



Applications of spectroscopy in the study of bioactive compounds from *Cornus mas.* L.



Topală Carmen¹, Hera Oana², Sturzeanu Monica², Vîjan Loredana¹

1. National University of Science and Technology Politehnica Bucharest, Pitesti University Centre, 1 Targu din Vale Street, 110040, Pitesti, Romania

2. Research Institute for Fruit Growing Pitesti, 402 Mărului Street, 117450, Pitesti, Romania

contact: carmen.topala@upb.ro, loredana.vijan@upb.ro

1. Obiective

Consumatorii preocupați de sănătate acordă din ce în ce mai multă prioritate alimentelor naturale minim procesate, produsele proaspete precum fructele, legumele, ierburile aromatice și condimentele fiind recunoscute ca surse importante de nutraceutice cu proprietăți benefice pentru sănătate. Consumatorii aleg, de asemenea, alimente funcționale, care adesea încorporează compuși bioactivi din aceste surse naturale. În acest sens, plantele horticole bogate în metaboliți bioactivi secundari oferă o abundență de compuși naturali benefici pentru dieta umană. Călătoria de la „câmp la furculiță” este influențată de diverse tehnologii de pre-recoltare, post-recoltare și procesare, ceea ce face ca modularea fitochimică să fie vitală pentru conservarea calității, cantității și funcționalității compușilor bioactivi din produsul final.

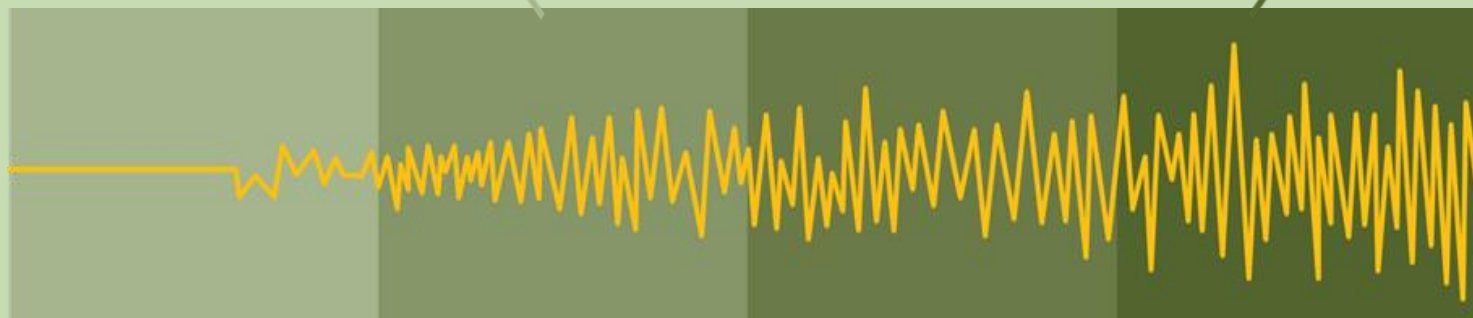
Cinci genotipuri de *Cornus mas* L. (corn european) au fost analizate pe baza culorii lor atractive și a productivității ridicate. **Spectroscopia de absorbție UV-Vis** a fost utilizată pentru a cuantifica nivelurile de zaharuri, polifenoli, flavonoide, taninuri, antociani și carotenoide (licopen și β -caroten) din fruct și pentru a evalua capacitatea antioxidantă. **Spectroscopia FTIR** a fost utilizată pentru a identifica vibrațiile caracteristice ale constituenților biochimici.

2. Material și Metode

Cele 5 genotipuri de *Cornus mas* L. au fost crescute în perioada 2023–2024 la Institutul de Cercetare pentru Pomicultură (RIFG), Pitești, România (44°54'12" latitudine nordică și 24°52'18" longitudine estică, 284 m altitudine) în câmp experimental deschis.

