



UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI

Școala doctorală de Inginerie

TEZĂ DE ABILITARE

De la molecule la matrici alimentare complexe

– o abordare multidisciplinară

From molecules to complex food matrices

– a multidisciplinary approach

Conf. dr. ing. Iuliana APRODU

Domeniul de doctorat,

INGINERIA PRODUSELOR ALIMENTARE

Seria AI Nr. 7

GALAȚI 2015

Rezumat

Teza de abilitare intitulată *De la molecule la matrici alimentare complexe – o abordare multidisciplinară* reprezintă un studiu amplu și înglobează o parte din rezultatele obținute după obținerea titlului de doctor. Lucrarea este structurată astfel: în Capitol 1 este prezentată succint activitatea științifică din ultimii ani, detaliindu-se apoi o parte din rezultatele cercetărilor fundamentale (Capitolele 2 și 3) și aplicative (Capitolele 4, 5 și 6) care demonstrează principalele contribuții la stadiul actual al cunoașterii în domeniu. Cercetarea fundamentală prezentată în lucrare a urmărit, în special, fundamentarea științifică a comportamentului transglutaminazei și identificarea condițiilor optime de utilizare a acesteia în diferite ramuri din industria alimentară. În continuare lucrarea prezintă aplicații ale bioprocésării pentru valorificarea avansată a materiilor prime agro-alimentare. Sunt prezentate efectele enzimelor exogene asupra proprietăților aluaturilor pe bază de făină de grâu și făină de mei, dar și avantajele utilizării tehnologiei de panificație cu aluat acid.

În ansamblu, tematica se evidențiază prin abordarea interdisciplinară, cercetările efectuate aflându-se la granița dintre biotehnologie, știința alimentelor, chimie computațională și biofizică, acoperind astfel mai multe domenii științifice de maxim interes.

Cunoașterea proprietăților structurale, energetice și mecanice ale proteinelor este fundamentală pentru înțelegerea funcționalității lor în diverse sisteme alimentare. Deși metodele computaționale și experimentale sunt văzute adesea ca tehnici concurente, caracterizarea completă a sistemelor moleculare complexe ar putea beneficia de sinergia celor două, având în vedere că tehnicile de simulare asistată de calculator reprezintă instrumente excelente de investigație la nivel atomistic, care pot fi practic utilizate pentru completarea diferitelor teorii și a rezultatelor experimentale.

Pentru caracterizarea cât mai avansată a unor proteine de interes pentru industria alimentară am îmbinat metodele experimentale de laborator cu tehnicile de modelare moleculară (Capitolele 2 și 3). Au fost caracterizate diferite proteine de origine vegetală, animală și microbiană, o atenție deosebită acordându-se în această lucrare transglutaminazei, care este o enzimă ce catalizează reacții de cross-linking dintre proteine. Particularitățile conformaționale, energetice și mecanice ale acestei enzime au fost apreciate atât prin realizarea unor simulări de

dinamică moleculară cât și prin utilizarea spectrometriei de emisie. Atât abordarea experimentală cât și cea *in silico* indică stabilitatea ridicată a transglutaminazei la tratament termic până la temperaturi de aproximativ 50°C. Teste de andocare moleculară au fost rulate în scopul identificării afinității enzimei studiate pentru diferite substraturi al căror comportament a fost în prealabil investigat în sisteme model. Astfel s-a pus în evidență modificarea afinității enzimei, odată cu realizarea tratamentului termic, pentru diferite substraturi precum α -lactalbumina și β -lactoglobulina.

Cunoștințele fundamentale obținute prin intermediul acestor teste au fost ulterior utilizate pentru explicarea comportamentului funcțional al proteinelor la nivel macroscopic, în diverse sisteme alimentare complexe. S-a demonstrat că transglutaminaza asigură îmbunătățirea proprietăților funcțional-tehnologice ale unor proteine de origine vegetală și animală (proteine din mei și lapte) cu aplicații în industria alimentară.

Tratamentul cu transglutaminază permite obținerea de iaurt cu conținut redus de grăsime (0,1%), caz în care enzima permite îmbunătățirea consistenței produselor și reduce semnificativ fenomenul de sinereză (Capitolul 4).

De asemenea, cercetările aplicative derulate au indicat faptul că transglutaminaza poate fi utilizată cu succes pentru obținerea unor produse de panificație cu un conținut redus de gluten, prin îmbunătățirea proprietăților termomecanice ale aluaturilor pe bază de făină de grâu și făină de mei. Efectul transglutaminazei este amplificat atunci când este utilizată în combinație cu glucozoxidaza și pentozanaza, influențând pozitiv comportamentul aluaturilor pe parcursul procesării (Capitolul 5).

