

UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALATI  
FACULTATEA DE ȘTIINȚA ȘI INGINERIA ALIMENTELOR

**CERCETĂRI PRIVIND INFLUENȚA  
TRATAMENTELOR FRIGORIFICE  
ASUPRA UNOR INDICATORI DE  
CALITATE AI COAGULULUI PROTEIC  
DIN LAPTE DE CAPRĂ**

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător științific:**

**Prof. Dr. Ing. Ioan TOFAN**

**DOCTORAND:**

**Ing. Radu Eugenia Mihaela (PRICOP)**

Galați

— 2012 —

## **MULȚUMIRI**

Teza de doctorat a fost elaborată pe baza cercetărilor efectuate în cadrul laboratoarelor Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor - Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați, în cadrul Facultății de Mecanică – Catedra de Termotehnică și Mașini termice – Universitatea "Dunărea de Jos" Galați, la Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Bioresurse Alimentare București, Facultatea de Biotehnologii Alimentare – Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară București și, nu în ultimul rând în cadrul laboratoarelor Facultății de Știința și Ingineria Materialelor – Universitatea Politehnică din București .

La finalul acestei etape, gândul și recunoștința mea se îndreaptă spre toți aceia care m-au sprijinit la elaborarea și la finalizarea tezei de doctorat.

Cu această ocazie doresc să imi exprim mulțumirile mele conducătorului de doctorat **Prof. dr. ing. Ioan Tofan** pentru competența cu care a coordonat întreaga activitate desfășurată pe perioada elaborării tezei. De asemenea, doresc să aduc calde mulțumiri și întreaga mea recunoștință Doamnei **Prof. Dr. Ing. Elena Mona Popa** pentru susținerea, încrederea și pentru răbdarea de care a dat dovadă în formarea mea profesională și pentru îndrumarea competență și permanentă pe parcursul acestei lucrări.

Mulțumirile mele se adresează și Doamnei **Prof. Dr. Ing. Aurelia Ionescu** pentru ajutorul profesionist acordat în interpretarea rezultatelor precum și în elaborarea și redactarea tezei de doctorat.

Mulțumiri din suflet Domnișoarei **Prof. Dr. Ing. Camelia Vizireanu** care m-a înțeles, m-a încurajat și a crezut în forțele mele pe întreaga perioadă de elaborare a tezei de doctorat.

Îmi manifest cu drag recunoștința și îi mulțumesc pe această cale Domnului **Prof. dr. ing. Valeriu Damian** pentru ajutorul acordat punându-mi la dispoziție echipamentul necesar realizării unei etape importante a părții experimentale.

Doresc să mulțumesc și Domnului **ȘI. Dr. Ing. Florin Miculescu** cadru didactic la Facultatea de Știința și Ingineria Materialelor – Politehnica București, pentru suportul tehnic oferit în efectuarea imaginilor de microstructură.

Mulțumiri Doamnei **Dr. Ing. Denisa Duță** precum și întregului colectiv al Institutului de Bioresurse Alimentare București prin amabilitatea căroră am reușit să finalizez partea experimentală a acestei teze.

Mulțumesc întregului colectiv al Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor care a contribuit la formarea mea profesională încă din primul an de facultate, colegilor care mi-au oferit necondiționat sprijinul și prietenia lor.

Plină de recunoștință, mulțumesc familiei mele, mamei, pentru suportul și sprijinul oferit în toți acești ani, precum și soțului pentru înțelegerea, răbdarea și susținerea morală oferită atunci când, de multe ori atribuțiunile mele profesionale au primat în fața familiei.

Vă mulțumesc!

**Ing. Pricop Eugenia Mihaela**

# CUPRINS

<b>1. INTRODUCERE</b>	<b>7</b>
<b>1.1. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE ȘTIINȚIFICE ALE TEZEI</b>	<b>9</b>
<b>A. STUDIU DOCUMENTAR</b>	<b>11</b>
<b>2. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII ÎN DOMENIU</b>	<b>11</b>
2.1. CONSIDERAȚII GENERALE PRIVIND UTILIZAREA FRIGULUI ARTIFICIAL LA PROCESAREA, DEPOZITAREA ȘI COMERCIALIZAREA BRÂNZETURILOR	11
2.2. ASPECTE TEORETICE ALE PROCESULUI DE CONGELARE	
<b>2.3. METODE DE CONGELARE A PRODUSELOR ALIMENTARE</b>	<b>15</b>
<b>2.4. ACȚIUNEA TEMPERATURILOR SCĂZUTE ASUPRA PRINCIPALELOR COMPONENTE ȘI A PROCESELOR BIOCHIMICE DIN BRÂNZETURI</b>	<b>16</b>
2.4.1. EFECTUL TEMPERATURILOR SCĂZUTE ASUPRA CAZEINEI ȘI PROCESULUI DE PROTEOLIZĂ	17
2.4.2. EFECTUL CONGELĂRII ASUPRA OXIDĂRII LIPIDELOR	19
2.4.4. EFECTE ASUPRA TEXTURII ȘI MICROSTRUCTURII	20
2.4.5. EFECTELE CONGELĂRII ȘI DECONGELĂRII ASUPRA PROPRIETĂȚILOR REOLOGICE ALE BRÂNZETURILOR	22
2.4.6. EFECTELE PROCESELOR DE CONGELARE ASUPRA MICROORGANISMELOR	26
<b>B. PARTEA EXPERIMENTALĂ</b>	<b>29</b>
<b>3. MATERIALE ȘI METODE ANALITICE</b>	<b>29</b>
3.1. OBȚINEREA COAGULULUI PROTEIC DIN LAPTE DE CAPRĂ	29
3.2. PREGĂTIREA PROBELOR DE COAGUL PROTEIC PENTRU CONGELARE	30
Stabilirea procedeeleor de congelare	30
3.2. METODE ANALITICE ȘI ECHIPAMENTE	33
3.3. ANALIZA MICROSTRUCTURII PROBELOR DE COAGUL PROTEIC	35
3.4. ANALIZA SENZORIALĂ	37
Abordarea hedonică sau preferențială a analizei senzoriale	37
Abordarea analitică a analizei senzoriale	38
3.5. DIFERENȚIEREA PROBELOR DE COAGUL PROTEIC UTILIZÂND NASUL ELECTRONIC	41
3.6. DETERMINAREA CARACTERISTICILOR REOLOGICE ALE PROBELOR DE COAGUL PROTEIC	41

Testările dinamice	42
Teste SAOS pentru produsele lactate	42
Testul de scanare a frecvenței unghiulare sau testul de creștere progresivă a frecvenței	43
3.7. ANALIZA STATISTICĂ	44
<b>4. REZULTATE ȘI DISCUȚII</b>	<b>45</b>
<b>4.1. ANALIZA FIZICO - CHIMICĂ A LAPTELUI ȘI COAGULULUI DIN LAPTE DE CAPRĂ</b>	<b>45</b>
Variația conținutului de substanță uscată	48
Variația conținutului de lipide	50
Variația indicelui TBA	51
Variația conținuturilor fracțiunilor azotate, proteine, azot neproteic, azot amoniacal și a gradului de proteoliză	52
Variația conținutului de NaCl și cenușă	56
Variația pH-ului și acidității	57
Analiza cluster	59
Concluzii parțiale	60
<b>4.3. ANALIZA MICROBIOLOGICĂ</b>	<b>61</b>
Concluzii parțiale	64
<b>5. INFLUENȚA PROCEDEELOR FRIGORIFICE DE CONGELARE ASUPRA MICROSTRUCTURII COAGULULUI PROTEIC DIN LAPTE DE CAPRĂ</b>	<b>65</b>
Concluzii parțiale	71
<b>6. INFLUENȚA METODELOR DE CONGELARE ASUPRA CARACTERISTICILOR REOLOGICE ALE COAGULULUI PROTEIC DIN LAPTE DE CAPRĂ</b>	<b>72</b>
Testul de creștere progresivă a frecvenței	72
Testul de scanare a domeniului de temperatură	78
Modulul complex ( $G^*$ )	85
Concluzii parțiale	90
<b>7. ANALIZA CARACTERISTICILOR SENZORIALE ALE COAGULULUI PROTEIC DIN LAPTE DE CAPRĂ</b>	<b>92</b>

Caracteristici senzoriale	92
Caracteristici texturale	97
Metoda de diferențiere a probelor de coagul proteic din lapte de capră folosind nasul electronic	99
Concluzii parțiale	100
<b><u>8. CORELAȚII SPEARMAN ȘI ANALIZA CLUSTER ÎNTRE CARACTERISTICILE FIZICO-CHIMICE, REOLOGICE ȘI SENZORIALE ALE COAGULULUI PROTEIC DIN LAPTE DE CAPRĂ</u></b>	
Coeficientul de corelație Spearman	101
Analiza cluster	102
<b><u>CONCLUZII FINALE</u></b>	
Contribuții proprii și recomandări	106
<b><u>PUBLICAȚII ȘTIINȚIFICE REALIZATE PE PROBLEMATICA TEZEI</u></b>	
<b><u>BIBLIOGRAFIE</u></b>	
<b>ANEXA I –COEFICIENTUL DE CORELAȚIE SPEARMAN’S RHO ÎNTRE CARACTERISTICILE FIZICO-CHIMICE ȘI CARACTERISITCILE SENZORIALE</b>	<b>119</b>
<b>ANEXA II - COEFICIENTUL DE CORELAȚIE SPEARMAN’S RHO ÎNTRE ATRIBUTELE FIZICO-CHIMICE SI ATRIBUTELE REOLOGICE</b>	<b>122</b>

### STRUCTURA TEZEI DE DOCTORAT

Teza de doctorat cuprinde 123 pagini, din care partea de documentare 28 pagini și partea experimentală 95 pagini. Lucrarea conține 26 tabele și 50 figuri. Pentru elaborarea tezei s-au utilizat 137 referințe bibliografice.

***CUVINTE CHEIE: coagul proteic, lapte de capră, tratamente frigorifice, reologie, microstructură, nas electronic, analize cluster.***

## **SCOPUL ȘI OBIECTIVELE ȘTIINȚIFICE ALE TEZEI**

Industria alimentară a trecut prin schimbări majore în ultimii 20 de ani, în principal prin dezvoltarea și implementarea de noi tehnologii, pentru a răspunde cererilor în creștere ale consumatorilor pentru produse sigure și sănătoase.

Tehnologiile frigorifice sunt utilizate pe scară largă în toate ramurile industriei alimentare. În industria procesatoare a laptelui, procesele de congelare sunt aplicate în general pentru conservarea materiilor grase, precum untul sau smântâna și în procesele tehnologice de fabricare a înghețatei. Rareori însă sunt folosite în scopul conservării brânzeturilor, cu mici excepții în cazul brânzeturilor proaspete, unde se utilizează numai procedeul de congelare în spații frigorifice izolate termic.

De asemenea, păstrarea în stare congelată a probelor de coagul proteic și/sau brânză poate fi necesară în cadrul laboratoarelor. Astfel pot fi analizate probe colectate din același lot pentru a urmări efectul proceselor de maturare, sau colectate de la diferite fabrici, pentru analiza comparativă a probelor utilizând tehnologii diferite în condiții identice, economisind astfel timp și bani.

Studiul de față a fost elaborat atât cu scopul de a crește posibilitățile utilizării brânzeturilor în diferite produse alimentare congelate cum ar fi pizza, produse de panificație tip foietaj, saleuri, pateuri, precum și pentru a stabili dacă unul sau mai multe procedee de congelare se pot aplica în vederea conservării, crescând astfel perioada de valabilitate a coagulului proteic din lapte de capră și menținerea prospețimii acestuia.

Obiectivele urmărite pe parcursul acestui studiu au fost următoarele:

- Stabilirea condițiilor de congelare și influența acestora asupra coagulului proteic;
- Influența parametrilor și a procedeelelor de congelare asupra indicatorilor de calitate ai brânzei: caracteristici fizico-chimice, microbiologice, reologice, texturale și senzoriale;
- Stabilirea unui procedeu optim de congelare care să nu afecteze caracteristicile de calitate ale brânzei.

Pentru a atinge obiectivele propuse, ne-am oprit asupra următoarelor procedee de congelare:

- Congelare în aer cu convecție naturală a aerului, la  $-20^{\circ}\text{C}$ ;
- Congelare prin imersie în agent intermediar, respectiv saramură cu o concentrație de 23% NaCl și o temperatură de  $-15^{\circ}\text{C}$ ;
- Congelare rapidă la  $-70^{\circ}\text{C}$ ;
- Congelare prin contact direct cu agenți criogenici, respectiv cu azot lichid.

## **3. MATERIALE SI METODE ANALITICE**

### **3.1. Obținerea coagulului proteic din lapte de capră**

Coagulul proteic din lapte de capră a fost obținut în cadrul unei ferme din localitatea Schela, Județul Galați, care utilizează numai lapte de capră crud, fără adaosuri de culturi starter. Coagulul proteic a fost produs din lapte de capră integral nepasteurizat (crud) prin

Închegarea acestuia cu enzime coagulante, cunoscute sub denumirea generică de cheag. Procesul tehnologic de fabricare a coagulului proteic a implicat un număr limitat de operații unitare. Laptele, obținut de la colectarea de seară și păstrat la 4°C, a fost amestecat cu laptele de la colectarea de dimineață. După omogenizarea laptelui cu cheag de vițel (chimozina) în proporție de 1% (putere de coagulare 1:10000), laptele a fost menținut pentru coagulare la 32°C, timp de aproximativ 4 ore. Prelucrarea coagulului din vană a constat în tăierea acestuia în coloane cu secțiuni pătrată cu latura de 8-10 cm. Coagulul a fost tăiat manual, utilizând drept ustensilă de prelucrare o harfă. Coagulul tăiat a fost lăsat în repaus timp de 45 minute pentru eliminarea zerului. Apoi coagulul a fost introdus în sedile și lăsat pe crintă pentru scurgerea zerului. Scurgerea zerului s-a efectuat prin autopresare la temperatura de 20°C, timp de 5 ore.

Produsele au fost achiziționate direct de la producător, din localitatea Schela, județul Galați și transportate în lăzi frigorifice cu temperatura de maxim 6°C până la laboratoarele Facultății, unde au fost supuse analizelor fizico-chimice și microbiologice și pregătirii pentru congelare.

### **3.2. Pregătirea probelor de coagul proteic pentru congelare**

Coagulul proteic din lapte de capră, provenit de la fermă, sub formă de calupuri cu greutatea de aproximativ 4,5 - 5 kg, a fost divizat în eşantioane cu dimensiunile de 5×5×2,5 cm și masa de aproximativ 50 g. Probele astfel pregătite au fost supuse preambalării sub vid sau direct congelării, în funcție de procedeul de congelare ales.

#### ***Stabilirea procedeeleor de congelare***

Procedeele de congelare utilizate de noi au fost:

- Congelarea în aer în congelator convențional la temperatura de -22°C;
- Congelarea în superfreezer ANGELANTONI - INDUSTRIE, la temperatura de -70°C;
- Congelare criogenică cu azot lichid, temperatura agentului criogenic fiind de -196°C;
- Congelarea prin imersie în agenți intermediari, respectiv în soluție de NaCl cu o concentrație de 23% și o temperatură de -15°C.

În cazul congelării criogenice, s-a utilizat un echipament cu funcționare continuă prin pulverizare cu azot lichid, iar probele au fost supuse direct congelării și ulterior probele fiind ambalate în vid.

Schema de principiu este prezentată în figura 3.1.

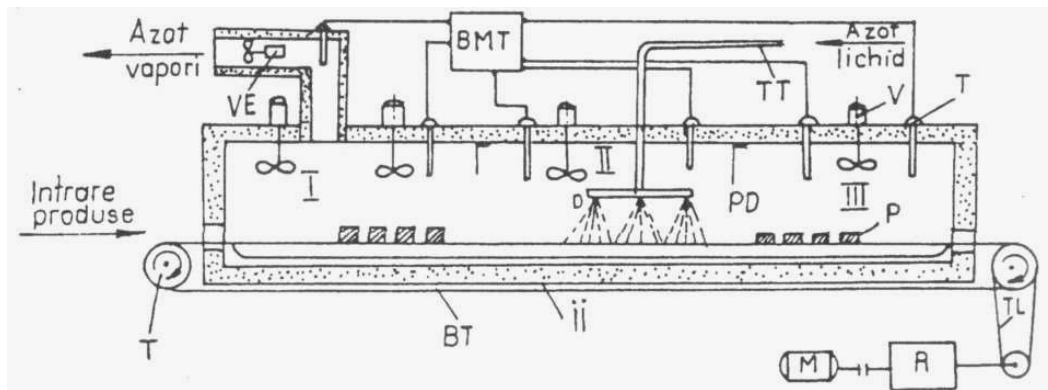


Fig. 3.1. Schema de principiu a congelatorului cu azot lichid (Damian, și alții, 1997)

Pulverizarea azotului lichid se face la începutul primei treimi din lungimea tunelului, iar azotul gazos este evacuat în atmosferă la capătul tunelului pe unde este introdus produsul de congelat. Temperatura suprafeței produsului scade rapid în zona de pulverizare, apoi crește, deoarece căldura din miezul produsului este transferată mai rapid la suprafață, decât de la suprafață la mediul gazos.

