

**MINISTERUL EDUCAȚIEI, CERCETĂRII ȘI INOVĂRII
UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI
FACULTATEA „ȘTIINȚA ȘI INGINERIA ALIMENTELOR”**

**STUDIUL COMPARATIV AL METODELOR DE
ACCELERARE A PROCESULUI DE MATURARE A
BRÂNZETURILOR CU PASTĂ FILATĂ**

Rezumatul tezei de doctorat

Coordonatori Științifici,

Prof. Univ. Dr. Ing. G.M. COSTIN

Prof. Univ. Dr. Ing. Gabriela ROTARU

Doctorand,

Ing. Nicoleta Simona ZAHARIA

Galați 2012



ROMÂNIA
UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS”
DIN GALAȚI



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
CERCETĂRII
TINERETULUI
ȘI SPORTULUI

Către

C9889 / 4.10 2012

Universitatea “ Dunărea de Jos “ din Galați vă face cunoscut că în data de _____, ora _____, în _____, va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulată:”STUDIUL COMPARATIV AL METODELOR DE ACCELERARE A PROCESULUI DE MATURARE A BRÂNZETURILOR CU PASTĂ FILATĂ”, elaborată de domnul/doamna GIUHAT NICOLETA-SIMONA(ZAHARIA), în vederea conferirii titlului științific de doctor în Domeniul de doctorat - Inginerie industrială.

Comisia de doctorat are următoarea componență :

- 1. Presedinte:** Prof.univ.dr.ing. Petru ALEXE
Universitatea “Dunărea de Jos” din Galați
- 2. Conducător de doctorat:** Prof.univ.dr.ing. Gabriela-Cătălina ROTARU
Universitatea “Dunărea de Jos” din Galați
- 3. Referent oficial:** Cercet.pr.gr.I dr.ing. Nastasia BELC
Director-Institutul Național de Bioresurse Alimentare-București
- 4. Referent oficial:** Prof.univ.dr.ing. Mona-Elena POPA
Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară din București
- 5. Referent oficial:** Conf.univ.dr.ing. Daniela BORDA
Universitatea “Dunărea de Jos” din Galați

Cu această ocazie vă transmitem rezumatul tezei de doctorat și vă invităm să participați la susținerea publică. În cazul în care doriți să faceți eventuale aprecieri sau observații asupra conținutului lucrării, vă rugăm să le transmiteți în scris pe adresa Universității, str. Domnească nr.47, 800008 - Galați, Fax - 0236 / 461353.

Prof.univ.dr.ing. Iulian Gabriel BÎRSAN

CUPRINS

	Pag. Teză	Pag. Rezumat
Introducere. Obiectivele științifice ale tezei	v	3
Partea I-a : STUDIUL DOCUMETAR DIN LITERATURA DE SPECIALITATE		
Capitolul 1. Laptele și derivatele sale	1	5
Capitolul 2. Brânzeturi cu pastă filată	21	5
Capitolul 3. Maturarea brânzeturilor	35	5
Capitolul 4. Procedee de accelerare a maturării brânzeturilor	58	5
Partea a II-a : STUDIUL EXPERIMENTAL		
Capitolul 5. Materiale, metode și echipamente utilizate în cercetare	78	6
Capitolul 6. Cercetări privind calitatea laptelui materie primă	111	9
Capitolul 7. Cercetări privind evoluția unor caracteristici fizico-chimice în BPF în cursul fabricării și maturării	131	11
Capitolul 8. Cercetări privind dinamica procesului de maturare a BPF	157	16
Capitolul 9 Contribuții la determinarea microstructurii brânzeturilor cu pastă filată prin microscopie electronică	187	23
Capitolul 10. Analiza senzorială a cașcavalului	197	27
Capitolul 11. Utilizarea conceptului HACCP în asigurarea inocuității brânzeturilor cu pastă filată	214	31
Concluzii finale	229	32
Contribuții personale	236	36
Direcții viitoare de cercetare	237	37
Bibliografie selectivă	251	38

Structura tezei de doctorat

Teza de doctorat cuprinde 261 pagini, din care partea de documentare 77 pagini (12 figuri și 21 tabele) și partea experimentală 184 pagini (61 figuri și 66 tabele).

Bibliografia conține 188 titluri.

Obiectivele științifice ale tezei de doctorat și strategia de cercetare

Brânzeturile, ca rezultat al biotehnologiei aplicate, sunt unele dintre cele mai complexe și dinamice produse alimentare. Transformarea laptelui în brânzeturi este un proces mai complex care constă în concentrarea proteinelor împreună cu o fracțiune variabilă de grăsime și substanțe minerale, cu eliminarea unei importante cantități de apă și lactoză. Procesele biochimice și biofizice implicate au fost doar parțial elucidate.

Maturarea brânzeturilor reprezintă unul dintre cele mai complexe fenomene din biochimia alimentelor în care descompunerea proteinelor, a lipidelor și carbohidraților determină eliberarea compușilor de aromă precum și modificări structurale, reologice și de textură ale brânzeturilor.

Procesul de maturare presupune costuri relativ ridicate începând cu achiziționarea materiei prime, procesarea acesteia și continuând cu tratamentele din timpul maturării, îngrijirea brânzeturilor și asigurarea microclimatului din sălile de depozitare, costuri recuperate după o perioadă lungă de timp. Acesta este de fapt motivul pentru care s-au căutat metode pentru accelerarea maturării brânzeturilor, dar care să mențină proprietățile organoleptice și fizico-chimice ale produsului finit (*Kujawski și al., 2003*).

Adaosul de enzime exogene pentru a accelera maturarea brânzeturilor este promițătoare, datorită acțiunii lor specifice și a potențialului pentru o producție low cost. Cercetările s-au concentrat pe găsirea de noi enzime proteolitice și/sau lipolitice potrivite pentru maturarea brânzeturilor ca metodă pentru reducerea timpului de maturare, ceea ce implicit reduce costurile atât pentru producători cât și pentru consumatori (*El-Hofi, 2010*).

