
TEZA DE DOCTORAT

Producția sustenabilă de acid itaconic din biomasă regenerabilă și reziduuri agricole: optimizare, aplicații și integrare în polimeri biodegradabili

Doctorand

(REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT)

Conducător de doctorat



Rezumat

Cererea globală tot mai mare pentru producția sustenabilă și materiale ecologice a intensificat interesul pentru acidul itaconic (IA), un compus cu aplicații în sectorul alimentar, farmaceutic și al ambalajelor. Tradițional sintetizat din glucoză prin fermentație cu *Aspergillus terreus*, cercetările recente s-au orientat către procese mai sustenabile, care utilizează deșeuri agroindustriale și alimentare ca substraturi pentru producția sa. Prezenta teză de doctorat explorează astfel de strategii inovatoare pentru producerea și aplicarea IA, concentrându-se în special pe bioconversia microbiană a reziduurilor subutilizate și dezvoltarea filmelor biodegradabile pe bază de IA.

Cercetarea este structurată în cinci capitole experimentale (Capitolele 4–8), fiecare abordând un aspect specific al bioprocesării și aplicării IA. Acestea includ fermentația asistată enzimatic folosind *A. awamori* și *A. terreus* pentru valorificarea tărâțelor de grâu, fermentația consorțiilor microbiene pe subproduse de sushi, formularea bio-filmelor conținând IA și aditivi naturali, evaluarea duratei de valabilitate a acestor bio-filme în sisteme alimentare reale și o evaluare integrată a siguranței și acceptabilității consumatorului prin modele de toxicitate *in silico* și teste senzoriale.

Această abordare cuprinzătoare investighează atât fezabilitatea tehnică a producerii IA din deșeuri, cât și aplicabilitatea practică a IA în sisteme de ambalare biodegradabile. Împreună, aceste studii se aliniază principiilor economiei circulare și oferă un model coerent pentru transformarea deșeurilor în produse funcționale, pregătite pentru piață.

Scopul acestei teze de doctorat este valorificarea reziduurilor agroindustriale și alimentare prin conversia acestora în compuși organici cu valoare adăugată și materiale funcționale pentru ambalare, cu precădere utilizarea IA. Aceste cercetări urmăresc să răspundă cerințelor de durabilitate ecologică, reducere a risipei alimentare și dezvoltare a soluțiilor de ambalare biodegradabile care se aliniază economiei bio-circulare.

Obiectivele principale ale acestei teze:

01. Producția de enzime și biosinteza acidului itaconic din tărâțe de grâu

Investigarea utilizării tărâțelor de grâu, un produs secundar lignocelulozic abundent, ca substrat pentru generarea de enzime hidrolitice folosind *Aspergillus awamori* în fermentație pe substrat solid. Hidrolizatele enzimatic rezultate au fost aplicate în fermentație submersă cu *A. terreus* pentru producerea IA, optimizând parametrii de fermentație pentru un randament maxim și o conversie eficientă.

02. Bioconversia secvențială a subproduselor din sushi

Dezvoltarea unui sistem microbian în două etape utilizând *Bacillus subtilis* pentru hidroliza enzimatică inițială a deșeurilor din producția de sushi, urmată de fermentația cu *A. terreus* pentru producția de IA. A fost analizată sinergia microbiană,

disponibilitatea nutrienților și producția finală de IA pentru a demonstra fezabilitatea valorificării deșeurilor alimentare bogate în nutrienți în procese fermentative secvențiale.

03. Formularea filmelor biodegradabile pe bază de IA

Proiectarea și fabricarea bio-filmelor prin încorporarea IA, chitosanului, extractului de coajă de lămâie și nanoparticulelor de argint într-o matrice PVA. Au fost evaluate proprietățile fizico-chimice, inclusiv rezistența la tracțiune, performanța barierei, capacitățile antioxidante și antimicrobiene, în scopul dezvoltării unui material de ambalaj multifuncțional, bioactiv și ecologic.