Drept probe au fost utilizate bucăți paralelipipedice de coagul proteic (500x400x25mm), cu masa de 50 g și temperatura inițială  $t_i = 8^{\circ}\text{C}$ . Pentru congelarea prin contact direct cu agenți intermediari a fost utilizată metoda descrisă de (Ribero & A., 2007). După ce soluția de NaCl cu o concentrație de 23% (2 L) a fost preparată, aceasta a fost repartizată în 2 vase termorezistente cu capacitatea de 1 L, care au fost introduse în congelator la  $-25^{\circ}\text{C}$ . Temperatura saramurii a fost monitorizată continuu și în momentul în care a ajuns la  $-15^{\circ}\text{C}$ , în saramură au fost imersate probele de coagul proteic.

Tabelul 3.1. Caracteristicile procedeelor de congelare

Parametrii tehnicilor de congelare						
Procedeu de congelare	$t_{\text{mediu}}$ , [ $^{\circ}\text{C}$ ]	$t_{i \text{ proba}}$ , [ $^{\circ}\text{C}$ ]	$t_f$ , [ $^{\circ}\text{C}$ ]	$w_c$ , [cm/h]	$\tau_c$ , [h]	Tipul de congelare
<b>Convecție naturală de aer</b> <b><math>-20^{\circ}\text{C}</math></b>	-20... -22	8	-20	0.45...0.5	5,5	Lentă
<b>Supercongelare</b> <b><math>-70^{\circ}\text{C}</math></b>	-70	8	-25	1...1.5	2,5	Rapidă
<b>Imersie în soluție de NaCl 23%</b>	-15	8	-15	3.3...4	0.5-0.6	Foarte rapidă
<b>Pulverizare <math>\text{N}_2</math> lichid</b>	-196	8	-25	15...20	0.15...0.18	Ultra rapidă

$t_{\text{mediu}}$  - temperatura mediului de congelare,  $^{\circ}\text{C}$ ;  $t_{i \text{ proba}}$  - temperatura inițială a probei,  $^{\circ}\text{C}$ ;  $t_f$  - temperatura finală a probei,  $^{\circ}\text{C}$ ;  $w_c$  - viteza medie de congelare, cm/h;  $\tau_c$  - durata medie de congelare, h.



După o perioadă de 3 luni de depozitare la  $-20^{\circ}\text{C}$ , probele au fost decongelate lent la  $4^{\circ}\text{C}$  și depozitate la  $4-6^{\circ}\text{C}$  pentru o perioadă de 15 zile.

Temperatura a fost înregistrată cu ajutorul echipamentului DigiSense Scan Link 2.0.

Probele au fost analizate după 1 zi, 7 zile și 15 zile de depozitare în regim de refrigerare ( $4-6^{\circ}\text{C}$ ).

În funcție de rezultatele analizelor fizico-chimice și microbiologice, au fost efectuate analize senzoriale, de microstructură și reologice pentru probele care au suferit cele mai puține modificări.

## 3.2. Metode analitice și echipamente

### 3.2.1. Analize fizico-chimice

Stabilirea compoziției chimice globale a laptelui și a coagulului proteic din lapte de capră a implicat : **determinarea conținutului de grăsime, a conținutului de azot total, a azotului neproteic, a conținutului de substanță uscată totală, a azotului ușor hidrolizabil, a indexului de proteoliză primară, indexul proteolizei secundare, determinarea indicelui TBA (acid 2- tiobarbituric), determinarea conținutului de NaCl, determinarea conținutului de cenușă, determinarea acidității și pH-ului.**

### 3.2.2. Analize microbiologice

Determinarea caracteristicilor microbiologice a fost efectuată în conformitate cu cerințele standardelor europene.

Astfel, pentru lapte și pentru coagulul proteic din lapte de capră s-au efectuat următoarele analize: *determinarea numărului de microorganisme aerobe mezofile, stabilirea numărului de bacterii coliforme, determinarea coloniilor de E.coli beta-glucuronidază-pozitive, numărarea drojdiilor și mucegaiurilor, detectarea stafilococilor coagulază-pozitiv.*

## 3.3. Analiza microstructurii probelor de coagul proteic

Analiza microstructurii coagulului proteic a fost efectuată în cadrul Facultății de Știința Materialelor, Politehnica București, cu ajutorul unui microscop electronic XL 30 tip ESEM-Quanta (Philips/FEI) cu pachet software de control al sistemului și de analiză echipament. Parametrii de lucru au fost următorii: tensiunea de fază 25 kV, presiunea 0,7 Torr. Distanța de lucru dintre probă și detector a fost cuprinsă între 8,8 și 11 mm.

## 3.4. Analiza senzorială

### *Abordarea hedonică sau preferențială a analizei senzoriale*

Testele hedonice evaluează acceptabilitatea produsului de către consumatori. Acceptabilitatea include toate caracteristicile senzoriale perceptibile în momentul testării și poate fi definită ca plăcerea oferită consumatorilor la consumul unui produs.

### ***Abordarea analitică a analizei senzoriale***

Pentru stabilirea metodei optime de congelare și de păstrare a produselor după decongelare în stare refrigerată, probele de coagul proteic au fost testate din punct de vedere al caracteristicilor senzoriale. A fost elaborată o fișă de testare senzorială, care să conțină atributele senzoriale importante pentru acest tip de produs .

Analiza senzorială a fost efectuată conform cu standardul **STAS 12656-88: Analiza senzorială. Metoda cu scări de punctaj.**

Metodele cu scări de punctaj se aplică pentru evaluarea unui ansamblu de proprietăți senzoriale (gust, miros, consistență etc.) sau pentru evaluarea unei singure proprietăți senzoriale a produselor alimentare.

#### **3.5. Diferențierea probelor de coagul proteic utilizând nasul electronic**

Probele de coagul proteic din lapte de capră, congelate în diferite sisteme, au fost analizate folosind aparatul  $\alpha$ -Prometheus (Sistem multisenzor pentru controlul calității alimentelor și detectarea falsurilor alimentare, Alpha.Mos, Franța) în scopul observării diferențelor în compoziția volatilă.

#### **3.6. Determinarea caracteristicilor reologice ale probelor de coagul proteic**

Probele au fost echilibrate la 20°C, înainte de testare. Valorile modulului complex ( $G^*$ ), modulului de înmagazinare ( $G'$ ), modulului de relaxare ( $G''$ ) și ale unghiului de fază sau de deformare ( $\delta$ ) au fost măsurate prin scanarea domeniului de frecvențe unghiulare 0,6283-628,3 rad/s și a domeniului de temperatură 20-80°C în domeniul liniar al vâscoelasticității.

Măsurătorile reologice dinamico-oscilatorii au fost efectuate cu ajutorul reometrului AR2000ex (TA Instruments, New Castle, DE), atașat la un computer control software (Rheology Advantage Data Analysis Program, Ta, New Castle, DE).

##### ***Testările dinamice***

Un test dinamic este realizat prin aplicarea unei deformări (sau stres) sinusoidale mici și constă în măsurarea stresului sau deformării rezultate. *Testele oscilatorii de joasă amplitudine* sunt realizate în regim de forfecare și de aici abrevierea **SAOS** de la forfecare oscilatorie de joasă amplitudine; aceste teste sunt utilizate pentru studierea proprietăților dinamice vâscoelastice.

##### ***Testul de scanare a frecvenței unghiulare sau testul de creștere progresivă a frecvenței***

Acest test a fost folosit, în general, pentru determinarea caracterului elastic al gelurilor pe bază de lapte și este, probabil, cel mai versatil test reologic de caracterizare a comportamentului vâscoelastic al materialelor. În acest test, am impus unui material o deformare (stres) sinusoidală sau o amplitudine fixă și am determinat modulii dinamici ( $G'$ ,  $G''$ ,  $G^*$ ) și unghiul de fază ( $\delta$ ) într-un domeniu larg de frecvențe unghiulare.

### 3.7. Analiza statistică

Pentru a diferenția probele analizate din punct de vedere al principalelor caracteristici fizico – chimice pe grupuri noi am utilizat programul statistic IBM SPSS Statistics Base 19, testul Tukey. Semnificația a fost stabilită pentru  $p < 0,05$ .

Compararea pe grupuri a celor 5 probe de coagul din lapte de capră a fost realizată cu programul STATGRAPHICS – CENTURION – Analiză de cluster – testul “Metoda celui mai apropiat vecin”.

Corelarea dintre diferitele caracteristici fizico-chimice și principalii parametri reologici și caracteristicile senzoriale a fost stabilită cu ajutorul programului statistic IBM SPSS Base 19- Corelația Spearman.

## 4. REZULTATE ȘI DISCUȚII

### 4.1. Analiza fizico - chimică a laptelui și coagulului din lapte de capră

Probele de lapte și de coagul proteic au fost recoltate în aceeași perioadă a anului, respectiv în lunile martie – iunie. Laptele de capră integral utilizat la obținerea coagulului proteic a avut compoziția chimică indicată în Tabelul 4.1.

Tabelul 4.1. Compoziția chimică a laptelui de capră

Compoziția chimică medie	Lapte crud integral de capră*
Grăsime (%)	3,47
SUN (%)	9,49
Proteină (%)	3,88
Lactoză (%)	4,98
Cenușă (%)	0,75
Aciditate ( $^{\circ}$ T)	13,00

\*Valori medii (probe triple)

Valorile obținute de noi pentru parametrii chimici sunt în concordanță cu cei raportați în literatura de specialitate: grăsime 3,3-4,1%; proteine 2,9-4,3%; lactoză 4,4-4,8% și cenușă 0,7-0,8% cenușă.

Din punct de vedere microbiologic, laptele de capră utilizat la fabricarea coagulului proteic a prezentat încărcătură microbiană prezentată în tabelul 4.2.

Tabelul 4.2. Încărcătura microbiană a laptelui de capră

Populația microbiană	$\log_{10}$ ufc/g
MAM	5,2
Coliformi	2,30
<i>E. coli</i>	1,96
Stafilococi coagulază – pozitivi	+
Drojii și mucegaiuri	1,86

\*MAM – microorganisme aerobe mezofile

Laptele de capră s-a încadrat din punct de vedere microbiologic prevederilor standardului CE 853/2004 .

Coagulul proteic a avut compoziția chimică indicată în tabelul 4.3

Probele au prezentat unele diferențe compoziționale privind conținuturile de apă, grăsime, proteine și sare. Coagulul proteic congelat prin imersare în saramură a avut un procent de sare cu 70% mai mare în comparație cu restul probelor.

**Tabelul 4.3. Compoziția chimică a coagulului proteic\***

SU, %	Grăsime,		N <sub>2</sub> t, %	Proteine totale,		NaCl,		Cenușă,		Aciditate, °T	pH
	%	s.u.		%	s.u.	%	s.u.	%	s.u.		
45,15	20,66	45,76	2,39	15,25	33,75	1,8	3,99	2,31	5,64	98	5,02

\* Valori medii

Conținutul de substanță uscată, respectiv de apă încadrează cașul de capră în categoria de brânzeturi semi-tari (Costin, 2003). Față de lapte, la coagul se constată o creștere a acidității, respectiv o scădere a valorii de pH, o concentrare a componentelor, grăsime, proteine și cenușă ca urmare a eliminării unei cantități importante de zer în timpul fabricației. Conținutul de cenușă a crescut și pe seama adaosului de sare.

Rezultate analitice obținute de noi privind încărcătura microbiană a coagulului proteic din lapte de capră sunt prezentate în tabelul 4.4.

**Tabelul 4.4. Încărcătura microbiană a coagulului proteic**

Populația microbiană	Log <sub>10</sub> ufc/g
MAM	5,80
Coliformi	2,76
<i>E. coli</i>	2,37
Stafilococi coagulază – pozitivi	+
Drojdii și mucegaiuri	2,86

Caracteristicile fizico-chimice și microbiologice ale coagulului de capră precizate mai sus au fost considerate de noi ca valori specifice probei martor, nesupusă tratamentului de congelare.

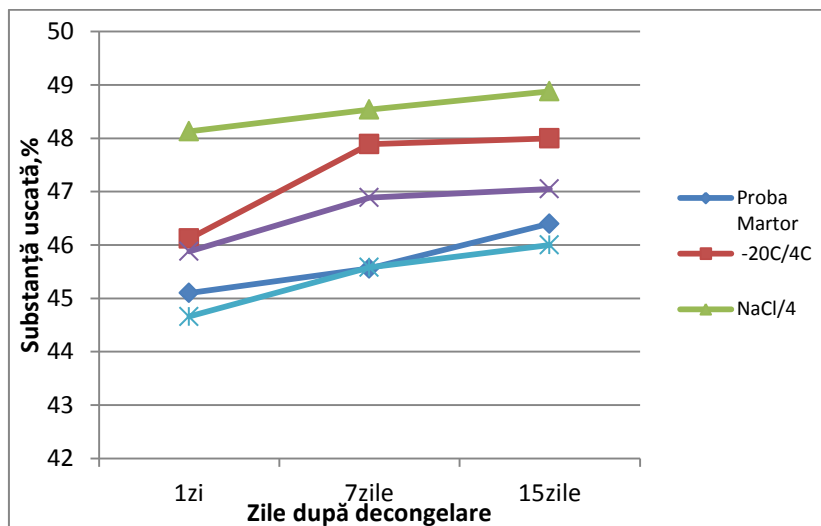
## **4.2. Caracterizarea fizico-chimică a coagulului proteic din lapte de capră congelat-decongelat-refrigerat**

### ***Variația conținutului de substanță uscată***

Pe parcursul perioadei de păstrare a probelor decongelate la 4 -6°C, timp de 15 zile, conținutul în substanță uscată a crescut cu valori diferite (Figura 4.1.) în funcție de natura probei .

Comparând conținuturile de substanță uscată din cele 4 probe în raport cu proba martor imediat după decongelare, putem afirma că, exceptând proba congelată în saramură, celelalte procese de congelare au influențat în mică măsură conținutul de substanță uscată, statistic înregistrându-se diferențe semnificative. Astfel, proba martor s-a diferențiat statistic semnificativ față de proba congelată la -20°C (p<0,05; sig. 0,041) și puternic semnificativ în

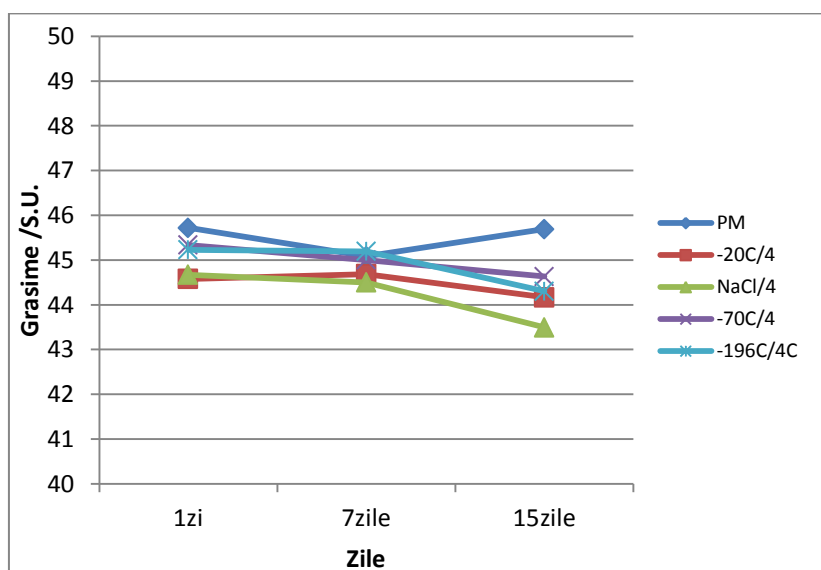
comparație cu proba congelată în saramură ( $p < 0,05$ ; sig. 0,001). De asemenea, proba congelată în saramură a prezentat diferențe puternic semnificative față de proba congelată în azot lichid ( $p < 0,05$ ; sig. 0,01) și semnificative față de proba congelată la  $-70^{\circ}\text{C}$  ( $p < 0,05$ ; sig. 0,041). Proba congelată la  $-20^{\circ}\text{C}$  a prezentat diferențe semnificative față de proba congelată prin pulverizare de azot lichid ( $p < 0,05$  sig. 0,039).