Potrivit statisticilor, brânzeturile reprezintă jumătate din valoarea totală a pieței lactatelor, în topul preferințelor situându-se cașcavalul.

Deși criza globală i-a constrâns pe români să-și diminueze consumul la cele mai multe dintre alimentele de bază, conform publicației on-line Econtext care a realizat o radiografie a consumului de alimente din 2001 și până în 2010 se observă cum a evoluat consumul de lapte și produse lactate în acest interval (Tabel 1.1.):

Tabel 1.1. Radiografia consumului de alimente

	Cantitate medie lunară/persoană (kg)									
Produse lactate	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Lapte	3,2	3,2	3,25	3,44	3,6	3,5	3,8	4	4,2	4,2
Brânzeturi și smântână	0,553	0,57	0,61	0,645	0,69	0,724	0,788	0,842	0,889	0,869
Brânza de vacă (telemea)	0,217	0,224	0,233	0,233	0,236	0,243	0,253	0,28	0,29	0,27
Cașcaval	0,034	0,039	0,042	0,05	0,059	0,068	0,08	0,082	0,083	0,081

(sursa: www.econtext.ro)

Analizând întregul interval 2001 – 2010, se observă o creștere cu aproximativ 50% a consumului de lapte și brânzeturi, iar cel de cașcaval aproape s-a triplat. Având în vedere tendința tot mai pronunțată de mărire a consumului de cașcaval, producătorii acestuia au fost motivați să diversifice și să îmbunătățească gama de produse, ajungându-se în prezent la o ofertă care poate să satisfacă toate gusturile. Prețul mediu al laptelui crește continuu, ceea ce determină creșterea prețului la cașcaval. De aceea, pentru a menține trendul ascendent în ceea ce privește volumul consumului de brânzeturi și în special de cașcaval singura soluție este să se micșoreze prețurile, ținându-se cont și de situația generală a economiei.

Obiectivul științific principal al tezei de doctorat a constat în optimizarea duratei de maturare a brânzeturilor cu pastă filată prin utilizarea de enzime proteolitice și lipolitice în vederea accelerării procesului de maturare, studiu care s-a realizat într-o unitate de producție din județul Argeș.

Pentru realizarea obiectivului central al tezei s-au parcurs mai multe etape strâns legate între ele, și anume:

1. Documentarea fundamentală și actualizată referitoare la metodele de accelerare a maturării brânzeturilor.
2. Determinarea caracteristicilor fizico-chimice și microbiologice ale laptelui materie primă în faza de recepție precum și a laptelui tratat termic destinat obținerii brânzeturilor cu pastă filată.
3. Caracterizarea compozițională a variantei de brânză cu pastă filată convențională comparativ cu brânzeturile cu pastă filată fabricate cu adaos de diferite enzime exogene, asociată cu dinamica transformării unor indici fizico-chimici, microbiologici, a fracțiilor proteice, respectiv a unor indici de maturare.
4. Aprecierea modificărilor lipolitice, a intensității proceselor la sfârșitul perioadei analizate în cazul celor 4 variante experimentale de brânză cu pastă filată, comparativ cu laptele materie primă.
5. Evaluarea microstructurii brânzeturilor cu pastă filată prin microscopie electronică pe parcursul procesului de fabricație, în diferite etape, de la presare, filare până la maturare.
6. Analiza senzorială a brânzeturilor cu pastă filată obținute prin adaos de enzime proteolitice și/sau lipolitice comparativ cu caracteristicile probei martor, în diferite etape ale procesului de maturare.
7. Cercetări privind asigurarea calității și siguranței în consum a brânzeturilor cu pastă filată.

Oportunitatea cercetărilor întreprinse rezidă din faptul că o mai bună cunoaștere a procesului de maturare contribuie la optimizarea acestui proces tehnologic și la îmbunătățirea calității brânzeturilor, iar o reducere a duratei de maturare scade considerabil costurile de producție.

Partea I-a: STUDIUL DOCUMENTAR

Capitolul 1. Laptele și derivatele sale

Pentru prelucrarea modernă prin procedee noi cât și prin metode tradiționale este deosebit de important să fie studiate și înțelese proprietățile principalilor constituenți ai laptelui. Din punct de vedere fizico-chimic, laptele constituie un sistem dispers eterogen în care sărurile minerale și lactoza formează soluții adevărate, substanțele proteice se găsesc în stare coloidală, iar grăsimea sub formă de emulsie. Laptele conține și cantități mici de pigmenti, enzime, vitamine, fosfolipide, gaze.

Este de remarcat faptul că materia primă poate varia foarte mult și cu toate că prelucrarea modernă a laptelui a rezolvat în mare măsură această problemă, calitatea constantă a produselor reprezintă principala provocare pentru industria laptelui, datorită exigențelor foarte mari ale consumatorilor (*Borda, 2007*).

Capitolul 2. Brânzeturi cu pastă filată

Brânzeturile cu pastă filată BPF sunt încadrate, în general, în categoria brânzeturilor semi-tari, fiind caracterizate de încălzirea cașului la peste 55⁰C și frământarea manuală sau mecanică.

Specific pentru tehnologia de fabricare a brânzeturilor cu pastă filată este deci acidifierea controlată a cașului, care, după mărunțire, este opărit cu apă fierbinte sau saramură, frământat și „filat”. Prin acest tratament specific, pasta cașului devine plastică, maleabilă, cu o structură tipică fibroasă până la stratificată, care dispare apoi în cursul maturării, când devine fin granulară. Procesul unic de opărire/filare dă acestui grup divers de brânzeturi propria identitate.

Producția acestor brânzeturi își are originea în Italia, de unde, datorită însușirilor organoleptice deosebit de apreciate de consumatori, s-a extins în multe țări. Comerțul internațional și globalizarea au determinat extinderea producției de cașcaval către multe alte părți ale lumii, reprezentând în prezent al doilea cel mai fabricat tip de brânză, după brânzeturile tip Cheddar.

