembrie 2019 fruct – 1125  $\mu\text{g}/\text{mg}$  AAE, extract – 2098  $\mu\text{g}/\text{ml}$  AAE). În cazul locației Borhanci se observă o scădere semnificativă a capacității antioxidante în a doua campanie de prelevare, valoarea maximă fiind atinsă în ultima campanie de prelevare (extract 2407  $\mu\text{g}/\text{ml}$  AAE). Cazul locației Făget este similar cazului locației Pata, valorile înregistrate fiind apropiate. Valorile obținute pentru locația Florești arată o creștere continuă și lineară a capacității antioxidante pentru ambele matrice. Ca și în cazul celorlalte locații, valoarea maximă este obținută în ultima campanie de prelevare. Situația comparată a mediilor capacității antioxidante a fructelor și extractelor grupate pe locații demonstrează că în urma extracției, capacitatea antioxidantă a extractelor este superioară celei determinate în fructe, cu excepția locației Făget, unde valorile sunt aproximativ egale (fruct – 1509  $\mu\text{g}/\text{mg}$  AAE, extract – 1947  $\mu\text{g}/\text{ml}$  AAE). Locația Borhanci prezintă cele mai mari valori pentru capacitatea antioxidantă a fructelor și extractelor.

**Capitolul 9** - În urma analizelor efectuate pe matricea de fructe de *Prunus spinosa* a rezultat un extract valoros din punct de vedere al compoziției și al proprietăților pe care le posedă. Acest extract conține o serie de minerale esențiale organismului uman (Ca-187mg/kg K-11458 mg/kg, Mg-753 mg/kg,) și concentrații semnificative de polifenoli (872 mg/kg). Capacitatea antioxidantă a acestui extract (1947  $\mu\text{g}/\text{ml}$  AAE) face ca utilizarea lui să fie multiplă și benefică mai multor sectoare de industrii.

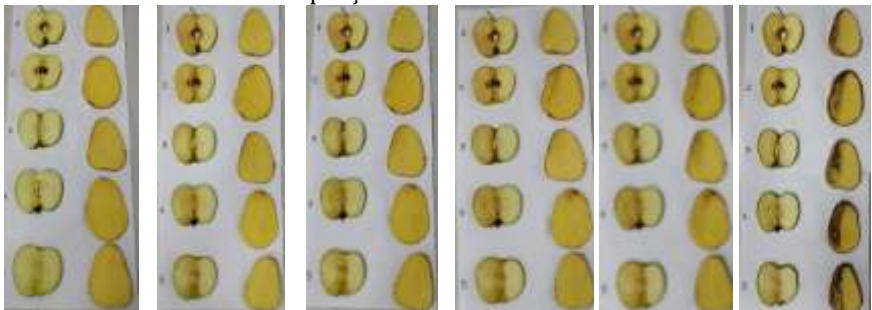


Fig.7. Testarea capacității antioxidante a extractului pe produse de origine vegetală

Extractele obținute prin tehnica de extracție cu ajutorul dioxidului de carbon ca lichid supercritic au fost introduse în produse vegetale și de

origine animală. În probele de origine vegetală a fost demonstrată capacitatea extractului realizat de a stopa oxidarea produsă de enzimele polifenoxidaze. Acest produs a stopat procesul de oxidare a probelor de măr pe toată durata experimentului. Partea probelor de măr care nu a fost tratată a oxidat complet după trecerea intervalului de timp de 6 ore, în schimb oxidarea completă a probelor de cartof s-a realizat după 24 de ore. În ceea ce privește produsele de origine animală, extractul a stopat complet formarea compușilor de hidrogen sulfurat și amoniac, aceste două substanțe fiind responsabile de procesul de putrefacție al produselor din carne. Prin determinarea acestor parametri se poate afirma că adaosul de extract la produsele de origine vegetală sau animală duce la prelungirea perioadei de valabilitate a produselor, astfel acest nou produs putând fi utilizat ca aditiv alimentar.

### **CONCLUZII GENERALE**

Analiza fructelor de *Prunus spinosa* a dezvăluit caracterul deosebit al fructelor și plaja largă de posibile domenii de utilizare a acestora:

1. Atât fructele cât și extractele din fructe posedă o cantitate impresionantă de elemente minerale esențiale, prezente în concentrații mult peste doza zilnică recomandată.
2. Analizele chimice efectuate au arătat că fructele conțin, pe lângă vitamine și minerale, și cantități semnificative de polifenoli, acizi grași saturați, clorofilă.
3. Datele obținute arată că transferul contaminanților determinați în probele de sol și aer analizate se realizează doar în zonele poluate cu trafic intens, acest lucru fiind demonstrat de către corelațiile calculate.
4. Tehnica de extracție este factor determinant pentru un transfer optim și creșterea tuturor parametrilor benefici, din fructe în extracte; în cazul prezentei lucrării metoda optimă s-a dovedit a fi cea cu ajutorul fluidelor supercritice.
5. Extracția realizată prin intermediul dioxidului de carbon utilizat ca lichid supercritic are ca rezultat obținerea unui extract în care se concentrează vitaminele și mineralele conținute în fructe, contribuind la obținerea unui produs nou - extractul cu efecte și beneficii multiple.
6. Studiile și experimentele derulate au arătat că temperatura scăzută joacă cel mai important rol în maturarea completă a fructelor. Aceste valori crescute se regăsesc atât în fructe, cât și în extracte.