Productivitate scăzută

ridicată



TG-J-20-17

TG-J-9-17

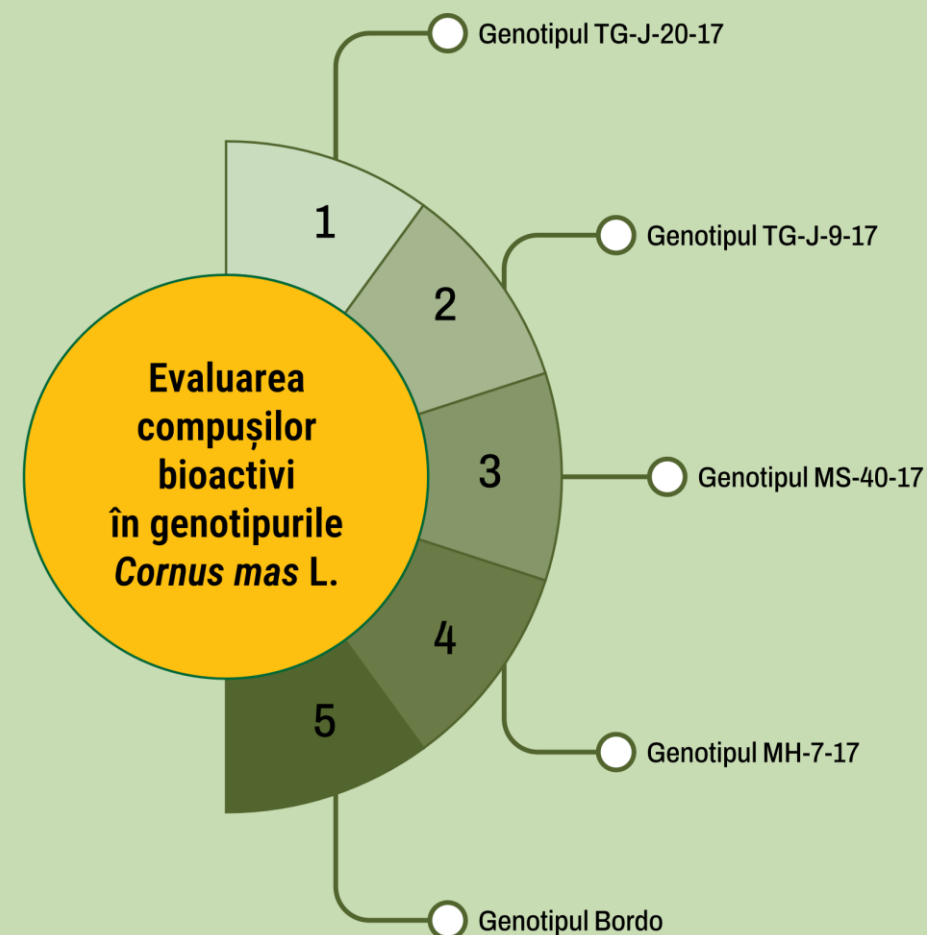
MS-40-17

MH-7-17

Bordo

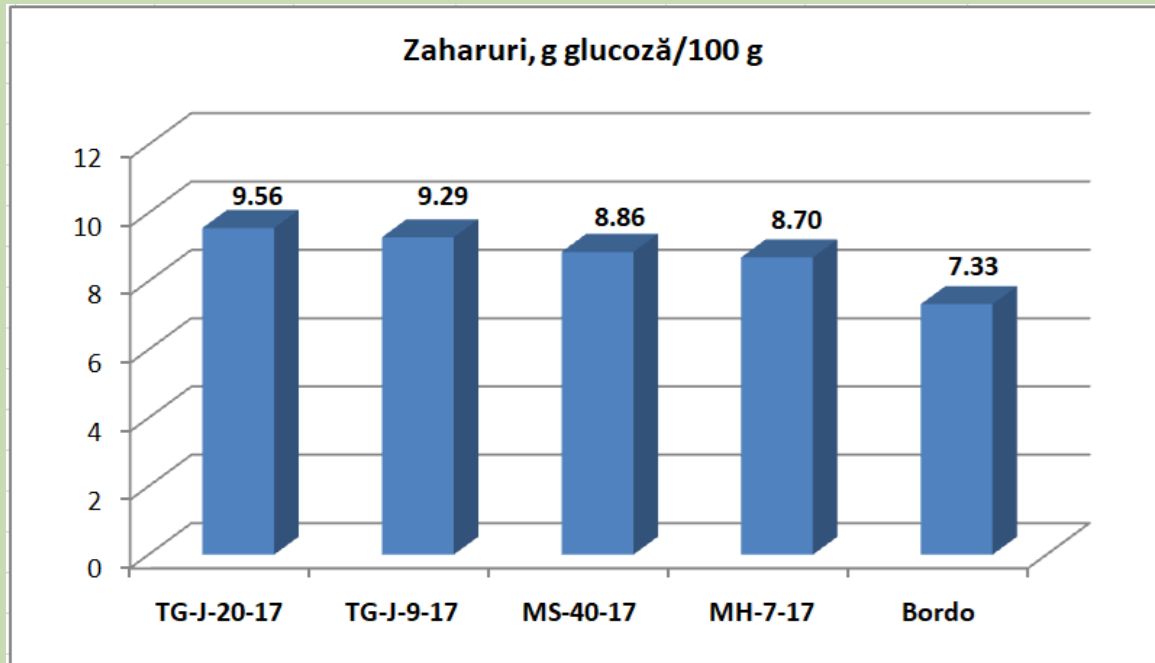
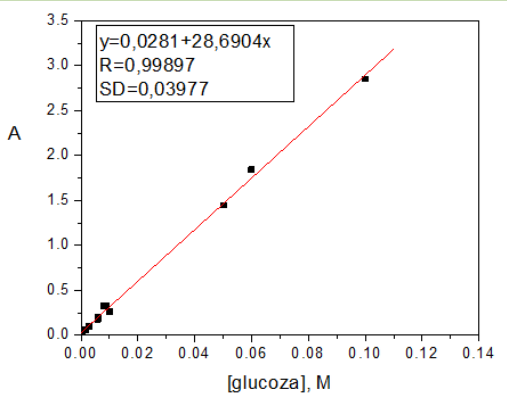
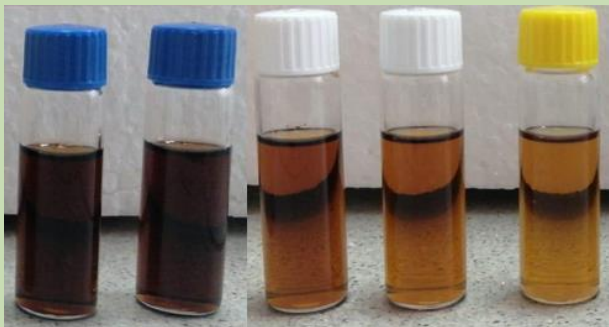
Analizele biochimice au fost efectuate în laboratoarele de chimie din Facultatea de Științe, Educație Fizică și Informatică, din Centrul Universitar Pitești.

Scopul cercetării a fost evaluarea compușilor bioactivi prezenți în aceste genotipuri, utilizând **spectroscopia de absorbție UV-Vis și FTIR**, cuplată cu **analiză chemometrică și analiza componentelor principale (PCA)**, pentru a doza unii compuși bioactivi din fructe, vizând identificarea celui mai promițător genotip de corn european.