Capitolul 3. Maturarea brânzeturilor

Maturarea brânzeturilor reprezintă unul dintre fenomenele cele mai complexe ale biochimiei produselor alimentare. În procesul de maturare, coagulul alb, insipid și greu digerabil este transformat într-un produs cu o anumită consistență și structură și proprietăți caracteristice de gust, miros și culoare, specifice fiecărui sortiment de brânză ca urmare a unor fenomene variate care au loc, dintre care amintim proteoliza, dezaminarea și decarboxilarea aminoacizilor, lipoliza și degradarea acizilor grași, glicoliza și transformarea acidului lactic etc.

Capitolul 4. Procedee de accelerare a maturării brânzeturilor

Maturarea este un proces lent care presupune o serie de tratamente la care sunt supuse brânzeturile cum ar fi: curățirea suprafeței prin răzuire, spălarea cojii cu saramură, așezarea pe „cant” pentru uscare, ștergerea uscată, întoarcerea necesară

pentru a împiedica deformarea, asigurând totodată maturarea uniformă, schimbarea locului brânzeturilor, operațiuni care determină costuri suplimentare. Astfel, s-a impus găsirea de soluții pentru reducerea duratei de maturare, dar fără a distruge calitatea brânzei, cu beneficii economice și tehnologice. Creșterea temperaturii de maturare, adăugarea de enzime exogene, atenuate, sau direct în blocul de brânză, utilizarea de culturi starter modificate genetic, recombinante, microîncapsulate, adăugarea de coagul hidratat sau de aminoacizi liberi, tratament la presiuni înalte sau în câmp electric pulsatoriu, utilizarea diferitelor materiale de ambalare reprezintă metode tradiționale și moderne utilizate pentru accelerarea maturării.

Nici una dintre aceste metode nu este pe deplin elucidată și acesta este probabil unul dintre motivele pentru care nici una dintre acestea nu a fost adoptată universal.

PARTEA A II-A: STUDIUL EXPERIMENTAL

Capitolul 5. Materiale și metode utilizate în cercetare

Fabricarea cașcavalului s-a realizat la SC Brădet SRL, fabrică de procesare/prelucrare lapte din comuna Brăduleț, județul Argeș, pe o instalație semicontinuă existentă aici. S-au folosit următoarele materii prime și materiale:

- lapte de vacă integral de la o fermă din județul Argeș;
- culturi selecționate de bacterii lactice termofile - DI-PROX LH1, FD – DVS LH-B02 (amestec de *Lactobacillus helveticus* și *Lactobacillus lactis lyophilises*);
- clorura de calciu sub formă de soluție;
- enzime coagulante – cheag Fromasse;
- enzime exogene (proteolitice, lipolitice);
- sare (NaCl);
- folii termocontractibile.

Laptele de vacă a avut un conținut de 3,5% grăsime, 3,2% proteine, 4,4% lactoză și o aciditate de 17⁰T.

Procedura experimentală

S-a împărțit șarja în 4 părți și s-a prelucrat o probă martor și 3 probe cărora li s-au adăugat: Accelase, Promod, respectiv amestec Promod și Lipomod sub formă de soluție, prin pulverizare, după operația de opărire/filare, înainte de formarea cașcavalului, probe codificate conform tabelului de mai jos:

Denumire produs	Codifica re probe	Tipul enzimei adăugate	Dozaj gr. enzimă/100 kg brânză
Proba martor	M	-	-
Proba cu adaos de enzima proteolitica Accelase	A	AccelaseAM250 ^M	75
Proba cu Promod	P	Promod TM 215P	30
Proba cu adaos de amestec Promod si Lipomod	L	Promod TM 215P/ Lipomod TM 166P	30/6

Cașcavalul a fost turnat în forme de 500 grame. Maturarea s-a făcut la 16⁰-18⁰C timp de 15 zile, apoi la 12⁰-14⁰C timp de alte 15 zile urmată de cryovacare și depozitare la 6-7⁰C.

Metode de analiză

Metode pentru determinarea compoziției laptelui

O parte dintre determinările fizico-chimice s-au efectuat conform standardelor în vigoare iar tehnica de lucru folosită este prezentată sintetic în tabelul 5.1.

Tabelul 5.11. Metode pentru determinarea proprietăților fizico-chimice ale laptelui

Caracteristici analizate	Standard/instrument
Densitate	SR 2418:2008 Anexa A
Aciditate titrabilă, ⁰ T	SR 2418:2008 Anexa C
pH	STAS 8201-82
Grăsime	SR ISO 2446:2009
Substanțele proteice totale	SR EN 8968/1-2002
Acizi grași	SR ISO 15885:2008
Temperatura	SR 2418:2008
Lactoza, punct congelare	/Lactostar

Metode de analiza fizico-chimică a brânzeturilor

Pentru determinarea caracteristicilor fizico-chimice s-au folosit atât tehnicile prevăzute de standardele în vigoare cât și metode de analiză nestandardizate. Tehnica de lucru folosită în cazul determinărilor efectuate conform standardelor este prezentată sintetic în tabelul 5.2.

Tabel 5.2. Metode pentru determinarea caracteristicilor fizico-chimice ale brânzeturilor

Caracteristici analizate	Standard
Aciditate	SR ISO 6092/2008
pH	STAS 8201/82
Grăsime	SR ISO 3433/2009
Substanța uscată	SR ISO 5534/2004(E), IDF 4:2004(E)
Sare (NaCl)	SR EN ISO 5943/2007
Substanțe proteice totale	SR EN 8968/2-2002
Acizi grași	SR ISO 15885:2008
Activitatea apei a _w	/AWMD-10 - NAGY-Instruments

Analiza microbiologică a laptelui materie primă și a BPF

Principalii indicatori microbiologici care au fost analizați trebuie să corespundă cerințelor Reg. (CE) 853/2004 în ceea ce privește numărul de celule somatice și NTG, Reg. (CE) 2073/2005 modificat cu Reg. (CE) 1441/2007 privind *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* și *Staphylococcus coagulazo-pozitiv*.

S-au prelevat eşantioane conform SR EN ISO 6887-5/2002 care au fost supuse determinărilor cantitative și calitative, utilizând metode clasice (tabelul 5.3.).