**Figura 4.1.** Variația conținutului de substanță uscată (durata de depozitare la  $4-6^{\circ}\text{C}$  /15 zile)

#### Variația conținutului de lipide

Condițiile de păstrare a probelor decongelate nu a influențat semnificativ conținutul de grăsime, acesta variind în limite mici în jurul valorii de 45% s.u., pierderile cele mai mari în grăsime fiind înregistrate la probele congelate în saramură și la  $-20^{\circ}\text{C}$ , chiar după prima zi de la decongelare. Totuși, a existat o ușoară tendință descrescătoare a conținutului de grăsime pentru toate probele, dar diferențele cele mai semnificative au fost înregistrate între proba martor și proba congelată în saramură ( $p < 0,05$ ; sig. 0,013). Între proba martor și proba congelată la  $-20^{\circ}\text{C}$  a fost constată numai o diferență ușoară ( $p < 0,05$ ; sig. 0,043).

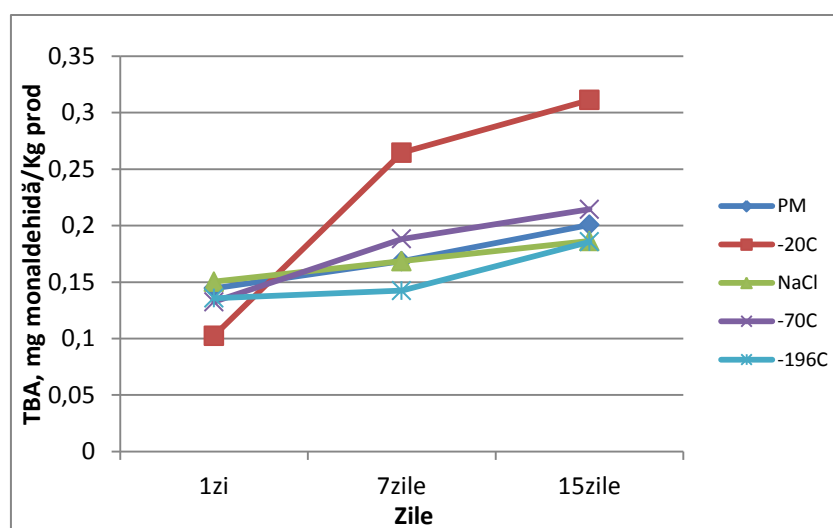


**Figura 4.2.** Variația conținutului de materie grasă (durata de depozitare la  $4-6^{\circ}\text{C}$  / 15 zile)

### **Variația indicelui TBA**

Variația numărului TBA, ca măsură a gradului de oxidare al lipidelor, este prezentată în Figura 4.3. Din figură se observă tendința ascendentă a valorilor indicelui TBA la toate probele, cea mai mare valoare înregistrându-se la proba congelată la  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $0,311 \text{ mg MDA/kg}$  probă, după 15 zile de depozitare la  $4^{\circ}\text{C}$ . Această creștere mai accentuată a valorii TBA în cazul probei congelate la  $-20^{\circ}\text{C}$ , față de toate celelalte probe poate fi explicată prin creșterea conținutului de grăsime liberă ca urmare a degradării membranei lipoproteice ce protejează globula de grăsime, sub acțiunea cristalelor mari și neregulate de gheață formate în timpul congelării. Grăsimea astfel eliberată din membrane este mai susceptibilă atacului enzimelor lipolitice. Totuși valorile înregistrate sunt mici și nu putem vorbi de o oxidare care să influențeze calitatea produsului.

În cazul probei congelate în saramură, indicele TBA a variat foarte puțin, lucru explicabil datorită efectului protector pe care îl exercită sarea asupra lipidelor .



**Figura 4.3.** Variația indicelui TBA din probele decongelate (durata de depozitare la  $4-6^{\circ}\text{C}$  / 15 zile)

### **Variația conținuturilor fracțiunilor azotate, proteine, azot neproteic, azot amoniacal și a gradului de proteoliză**

Conținutul de azot total a rămas relativ constant pe perioada congelării, existând o ușoară tendință de scădere pe perioada depozitării în condiții de refrigerare . Se poate observa, totuși, că la probele congelate prin contact direct cu agentul frigorific, respectiv cu azot lichid, au fost înregistrate conținuturi de azot total cu aproximativ 9,5% mai mari decât în cazul probei martor, diferență statistică semnificativă ( $p < 0,05$ ). Diferențele privind conținuturile de azot proteic și azot neproteic constatate le punem pe seama neuniformității loturilor.

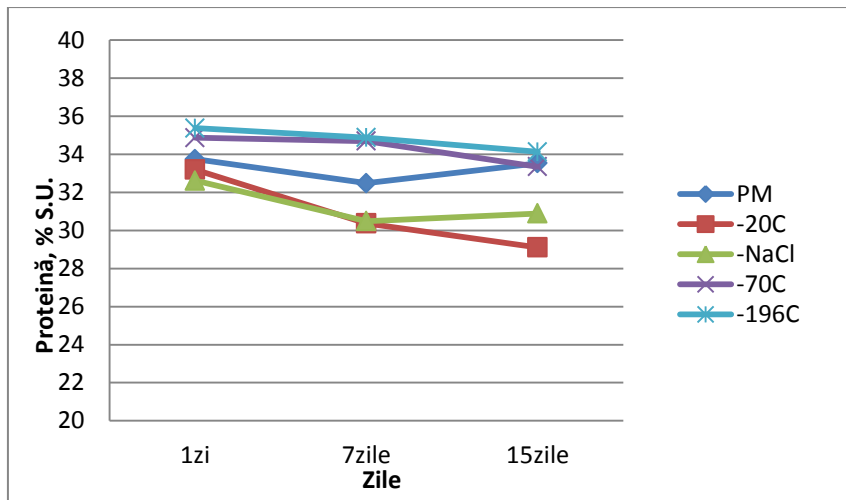
De asemenea, conținutul de proteine raportat la 100 g substanță uscată nu a suferit modificări majore în urma tratamentelor de congelare. Pe parcursul menținerii la  $4-6^{\circ}\text{C}$ , cantitatea de proteină raportată la 100 g substanță uscată a înregistrat pierderi nesemnificative (Figura 4.), paralel cu creșterea fracțiunii de azot neproteic, format în urma proceselor proteolitice catalizate de enzimele sintetizate de microflora care a supraviețuit procesului de congelare.

**Tabelul 4.6.** Variația conținuturilor fracțiunilor azotate, proteine, azot neproteic,  $NH_3$  și a gradului de proteoliză

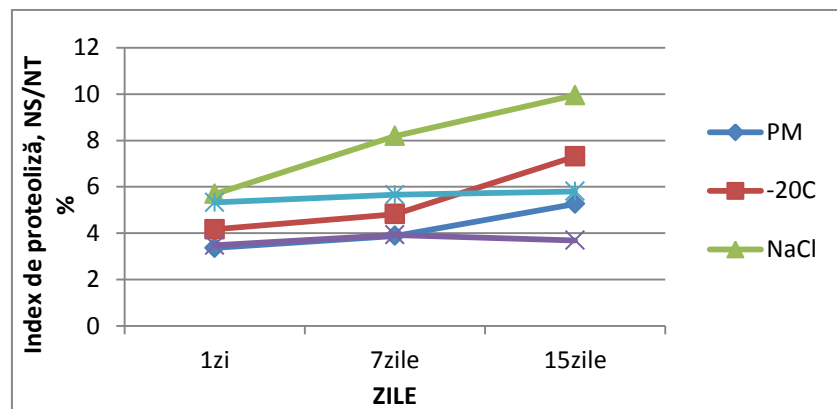
	Zile	Proteină,	Proteină,	$N_2$ ușor hidro- liabil ( $N_2H$ )	$N_2t$ ,	$N_2P$ ,	$N_2 NP$ ,	Grad de proteoliză I	Grad de proteoliză II
		%	% s.u.	mg $NH_3$ %	%	%	%	$N_2H/N_2t$ , %	$N_2NP/N_2t$ , %
Proba martor	0	15,24	33,75	8	2,39	2,33	0,060	0,34	2,51
	1	15,22	33,75	8	2,38	2,32	0,060	0,34	2,52
	7	14,80	32,49	9	2,32	2,26	0,060	0,39	2,59
	15	14,55	33,53	12	2,28	2,23	0,085	0,53	2,19
Congelare la - 20°C	1	15,31	33,20	10	2,4	2,33	0,072	0,42	3,00
	7	14,55	30,37	11	2,28	2,20	0,078	0,48	3,42
	15	13,97	29,11	16	2,19	2,12	0,084	0,73	3,38
Congelare în NaCl	1	15,70	32,62	14	2,46	2,40	0,062	0,57	2,52
	7	14,80	30,49	19	2,32	2,26	0,064	0,82	2,76
	15	13,46	27,54	21	2,11	2,05	0,062	0,99	0,19
Congelare la -70°C	1	16,00	34,87	9	2,59	2,51	0,081	0,35	3,13
	7	16,27	34,70	10	2,55	2,47	0,078	0,39	3,06
	15	15,69	33,35	9	2,44	2,38	0,094	0,37	2,62
Congelare în N lichid	1	15,80	35,38	14	2,63	2,54	0,093	0,53	3,54
	7	15,90	34,88	14,6	2,58	2,48	0,102	0,57	3,95
	15	15,70	34,13	15,2	2,62	2,53	0,118	0,58	3,36

*Evaluarea gradului de proteoliză primară* a necesitat determinarea azotului ușor hidrolizabil și calcularea raportului procentual azot amoniacal / azot total (Imm, și alții, 2003; Mas, și alții, 2002; Mallatou, și alții, 2004), acest raport procentual fiind un indicator al proteolizei primare. Proteoliza primară reprezintă etapa în care se formează peptide mari în brânzeturi fără încălzirea a doua, în care chimozina reziduală nu este inactivată.

Creșterea nivelului de proteoliză mai mult în probele ce au fost congelate decât în proba martor a fost raportată pentru mai multe sortimente de brânză din lapte de capră (Hernandez, și alții, 1990; Filchacova, și alții, 1983; Alichanidis, și alții, 1981)



**Figura 4.4.** Variația cantității de proteină din probele decongelate (durata de depozitare la 4-6°C / 15 zile)



**Figura 4.5.** Variația proteolizei primare

Pierderea tăriei matricei proteice datorită proteolizei în proba congelată la -20°C se poate datora coalescenței globulelor de grăsime și măririi procentului de grăsime eliberată (Imm, și alții, 2003).

Un conținut ridicat de sare poate influența proteoliza prin afectarea activității microbiene și enzimatică, ducând astfel la scăderea ratei și/sau a extinderii proteolizei (Mistry, și alții, 1998).

Pe parcursul proteolizei secundare (Figura 4.6), peptidele cu masă moleculară mare și medie sunt fragmentate gradual de către enzimele coagulante și enzimele sintetizate de microflora de contaminare a laptelui în peptide cu masă moleculară mai mică și aminoacizi (O'Keffe, și alții, 1976), solubile în acid tricloracetic (Costin, 2003).

Pe perioada păstrării, în toate probele a fost înregistrată o creștere a gradului de proteoliză secundară, datele fiind în acord cu rezultatele obținute și de alți cercetători (Mallatou, și alții, 2004; Reville, 1978). Noi am înregistrează diferențe semnificative între proba congelată în azot lichid, proba martor și proba congelată în saramură ( $p < 0,05$ ).



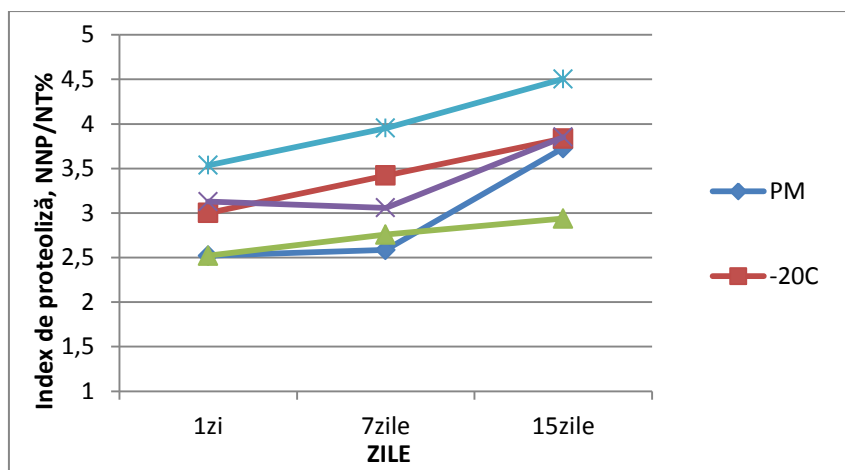


Figura 4.6. Evoluția proteolizei secundare pe perioada depozitării la 4-6°C/15 zile

### **Variația conținutului de NaCl și cenușă**

Conținutul de sare a fost în mod evident mai mare în proba congelată în saramură, aceasta absorbind până la 7,5 g NaCl/100 g produs în timpul procesului de congelare, cantitatea absorbită crescând până la 8,1 g NaCl/100 g produs în parcursul depozitării la 4 - 6°C, datorită pierderii de umiditate. Diferențele sunt puternic semnificative între proba congelată în saramură și toate celelalte probe ( $p < 0,05$ , sig 0.000).

### **Variația pH-ului și acidității**

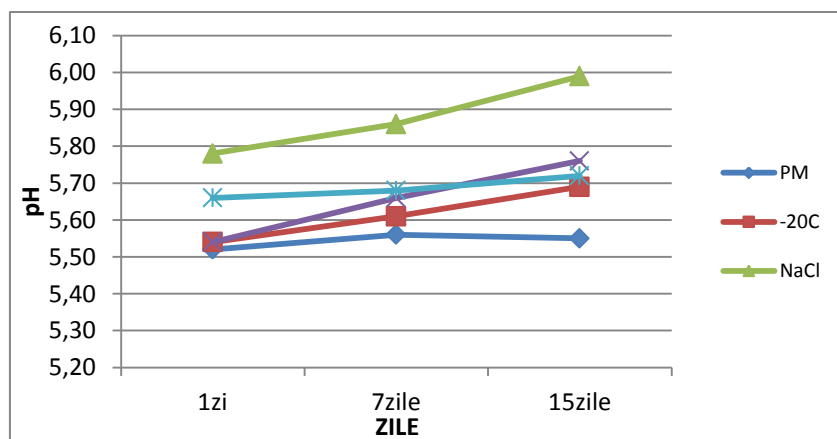
Valoarea pH-ului a suferit modificări ușoare pe parcursul depozitării probelor în condiții de refrigerare, cu excepția probei congelate în saramură, aceasta înregistrând cele mai mari valori de pH. Conținutul de sare poate influența valoarea pH-ului prin acțiunea pe care o exercită asupra activității microbiene (Thomas, 1981; Guinee, 1993; Pastorino, și alții, 2003).

Creșterile valorilor de pH pe perioada celor 15 zile de depozitare în regim de refrigerare, probabil, sunt determinate de formarea amoniacului (Fox, și alții, 1971).

Valorile de pH apropiate în probele proaspăt decongelate din celelalte 3 probe confirmă faptul că procesele de congelare la -20°C, la -70°C și în azot lichid și menținerea în stare congelată timp de 3 luni nu au avut impact asupra pH-ului, lucru care sugerează că procesele de congelare aplicate sunt adecvate pentru conservarea coagulului proteic din lapte de capră.

*Tabelul 4.7. Variația conținuturilor de cenușă și sare*

Metoda de congelare	Durata	Substanța uscată, %	NaCl,		Cenușă,	
			%	s.u.	%	s.u.
Proba martor	0 zile	45,15	1,8	3,99	2,31	5,12
	1zi	45,10	1,8	3,99	2,3	5,10
	7 zile	45,56	1,92	4,21	2,28	5,00
	15 zile	46,4	2,04	4,40	2,36	5,07
Congelare la -20°C	1 zi	46,12	1,80	3,90	2,32	5,03
	7 zile	47,89	1,78	3,72	2,28	4,76
	15 zile	48,00	1,82	3,79	2,31	4,81
Congelare în soluție de NaCl	1zi	48,13	3,61	7,50	4,01	8,33
	7 zile	48,54	3,71	7,64	3,99	8,22
	15 zile	48,88	3,98	8,14	4,09	8,37
Congelare la -70°C	1 zi	45,88	1,61	3,51	2,64	5,75
	7zile	46,89	1,78	3,80	2,03	4,33
	15zile	47,05	1,96	4,17	2,22	4,72
Congelare în azot lichid	1zi	44,66	1,78	3,99	2,02	4,52
	7 zile	45,58	1,84	4,04	2,12	4,65
	15 zile	46,00	2,10	4,56	2,20	4,78



*Figura 4.7. Variația pH-ului pe perioada depozitării la 4-6 °C/15 zile*

Aciditatea probelor congelate (tab.4.8.) s-a menținut la valori apropiate de cele ale probei martor, acestea fiind în concordanță cu valorile prevăzute în standarde pentru coagulul proteic proaspăt, cuprinse între 110 – 180°T (Costin, 2003).