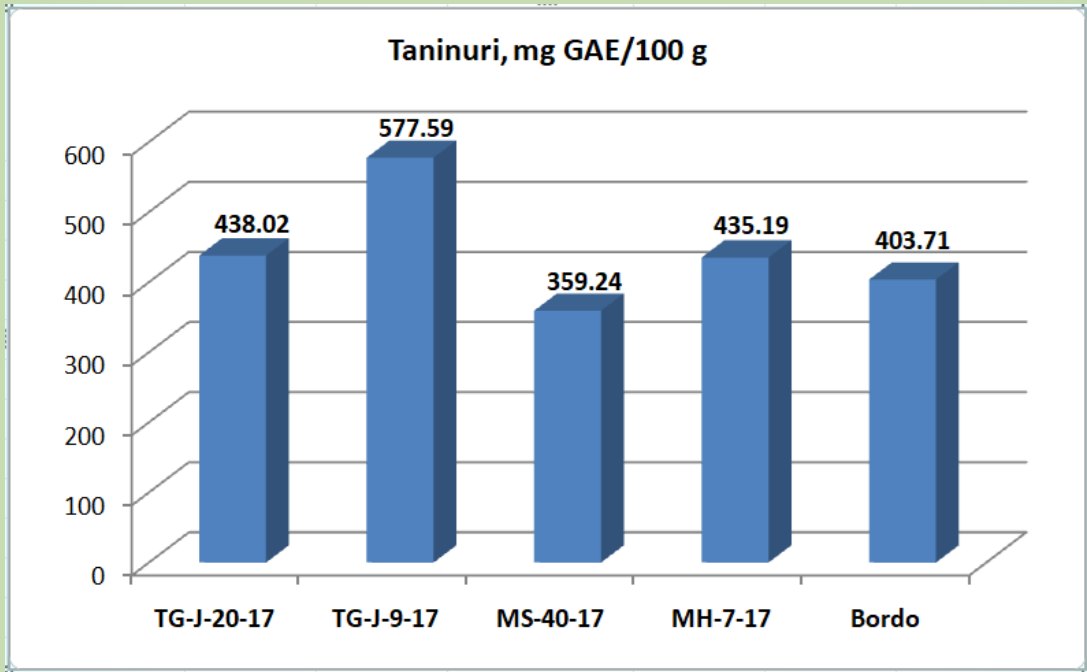


3. Rezultate și discuții

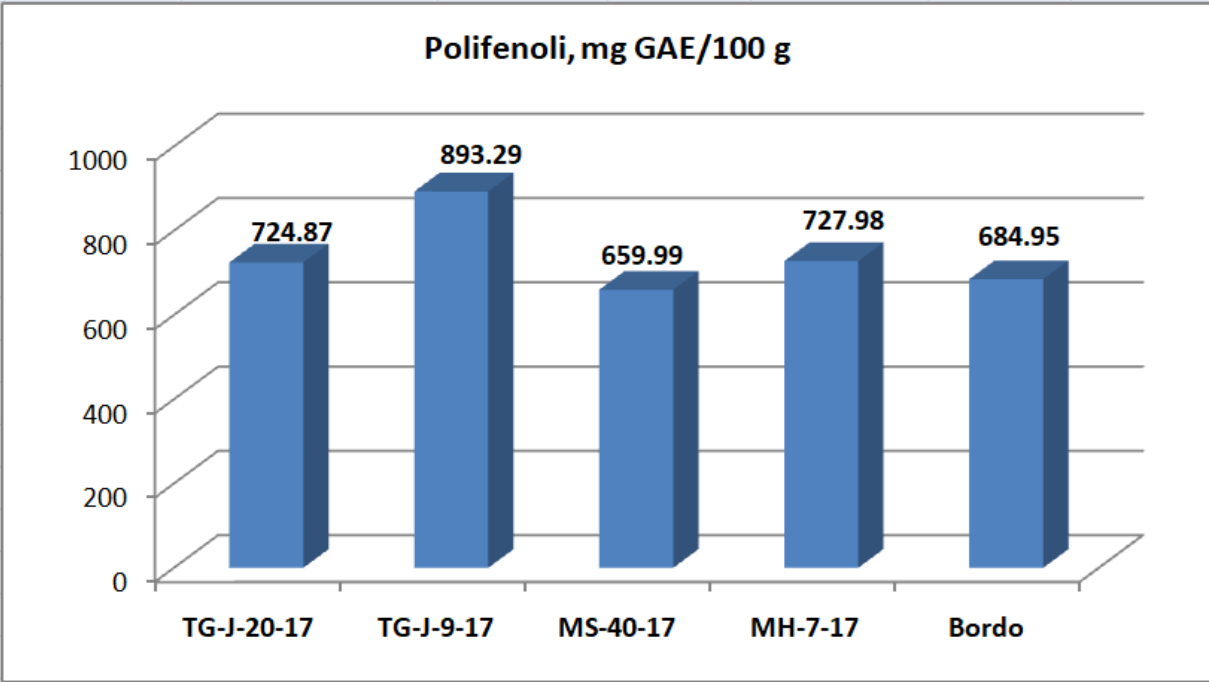
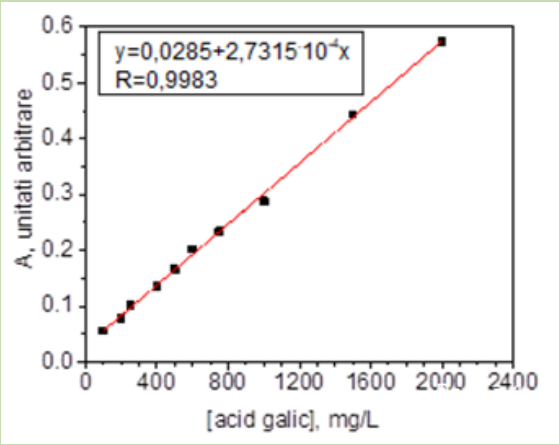
Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. (1956) *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*, Analytical Chemistry 28(3), 350-335