Tabelul 5.3. Metode de analiză microbiologică a laptelui și brânzeturilor

Criteriu microbiologic	Metoda de analiză clasică
Numărul total de bacterii aerobe mezofile	SR ISO 4833/2006
Numărul total de drojdii și mucegaiuri	SR EN ISO 21527/2009
Numărul total de bacterii coliforme	SR EN ISO 4832/2009
Numărul de <i>Escherichia coli</i>	SR EN ISO 16649-1,2 /2007
Numărul de <i>Staphylococci coagulazo-pozitivi</i>	SR EN ISO 6888-1,2/2002, AC:2005
Numărul de <i>Bacillus cereus</i>	SR EN ISO 7932/2005
<i>Listeria monocytogenes</i>	SR EN ISO 11290-1/2/2005
<i>Salmonella ssp.</i>	SR EN ISO 6579/2003, AC:2006
Numărul de celule somatice	SR EN ISO 13366-1/2008

Metode de analiză a fracțiunilor azotoase din brânzeturi

Conținutului de azot total și azot solubil în apă s-a realizat conform SR EN 8968/2 – 2002.

Determinarea conținutului de azot solubil în acid fosfowolframic – s-au precipitat proteinele cu acid fosfowolframic și s-a determinat azotul solubil în acid fosfowolframic, după metoda Kjeldahl.

Determinarea conținutului de azot aminic – grupările aminice ale proteinelor s-au blocat cu aldehydă formică, iar grupările carboxilice s-au titrat cu hidroxid de sodiu.

Determinarea conținutului de azot amoniacal – prin distilare în prezența alcaliilor sau sărurilor alcalino-pământoase.

Determinarea azotului neproteic conform SR EN ISO 8968-4/2002 – s-au precipitat proteinele cu acid tricloracetic și s-a determinat azotul neproteic în filtrat, după metoda Kjeldahl.

Studierea microstructurii brânzeturilor s-a realizat utilizând o serie de 3 microscopie electronice SEM, ESEM și Confocal.

Analiza senzorială a brânzeturilor – conform prevederilor STAS 6345-88 și STAS 12655-88.

Capitolul 6. Cercetări privind calitatea laptelui materie primă

Primul pas în procesarea laptelui de consum și a produselor lactate îl reprezintă analiza și controlul laptelui, deoarece calitatea acestuia are cea mai mare influență asupra compoziției și calității senzoriale a produselor lactate obținute, precum și asupra unei procesări economice.

Conținutul de grăsime reprezintă în mod normal unul dintre criteriile de plată ale laptelui materie primă, dar valoarea reală a laptelui este determinată de nivelul de proteine și de factorii de calitate – microbiologici și contaminanți. Întrucât este unanim recunoscut că materia primă influențează hotărâtor calitatea brânzeturilor, consumurile specifice și deci costurile de fabricație, s-a considerat necesar să avem o imagine clară și corectă asupra laptelui care va fi utilizat în cercetare pentru obținerea de brânzeturi cu pastă filată.

6.1. Caracterizarea fizico-chimică a laptelui materie primă din zona Brădet

S-a urmărit variația compoziției laptelui materie primă provenit din zone diferite ale județului Argeș, Curtea de Argeș (ruta 1), Domnești (ruta 2), respectiv Oarja/Câteasca (ruta 3), de-a lungul unui an de zile. S-au analizat zilnic câte 3 probe medii lapte de la fiecare centru de colectare și s-a calculat media lunară, respectiv anuală pe fiecare zonă în parte. În tabelul 6.1. este prezentată compoziția fizico - chimică medie a laptelui de vacă pentru cele 3 zone luate în analiză.

Tabelul 6.1. Caracteristicile medii anuale ale laptelui de vacă integral

Tipul analizei	Valoarea medie anuală		
	Ruta 1	Ruta 2	Ruta 3
Analize senzoriale			
Aspect	Lichid omogen fără impurități vizibile sau sediment		
Consistență	Fluidă		
Culoare	Albă cu nuanță ușor gălbuie, uniformă		
Gust	Plăcut dulce		
Miros	Fără mirosuri străine		
Analize fizico chimice			
Grăsime, %	3,35	3,58	3,7
Aciditate, °T	16,5	17	15,5
Proteine, %	3,09	3,25	3,27
Lactoza, %	4,1	4,3	4,2
Temperatura, °C	18,7	7	6
Densitate relativă g/cm ³	1,0266	1,0274	1,029
Substanța uscată negrasă, %	8,1	8,27	8,5
Substanța uscată totală, %	11,45	11,85	12,2
pH	6,64	6,7	6,66
Punct congelare, °C	-0,510	-0,520	-0,540

Analizând datele de mai sus se observă că în județul Argeș calitatea laptelui variază pe zone de colectare. Această variabilitate este legată de rasa animalelor, de furajare precum și de condițiile de creștere a animalelor și de muls.

6.2. Corelația dintre indicii chimici și calitatea laptelui

S-a utilizat analiza suprafeței de răspuns pentru a studia corelația dintre SUT% (variabilă dependentă) și conținutul de grăsime respectiv proteine (două variabile independente), știind că acestea sunt afectate de adaosul de apă.

Condițiile pentru optimizarea obținerii unui lapte-materie primă cu un conținut ridicat de substanță uscată totală au fost prelucrate statistic prin analiza factorială utilizând metoda suprafeței de răspuns. Rezultatele obținute au evidențiat faptul că cele mai relevante variabile cu efect direct asupra obținerii unui lapte de calitate corespunzătoare au fost conținutul de grăsime (X1) și conținutul de proteine (X2). Astfel, a fost utilizat un model factorial pentru a investiga efectul corelat al celor 2 factori asupra răspunsului și anume substanța uscată (Y).