**Tabelul 4.8.** Variația acidității pe perioada depozitării la 4 – 6°C /15 zile

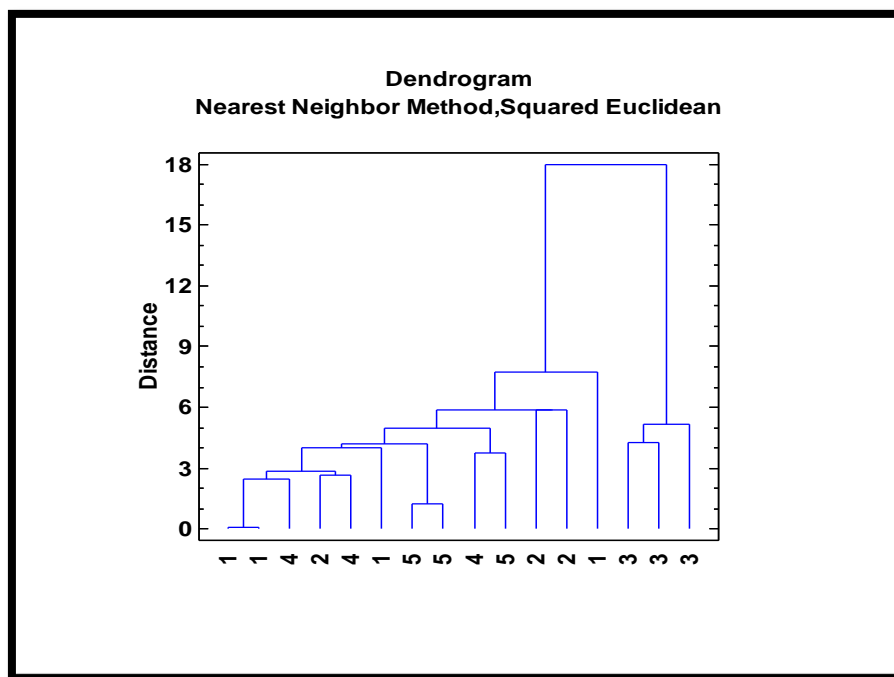
PROBA	ZILE	Aciditate , °T		
	1zi	7zile	15zile	
PM		96	110	120
Cong . -20°C		99	105	115
Cong . sol NaCl		99	98	101
Cong -70°C		98	101	110
Cong. N lichid		102	99	108

### Analiza cluster

În figura 4. 8. este prezentată dendrograma care reprezintă analiza clusterelor pe grupuri, utilizând metoda celui mai apropiat vecin.

Analiza statistică a generat un cluster format din 4 grupuri ce se disting clar (1, 2, 5 și 3), unele caracteristici ale grupului 4 prezentând similitudini cu caracteristici ale grupurilor 2 și 5.

Din analiza arborelui de clasificare se disting clar probele 1 (proba martor) față de proba 5 (proba congelată în azot) și față de proba 2 (congelare la -20°C). Proba 3 (congelată în saramură) a format un grup individual încă de la început, diferențiindu-se net de toate celelalte probe.



**Figura 4.8.** Dendrograma clusterilor pe baza proprietăților fizico-chimice ale celor 5 grupuri de probe (1-p. martor; 2- congelare la -20° C; 3 –congelare în sol. NaCl; 4- congelare -70; 5 – criocongelare )

## Concluzii parțiale

- Caracteristicile fizico-chimice și microbiologice ale coagulului din lapte de capră la 1 zi după decongelare nu au fost influențate în mare măsură de procedeele de congelare utilizate, cu excepția congelării în soluție salină cu o concentrație de 23% NaCl.
- Congelarea în soluție salină cu o concentrație de 23% NaCl a influențat cel mai profund caracteristicile fizico – chimice, în special, conținuturile de substanță uscată, de grăsime, de sare și de cenușă. De asemenea, indexul proteolitic a înregistrat cele mai ridicate valori în cazul coagulului congelat în saramură.
- Probele congelate la  $-70^{\circ}\text{C}$  au înregistrat cele mai apropiate valori de cele ale probei martor. Acest lucru se datorează pe de o parte vitezei mai mari de congelare, precum și datorită faptului că la această temperatură activitatea enzimatică este mult mai scăzută dar nu egală cu zero;
- Probele congelate la  $-20^{\circ}\text{C}$  prezintă modificări esențiale a conținutului de S.U. și conținutului de grăsime, după decongelare și menținere la  $4 - 6^{\circ}\text{C}$  timp de 15 zile datorită vitezei lente de congelare ce a favorizat formarea cristale mari și neregulate de gheață;
- Tehnologiile frigorifice aplicate nu au influențat în mod semnificativ pH-ul probelor, singura diferență fiind în cazul probei congelate în saramură, unde pH-ul a avut valoarea de 5,8 față de proba martor de 5,5.
- Pe parcursul celor 15 zile de depozitare la  $4 - 6^{\circ}\text{C}$ , probele nu au suferit modificări majore, valorile caracteristicilor fizico-chimice variind în limite relativ mici.

### 4.3. Analiza microbiologică

Acest studiu a fost centrat pe evaluarea potențialului de supraviețuire și de creștere al microorganismelor, cum ar fi bacteriile mezofile aerobe; coliformii; *E. coli*; stafilococii coagulazo – pozitivi; drojdiile și mucegaiurile în timpul congelării și depozitării în regim de refrigerare.

Rezultatele analizelor microbiologice conduse pe cele 5 probe sunt prezentate în tabelul 4.9.

Formarea cristalelor mici de gheață atât intracelular cât și extracelular, în timpul congelării rapide nu determină distrugerea membranei și a componentelor celulare, dar blochează metabolismii și supun la șoc termic bacteriile mezofile și termofile fapt demonstrat de procentul mai mic de microorganisme aerobe mezofile în probele congelate la  $-70^{\circ}\text{C}$ , față de cele congelate la  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Procedeul de congelare în saramură a avut efect bactericid asupra stafilococilor coagulazo – pozitivi, temperatura scăzută potențând efectul inhibitor al sării, pentru această categorie de microorganisme.

În schimb, probele care au fost tratate în azot lichid, au prezentat un număr de MAM apropiat de cel al probei martor. Geiges a ajuns la concluzia că o congelare rapidă, urmată de decongelare, are ca rezultat o rată de supraviețuire mai mare decât în cazul congelării lente (Geiges, 1996).

Procentul de drojdii și mucegaiuri din probele congelate este semnificativ mai mic față de proba martor, peste 90% din mucegaiuri fiind inactivate la temperaturi sub  $-20^{\circ}\text{C}$ , iar drojdiile își pierd viabilitatea în mare măsură la temperaturi sub  $-10^{\circ}\text{C}$ .

*Tabelul 4.9. Încărcătura microbiană a probelor de coagul proteic*

Metoda de congelare	Zile/ $4^{\circ}\text{C}$	MAM	Coliformi	<i>E.coli</i>	Stafilococi coagulazo +	Drojdi și mucegaiuri
	Log <sub>10</sub> ufc/g					
Proba martor	0	5,8	2,76	2,37	+	2,86
	1	6,02	2,78	2,1	+	2,86
	7	6,12	2,42	2,24	+	2,90
	15	6,14	2,10	2,22	+	2,94
Congelare la $-20^{\circ}\text{C}$	1	4,57	2,3	0,8	+	1,6
	7	3,2	2,41	0,59	+	1,8
	15	3,4	2,38	0,63	+	0,9
Congelare în soluție de NaCl	1	2,6	1,93	0,7	-	1,32
	7	2,32	1,96	0,78	-	1,43
	15	2,42	2,01	0,8	-	1,02
Congelare la $-70^{\circ}\text{C}$	1	2,3	1,5	0,6	+	0,92
	7	2,42	1,55	0,62	+	0,96
	15	2,32	1,4	0,56	+	0,92
Congelare în N <sub>2</sub> lichid	1	5,6	2,63	2,26	+	2,24
	7	4,58	2,48	2,35	+	1,83
	15	4,34	2,31	2,11	+	1,73

Efectul proceselor de congelare asupra supraviețuirii celulelor de bacterii și asupra altor tipuri de microorganisme prezente în alimente este complex. Răspunsul microorganismelor la temperaturi sub zero grade Celsius, pare să fie determinat, în mare măsură, de concentrația solutului ca urmare a congelării intracelulare, deși sunt doar câteva cazuri clare care să demonstreze această concluzie (Jay, 2005).

### **Concluzii parțiale**

Din punctul strict de vedere al conservării coagulului proteic din lapte de capră, procedeele de congelare nu trebuie privite ca un mijloc de distrugere a microorganismelor, cu atât mai puțin a microorganismelor cu potențial patogen.

Microorganismele care își pierd viabilitatea în aceste condiții diferă de la tulpină la tulpină și depind de procedeul de congelare aplicat, de natura și compoziția alimentului, în cazul nostru – coagul din lapte de capră, de perioada de depozitare în stare congelată precum și de temperatura de congelare.

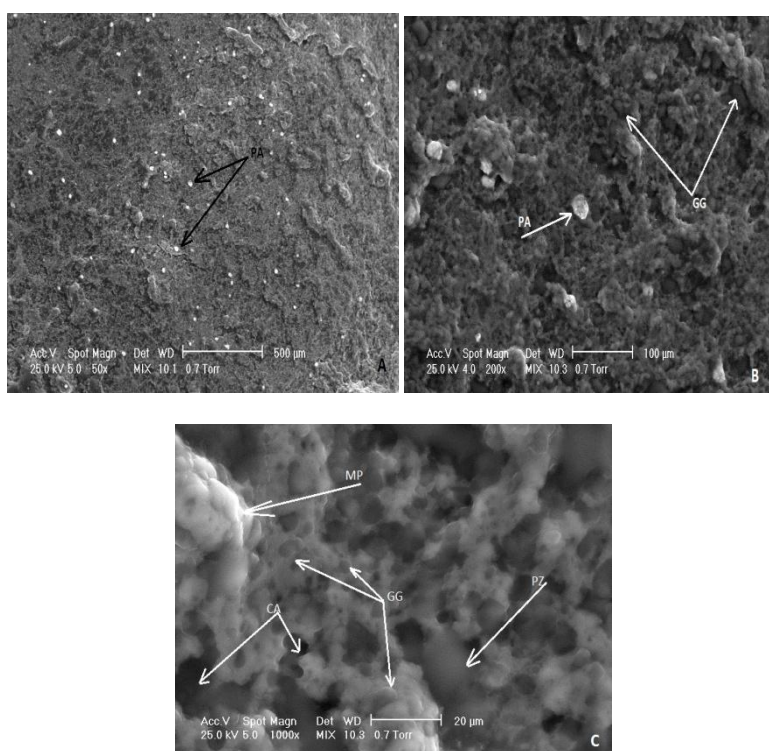
Procesul de congelare la  $-70^{\circ}\text{C}$  a contribuit în cea mai mare măsură la diminuarea numărului de microorganisme aerobe mezofile, precum și a numărului de drojdii și mucegaiuri.

Congelarea în saramură a avut efect inhibitor asupra stafilococilor coagulază pozitivi.

Diferențele procentuale de microorganisme viabile se datorează nu numai procedeelelor de congelare aplicate ci și datorită diferenței de umiditate din probe și a compușilor cu azot ce constituie mediu nutritiv pentru microorganisme.

## 5. Influența procedeelelor frigorifice de congelare asupra microstructurii coagulului proteic din lapte de capră

Cu ajutorul microscopiei cu scanare de electroni se pot observa posibilele interacțiuni dintre constituenții brânzei, în special, dintre proteine și grăsimi (Gavaric, 1989).

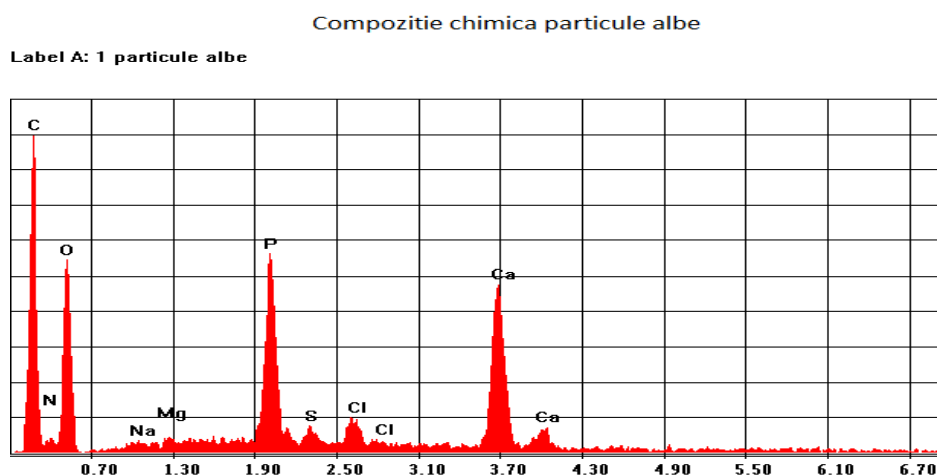


**Fig. 5.2.** Imaginea ESEM a probei de coagul proteic martor. PA –particule albe; GG –globule de grăsimi; MP –matrice proteică; CA –cavități cu aer; PZ –pungi cu zer.

În Fig. 5.2 se poate observa că proba martor a prezentat o suprafață relativ netedă, o matrice proteică continuă și compactă, globule de grăsimi de formă sferică, care apar ca entități bine delimitate de membrane lipoproteice și fixate în matricea proteică. Membrana lipoproteică nu permite grăsimii din interior să migreze către exterior. Din acest motiv coagulul proteic proaspăt nu are aspect uleios (Zdzislaw, și alții, 2003).

De asemenea, sunt prezente mici și rare cavități cu aer, ca urmare a autopresării coagulului, precum și mici spații umplute cu zer – soluție apoasă ce conține lactoză, vitamine, săruri minerale și proteine serice. Pe suprafața probei se observă mici particule albe. Aceste particule, la analiza compoziției chimice elementare cu ajutorul echipamentului EDAX, component al microscopului ESEM, s-a constatat că sunt formate, în principal, din carbon, oxigen, fosfor și calciu, fiind prezente în cantități foarte mici și sodiul și clorul.

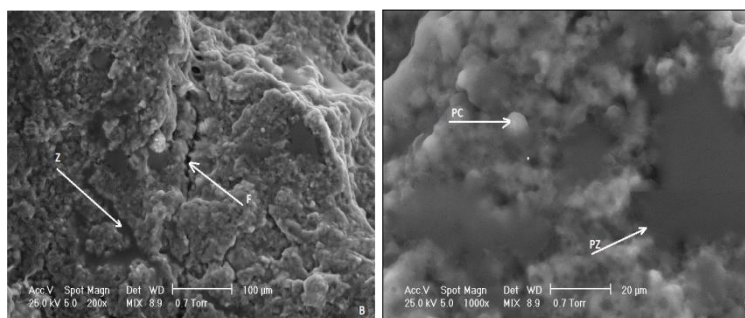
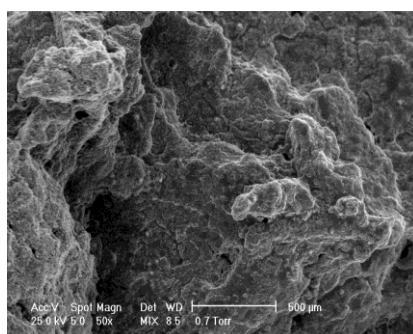
*Fig. 5.3. Compoziția chimică a particulelor albe stabilită cu EDAX*



Pe baza compoziției elementare, putem considera că aceste particule albe sunt particule de fosfo-para-cazeinat de calciu insolubile, apărute ca urmare a hidrolizei enzimatică a fracțiunii k-cazeină din micela de cazeină, iar fracțiunile  $\alpha$ - și  $\beta$ -cazeină destabilizate se regroupează într-o rețea fixând ionii de calciu și precipitând sub forma de gel (Banu & V., 1998).