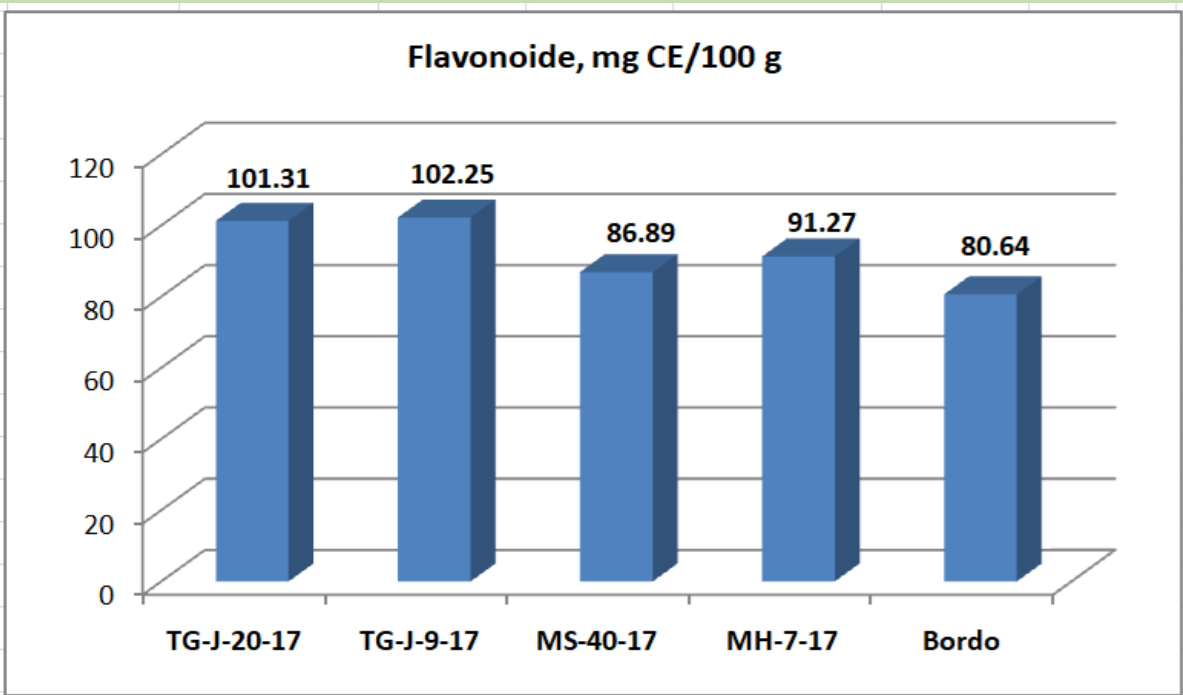
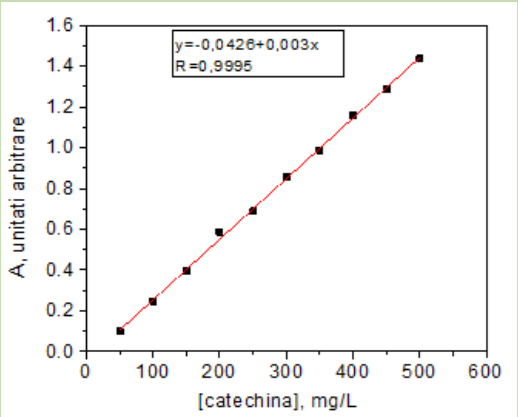
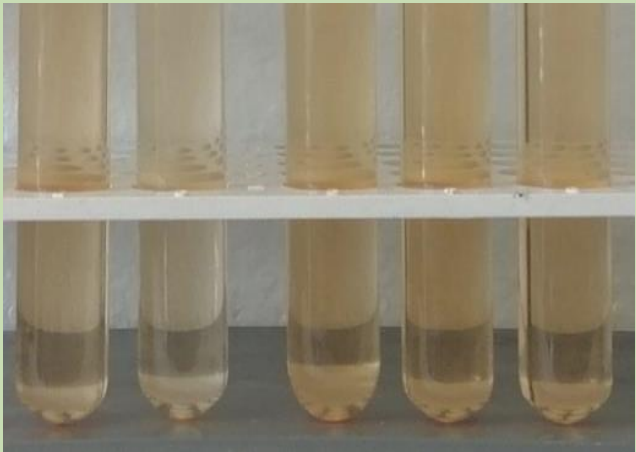
Makkar H.P.S., Blummel M., Borowy N.K., Becker K. (1993) *Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods*. Journal of the Science of Food and Agriculture 61, 161-165



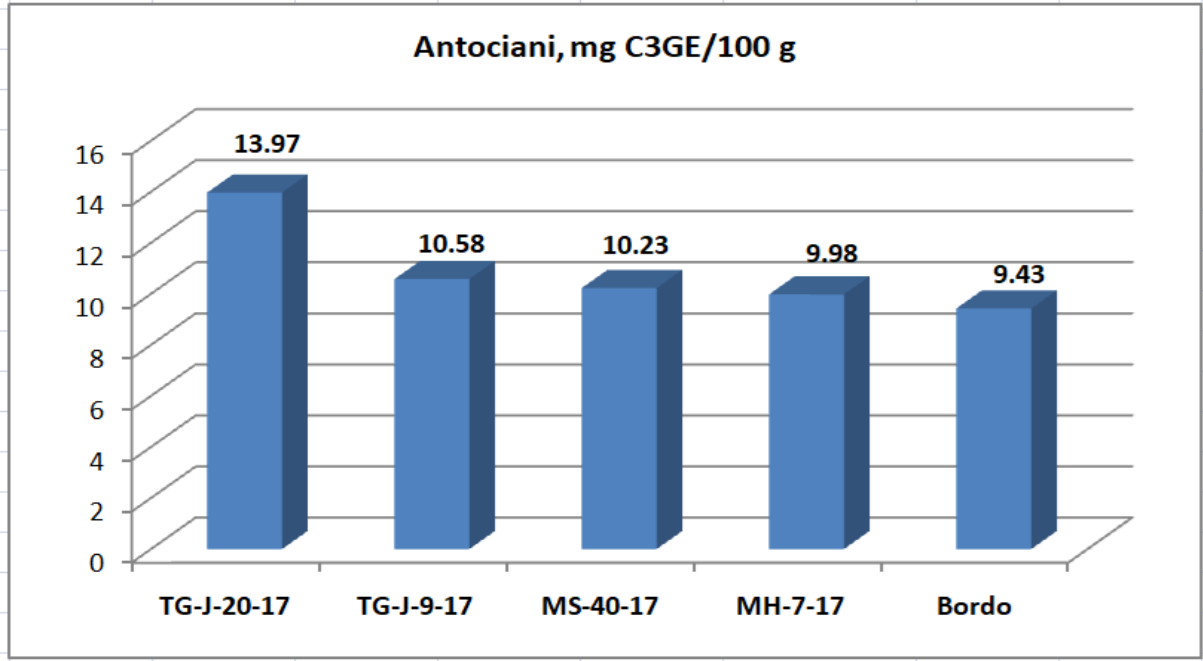
Singleton, V., Rossi, J. (1965) *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. Am. J. Enol. Vitic. 16, 144-158