Pentru stabilirea modelului și estimarea coeficienților s-a utilizat programul statistic STATISTICA versiunea 8.0. Modelul compoziției centrale cu două variabile independente (conținutul de grăsime respectiv conținutul de proteine),

codificate pe două niveluri de variație (-1, +1) și 12 experimente a fost utilizat pentru stabilirea valorii optime a conținutului de grăsime respectiv proteine care s-a dovedit că influențează pozitiv conținutul de substanță uscată totală a laptelui materie primă destinat obținerii brânzeturilor cu pastă filată.

Ecuția polinomială a modelelor și suprafeței de răspuns pentru ruta 1 este prezentată în figura 6.1.

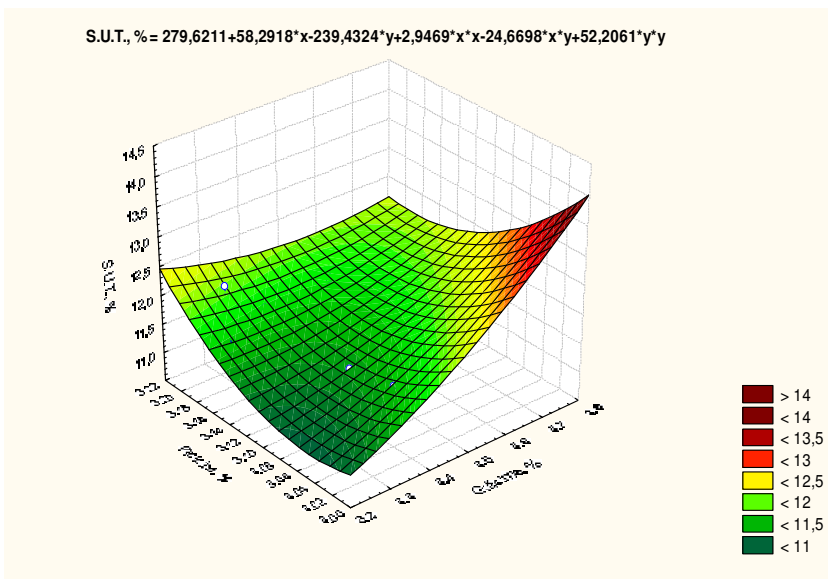


Figura 6.1. Corelația dintre conținutul de proteine și grăsime asupra SUT a laptelui colectat de pe ruta 1

Pentru **ruta 1** corelația multiplă dintre SUT% (variabilă dependentă) și cele două variabile independente (grăsime și proteine) se prezintă sub forma ecuației 6.1.:

$$SUT = 279,6211 + 58,2918 \cdot G - 239,4324 \cdot P + 2,9469 \cdot G^2 - 24,6698 \cdot G \cdot P + 52,2061 \cdot P^2 \quad (6.1.)$$

unde SUT = substanța uscată totală %, G = grăsime % și P = proteine %.

Intervalele de variație pentru cei trei parametri luați în analiză sunt: SUT = 11,08 – 12,15%, G = 3,25 – 3,72%, P = 3,03 – 3,21%.

Comparând valorile obținute experimental și valorile predicționate de modelele de regresie, pentru probele analizate de pe cele 3 rute, se observă că acestea pot fi utilizate pentru a predicționa corect evoluția răspunsului Y (conținutul în substanță uscată totală) corespunzătoare valorilor particulare ale variabilelor independente. Ecuția de regresie a indicat un coeficient de regresie $R^2 = 0,9145$ (o valoare $R^2 > 0,75$) indică o bună adecvare a modelului. Valorile mici ale abaterii medii pătratice demonstrează că între parametrii analizați există o corelație.

Comparând valorile obținute experimental și valorile predicționate de modelele de regresie, pentru probele analizate de pe cele 3 rute, s-a constatat că acestea pot fi

utilizate pentru a predicționa corect evoluția răspunsului Y (conținutul în substanță uscată totală) corespunzătoare valorilor particulare ale variabilelor independente.

6.3. Contaminanți în lapte materie primă

Calitatea laptelui este determinată nu numai de conținutul de grăsime și proteine, dar și de numărul de bacterii aerobe mezofile și celule somatice, substanțe inhibitoare, în special antibiotice. Regulamentul (CE) nr. 853/2004 de stabilire a unor norme specifice de igienă care se aplică alimentelor de origine animală stabilește că este necesar ca operatorii din sectorul alimentar să pună în aplicare proceduri pentru ca laptele crud de vacă să întrunească următoarele criterii:

- reducerea numărului total de germeni/ml lapte crud la $\leq 100\ 000$
- conținutul de celule somatice/ml lapte crud $\leq 400\ 000$

S-a urmărit evoluția lunară a numărului de celule somatice și de unități formatoare de colonii în laptele materie primă provenit din 13 centre de colectare, 2 ferme creștere bovine rasa Charolais și Holstein Friesian și de la nivelul celor 4 unități de procesare lapte de pe raza județului Argeș în perioada 2009/2010, probe prelevate conform programelor de supraveghere și control și analizate în cadrul laboratorului județean al Direcției Sanitare Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor Argeș.

Laptele conform a reprezentat doar 48,1% în ceea ce privește numărul de bacterii aerobe mezofile și 81,5% pentru numărul de celule somatice din cantitatea totală de lapte analizată în cursul anului 2009 respectiv 83% pentru PCA și 81,2% pentru NCS în 2010. Se poate spune că nu întreaga cantitate de lapte procesată a fost în conformitate cu condițiile impuse de Uniunea Europeană, dar s-a observat o îmbunătățire semnificativă a calității acestuia de la un an la altul.