04. Evaluarea duratei de viață a filmelor bioactive în ambalarea produselor proaspete

Aplicarea filmelor pe bază de IA în ambalarea zmeurei proaspete pentru a evalua eficiența lor în prelungirea duratei de valabilitate în condiții de refrigerare. S-au monitorizat retenția umidității, inhibarea microbiană și degradarea calității vizuale pentru a valida performanța bio-filmelor.

05. Evaluarea siguranței și acceptabilității consumatorilor

Realizarea evaluărilor toxicologice *in-silico* ale componentelor bio-filmelor utilizând platforma ADMET Lab 2.0 pentru a identifica potențiale riscuri pentru sănătate, inclusiv mutagenicitate și carcinogenitate. Teste senzoriale au fost efectuate cu un panel semi-antrenat pentru a evalua acceptabilitatea bio-filmelor pe bază de IA în contexte alimentare reale, concentrându-se pe textură, aromă și aspect vizual.

Prin atingerea acestor obiective, cercetarea oferă un model complet de transformare a deșeurilor în produse, de la procesele de fermentație la aplicarea practică și validarea produsului final.

Metodologie

Fermentație și producție de enzime: tărâțele de grâu au fost utilizate ca substrat pentru producerea de enzime prin fermentație în stare solidă cu *A. awamori*, iar tărâțele hidrolizate au fost apoi fermentate submers cu *A. terreus* pentru a produce acid itaconic. Fermentațiile au fost optimizate în funcție de temperatură, pH și condiții nutriționale. Concentrația de IA și zaharuri reducătoare a fost determinată prin HPLC.

Bioconversia subproduselor din sushi: a fost dezvoltat un proces microbian secvențial, în care *B. subtilis* a fost utilizat pentru hidroliza deșeurilor din sushi, urmat de fermentația cu *A. terreus* pentru producerea IA. Procesul a fost monitorizat prin determinarea de pH, consum de zaharuri și concentrația de IA.

Formularea și caracterizarea bio-filmelor: bio-filmele pe bază de PVA au fost turnate cu IA, chitosan, extract de coajă de lămâie și nanoparticule de argint (AgNPs). Au fost analizate rezistența mecanică, permeabilitatea la vapori de apă, activitatea antioxidantă (DPPH, ABTS) și proprietățile antimicrobiene pentru *E. coli* și *S. aureus*.

Evaluarea duratei de viață: bio-filmele pe bază de IA au fost utilizate pentru ambalarea zmeurei și a afinelor păstrate la frig (4 °C). Pierderea în greutate,

dezvoltarea mușcegului și aspectul vizual au fost monitorizate în timp pentru a determina eficiența conservării.

Testare toxicologică și senzorială: profilurile toxicologice *in silico* ale componentelor bio-filmelor au fost generate folosind platforma ADMET Lab 2.0. Teste hedonic-senzoriale cu 21 de participanți au evaluat acceptabilitatea bio-filmelor cu IA utilizate pentru ambalarea afinelor.

Rezultate relevante

Fermentație și producție de enzime: fermentația în stare solidă a tărâțelor de grâu cu *A. awamori* a generat randamente ridicate de enzime hidrolitice, precum glucoamilază, celulază, și endoglucanază (50 U/g, 55 FPU/g, and 15 U/g) susținând rolul acestora în descompunerea carbohidraților complecși. Aceste enzime au permis o hidroliză eficientă a substratului, obținându-se medii bogate în zaharuri pentru fermentația submersă cu *A. terreus*. Concentrația de IA obținută din hidrolizatele de tărâțe a demonstrat preabilitatea deșeurilor lignocelulozice ca sursă de carbon pentru biosinteza microbiană.

Bioconversia subproduselor din sushi: procesul microbian în două etape, implicând *B. subtilis* și *A. terreus*, a evidențiat un model sinergic pentru valorificarea deșeurilor alimentare bogate în proteine și amidon. Pre-hidroliza realizată de *B. subtilis* a îmbunătățit disponibilitatea și digestibilitatea zaharurilor, ceea ce a dus la creșterea randamentului de IA în etapa de fermentație. Monitorizarea pH-ului, a zaharurilor reziduale și a nivelului de IA a confirmat un proces metabolic eficient.