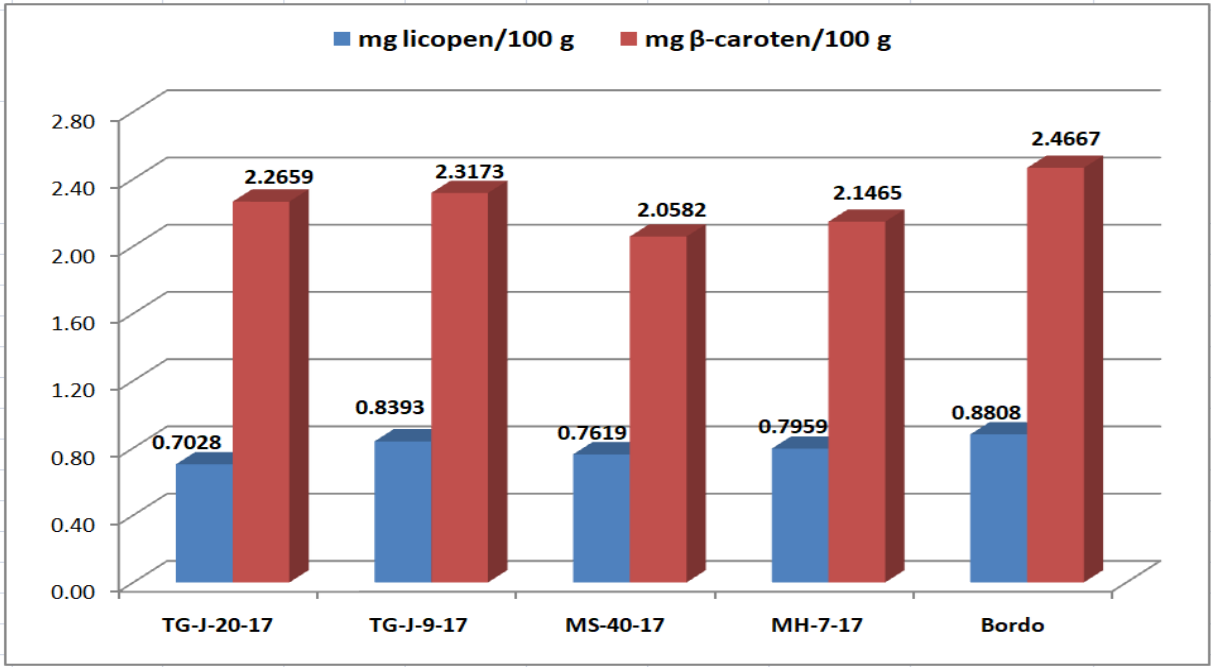
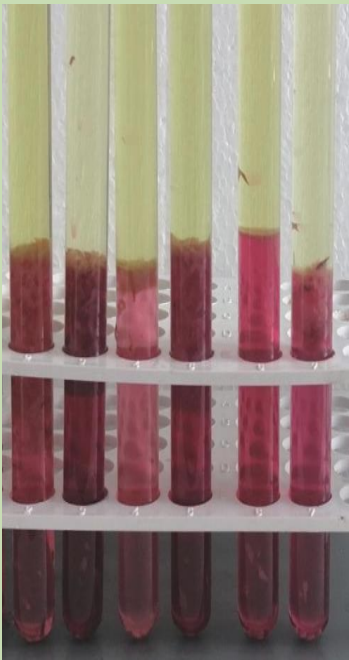
Zhishen, J., Mengcjheng, T., Jianming, W. (1999) *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals*. Food Chem. 64, 555-559



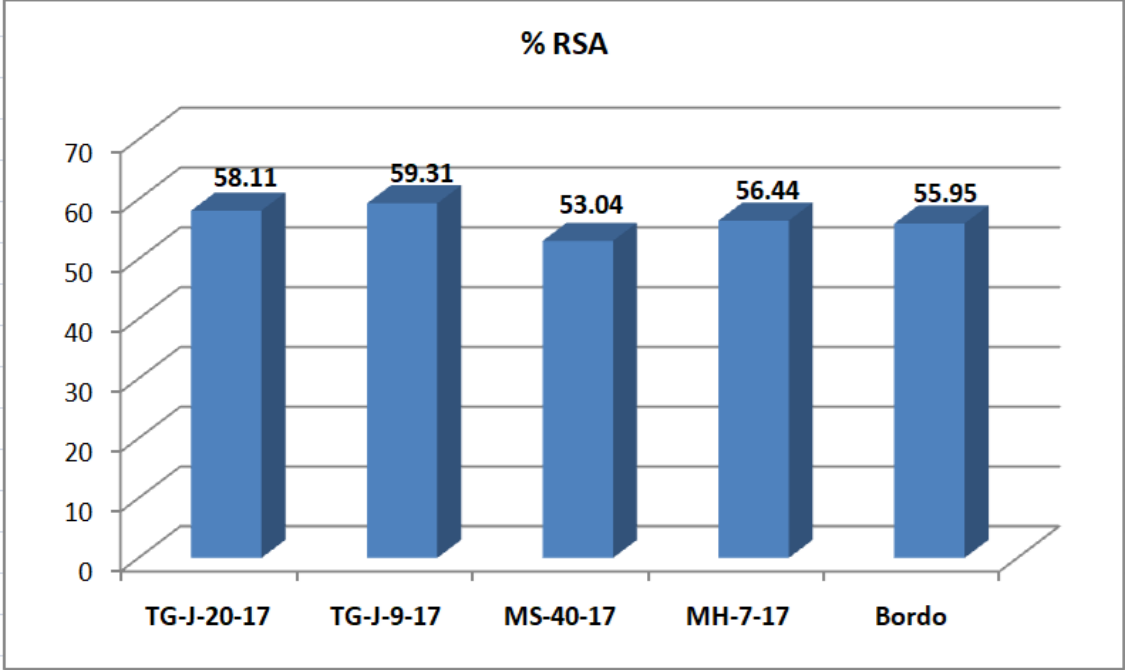
Di Stefano, R., Cravero, M.C. (1989) *I composti fenolici e la natura del colore dei vini rossi*. L'enotecnico Ottobre, 81–87



Zechmeister, L.; Polgar, A. (1943) *Cis-trans isomerization and spectral characteristics of carotenoids and some related compounds*. J. Am. Chem. Soc. 65, 1522–1528



Kedare, S.B., Singh, R.P. (2011) *Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay*. J. Food Sci. Technol. 48(4), 412-422