Capitolul 7. Cercetări privind evoluția unor indici fizico – chimici în brânzeturile cu pastă filată în cursul fabricării și maturării

Proba martor ca și celelalte probe experimentale au fost analizate în diferite etape ale procesului tehnologic, în vederea stabilirii transformărilor care au loc de-a lungul perioadei de maturare, proaspete (înainte și după filare), la 8, 15, 30 și 60 de zile de maturare și au fost codificate cu indicii 1, 2, 3, 4, 5 respectiv 6 pentru fiecare probă (tabelul 7.1.):

Tabelul 7.1. Codificarea variantelor experimentale în diferite etape ale procesului de fabricație

Etapa fabricației		Cod
Caș după presare		M ₀ , A ₀ , P ₀ , L ₀
Înainte de opărire/filare		M ₁ , A ₁ , P ₁ , L ₁
După opărire/filare		M ₂ , A ₂ , P ₂ , L ₂
	8	M ₃ , A ₃ , P ₃ , L ₃
Perioada maturării, zile	15	M ₄ , A ₄ , P ₄ , L ₄
	30	M ₅ , A ₅ , P ₅ , L ₅
	60	M ₆ , A ₆ , P ₆ , L ₆

Produsele obținute au fost supuse analizelor pentru a se determina o serie de indici fizico-chimici, microbiologici, senzoriali, analize microscopice și s-a realizat un studiu comparativ al evoluției acestora.

7.1. Compararea evoluției caracteristicilor fizico chimice la maturarea BPF fabricate prin adăugarea diferitelor tipuri de enzime

Maturarea brânzeturilor este influențată în mare măsură și de compoziția acestora, componentele care intervin fiind umiditatea brânzei, pH-ul, concentrația de sare în apă, grăsimea raportată la substanța uscată totală care, sub acțiunea enzimelor microbiene, a enzimelor naturale ale laptelui care au rezistat la tratamentul termic (plasma) și a cheagului, suferă transformări complexe.

Evoluția acidității

Variantele experimentale M, A, P au avut o evoluție similară a acidității titrabile dar și a conținutului de acid lactic. Acidifierea mai accentuată s-a înregistrat pentru varianta cu adaos de amestec de enzime proteolitice și lipolitice după 15 zile de maturare până la 30 zile.

Evoluția conținutului de umiditate la maturarea BPF

Conținutul de umiditate la variantele experimentale studiate a înregistrat o scădere constantă pe parcursul studiului, în cazul acelorași condiții de maturare, evoluție care este în corelație cu creșterea conținutului de substanță uscată de-a lungul perioadei analizate (figura 7.1.).

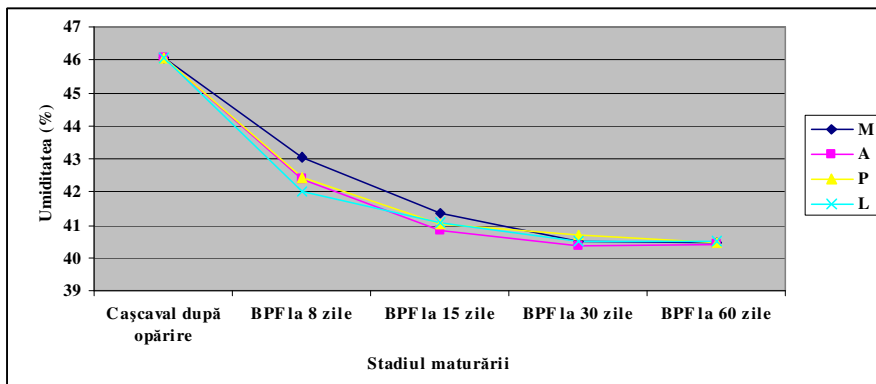


Figura 7.1. Evoluția umidității la maturarea brânzeturile cu pasta filată

Variațiile substanței uscate în diferitele etape analizate sunt date de evoluția apei, cu rate de eliminare a acesteia mai mari în prima parte a maturării, după care conținutul de umiditate rămâne practic constant atunci când cașcavalul este cryovacat. Astfel, după opărire-filare și până la 30 de zile de maturare conținutul de umiditate a scăzut cu 12% în toate variantele experimentale, atingându-se o valoare de cca. 4,4% la finalul perioadei analizate.

Evoluția activității apei la maturarea cașcavalului

Activitatea apei (a_w) reprezintă unul dintre parametri critici în determinarea calității și siguranței produselor alimentare. Acest parametru influențează termenul de valabilitate, siguranța în consum, textura, aroma și mirosul alimentelor.

Umiditatea brânzeturilor și activitatea apei sunt parametri diferiți, dar care, în anumite limite, se influențează și se condiționează reciproc.

Cele mai multe bacterii nu se mai dezvoltă la activități ale apei sub 0,91, pentru mucegaiuri limita de a_w este de 0,80 pe câtă vreme drojdiile necesită o activitate a apei de cel puțin 0,7 (Powitz, 2007).

În timpul primelor stadii de fabricare a brânzei a_w este de aproximativ 0,99 ceea ce favorizează creșterea și activitatea culturilor starter.

După scurgere, sărare și în timpul maturării, a_w are valori cuprinse între 0,889 – 0,985. Aceste valori sunt semnificativ mai scăzute decât optimul necesar bacteriilor lactice. De aceea se poate considera că a_w contribuie la controlul metabolismului și multiplicării bacteriilor lactice.

Bacteriile lactice în general au o valoare minimă a a_w mai mare decât a altor bacterii din brânză. Indicele de activitate al apei minim pentru *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* este de 0,93, >0,98 respectiv >0,96 (Beresford și al., 2001).

Tabelul 7.2. Valorile activității apei la maturarea BPF

a_w , %	Cașcaval după				
	opărire	BPF la 8 zile	BPF la 15 zile	BPF la 30 zile	BPF la 60 zile
M	0,985	0,965	0,947	0,918	0,909
A	0,985	0,947	0,921	0,907	0,889
P	0,985	0,957	0,932	0,927	0,921
L	0,985	0,959	0,941	0,929	0,926

O scădere a a_w în timpul maturării brânzeturilor se datorează pierderilor de apă prin sărare, hidroliza proteinelor la peptide și aminoacizi, trigliceridelor la glicerol și acizi grași, hidroliza fiecărei legături peptidice sau esterice necesitând o moleculă de apă. La o proteoliză semnificativă în brânzeturi, în timpul maturării conținutul de apă nelegată scade (Cogan, 2000).