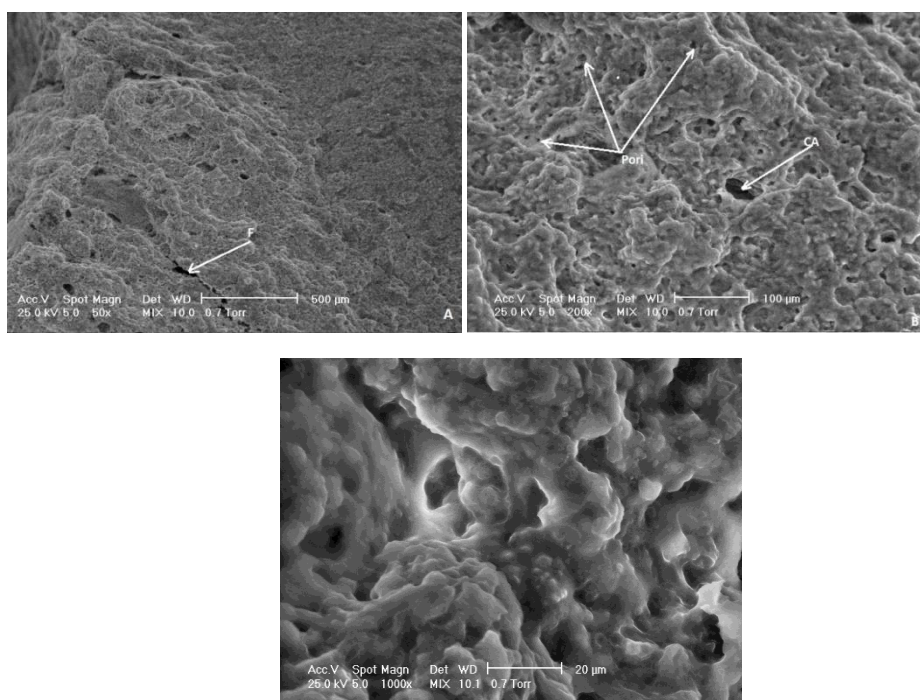
În probele congelate la  $-20^{\circ}\text{C}$  (Fig. 5.4), globulele de grăsime nu mai sunt clar delimitate, zonele cu zer se măresc, formându-se și mici „râuri” de zer. Din imaginea microstructurală a probei respective se poate observa o slăbire a matricei proteice și apariția unor fisuri foarte fine, vizibile la o scală de  $100\mu\text{m}$ . De asemenea, particulele de fosfocazeinat de calciu sunt rare, comparativ cu proba martor. Potrivit acestor observații, putem considera că procesul lent de congelare a apei libere cu formare de cristale de gheață mari și neregulate a condus la penetrarea membranei ce protejează globulele de grăsime. Astfel, o parte din globulele de grăsime prezente în proba martor, aici sunt deteriorate, conținutul globulelor de grăsime pierzându-se în zer sub formă de grăsime liberă. Imaginile ESEM confirmă analizele fizico-chimice efectuate, justificând astfel conținutul mai mic de grăsime/substanță uscată din proba congelată la  $-20^{\circ}\text{C}$ , decât în proba martor.

În imaginile ESEM ale probei congelate la  $-70^{\circ}\text{C}$  (Fig. 5.5) nu se observă spații cu zer, lucru explicabil prin încastrarea apei în ochiurile rețelei proteice, apa devenind astfel parte integrantă a matricei proteice (Kuo, 2001). Totodată, volumul matricei proteice a crescut, matricea proteică a devenit continuă și astfel au fost eliminate spațiile ocupate de aer și zer (Paulson, 1998).



**Fig. 5.4.** Imaginea ESEM a microstructurii probelor de coagul proteic congelate la  $-20^{\circ}\text{C}$ .  
*Z*– zer; *F*– fisuri; *PC*– particule de caseină; *PZ*– pungi de zer.

În cazul probelor congelate în azot lichid (Fig. 5.6), imaginile microstructurale sunt asemănătoare cu cele de la proba congelată la  $-70^{\circ}\text{C}$ , caracterizate prin absența spațiilor cu zer și a globulelor de grăsime, dar printr-o structură poroasă mai accentuată. Cel mai probabil, acești pori au rezultat datorită cristalelor foarte fine de gheață, formate la viteze foarte mari de congelare, care au acționat exact ca niște ace asupra matricei proteice a coagulului proteic. Nu se observă aglomerări sau globule individuale de grăsime.



**Fig. 5.5.** Imaginea ESEM pentru proba de coagul proteic congelată la  $-70^{\circ}\text{C}$ .  
*F* – fisuri; *CA* – cavități cu aer

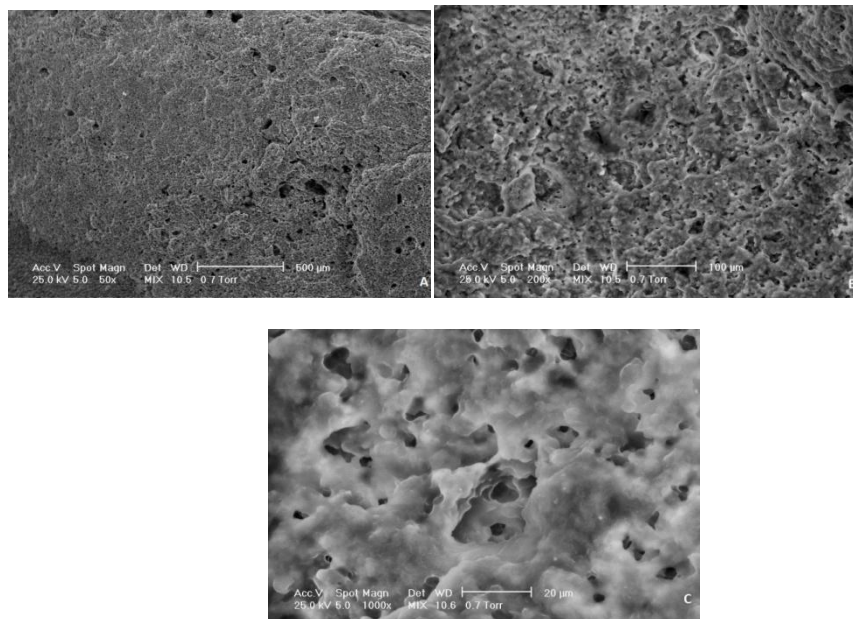


Este posibil ca grăsimea să se afle sub formă de „bazine” de grăsime și sub formă de grăsime “liberă” în cadrul golurilor din interiorul matricei de cazeină (Lopez, 2007), având în vedere că procentul de grăsime (45,3 g/s.u.) din proba congelată în azot lichid este aproximativ identic cu conținutul de grăsime din proba martor (45,7 g/s.u.). Aceste modificări ale grăsimii nu au putut fi cuantificate cu ajutorul microscopului ESEM.

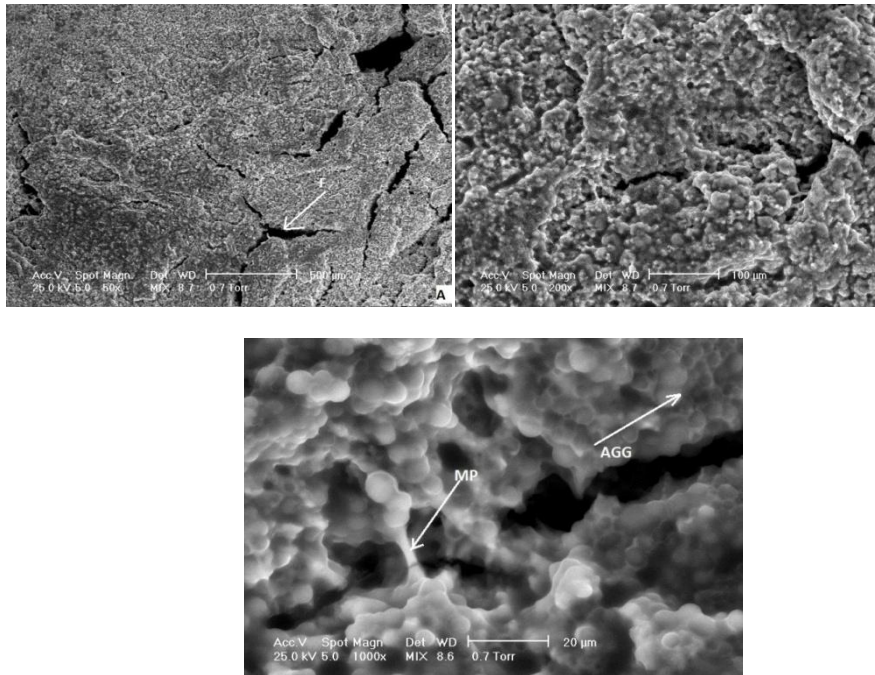
Analiza microscopică a probelor congelate în saramură (fig. 5.6.) a evidențiat un coagul proteic cu o suprafață brumată, datorită cantității mari de sare. Prin decongelare, coagulul proteic congelat în saramură a pierdut cantități mai mari de zer (umiditate 52%), în comparație cu proba martor (umiditate 55%). Acest proces de deshidratare a condus la apariția unor fisuri similare cu cele apărute în proba congelată la  $-20^{\circ}\text{C}$ , dar mult mai mari. Apariția fisurilor se justifică prin slăbirea structurii proteice.

Deshidratarea parțială a proteinelor și formarea cristalelor de gheață în interiorul coagulului proteic în timpul congelării pot cauza rupturi la nivelul membranelor proteice, permițând astfel globulelor mici de grăsime să se aglomereze și să formeze agregate de globule de grăsime (Diefes, și alții, 1993).

La o mărire de 1000x se pot observa aglomerări de globule de grăsime. (Lopez, 2007) susține că aceste aglomerări de globule de grăsime pot contribui la slăbirea și ulterior la ruperea matricei proteice.



*Fig. 5.6. Imaginea ESEM pentru proba de coagul proteic congelată în azot lichid*



**Fig. 5.7.** Imaginea ESEM pentru proba de coagul proteic congelată în saramură.  
 AGG – aglomerări de globule de grăsime; MP – matrice proteică

### **Concluzii parțiale**

Studiile microstructurale prin intermediul sistemului ESEM a evidențiat influența procese de congelare și de decongelare asupra matricei proteice a coagulului din lapte de capră, temperatura și viteza de congelare la care a fost supus coagulul proteic având un impact major asupra caracteristicilor microstructurale.

Procesul de congelare la  $-20^{\circ}\text{C}$  și cel prin imersie în saramură au afectat în mare măsură microstructura coagulului proteic, procedeele respective conducând la apariția fisurilor, spațiilor mari umplute cu zer și la slăbirea structurii proteice.

Probele congelate la  $-70^{\circ}\text{C}$  și în azot lichid ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) au avut structuri fără spații umplute cu zer, dar cu aspect poros, mai evident la coagulul congelat în azot lichid.

Caracteristicile microstructurale, vizualizate cu ajutorul ESEM, pot fi corelate cu comportamentele reologice și cu caracteristicile senzoriale ale probelor de coagul din lapte de capră.

## 6. INFLUENȚA METODELOR DE CONGELARE ASUPRA CARACTERISTICILOR REOLOGICE ALE COAGULULUI PROTEIC DIN LAPTE DE CAPRĂ

### Testul de creștere progresivă a frecvenței

În cazul studiului nostru, testul de creștere progresivă a frecvenței a fost realizat pentru a aprecia comportamentul vâscoelastic al coagulului proteic din lapte de capră și pentru a constata modificările induse de procesul de congelare și de durata de păstrare în regim de congelare.

Modificările proprietăților reologice ale coagulului proteic din lapte de capră în timpul congelării și depozitării la  $-20^{\circ}\text{C}$  bazate pe modulul de depozitare ( $G'$ ), modulul de relaxare ( $G''$ ) și unghiul de deformare sau de fază ( $\delta$ ) sunt arătate în figurile 1-5.

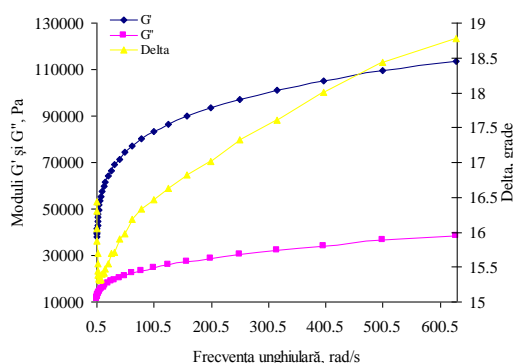
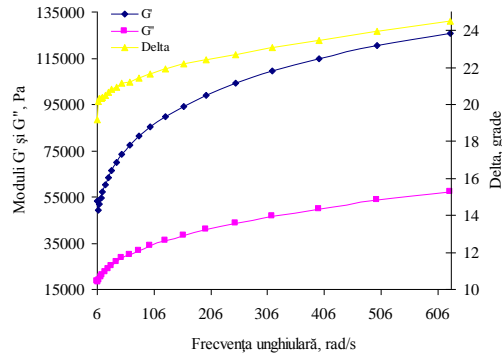


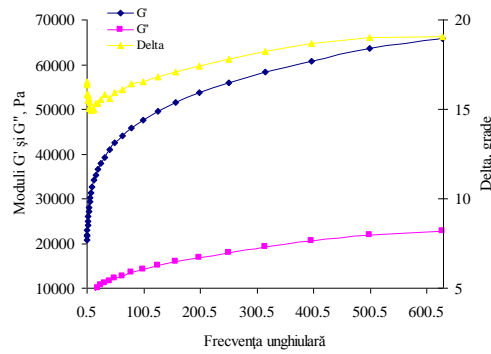
Fig.6.8. Variația modurilor  $G'$  și  $G''$  și a unghiului de fază în funcție de frecvența unghiulară (Proba 1- Proba martor)

De remarcat este faptul că pentru toate probele de coagul proteic și pe tot domeniul de frecvențe valorile lui  $G'$  au fost net superioare valorilor lui  $G''$ . Cu excepția probei 4, pentru celelalte probe analizate componenta elastică a dominat componenta vâscoasă, probele de coagul comportându-se mai aproape de un corp solid ( $G' > G''$ ). Atunci când  $G' < G''$ , componenta vâscoasă o domină pe cea elastică și corpul se comportă asemănător unui lichid vâscos (Steffe, 1996). Unghiul de fază este legat de formarea legăturilor din gel în timpul deformării, în principal, la descreșterea frecvenței oscilațiilor. Evoluția lui  $\delta$  a fost crescătoare pe aproape tot intervalul de frecvențe, cu excepția probei 4 (Fig. 6.11), unde după o creștere a valorilor unghiului de fază se constată o scădere accentuată. Explicăm acest comportament prin deteriorarea rețelei de gel a coagulului proteic congelat în saramură, cu eliberarea apei din rețeaua de gel și a grăsimii; proprietățile reologice ale brânzeturilor depinzând de particulele de grăsime și de matricea proteică, grăsimea fiind critică pentru textura brânzei.

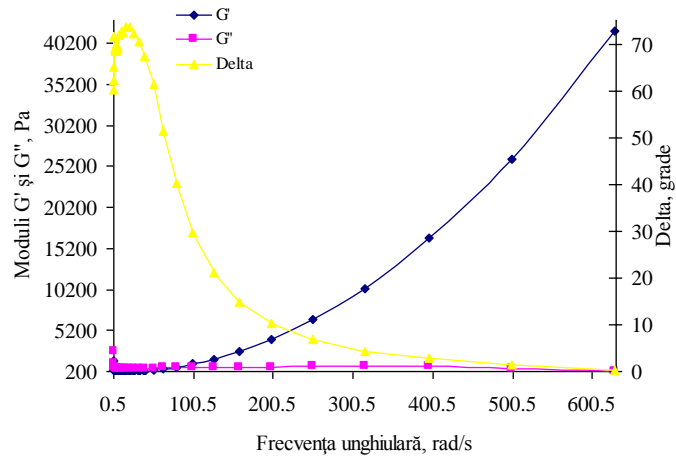
Congelarea, depozitarea în regim de congelare și decongelarea coagulului proteic au indus modificări în matricea proteică a produsului în funcție de metoda de congelare utilizată. Modificările macro- și microstructurale au condiționat comportamentul reologic, valorile inițiale și finale ale parametrilor reologici  $G'$  și  $G''$ , determinați în funcție de frecvența unghiulară.