Genotip	TG-J-20-17	TG-J-9-17	MS-40-17	MH-7-17	Bordo
Parametru					
Zaharuri, g glucoză/100 g	9,56±0,05 ^a	9,29±0,07 ^b	8,86±0,10 ^c	8,70±0,06 ^d	7,33±0,04 ^e
Polifenoli, mg GAE/100 g	724,87±32,37 ^b	893,29±60,18 ^a	659,99±32,60 ^b	727,98±35,56 ^b	684,95±58,97 ^b
Flavonoide, mg CE/100 g	101,31±3,26 ^a	102,25±3,52 ^a	86,89±2,87 ^b	91,27±3,28 ^b	80,64±2,56 ^c
Taninuri, mg GAE/100 g	438,02±16,71	577,60±31,40	359,24±43,10	435,19±19,22	403,71±15,39
Antociani, mg C3GE/100 g	13,97±0,32 ^a	10,58±0,53 ^b	10,23±0,47 ^{bc}	9,98±0,57 ^{bc}	9,43±0,33 ^c
Licopen, mg/100 g	0,70±0,01 ^c	0,84±0,01 ^a	0,76±0,01 ^b	0,80±0,01 ^{ab}	0,88±0,01 ^a
β-caroten, mg/100 g	2,27±0,01 ^a	2,32±0,01 ^a	2,06±0,02 ^a	2,15±0,01 ^a	2,47±0,01 ^a
DPPH, RSA %	58,11±0,06 ^b	59,31±0,07 ^a	53,04±0,06 ^e	56,44±0,04 ^c	55,95±0,06 ^d

	Polifenoli	Zaharuri	Flavonoide	Licopen	β -caroten	Antociani	% RSA
Genotip	-0,425	-0,925*	-0,889*	0,724	0,230	-0,850	-0,477
Polifenoli	1	0,446	0,730	0,251	0,256	0,075	0,822
Zaharuri		1	0,893*	-0,736	-0,503	0,704	0,392
Flavonoide			1	-0,468	-0,095	0,690	0,762
Licopen				1	0,591	-0,819	0,071
β -caroten					1	-0,056	0,511
Antociani						1	0,422

Conform analizei corelaționale, **genotipul influențează negativ conținutul de zaharuri** ($r=-0,925$) și **flavonoide** ($r=-0,889$), aceste corelații fiind semnificative statistic. În același timp, se observă o **corelație pozitivă între genotip și licopen** ($r = 0,724$), sugerând că anumite genotipuri pot favoriza acumularea acestui carotenoid.

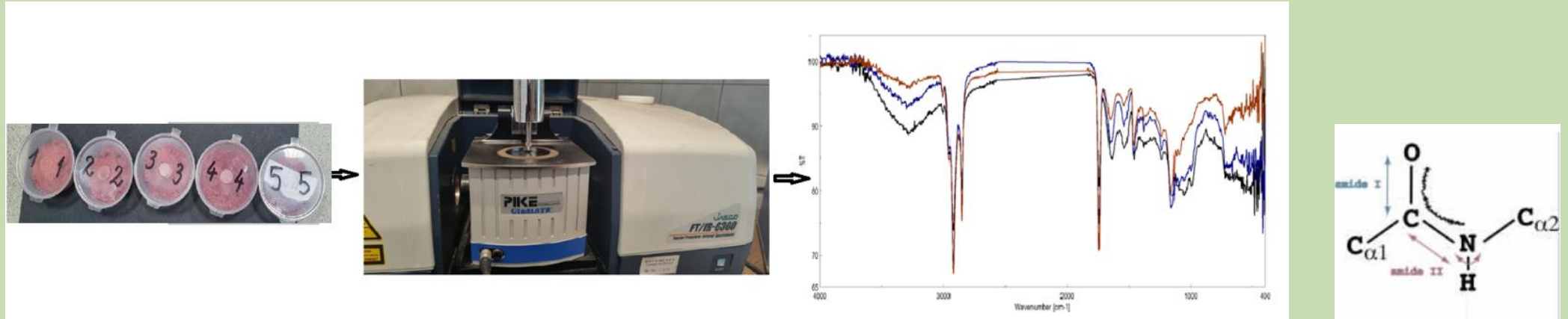
Activitatea antioxidantă, măsurată prin %RSA, este asociată în special cu polifenolii ($r=0,822$) și flavonoidele ($r=0,762$), evidențiind rolul lor major în neutralizarea radicalilor liberi.

Corelația pozitivă, semnificativă, dintre zaharuri și flavonoide ($r = 0,893$) indică o posibilă corelare între metabolismul primar și cel secundar.

Datele obținute confirmă că selecția genotipurilor poate influența direct conținutul de compuși bioactivi și implicit capacitatea antioxidantă. Aceste informații pot contribui la dezvoltarea unor soiuri noi cu profil fitochimic optimizat pentru beneficii nutriționale și funcționale sporite.

Spectroscopia ATR-FTIR

Spectrele s-au înregistrat la un spectrometru Jasco 6400, echipat cu un accesoriu ATR cu cristal de diamant. Pentru fiecare spectru, au fost realizate trei determinări înregistrate la o rezoluție de 4 cm^{-1} și 32 de scanări per probă, pe un interval de la 4000 la 400 cm^{-1} .