Performanța și bioactivitatea bio-filmelor: bio-filmele cu IA, chitosan, extract de coajă de lămâie și AgNPs au prezentat o rezistență mecanică semnificativ mai mare (***) $p < 0.001$), elasticitate ridicată și rate scăzute de transmisie a vaporilor de apă comparative cu bio-filmele control pe bază de PVA. Determinările antioxidante (DPPH și ABTS) au arătat o activitate de captare a radicalilor de până la 75%, iar testele antimicrobiene au evidențiat zone de inhibiție de peste 15 mm pentru *E. coli* și *S. aureus*.

Aplicarea în ambalarea produselor proaspete: utilizarea bio-filmelor în ambalarea zmeurei și a afinelor a dus la o reducere de 35% a pierderii în greutate și o extindere a duratei de valabilitate cu două zile, comparativ cu eșantioanele martor. Dezvoltarea mușcegului a fost semnificativ întârziată, iar fructele și-au păstrat fermitatea și aspectul vizual, confirmând eficiența funcțională a filmelor îmbogățite cu IA în condiții reale de depozitare alimentară.

Siguranță și preferințe ale consumatorilor: modelarea toxicității a indicat un risc scăzut de mutagenicitate și carcinogenitate pentru componentele bio-filmului. Testele senzoriale au arătat o preferință puternică a consumatorilor pentru bio-filmele ce conțin IA și chitosan.

Concluzii generale ale acestei teze:

1. Reziduurile agroindustriale și alimentare, inclusiv tărațele de grâu și subprodusele din sushi, pot fi eficient convertite în IA prin fermentație microbiană asistată enzimatic.
2. Strategiile de co-cultură și fermentație secvențială utilizând *B. subtilis* și *A. terreus* îmbunătățesc semnificativ bioconversia substraturilor complexe.
3. Filmele biodegradabile pe bază de IA oferă o soluție multifuncțională pentru ambalarea alimentelor, combinând sustenabilitatea cu protecție antioxidantă și antimicrobiană puternică.
4. Extinderea duratei de valabilitate a zmeurei în ambalaje cu IA validează aplicabilitatea practică a acestora și sprijină reducerea risipei alimentare.
5. Evaluările toxicologice *in silico* confirmă siguranța bio-filmelor cu IA pentru contactul alimentar. Evaluarea pozitivă al consumatorilor susține potențialul de integrare pe piață.
6. Această cercetare consolidează rolul IA un compus important, fiind esențial ca fermentația microbiană să fie eficientă atât din punct de vedere financiar cât și eficient energetic. Deasemenea integrarea ei ca și componentă funcțională în materiale pentru ambalare, reprezintă un domeniu de interes.

Recomandări

1. Realizarea de studii de scalare a producției de IA utilizând deșeuri alimentare și agroindustriale, evaluând fezabilitatea industrială.
2. Investigarea altor reziduuri precum coji de fructe, tescovină de sfeclă sau deșeuri din berării.
3. Efectuarea de teste de toxicitate *in vivo* pentru a completa rezultatele *in silico*.
4. Optimizarea proprietăților filmelor pentru diverse tipuri de produse alimentare.
5. Dezvoltarea de sisteme de ambalare inteligente care integrează senzori pe bază de IA.
6. Realizarea unor evaluări ale ciclului de viață (LCA) pentru a măsura beneficiile ecologice.

Originalitatea și contribuțiile personale

Această teză prezintă perspective originale asupra producției biotehnologice de IA din materii prime neconvenționale și introduce bio-filme multifuncționale pe bază de IA. Utilizarea combinată a pretratării enzimatice, co-culturilor microbiene și dezvoltării de filme active creează un cadru complet de transformare a deșeurilor în produse. Profilarea toxicității *in silico* și testarea duratei de valabilitate în condiții reale alimentare sunt contribuții de pionierat care sporesc relevanța practică și reglementară a rezultatelor.