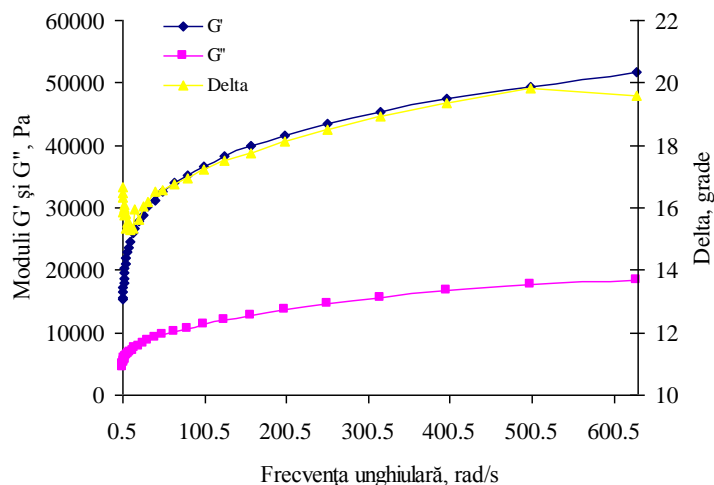
**Fig. 6.9.** Variația modurilor  $G'$  și  $G''$  și a unghiului de fază în funcție de frecvența unghiulară (Proba 2 - Proba congelată la  $-20^{\circ}\text{C}$ )



**Fig. 6.10.** Variația modurilor  $G'$  și  $G''$  și a unghiului de fază în funcție de frecvența unghiulară (Proba 3 - Proba congelată la  $-70^{\circ}\text{C}$ )

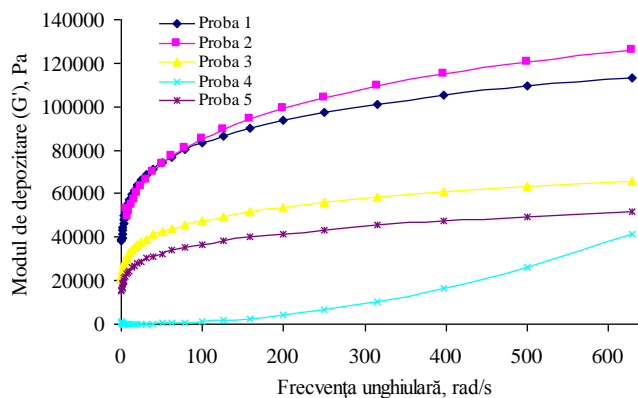


**Fig. 6.11.** Variația modurilor  $G'$  și  $G''$  și a unghiului de fază în funcție de frecvența unghiulară (Proba 4 - Proba congelată prin imersie în saramură răcită la  $-15^{\circ}\text{C}$ )

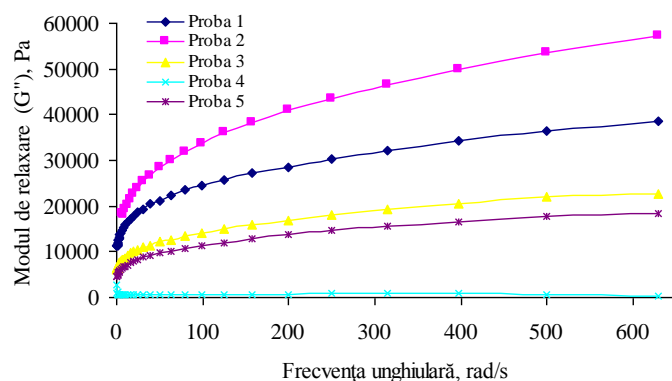


**Fig. 6.12.** Variația modurilor  $G'$  și  $G''$  și a unghiului de fază în funcție de frecvența unghiulară (Proba 5 - Proba congelată cu azot lichid)

Slăbirea legăturilor din rețeaua proteică sau dintre componentele coagulului proteic și formarea unor mici crăpături și fisuri pot constitui explicații pentru scăderea parametrilor reologici pentru probele congelate/decongelate, în raport cu proba martor, excepție făcând proba congelată la  $-20^{\circ}\text{C}$ . Parametrii reologici  $G'$  și  $G''$  ai probelor congelate la  $-70^{\circ}\text{C}$  și în azot lichid nu diferă semnificativ între ei.

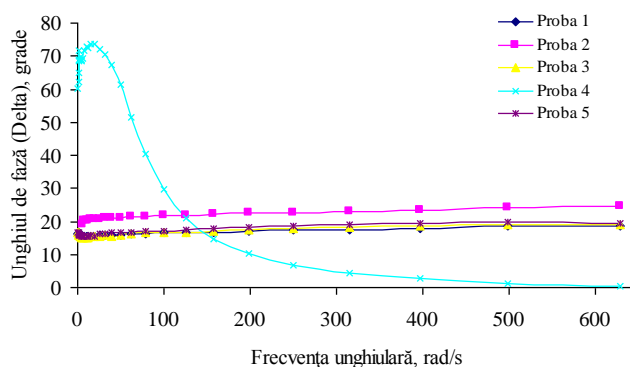


**Fig. 6.13.** Influența metodei de congelare și a frecvenței asupra modului de depozitare ( $G'$ )



**Fig. 6.14.** Influența metodei de congelare și a frecvenței asupra modulului de relaxare ( $G''$ )

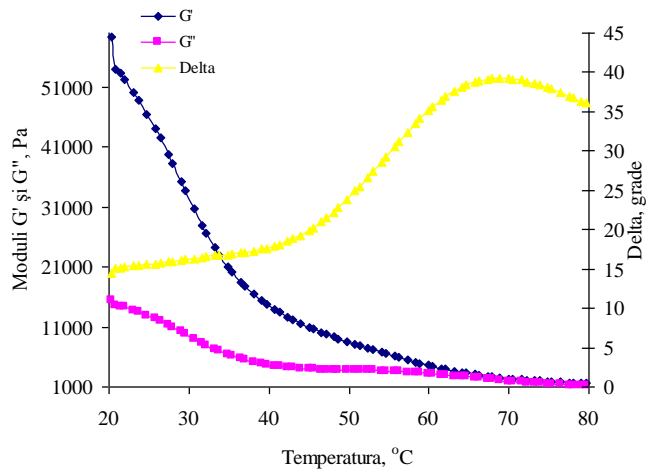
În figura 6.8 este făcută comparația între valorile lui  $\delta$  în funcție de natura probelor supuse la diferite tensiuni oscilatorii. Pentru probele 1, 2, 3 și 5 se constată o scădere a valorilor lui  $\delta$  în intervalul de frecvențe unghiulare 0,6283-9,958 rad/s, urmată de o creștere relativ ușoară pentru probele 1, 3 și 5 și o creștere mai mare la proba 2.



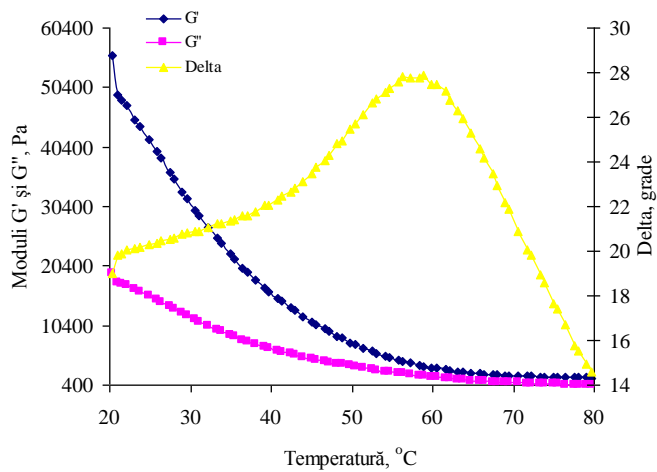
**Fig. 6.15.** Influența metodei de congelare și a frecvenței asupra unghiului de fază ( $\delta$ )

### **Testul de scanare a domeniului de temperatură**

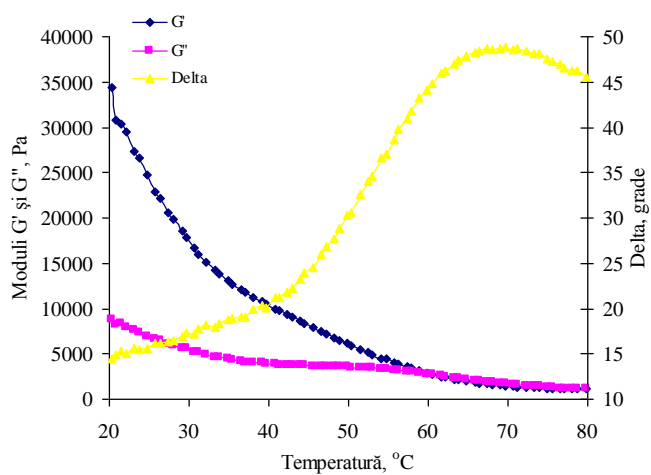
Profilul curbelor  $G'$  și  $G''$ , prezentate grafic în Fig. 6.16, Fig. 6.17, Fig. 6.18, Fig. 6.12 și Fig. 6.20 arată o descreștere continuă a acestor parametri odată cu creșterea temperaturii, observându-se o viteză de descreștere mai mare în intervalul de temperatură 20-40°C, urmată de o descreștere moderată în intervalul 40-60°C și de o menținere aproape constantă a valorilor în intervalul 60-80°C, pentru probele 1, 2, 3 și 5. Acest comportament marchează o tranziție de la forma de brânză cu mare elasticitate la temperaturi reduse la altă formă mult mai vâscoasă la temperaturi mai ridicate, modificările de structură fiind atribuite, îndeosebi, fracțiunii lichide a grăsimii. La temperaturi cuprinse între 60-80°C noi am constatat o schimbare a raportului dintre componentele vâscoelasticității, în sensul creșterii componentei vâscoase și diminuării componentei elastice.



**Fig. 6.16.** Variația modurilor  $G'$  și  $G''$  și a unghiului de fază în funcție de temperatură (Proba 1 – Proba martor – coagul proteic refrigerat)



**Fig. 6.17.** Variația modurilor  $G'$  și  $G''$  și a unghiului de fază în funcție de temperatură (Proba 2 – coagul proteic congelat la  $-20^{\circ}\text{C}$ )

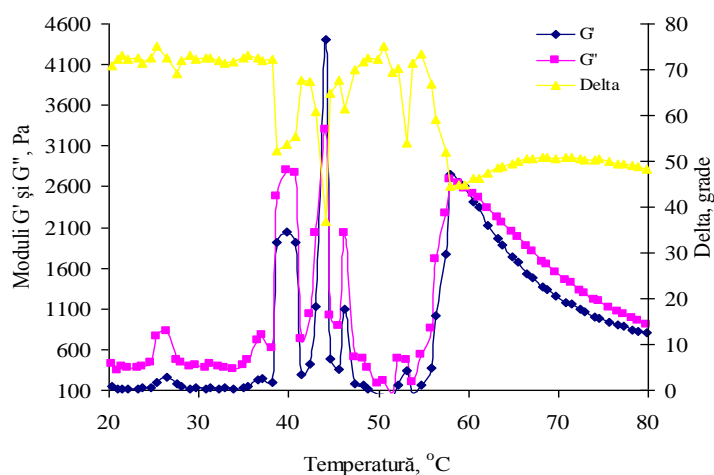


**Fig. 6.18.** Variația modurilor  $G'$  și  $G''$  și a unghiului de fază în funcție de temperatură (Proba 3 – coagul proteic congelat la  $-70^{\circ}\text{C}$ )

În cazul probei 4 (coagul proteic congelat în saramură), congelarea și depozitarea în regim de congelare a condus la modificări profunde de structură în matricea proteică de gel, care a influențat comportamentul reologic al produsului, atunci când acesta a fost supus la o creștere progresivă a temperaturii. Așa după cum se poate vedea din figura 12, în intervalul de temperatură 20-39°C valorile modurilor  $G'$  și  $G''$  și ale unghiului de fază au prezentat variații mici, ceea ce presupune o stabilitate structurală ridicată. De remarcat este faptul că valorile lui  $G''$  au fost mai mari decât valorile lui  $G'$ , proba de coagul proteic comportându-se ca un lichid cu componenta vâscoasă a vâscoelasticității predominantă. În intervalul de temperatură 39-55°C se constată o instabilitate structurală deosebită a probei, urmată de o stabilizare la temperaturi mai mari de 55°C. În intervalul de temperatură (55-80°C) valorile modurilor  $G'$  și  $G''$  au scăzut continuu, pe când valorile lui  $\delta$  au crescut în intervalul respectiv. Valorile lui  $\delta$  mai mari de 50 de grade confirmă comportamentul mai apropiat de un lichid vâscos al probei de coagul proteic, modulul de relaxare rămânând superior modulului de înmagazinare în acest interval de temperatură.

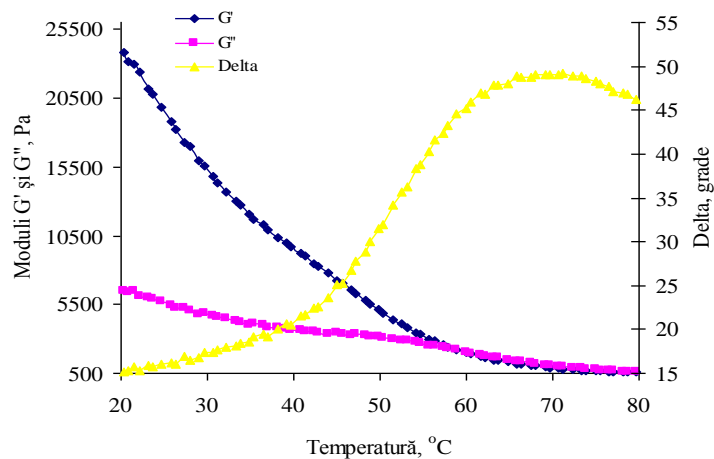
Prin compararea modurilor de înmagazinare în funcție de temperatură, noi am constatat diferențe semnificative între probe, condiționate de tehnica de congelare și de durata de depozitare în regim de congelare a coagulului proteic din lapte de capră nematurat.

Valorile unghiului de deformare în funcție de temperatură au depins de natura probei. Pentru probele 1, 2, 3 și 5 în intervalul de temperatură 20-45°C, valorile unghiului  $\delta$  s-au situat sub 45 de grade, ceea ce confirmă predominanța netă a componentei elastice a vâscoelasticității probelor respective. Peste această temperatură, valorile unghiului  $\delta$  au evoluat mult mai diferit. Pentru proba martor (proba 2) remarcăm o creștere mai accentuată în intervalul 50-68,9°C, urmată de un mic palier și de o ușoară scădere a parametrului respectiv în intervalul 72-80°C.

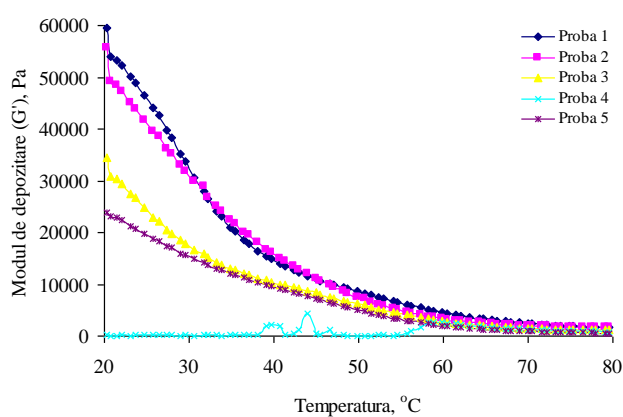


**Fig. 6.19.** Variația modurilor  $G'$  și  $G''$  și a unghiului de fază în funcție de temperatură (Proba 4 – coagul proteic congelat în saramură)

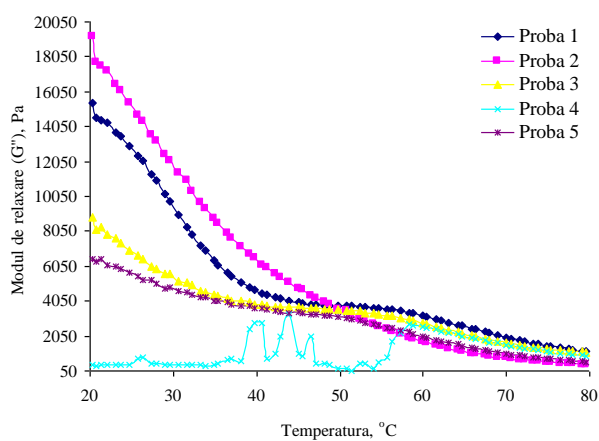




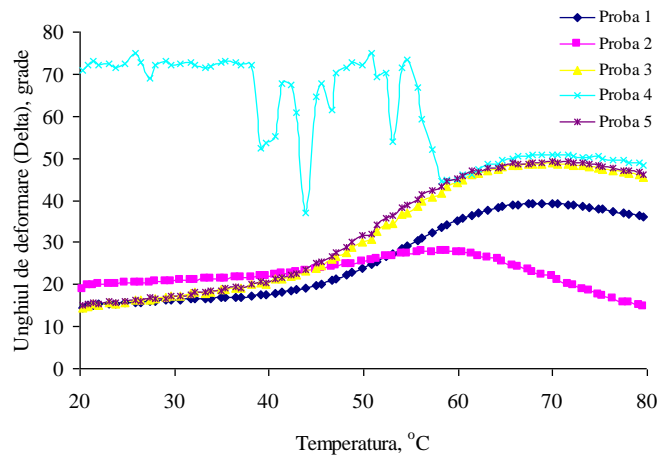
**Fig. 6.20.** Variația modurilor  $G'$  și  $G''$  și a unghiului de fază în funcție de temperatură (Proba 5 – coagul proteic congelat cu azot lichid)



**Fig. 6.21.** Influența metodei de congelare și a temperaturii asupra modului de depozitare ( $G'$ )



**Fig. 6.22.** Influența metodei de congelare și a temperaturii asupra modului de relaxare ( $G''$ )



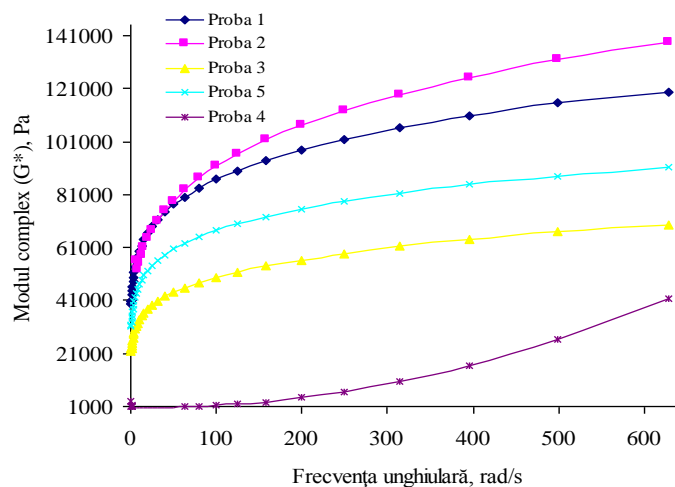
**Fig. 6.23.** Influența metodei de congelare și a temperaturii asupra unghiului de fază ( $\delta$ )

Referitor la proba 4, remarcăm aceeași evoluție neconcludentă a unghiului de fază ca și evoluțiile modurilor de înmagazinare și de pierdere (figura 6.16).