7. Borhanci s-a dovedit a fi locația ideală pentru prelevarea și consumul fructelor de *Prunus spinosa*.
8. Produsul obținut, extractul, a fost introdus în alimente de origine vegetală și animală cu scopul de a demonstra capacitatea acestuia de a îmbunătăți calitățile alimentelor în care este introdus. Astfel, în urma analizelor efectuate pe probe de măr, cartof și carne, rezultatele obținute au demonstrat proprietatea acestuia de a prelungi perioada de valabilitate a alimentului în care a fost introdus. Acest extract nou, obținut din fructe de *Prunus spinosa* poate fi utilizat ca atare, deoarece prezintă o serie de beneficii pentru consumul uman, însă cel mai important aspect este că poate aduce îmbunătățiri asupra alimentelor în care este introdus.
9. Date fiind concentrațiile crescute ale mineralelor esențiale, vitaminelor, acizilor organici, sărurilor de calciu și magneziu descoperite în fructele de *Prunus spinosa* studiate și transferul total al acestora în extractele obținute se recomandă utilizarea acestor fructe, dar mai ales a extractelor, în special în industria alimentară ca aditiv alimentar.
10. Având în vedere faptul că în locația Făget au fost determinate concentrații ale PAH-urilor mai mari decât în celelalte locații studiate, se recomandă evitarea utilizării plantelor în scopuri curative în cazul în care au fost recoltate din zone despre care există informații privind existența unui grad de poluare ridicat.
11. Pentru a fi siguri că fructele sau produsele vegetale utilizate nu sunt contaminate și nu prezintă un risc pentru consumator este necesară implementarea unor seturi de analize și măsuri care să includă alegerea corespunzătoare a locului de prelevare și monitorizarea poluării mediului din care provin.

## BIBLIOGRAFIE

1. AZIZ MUHAMMAD ABDUL, MUHAMMAD ADNAN, SHAHEEN BEGUM, AZIZULLAH AZIZULLAH, RUQIA NAZIR, SHAZIA IRAMB, 2016, A review on the elemental contents of Pakistani medicinal plants: Implications for folk medicines, *Journal of Ethnopharmacology* 188, 177-192
2. BABALAU-FUSS VANDA, BECZE ANCA, ROMAN MARIUS, MOLDOVAN ANA, CADAR OANA, TOFANA MARIA, 2020, Chemical and technological properties of blackthorn (*Prunus spinosa*) and rose hip (*Rosa canina*) fruits grown wild in Cluj-Napoca area, *Agriculture - Science and Practice*, Vol. 115, Issue 3-4

3. BABALAU-FUSS VANDA, OANA BOGDANA GREBLA, OANA CADAR, MARIA ALEXANDRA HOAGHIA, MELINDA HAYDEE KOVACS, ANA MOLDOVAN, MARIA TOFANĂ, 2018, Determination of chemical composition and fatty acids of blackthorn fruits (*Prunus Spinosa*) grown near Cluj-Napoca, NW Romania, *Agriculture - Science and Practice*, Vol. 105, Issue 2 – 3
4. BECZE ANCA, VANDA LILIANA BABALAU-FUSS, CERASEL VARATICEANU, CECILIA ROMAN, 2020, Optimization of High-Pressure Extraction Process of Antioxidant Compounds from Feteasca regala Leaves Using Response Surface Methodology, *Molecules*, 25, 4209
5. BHUYAN BIMAN, KRISHNA BAISHYA, 2013, Ethno medicinal value of various plants used in the preparation of traditional rice beer by different tribes of Assam, India, *Drug Invention Today* 5, 335-341
6. EL-GHAZOUANI FATIMA, NADIA EL-OUAHMANI, IRENE TEIXIDOR-TONEUB, BOUCHRA YACOUBI, ABDERRAHMANE ZEKHNINI, 2021, A survey of medicinal plants used in traditional medicine by women and herbalists from the city of Agadir, southwest of Morocco, *European Journal of Integrative Medicine* 42, 101284
7. FOUDA AMR HAMZA, SAAD EL-DIN HASSAN, AHMED MOHAMED EID, EMAD EL-DIN EWAIS, 2015, Biotechnological applications of fungal endophytes associated with medicinal plant *Asclepias sinaica* (Bioss.), *Annals of Agricultural Science*, 60(1), 95-104
8. MORACZEWSKI KRZYSZTOF, ALONA PAWŁOWSKA, MAGDALENA STEP CZYNSKA, RAFAŁ MALINOWSKI, DANIEL KACZOR, BOGUSŁAW BUDNER, KRZYSZTOF GOCMAN, PIOTR RYTLEWSKI, 2020, Plant extracts as natural additives for environmentally friendly polylactide films, *Food Packaging and Shelf Life* 26, 100593
9. SHAKERI FARZANEH, MOHAMMAD HOSSEIN BOSKABADY, 2015, A review of the relaxant effect of various medicinal plants on tracheal smooth muscle, their possible mechanism(s) and potency, *Journal of Ethnopharmacology* 175, 528–548
10. SPONCHIADO GRAZIELA, MÔNICA LUCIA ADAM, CAROLINE DADALT SILVA, BRUNA SILVA SOLEY, CRISTINA DE MELLO-SAMPAYO, DANIELA ALMEIDA CABRINI, CASSYANO JANUÁRIO CORRER, MICHEL FLEITH OTUKI, 2016, Quantitative genotoxicity assays for analysis of medicinal plants: A systematic review, *Journal of Ethnopharmacology* 178, 289–296
11. TOFANĂ, M., 2006. Aditivi Alimentari. Interacțiunea cu Alimentul, Ed. AcademicPres, Cluj-Napoca
12. URSO VALERIA, MARIA ADELE SIGNORINI, MATTEO TONINI, PIERO BRUSCHI, 2016, Wild medicinal and food plants used by communities living in Mopane woodlands of southern Angola: Results of an ethnobotanical field investigation, *Journal of Ethnopharmacology* 177, 126–139