Așa cum se menționează și în literatura de specialitate (www.foodsafetysite.com) și în acest studiu se observă că la aceleași valori ale umidității activitatea apei nu este identică. De asemenea, se observă că de-alungul perioadei de maturare are loc o scădere a conținutului de umiditate cu 12-13% pe câtă vreme activitatea apei prezintă descreșteri cuprinse între 5,6% și maxim 8% ceea ce dovedește faptul că cei doi parametri și evoluția lor nu sunt identice.

Evoluția grăsimii la maturarea cașcavalului

Față de cașul bașchiiu, conținutul de grăsime scade în timpul operației de opărire cu peste 2%, reprezentând „pierderi de grăsime” în saramura de opărire, datorită aportului termic care favorizează eliminarea unei cantități de grăsime topită din cașul bașchiiu.. Pe durata maturării conținutul de grăsime crește la toate variantele experimentale, proporțional cu creșterea conținutului de substanță uscată.

Valorile conținutului de grăsime înregistrate după 30 de zile de maturare sunt aproximativ egale pentru toate cele patru variante experimentale cu variații foarte mici față de cele determinate la 15 zile de la fabricație. După cryovacare la 30 de

zile, conținutul de grăsime rămâne practic neschimbat, astfel că la 60 de zile de maturare acesta este același pentru toate variantele experimentale studiate. Pe durata maturării conținutul de grăsime raportat la substanța uscată din brânză (Gr_{su}) a rămas practic constant pentru toate variantele experimentale.

Evoluția conținutului de sare

Conținutul de sare a crescut pe parcursul maturării cu aceeași valoare pentru toate variantele experimentale, datorită creșterii conținutului de substanță uscată, ajungând la sfârșitul perioadei analizate la valori de 2,85% pentru proba P, 2,9% probele A și L și 2,95% valoare caracteristică probei martor. Pot rezulta diferențe în concentrația sării și datorită variabilității absorbției acesteia în masa cașului. Mult timp după sărare, sarea continuă să migreze în pasta brânzei, astfel încât la sfârșitul maturării și chiar înainte de consum, nu există o concentrație uniformă nici în brânzeturile de mică dimensiune, nici în cele de mari dimensiuni (Costin, 2003).

Prin efectele pe care le produce, sarea reduce activitatea apei, influențează creșterea microbiană și activitatea enzimatică dar și desfășurarea procesului de opărire filare, determină formarea texturii, asigură calitatea, siguranța și conservabilitatea brânzeturilor.

7.2. Evoluția unor caracteristici privind compoziția în acizi grași a laptelui și brânzeturilor cu pastă filată

În medie, laptele de vacă are 32 – 40 g grăsime la litru. Foarte important este faptul că grăsimea laptelui conține o mare diversitate de acizi grași, unii cu valoare fiziologică foarte importantă, ceea ce sporește valoarea a produselor lactate.

S-au efectuat determinări gaz cromatografice ale conținutului în acizi grași în grăsimea laptelui materie primă și a brânzeturilor cu pastă filată după 30 de zile de la obținerea acestora, pentru toate cele patru variante experimentale, în tabelul 7.3. fiind prezentate rezultatele obținute pentru acizii grași identificați.

Tabel 7.3. Compoziția în acizi grași a laptelui și a BPF

Acidul	% acizi grași				
	Lapte materie primă	Proba M	Proba A	Proba L	Proba P
C4:0 acid butiric	4,64	3,27	3,56	3,29	3,34
C6:0 acid caproic	2,26	1,93	2,12	1,97	2,01
Saturați, cu lanț scurt					
C8:0 acid caprilic	1,06	1,21	1,26	1,15	1,19
C10:0 acid caprinic	1,85	2,68	2,74	2,63	2,59
C11:0 acid undecanoic	0,31	0,37	0,37	0,36	0,35
C12:0 acid lauric	2,07	3,20	3,22	3,12	3,11
Saturați cu lanț mediu					
C14:0 acid miristic	8,91	11,47	11,44	11,42	11,33
C15:0 acid pentadecanoic	1,27	1,35	1,43	1,44	1,34
C16:0 acid palmitic	33,80	30,00	29,77	30,19	30,11
C17:0 acid heptadecanoic	0,78	0,82	0,81	0,82	0,82
C18:0 acid stearic	8,65	9,98	9,93	10,14	10,14

C20:0 acid arahic	0,26	0,20	0,19	0,20	0,20
C22:0 acid behenic	0,15				
Saturați cu lanț lung					
C14:1 acid miristoleic	1,03	1,15	1,17	1,15	1,13
C16:1 acid palmitoleic	0,67	1,47	1,45	1,45	1,48
C17:1	0,39				
C18:1 trans acid vaccenic	1,91	1,75	1,65	1,63	1,67
ΣC18:1 cis acid oleic	20,73	20,93	20,55	20,70	21,04
C20:1 acid eicosanoic	Nedetectat	0,12	0,12	0,12	0,12
Mononesaturați					
ΣC18:2 trans	1,13	0,67	0,68	0,66	0,68
C18:2 cis acid linoleic	1,55	1,53	1,40	1,43	1,44
C18:3 acid linolenic	1,10	0,66	0,65	0,64	0,67
Polinesaturați					

Din tabelul de mai sus se observă că grăsimea laptelui utilizat pentru studiu experimental se caracterizează printr-o compoziția medie în acizi grași similară cu cea menționată în literatura de specialitate (*Walstra și al., 2006; Gresti și al., 1993; Macovei, 2006*). Astfel, acizii grași identificați sunt predominant acizi monocarboxilici alifatici cu număr par de atomi de carbon și catenă neramificată, cu număr de atomi de carbon cuprins în domeniul C₄ și C₁₈. Grăsimea laptelui are un conținut ridicat de acizi grași saturați și așa cum se observă din tabelul 7.3., majoritari sunt acidul palmitic (33,80%), acidul miristic (8,91%) și acidul stearic (8,65%), iar acizii grași nesaturați majoritari sunt reprezentați de acidul oleic (20,73%).

Acizii grași cu număr impar de atomi de carbon, acidul heptadecanoic, acidul undecanoic sunt prezenți, însă în cantități foarte mici. Aceiași acizi grași inferiori, au fost identificați tot în cantități mici, de către Karkkainen (*Popa, Stănescu, 1971*).