### **Modulul complex ( $G^*$ )**

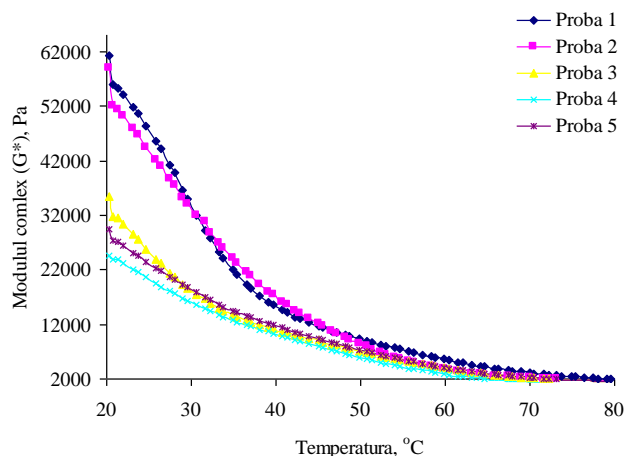
Pentru toate probele de coagul proteic profilul curbelor modulului complex ( $G^*$ ) indică o creștere continuă a acestui parametru pe tot domeniul de frecvențe unghiulare.

Diferența majoră dintre proprietățile elastice ale probelor a fost magnitudinea răspunsului la stresul indus, coagulul proteic congelat la  $-20^{\circ}\text{C}$  (proba 2) prezentând cele mai mari valori ale modulului complex, urmată de proba martor (proba 1), proba congelată în azot lichid (proba 5) și proba congelată la  $-70^{\circ}\text{C}$  (proba 3). Proba congelată în saramură (proba 4) a prezentat valori ale modulului complex net inferioare celorlalte probe, dovada unei modificări structurale profunde în timpul congelării în saramură răcită și depozitării la  $-20^{\circ}\text{C}$ , timp de 3 luni.



**Fig. 6.24.** Evoluția modulului complex în funcție de frecvența unghiulară și de tehnica de congelare

Conform profilelor curbelor prezentate în Fig. 6.25, modulul complex în funcție de temperatură a avut o evoluție descrescătoare pentru toate probele. Valorile lui  $G^*$  au fost cu mult mai mari la probele 1 și 2, asemănătoare la probele 3 și 5 și mai mici la proba 4 în domeniul de temperaturi cuprins între 20-40°C, intervalul în care scăderea valorilor modulului  $G^*$  a fost drastică. Valorile finale ale modulului complex (70-80°C) au diferit în mică măsură între probe. Sub acțiunea stresului termic este posibilă disruperea agregatelor de cazeină și a matricei coagulului proteic care devine mult mai flexibil.



**Fig. 6.25.** Evoluția modulului complex în funcție de temperatură și de tehnica de congelare

## Concluzii parțiale

Comportamentul reologic al coagulului proteic din lapte de capră în funcție de frecvența unghiulară a depins de tehnica de congelare adoptată. Parametrii reologici  $G'$ ,  $G''$ ,  $G^*$  și  $\delta$ , folosiți pentru cuantificarea modificărilor structurale la stres, oferă informații demne de încredere pentru aprecierea implicării tehnicii de congelare în evoluția texturii brânzei de capră.

Pentru domeniul de frecvențe unghiulare cuprins între 0,6283-628,3 rad/s, modulii  $G'$ ,  $G''$  și  $G^*$  prin evoluțiile lor ascendente au indicat o creștere a rigidității la forfecare a probelor de coagul proteic, componenta elastică a vâscoelasticității fiind predominantă.

Evoluția descrescătoare a modurilor  $G'$ ,  $G''$  și  $G^*$  pe intervalul de temperatură 20-80°C arată tendința de înmuiere a coagulului prin creșterea progresivă a temperaturii datorită topirii grăsimii și slăbirii structurii prin disrupția matricei proteice și agregarea cazeinei.

La temperatura de 20°C coagulul proteic din lapte de capră este un material vâscoelastoplastic care devine vâscoelastic la temperaturi apropiate de 60°C sau mai mari, temperatura lui de topire fiind condiționată de tehnica de congelare folosită. Temperaturile de topire ale coagulului proteic refrigerat și probei congelate la -20°C au fost mai mari de 80°C, pe când cele ale probelor congelate la -70°C și cu azot lichid au variat între 57,8-59°C. Procesul de congelare, depozitare în regim de congelare/decongelare conduce la slăbirea consistenței coagulului proteic din lapte de capră nematurat și la scăderea temperaturii de topire.

Testele reologice au condus la ideea că metoda de congelare a coagulului proteic nematurat și nepreambalat în saramură răcită nu este adecvată pentru conservarea coagulului proteic, parametrii reologici indicând o deteriorare accentuată a structurii acestuia.

Tehnicile de congelare cu azot lichid și la temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$ , conform testelor reologice aplicate de noi, au determinat modificării structurale mai profunde decât metoda de congelare la  $-20^{\circ}\text{C}$ , ceea ce impune obligativitatea efectuării unei operații de prerăcire cu vapori de azot în cazul produselor cu conținut mare de apă (coagul proteic din lapte de capră nematurat).

Congelarea poate fi utilizată ca metodă de conservare pe termen lung a coagulului proteic din lapte de capră, dar operația de congelare trebuie efectuată numai după stabilirea parametrilor optimi care să garanteze modificări structurale minime.

## 7. ANALIZA CARACTERISTICILOR SENZORIALE ALE COAGULULUI PROTEIC DIN LAPTE DE CAPRĂ

Pe baza punctajului mediu total, probele analizate au primit calificativele prezentate în Tabelul 7.6 și în figura 7.1.

*Tabelul 7.5. Corelarea punctajului mediu cu calificativul total pentru probele analizate*

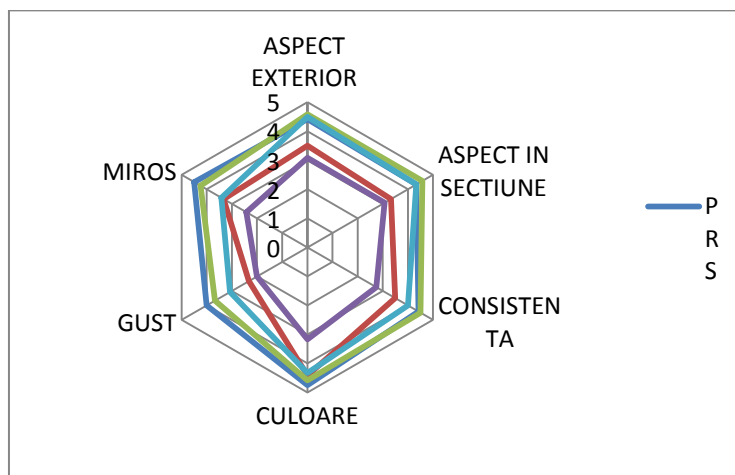
Cod	Proba	Punctaj mediu total	Calificativ total
<b>PRS</b>	Proba 1: martor	17,518	Bun
<b>SBT</b>	Proba 3: congelare la $-70^{\circ}\text{C}$	16,816	Bun
<b>QAC</b>	Proba 5: congelare în azot lichid	14,730	Satisfăcător
<b>MCL</b>	Proba 2: congelare la $-20^{\circ}\text{C}$	13,094	Satisfăcător
<b>RQA</b>	Proba 4: congelare în NaCl	10,238	Nesatisfăcător

În tabelul 7.7 este realizată o comparație dintre punctajele acordate pentru atributele senzoriale pentru probele de coagul din lapte de capră analizate și ordonarea descrescătoare a punctajelor medii acordate pentru fiecare atribut senzorial considerat.

*Tabelul 7.6. Ordonarea descrescătoare a punctajelor medii acordate pentru atributele senzoriale*

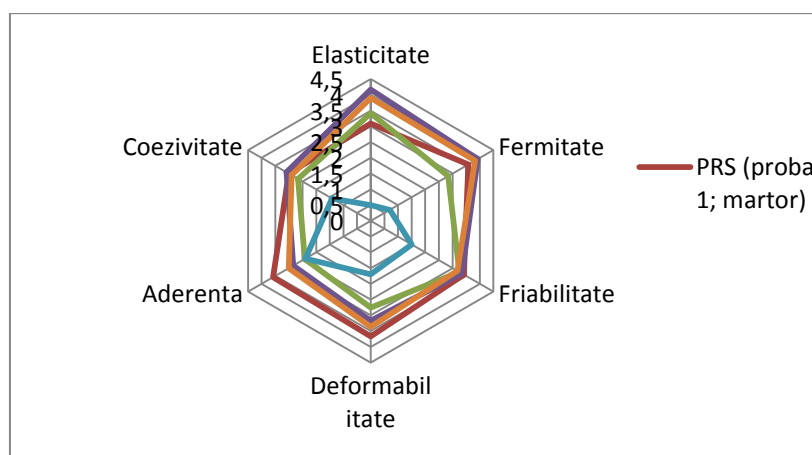
Atribute senzoriale	PRS	MCL	SBT	RQA	QAC	Comparație
ASPECT EXTERIOR	4,42	3,50	4,58	3,08	4,50	<b>SBT</b> > QAC > PRS > MCL > RQA
ASPECT ÎN SECȚIUNE	4,33	3,33	4,58	3,08	4,33	<b>SBT</b> > <b>PRS</b> = QAC > MCL > RQA
CONSISTENȚĂ	4,42	3,50	4,50	2,75	4,00	<b>SBT</b> > <b>PRS</b> > QAC > MCL > RQA
CULOARE	4,75	4,42	4,58	3,17	4,33	<b>PRS</b> > <b>SBT</b> > MCL > QAC > RQA
GUST	4,00	2,33	3,67	2,00	3,08	<b>PRS</b> > <b>SBT</b> > QAC > MCL > RQA
MIROS	4,50	3,33	4,25	2,42	3,42	<b>PRS</b> > <b>SBT</b> > QAC > MCL > RQA

În figura 7.2. este prezentat grafic punctajul obținut de fiecare din cele 5 probe de coagul din lapte de capră în cadrul testului de preferință.



**Fig. 7.2.** Grafic comparativ privind punctajul obținut de cele 5 probe în cadrul testului de preferință  
**Caracteristici texturale**

Textura brânzeturilor se corelează cu structura fizică și cu proprietățile mecanice ale acestora. Calitatea texturală a brânzeturilor a fost stabilită prin urmărirea câtorva parametri, cum ar fi: elasticitate, fermitate, friabilitate, deformabilitate, aderență și coezivitate (tabelul 7.8 și figura 7.2).



**Fig. 7.3.** Reprezentarea grafică a punctajelor obținute de probe pentru caracteristicile texturale

Modificări importante ale fermității au fost înregistrate în cazul probei congelate în saramură, aceasta fiind cel mai puțin apreciată de evaluatori din punct de vedere al tuturor parametrilor texturali.

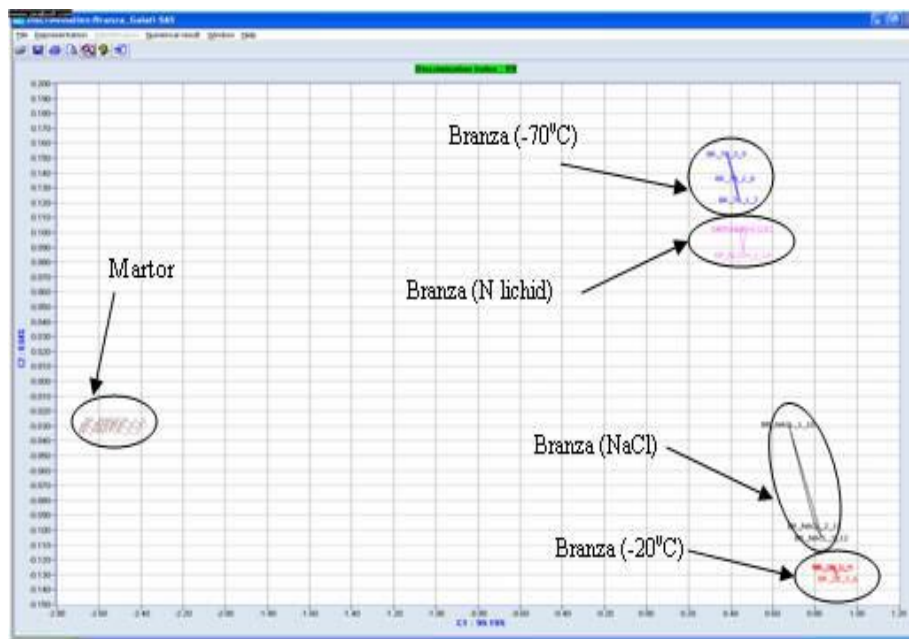
Proba congelată la  $-70^{\circ}\text{C}$  a obținut și cel mai mare punctaj pentru fermitate, fapt explicat prin conținutul mai ridicat în substanță uscată, în comparație cu celelalte probe, de aproximativ 53%.

## ***Metoda de diferențiere a probelor de coagul proteic din lapte de capră folosind nasul electronic***

Rezultatele obținute sunt prezentate în Fig. 7.4.

Graficul PCA raportează pe fiecare axă (C1, C2...Cn – componente) valoarea informațiilor furnizate de senzori. PCA este valabil dacă: indicele de discriminare are o valoare apropiată de 100. În cazul în care indicele de discriminare este negativ analiza nu este valabilă.

În cazul probelor de coagul proteic din lapte de capră, a fost obținut un indice de discriminare bun, de 89%, deci probele au fost clar diferențiate.



**Fig. 7.4.** Diagrama PCA a probelor de coagul proteic din lapte de capră

Diagrama PCA arată că nasul electronic a diferențiat bine probele analizate, „simțind” diferențele. Proba martor (PRS) este separată de toate celelalte probe; probele SBT (congelare la  $-70^{\circ}\text{C}$ ) și, respectiv, proba QAC (congelare în azot lichid) sunt separate dar mai apropiate, iar celelalte două probe RQA (congelare în saramură) și MCL (congelare la  $-20^{\circ}\text{C}$ ) sunt grupate, apropiate. Această diferențiere a probelor pe baza nasului electronic se corelează bine cu rezultatele obținute la analiza senzorială cu panel de evaluatori, respectând clasificarea probelor pe baza calificativului total precum și ordinea preferinței consumatorilor față de probe.

### ***Concluzii parțiale***

- Probele PRS (proba 1, martor) și SBT (proba 3, congelare la  $-70^{\circ}\text{C}$ ) au primit calificativul „bun” din punct de vedere al caracteristicilor senzoriale și au fost bine apreciate de evaluatori.

- Caracteristicile texturale ale probele PRS/SBT au prezentat cele mai ridicate valori medii pentru: elasticitate (3,09/4,17), fermitate (3,58/3,92), friabilitate (3,42/3,34), deformabilitate (3,67/3,17), aderență (3,58/2,84) și coezivitate (3,0/3,09), probele respective având și gustul și mirosul cele mai plăcute.

- Probele QAC (proba 5; congelare în azot lichid) și MCL (proba 2; congelare la -20°C) au primit calificativul „satisfăcător” din punct de vedere al caracteristicilor senzoriale și au prezentat valori medii relativ ridicate pentru caracteristicile texturale.

- Proba RQA (proba 4; congelare în NaCl) a primit calificativul „nesatisfăcător”, cu cel mai mic punctaj, de 10,24 din maximumul de 20 puncte. Caracteristicile texturale ale acestei probe au primit punctaje extrem de mici și nu au fost apreciate de consumatori. Acest lucru se poate corela și cu conținutul mare de sare pe care îl conține.

Rezultatele obținute în urma analizei probelor cu ajutorul nasului electronic subliniază diferențierea semnificativă între probele congelate față de proba martor, evidențiază asemănările dintre probele congelate în azot lichid și proba congelată la -70°C și diferențele pronunțate dintre probele congelate la -20°C și în saramură în raport cu celelalte probe.

## **8. CORELAȚII SPEARMAN ȘI ANALIZA CLUSTER ÎNTRE CARACTERISTICILE FIZICO-CHIMICE, REOLOGICE ȘI SENZORIALE ALE COAGULULUI PROTEIC DIN LAPTE DE CAPRĂ**

### ***Coeficientul de corelație Spearman***

Corelația coeficienților și valorile probabile pentru corelația Spearman dintre atributele senzoriale, fizico-chimice și reologice sunt prezentate în Anexe.