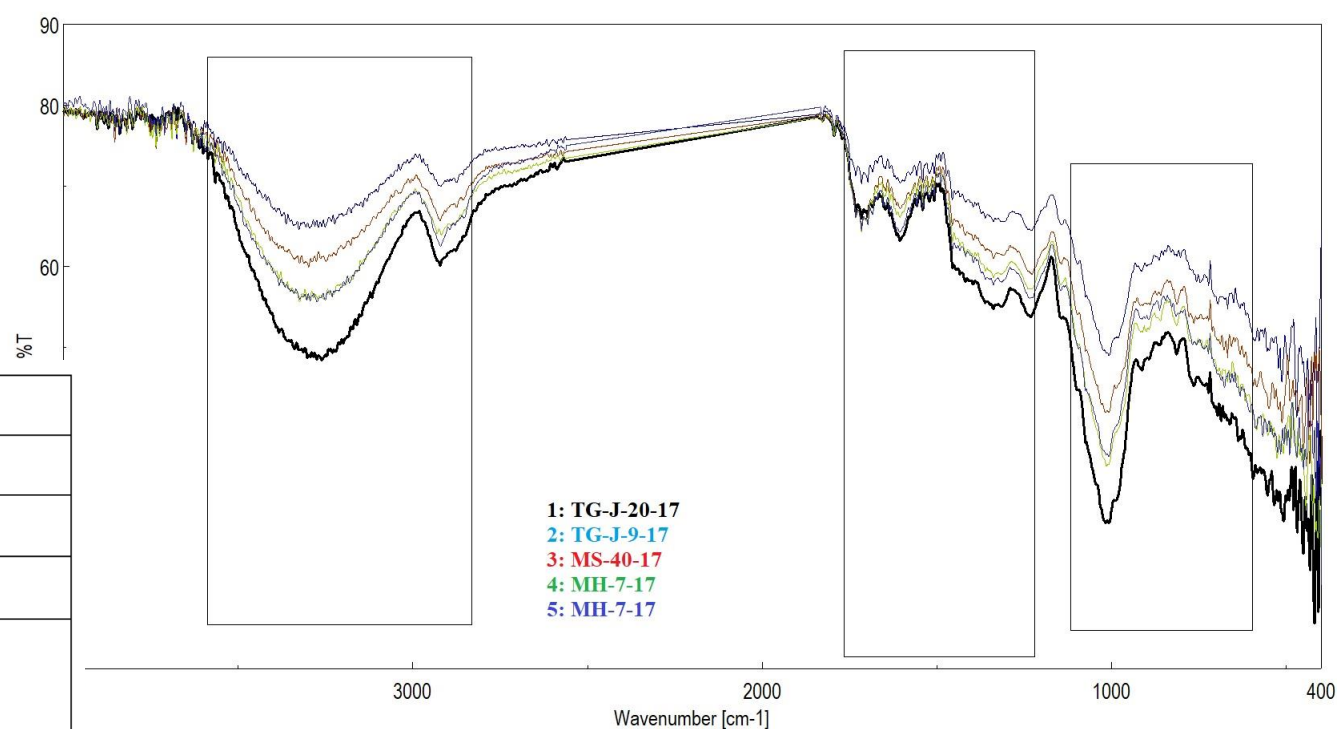


3 regiuni importante au fost analizate:

- **Regiunea $3400\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$** vibrații de întindere ale hidroxilului (OH). Intervalul $3000\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$ a fost atribuit vibrației de întindere simetrice și asimetrice a benzii C-H și vibrației de întindere pentru N-H;
- **Regiunea $1720\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$** prezintă benzile de absorbție pentru grupările carboxil și ester (1640 și 1720 cm^{-1}). Banda amidă I indică vibrațiile de întindere ale grupărilor C=O și C-N) și a amidei II (în principal vibrația de balansare N-H cu o contribuție a vibrațiilor de întindere C-N) apar lungimi de undă de absorbție între $1700\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ și $1500\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$. Variația din regiunea benzii între 1400 și 1100 cm^{-1} se datorează modurilor vibraționale de îndoire OCH, CCH și COH ale carbohidraților. Banda observată în jur de 1640 cm^{-1} este atribuită în principal modurilor vibraționale ale legăturilor C-C din compuși fenolici;
- **A treia regiune**, legăturile C-O-H și legăturile glicozidice C-O, C-O-C se găsesc în regiunea cuprinsă între 1150 și 700 cm^{-1} . Ultima regiune spectrală, adică partea de sub 900 cm^{-1} , este amprenta responsabilă pentru câmpul cristalin care prezintă modificările conformaționale ale materialului.

Benzile principale din spectrele ATR-FTIR ale pulberilor de coarne

1	2	3	4	5	Assignment
3260	3223	3297	3256	3274	Stretching O–H
2921	2919	2921	2917	2920	<u>v</u> <u>asym</u> C–H
	2873	2873			<u>v</u> <u>sym</u> C–H
1793	1793	1793	1793	1793	<u>v</u> C=O stretching
1716	1716 1698	1716	1716	1716	
1605	1646 1605	1646 1605	1651 1606	1646 1607	Amide I (disordered structure-non-hydrogen bonded)
1540	1540	1540	1540	1540	Amide II
	1455		1455	1488	<u>δ</u> <u>asym</u> CH ₂
1338	1311	1338	1338	1338	Stretching C–N [11] Deformation N–H, <u>δ</u> CH ₂
1230	1230	1228	1238	1234	Amide III
1007	1007	1008	1014	1008	Stretching C–O–H bonds and C–O, C–O–C <u>glycosidic</u> bonds
913	909	914	912	916	Phosphodiester region