Tematica dezvoltată în Capitolul 6 al lucrării vizează dezvoltarea unei tehnologii de preparare a pâinii care să asigure valorificarea potențialului nutritiv al făinii de seară. În acest sens au fost realizate teste pentru identificarea parametrilor optimi de obținere a aluatului acid proaspăt și liofilizat. Au fost testate mai multe culturi starter mixte pentru fermentarea aluatului și s-a evidențiat influența activității metabolice a acestora asupra comportamentului diferitelor faze de aluat și asupra funcționalității nutritive și tehnologice a produselor finite.

Pentru obținerea rezultatelor prezentate în această lucrare am colaborat cu diferite echipe de cercetare, contribuind activ la realizarea unor activități precum planificarea și derularea experimentelor, interpretarea și diseminarea rezultatelor, atât în calitate de membru în echipa de cercetare, cât și în calitate de coordonator.

Summary

The habilitation thesis entitled *From molecules to complex food matrices – a multidisciplinary approach* is a comprehensive study, and presents some of the results obtained after completing the PhD studies. The work is structured as follows: Chapter 1 briefly presents the scientific achievements of the last years, and details on the results of fundamental (Chapters 2 and 3) and applied research (Chapters 4, 5 and 6) are afterwards given such as to demonstrate the main contribution to the state of the art in the field of food science.

The fundamental research was focused on transglutaminase behavior, and aimed at identifying optimal parameters which allow efficient use in different areas of food industry. Further on, the use of different bioprocessing practices for advanced valorisation of raw material in food industry was considered. The effects of exogenous enzymes on the properties of wheat - millet flour blends are presented, as well as the advantages of using the sourdough technology for bread preparation.

In order to achieve a complete picture on molecules – food matrices relationship, the main idea was to combine interdisciplinary efforts, which require knowledge from worldwide important scientific disciplines, such as biotechnology, food science, computational chemistry and biophysics.

The knowledge of structural, energetic and mechanical properties of proteins is crucial for understanding their functionality in different food matrices. Although computational and experimental techniques are often considered competing resources, the complete evaluation of molecular systems could benefit by their synergy; the computer assisted simulation techniques are excellent tools for investigations at atomic level that can be successfully used for adding detailed information to different theories and experimental results.

Two different approaches based on fluorescence spectroscopy and molecular modeling techniques have been combined for an advanced characterization of different food grade proteins of vegetal, animal and microbial origin (Chapters 2 and 3). A particular attention has been paid to microbial transglutaminase, which is an enzyme catalyzing proteins cross-linking. Conformational, energetic, and mechanical properties of this enzyme were estimated by carrying on molecular dynamics simulations and by means of emission spectrometry. Both experimental and *in silico* approaches showed the high stability of transglutaminase at thermal treatment up to about 50°C. In addition, molecular docking tests were carried out to estimate the affinity of the

enzyme to different preliminary characterised substrate proteins. The molecular modeling techniques enlightened the changes of the enzyme affinity for different thermally treated substrate such as α -lactalbumin and β -lactoglobulin.

The fundamental knowledge provided here was used for explaining the functional behavior of the proteins at macro level in different food matrices. In particular it was shown that transglutaminase allows improving the functional properties of different proteins of vegetable and animal origin (ex. millet proteins and milk protein) with applications in food industry.

The use of transglutaminase proved to be effective for obtaining skimmed yogurt with enhanced texture and limited syneresis phenomenon (Chapter 4).

Moreover, the results of the applied research indicated that transglutaminase can be successfully used for obtaining bakery products with low levels of gluten by improving the thermo-mechanical properties of doughs based on wheat-millet flour blends. The effect of transglutaminase is amplified when used in combination with glucose oxidase and pentosanase, positively influencing the behavior of dough during the bread making process (Chapter 5).

The work presented in Chapter 6 was aimed at developing an optimized technology for preparing the bread, while ensuring the enhanced valorisation of nutritional potential of rye flour. In this respect tests were carried out to identify the optimal parameters for the preparation of the fresh and lyophilized sourdough. Several mixed starter cultures for the fermentation of the sourdough were tested, and a significant influence of their metabolic activity on the thermo-mechanical behavior of various phases of dough and on the nutritional and technological functionality of the end products was observed.

The research presented here is the result of the collaboration with different research teams; I was actively involved in carrying out activities such as conception and design of the study, acquisition of data, analysis and interpretation of data, both as a member of the research teams and as coordinator.