Rezultatele, regasite și în **Anexa I** evidențiază o strânsă corelație între atributele fizico-chimice și atributele senzoriale. O corelație pozitivă puternic semnificativă, perfectă ( $p=0,01$ ), s-a înregistrat între „gust”, „miros” și conținutul de grăsime, iar între „culoare” și conținutul de azot solubil s-a realizat o corelație negativă puternic semnificativă (opoziție de 100%). De asemenea, o corelație semnificativă negativă ( $p = 0,05$ ) s-a evidențiat între conținutul de azot solubil (NS) și „gust”, „miros”, iar între „elasticitate” și NS s-a înregistrat o corelație semnificativă pozitivă. Conținutul de sare prezintă o corelație puternic semnificativă cu „fermitatea” și „coezivitatea”. O corelație semnificativă apare și între pH și „culoare”.

**Anexa II** cuprinde rezultatele obținute în urma corelațiilor realizate între atributele fizico-chimice și atributele reologice. Atributul fizico-chimic cu influența cea mai mare asupra atributelor reologice a fost conținutul de proteină. Modulul elastic de forfecare (de înmagazinare) ( $G'$ ), modulul vâscos sau modulul de pierdere ( $G''$ ) și modulul complex ( $G^*$ ) prezintă o corelație negativă semnificativă cu conținutul de proteină ( $p=0,05$ ) lucru confirmat și prin analiza reologică a probelor care au evidențiat faptul că deteriorarea matricei proteice conduce la o pierdere a caracteristicilor vâsco-elastice ale acestora. Unghiul de deformare se corelează semnificativ ( $p=0,05$ ) cu indicii de proteoliză secundară, preponderența proprietăților vâscoase și elastice fiind influențate de conținutul de peptide cu masa moleculară mică ce se formează ca urmare a degradării lanțurilor proteice.

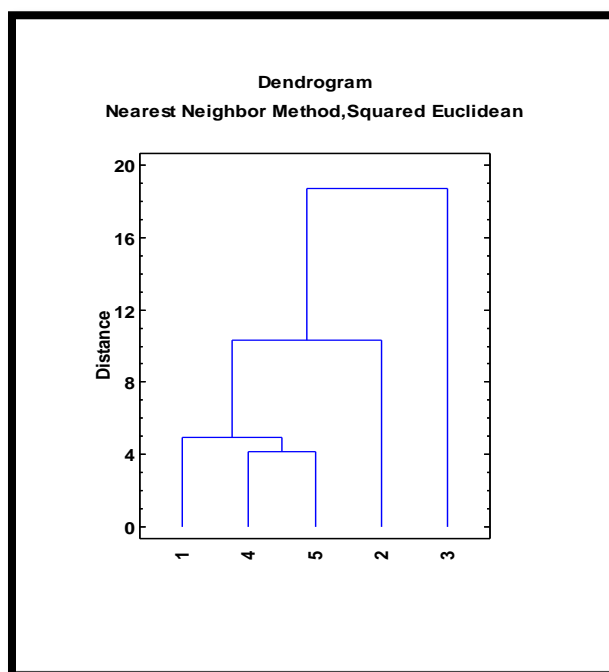
### ***Analiza cluster***

În figura 8.1. este prezentată dendrograma care reprezintă analiza clusterelor pe grupuri utilizând metoda celui mai apropiat vecin. Pentru această analiză s-au luat în considerare principalii indici fizico-chimici și reologici.

Indicii fizico-chimici aleși au fost : conținutul în substanță uscată , indice de proteoliză primară, indicele de proteoliză secundară, conținutul de grăsime și conținutul de sare . Parametrii reologici luați în considerare au fost modulul complex G și unghiul de deformare  $\delta$ .

Prin această procedură s-a creat un singur cluster plecând de la un grup de 5 membri.

Potrivit dendogramei din figura 8.1. și potrivit cu nivelul corespunzător fiecărui grup din cele 5 drept punct de prag, s-au format două grupuri distincte . Primul grup se compune din 2 subgrupuri, respectiv subgrupul 4 (congelare la  $-70^{\circ}\text{C}$ ) și subgrupul 5 (criocongelare) și respectiv grupul 1 (proba martor). Al doilea grup este format pe baza caracteristicilor probei 3 (congelare în saramură). De aici se poate deduce că prin analiza celor 7 indicatori fizico-chimici și reologici, probele s-au evidențiat în mod clar, probele 4 și 5 fiind asemănătoare între ele și mai apropiate de proba martor, în timp ce proba 3 se distinge separat formând un singur grup. Aceste rezultate sunt în corelație cu rezultatele analizelor fizico-chimice, senzoriale, texturale și reologice care au subliniat calitatea diferită a probei congelate în saramură față de celelalte probe.



**Fig. 8.1.** Dendrograma clusterilor pe baza comparării principalilor indicatori fizico-chimici și reologici ale celor 5 grupuri de probe ( 1-p.martor;2- congelare la  $-20^{\circ}\text{C}$ ; 3 –congelare sol.NaCl;4- congelare  $-70$ ;5 – criocongelare )



## CONCLUZII FINALE

Rezultatele obținute în urma experimentărilor efectuate au condus la următoarele concluzii :

- Temperatura și viteza de congelare a coagulului proteic joacă un rol important în compoziția fizico-chimică, microbiologică, texturală, reologică și senzorială.
- Rata scăderii temperaturii sub  $-1,1^{\circ}\text{C}$  în timpul congelării este critică pentru modificările texturale trecerea rapidă această zonă acționând ca o barieră împotriva deteriorărilor provocate de cristalele de gheață și astfel favorizându-se menținerea caracteristicilor texturale inițiale ale coagulului proteic.
- Comparând caracteristicile fizico-chimie ale celor 4 probe în raport cu proba martor imediat după decongelare, putem afirma că, exceptând proba congelată în saramură, celelalte procese de congelare au influențat în mică măsură acești parametri conținutul de substanță uscată, statistic înregistrându-se diferențe semnificative între porba congelată în soluție salină și celelalte probe.
- Congelarea prin convecție naturală a aerului la  $-20^{\circ}\text{C}$  și depozitarea pe o perioadă de 3 luni a coagulului proteic din lapte de capră a produs modificări semnificative asupra umidității și a conținutului de lipide, după decongelare și menținere la  $4-6^{\circ}\text{C}$  timp de 15 zile.
- Procedeele de congelare la  $-70^{\circ}\text{C}$  au determinat modificări structurale ale coagulului proteic detectate reometric însă, per ansamblu, însumând rezultatele obținute în urma determinărilor fizico-chimice, microstructurale și senzoriale, probele prezintă un comportament bun acest procedeu putând fi aplicat pentru congelarea coagulului proteic din lapte de capră. Se recomandă totuși efectuarea unei operații de prăcire prin pulverizare cu azot lichid datorită conținutului mare de apă a coagulului proteic.
- Procedeele de congelare criogenică poate fi utilizat în scopul conservării, ca alternativă la congelarea convențională, dar numai în regim industrial pentru cantități mari de produs datorită costurilor ridicate pe care le necesită un astfel de echipament. De asemenea, pentru o menținere mai bună a caracteristicilor fizico-chimice ale coagulului proteic din lapte de capră se sugerează ambalarea produselor înainte de utilizarea acestui procedeu.
- Procedeele de congelare aplicate nu trebuie privite ca un mijloc de distrugere a microorganismelor cu atât mai puțin a microorganismelor cu potențial patogen.
- Microorganismele care-și pierd viabilitatea în aceste condiții diferă de la tulpină la tulpină și depind de procedeele de congelare aplicate, de natura și compoziția alimentului, de perioada de depozitare în stare congelată precum și de temperatura de congelare.
- Tehnica microscopică ESEM este o tehnică puternică și ușor de utilizat pentru studiul microstructurii probelor de coagulum proteic. Analiza imaginii furnizează informații calitative asupra matricei proteice și a globulelor de grăsime aceste informații corelându-se semnificativ cu majoritatea proprietăților texturale analizate prin celelalte metode utilizate.
- Caracteristicile microstructurale, vizualizate cu ajutorul ESEM, pot fi corelate cu comportamentele reologice și cu caracteristicile senzoriale ale probelor de coagulum din lapte de capră.
- Testele reologice au condus la ideea că metoda de congelare a coagulului proteic nematurat și neambalat, în saramură răcită nu este adecvată pentru conservarea coagulului proteic, parametrii reologici indicând o deteriorare accentuată a structurii acestuia.

- Rezultatele senzoriale obținute , precum și analiza de cluster vin să confirme diferențele semnificative ce apar în probele congelate în saramură față de celelalte probe.
- Congelarea prin contact direct cu soluție salină, în aceleași condiții de lucru a fost utilizată cu succes pe sortimente de Mozzarella (Ribero & A., 2007). Acest lucru confirmă faptul că o astfel de metodă de conservare mixtă se poate aplica, dar parametrii de lucru trebuie modificați în funcție de caracteristicile fizico-chimice ale probei analizate.
- Congelarea poate fi utilizată ca metodă de conservare pe termen lung a coagulului proteic din lapte de capră, dar operația de congelare trebuie efectuată numai după stabilirea parametrilor optimi care să garanteze modificări structurale minime.
- Rezultatele obținute în urma determinărilor senzoriale efectuate aplicând analiza hedonică cât și cea analitică completează concluziile obținute în urma determinărilor precedente efectuate .
- Abordarea statistică privind corelarea atributelor fizico-chimice, reologice și senzoriale vine ca un corolar al tuturor determinărilor efectuate ce nu face decât să contureze și să pună în valoare rezultatele obținute.

### ***Contribuții proprii și recomandări***

Tematica tezei de doctorat prin problematica abordată reprezintă o contribuție la literatura de specialitate, de altfel, destul de săracă pe această temă.

În același context, putem sublinia faptul că determinările experimentale au scos în evidență o serie de date importante din punct de vedere teoretic și practic. Menționăm în acest sens următoarele contribuții:

- Conservarea coagulului proteic din lapte de capră utilizând diferite procedee de conservare prin congelare reprezintă o noutate în România.
- Congelarea în soluție eutectică de NaCl s-a folosit până acum doar pe Mozzarella, iar aplicarea acestei metode pe coagul proteic din lapte de capră reprezintă o noutate în domeniu, această zonă lasând loc unor cercetări viitoare în vederea optimizării procesului pentru obținerea unor probe corespunzătoare.
- Proprietățile reologice fundamentale ale coagulului proteic din lapte de capră în asocieră cu textura senzorială, și proprietățile fizico-chimice nu au mai fost studiate în România, acestea oferind informații esențiale asupra bazei moleculare a texturii.
- De asemenea, analiza microstructurii coagulului din lapte de capră congelat utilizând tehnici de microscopie ESEM au oferit informații ce vin să completeze informațiile privind baza moleculară a texturii determinată reometric.
- Utilizarea analizei multivariate , respectiv Analiza Cluster abordând “Nearest Neighbour Method” privind asemănarea probelor pe baza caracteristicilor fizico-chimice, reologice și senzoriale , reprezintă o noutate în studiul actual al domeniului .

Congelarea poate fi utilizată ca metodă de conservare pe termen lung a coagulului proteic din lapte de capră, dar cu anumite recomandări :

- Pentru asigurarea calității brânzei în timpul congelării și depozitării în regim de congelare trebuie să se țină seama de o serie de factori: condițiile de congelare și depozitare și compoziția coagulului proteic ;
- Utilizarea congelării prin convecție naturală a aerului la -20°C , doar pentru un coagul bine scurs, cu umiditate relativă mai scăzută;
- În cazul utilizării congelării prin contact direct cu agenți intermediari , respectiv soluție de NaCl, se recomandă modificarea concentrației și a timpului de imersare a probelor astfel încât acestea să suporte modificări cât mai mici;

- Congelarea la  $-70^{\circ}\text{C}$  se poate utiliza industrial pentru conservarea coagulului proteic, cu recomandarea efectuării unei prerăcirii înainte de congelare propriu-zisă;
- Congelarea prin pulverizare de N lichid se poate aplica cu succes pentru conservarea coagulului proteic din lapte cu recomandarea ca probele să nu fie menținute perioade mai lungi de timp în tunelul de congelare, pentru a evita spargerea acestora datorită șocului termic suferit. De asemenea se recomandă ambalarea în prealabil a probelor în ambalaje speciale care să reziste la temperatura de vaporizare a azotului lichid.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

**Antoniou K. P.** Texture assessment of French cheeses [Periodic] // *Journal of Food Science*. - 2000. - Vol. 65. - pg. 168-172.

**Banu C. și Vizireanu. C.,** Procesarea industrială a laptelui [Carte]. - București : Ed. Tehnică, 1998.

**Beal P. and Mittal G.** Vibration and compression responses of Cheddar cheese at different fat content and age [Journal] // *Milchwissenschaft*. - 2000. - 3 : Vol. 55. - pp. 139-142.

**Beales N.** Adaptation of Microorganisms to Cold Temperatures Weak Acid Preservatives Low pH, and Osmotic Stress: A Review [Journal] // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. - 2004. - Vol. 3.

**Christensen C. M.** Food texture perception [Periodic] // *Advances in Food Research*. - 1984. - Vol. 29. - pg. 159-199.

**Clark S. și Sherbon J. W.** Alpha s1-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk [Periodic] // *Small Ruminant Research*. - 2000. - Vol. 38. - pg. 123-134.

**Collomb M., Spahni, M. et Badertscher** Optimisation des conditions d'entreposage des fromages en laboratoire a l'aide d'analysis chimiques [Periodic] // *Schweiz.Milchw.Forsch.* (21) . - 1992. - pg. 6 - 11.

**Dan, V.** (1999). *Microbiologia Produselor Alimentare* (Vol. 1). Galați: Ed. Alma.

**Diefes, H., Rizvi, S., & Bartsch, J.** (1993). Rheological behavior of frozen and thawed low-moisture, part-skim Mozzarella cheese. *Journal of Food Science* , 58 (4), 764-769.

**Everett, D. W.** (2007). Microstructure of natural cheese. În *Structure of dairy products* (pg. 170-201).

**Fontecha, J., Bellanato, J., & Juarez, M.** (1993). Infrared and Raman spectroscopic study of casein in cheese: effect of freezing and frozen storage. *Journal of Dairy Science* , 76, 3303-3309.

**Fontecha, J., Pelaez, C., & Juarez, M. A.** (1994). Effect of freezing and frozen storage on the physicochemical organoleptic and microbiological characteristics of a semi-hard ewes' milk cheese. *Journal of Dairy Research* , 61, 133-142.

**Marsili R.T.** Monitoring chemical changes in Cheddar cheese during aging by high-performance liquid chromatography and gas chromatography techniques [Periodic] // *Journal of Dairy Science*. - 1985. - Vol. 68. - pg. 3155-3161.

## **PUBLICATII STIINTIFICE REALIZATE PE PROBLEMATICA TEZEI**

1. **Pricop E., Tofan I. 2006 - Study about cold chain of refrigerated dairy products (first part)** - Buletin informativ pentru Industria de Morarit si Panificatie (BIMP), p 8 – 18,Nr1. Vol 17 Trim I, Galati.
2. **Pricop E., Tofan I. 2006 -Study about cold chain of refrigerated dairy products (second part)**- Buletin informativ pentru Industria de Morarit si Panificatie (BIMP), p 5 – 30 , Nr 2 – 3, Vol.17, Trim. II – III, Galati.
3. **Pricop ., Tofan I. 2009 - Nonconventional methods to obtain artificial cold in milk products industry** -B. EN.A, International Workshop on Environment, Nutrition, Health Relationship in the frame of EU Policy, 16 – 17 January, Galati, Romania.
4. **Pricop E, Tofan I., Barna O., Baston O. 2009 - Theoretical consideration concerning the maintenance of refrigerated milk and diary products quality throughout the cold chain** Authors: 22 – 24 October 2009, Iasi, Romania, Ed. Ion Ionescu de la Brad, p.113, ISSN 1454 – 7414.
5. **Pricop E., Tofan I., 2009 - Considerations about consumer's attitude regarding the significance of cold chain of perishable dairy products.** Annals of Food Science and Technology, vol.10, Issue 2, pg.479-481, Ed. AFST, ISSN **2065- 2828** , Targoviste .
6. **Pricop E., Popa E. M.,Ionescu A., Mantoc L . 2011 -Refrigeration treatments effect on viscoelastic behavior of goat milk protein curd.** Authors Scientific Bulletin of Biotechnology, Series F XV , ISSN 1224-7774 , BUCHAREST.
7. **Pricop E., Popa E.M. 2012 -Effect of different refrigeration treatments on the physicochemical characteristics of raw goat milk curd-style cheese.** - Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, Vol.18 (2), p. 175 – 180, ISSN: 2069 – 0053 (print) (former ISSN: 1453 – 1399), Agroprint; ISSN (online) : 2068 – 9551, Timisoara, 2012