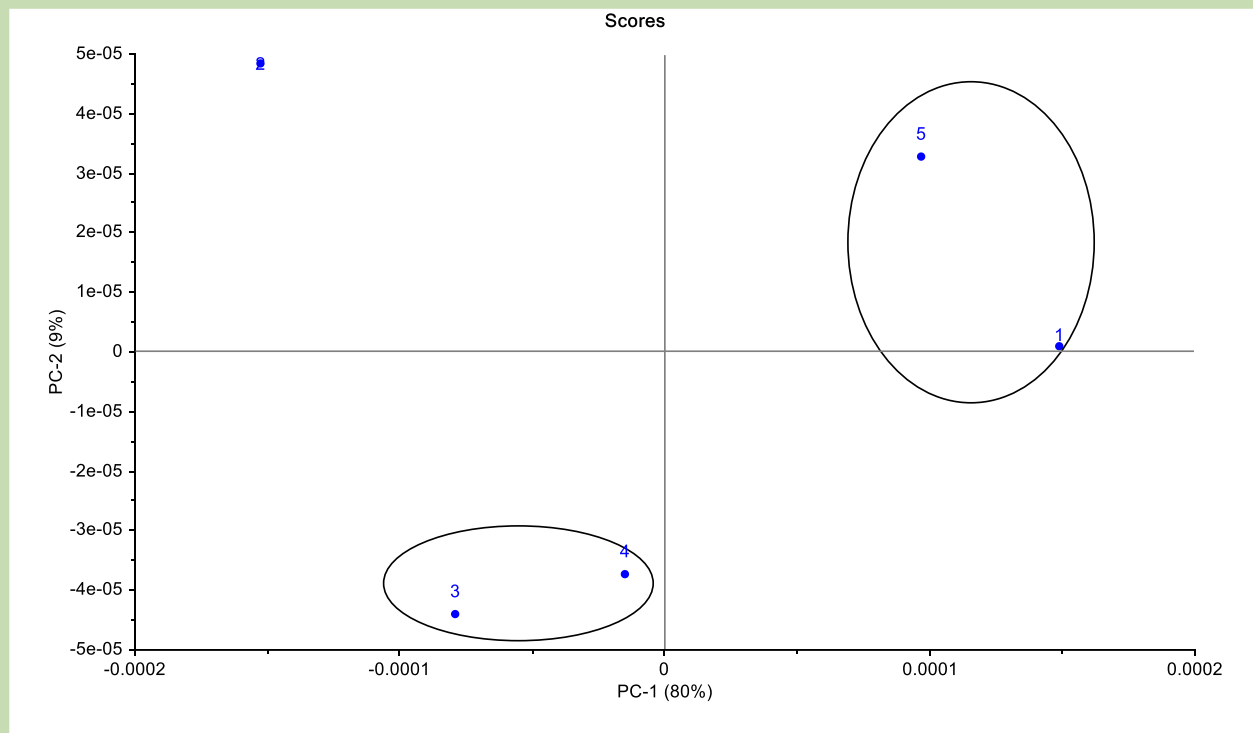


Spectrele FTIR ale pulberilor de *Cornus mas. L*

Toate valorile numerelor de undă sunt în cm⁻¹

Analiza chemometrică

Spectrele în infraroșu au fost exportate din Spectra Manager, în format ASCII (dx), în software-ul Unscrambler Software (Ediția X 10.3, Camo. Oslo, Norvegia) pentru analiza chemometrică. Spectrele au fost preprocesate folosind transformarea derivată secundară, derivarea Savitzky-Golay. Utilizarea derivatelor spectrale cu algoritmul Savitzky-Golay ca tehnică de preprocesare chemometrică este raportată pe scară largă în majoritatea clasificărilor bazate pe spectroscopia FTIR (Chatfield și Colins, 1980; Jolliffe, 1986; Topală și Tătaru, 2018). Modelul de analiză a componentelor principale (PCA) a fost dezvoltat folosind validarea încrucișată. PCA a fost efectuată atât pe întregul interval spectral (4000 până la 400 cm^{-1}), cât și pe intervalele 1800-1600 și 1200-1000 cm^{-1} .



Analiza componentelor principale (PCA) este una dintre cele mai comune tehnici multivariate. Scopul acestei metode este de a descompune matricea de date și de a concentra sursa de variabilitate a datelor în primele câteva PC-uri.

PCA a fost efectuată cu 2020 de puncte (absorbante normalizate derivate) între domeniul regiunii spectrale selectate 1800-1600 și 1200-1000 cm^{-1} . Primele trei componente principale (PC) reprezintă 96% din varianța totală (PC1 = 80%, PC2 = 9% și PC3 = 7%).

Scoruri 2-D obținute prin PCA a spectrelor FTIR pentru primele două PC-uri

4. Concluzii și Perspective

Spectroscopia UV-Vis este o tehnică analitică care utilizează radiații electromagnetice din regiunile ultraviolet și vizibil ale spectrului electromagnetic pentru a studia absorbția și transmisia luminii de către o probă.

Se bazează pe principiul că moleculele absorb energie (fotoni) din lumina incidentă, în funcție de structura lor electronică. Lungimile de undă absorbite sunt specifice fiecărui compus, ceea ce permite identificarea și cuantificarea acestuia. În concluzie, **spectroscopia UV-Vis este o tehnică versatilă și utilizată pe scară largă în diverse domenii, oferind informații valoroase despre compușii chimici (identitate, structură, concentrație) și reacțiile în care sunt implicați.**

Spectroscopia FTIR oferă multe informații prin regiunea amprentelor digitale ale probelor, făcând tehnica directă și simplă.

Proba 2, TG-J-9-17, atât prin spectroscopie UV cât și IR se identifică printr-un conținut ridicat de polifenoli.

Astfel, o analiză combinată FT-IR și PCA este o metodă puternică pentru discriminarea probelor.

Spectroscopia FTIR poate fi considerată o tehnică utilizată pentru obținerea de rezultate cu aceeași precizie și sensibilitate ca și alte metode, **dar într-un timp mai scurt și cu o preparare mai ușoară a probelor.** Variabilele utilizate în aceste studii sunt numărul de undă și maximul de absorbție determinat prin spectroscopie IR pentru diferite probe de fructe, care ulterior pot fi grupate după conținutul de polifenoli, glucide sau alți constituenți bioactivi.

Bibliografie

- Szczepaniak O.M., Kobus-Cisowska J., Kusek W., Przeor M. (2019) Functional properties of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.): a comprehensive review. *Eur. Food Res. Technol.* 245, 2071–2087. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03313-0>
- Pui A., Tănase C., Cozma D.G., Balaes T. (2013) Assessment of Macromycetes using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Chemometrics, *Environ. Eng. Manag. J.* 12, 527-534. <https://doi.org/10.30638/eemj.2013.065>
- Topală C., Rusea I. (2018) Analysis of Leaves Using FTIR Spectroscopy and Principal Component Analysis. Discrimination of Different Plant Samples, *Curr. Trends Nat. Sci.* 7(13), 286-291.
- Stamin F.D.; Vijan L.E.; Topală C.M.; Cosmulescu S.N. (2024) The Influence of Genotype, Environmental Factors, and Location on the Nutraceutical Profile of *Rosa canina* L. Fruits. *Agronomy* 14, 2847. <https://doi.org/10.3390/agronomy14122847>
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Anal. Chem.* 28(3), 350-335. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Makkar H.P.S., Blummel M., Borowy N.K., Becker K. (1993) Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agric.* 61, 161-165. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740610205>
- Singleton V., Rossi J. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Zhishen J., Mengcjheng T., Jianming W. (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64, 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)
- Di Stefano R., Cravero M.C. (1989) I composti fenolici e la natura del colore dei vini rossi. *L'enotecnico Ottobre*, 81–87
- Zechmeister L.; Polgar A. (1943) cis-trans Isomerization and spectral characteristics of carotenoids and some related compounds. *J. Am. Chem. Soc.* 65, 1522–1528. <https://doi.org/10.1021/ja01248a025>
- Kedare S.B., Singh R.P. (2011) Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J. Food Sci. Technol.* 48(4), 412-422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>