De asemenea se observă că grăsimea laptelui se caracterizează și printr-un conținut, deși scăzut, de acizi grași esențiali (EFA) linoleic (1,55%) și linolenic (1,1%).

Prin analizele efectuate asupra cașcavalului maturat obținut în cele 4 variante experimentale s-a stabilit că aproximativ 66,5% din acizii grași sunt saturați, 25-25,5% mononesaturați și 2,75% polinesaturați, ceea ce corespunde cu proporțiile acizilor grași respectivi în laptele materie primă.

Cele mai mari modificări s-au constatat în cazul acizilor **grași mononesaturați**, mai precis în evoluția **acidului palmitoleic** a cărui creștere este cuprinsă între 116,41% în cazul variantelor A și L și aproximativ 120% în cazul variantelor M și P față de conținutul acestui acid în totalul acizilor grași din lapte.

În cazul acizilor **grași polinesaturați** se observă o diminuare cu aproximativ 40% atât a **acizilor linoleic** trans cât și a **acidului linolenic** triplu nesaturat.

Rezultate obținute în acest studiu privind conținutul de acizi grași saturați, respectiv acizi grași mononesaturați sunt asemănătoare cu cele relatate de Costin și Grecu (2002) în cașcavalul din lapte de bivoliță ca și de către Prandini, Sigolo și Piva (2011) care au analizat diferite tipuri de brânzeturi din lapte de vacă, capră,

oaie, proaspete și maturate obținute prin procedee tehnologice diferite. Aceasta sugerează faptul că tratamentele termice nu produc modificări semnificative ale profilului acestor acizi.

Se poate observa că evoluția tuturor indicilor analizați este asemănătoare pentru toate cele patru variate experimentale. De-a lungul procesului de maturare are loc scăderea continuă a conținutului de apă, scăderea fiind corelată cu condițiile de climatizare – temperatura, umiditate, ventilație. De asemenea are loc creșterea conținutului de sare, a conținutului de grăsime și o creștere mai mult sau mai puțin uniformă a pH – ului.

Capitolul 8. Cercetări privind dinamica procesului de maturare

Dintre procesele principale înregistrate în cursul maturării brânzeturilor, proteoliza este cel mai complex și fără îndoială cel mai important. Proteoliza are contribuția principală la caracteristicile de aspect, textură, consistență ale pastei și la aroma brânzeturilor.

Cercetările privind modificările proteolitice care au loc pe timpul maturării brânzeturilor fermentate au condus la rezultate care, prezintă interes științific și aplicativ. Pentru fiecare tip de brânză specificitatea este dată de modul de accelerare al maturării respectiv de tipul enzimelor proteolitice și/sau lipolitice adăugate, etapă care conferă unicitate brânzei.

Interpretarea s-a făcut prin determinări cantitative ale diferitelor fracții proteice NT – azot total; NS – azot solubil în apă; NNP – azot neproteic; N_{fsw} – azot solubil în acid fosfowolframic, N_{NH_2} – azot aminic; N_{NH_3} – azot amoniacal și prin stabilirea unor rapoarte NS/NT, NNP/NT, NS/NT, $(N_{NH_2} + N_{NH_3})/NT$ și $(NT - NNP)/NT$ pentru cele 4 variante experimentale, în diferite etape ale procesului de maturare.

8.1. Compararea evoluției fracțiilor azotoase

Pentru studierea dinamicii procesului de maturare s-a determinat evoluția fracțiilor azotului în diverse momente ale maturării cașcavalului atât pentru proba martor cât și pentru cele 3 variante experimentale prin adaosul diferitelor enzime (proteaze, lipaze).

Evoluția conținutului de azot total

Azotul total a înregistrat o evoluție ușor ascendentă datorită scăderii umidității, aproximativ identică pe durata maturării brânzeturilor la toate cele patru variante experimentale.

Evoluția conținutului de azot solubil în apă

Determinând conținutul de azot solubil în apă NSA se poate aprecia conținutul de peptide, aminoacizi și compuși mici cu azot, cum sunt aminele, aminoacizii, ureea și azotul din cașcaval la momentul efectuării analizei. Astfel, se poate urmări evoluția acestei fracțiuni azotoase în graficele din figura 8.1.

Deși evoluția este crescătoare pentru toate variantele experimentale, se observă forma diferită a curbelor graficului, cu rate de creștere specifice fiecărei probe.

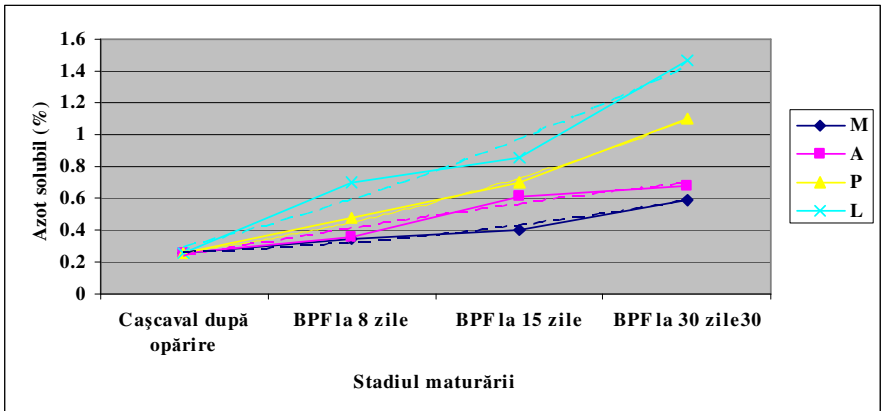


Figura 8.1. Evoluția azotului solubil la maturarea BPF

Astfel, la sfârșitul perioadei analizate se poate preciza că proba M prezintă cea mai mică pantă de creștere a conținutului de azot solubil în apă urmată de probele A, P respectiv L cu pante din ce în ce mai mari, lucru care confirmă faptul că procesele de maturare se desfășoară diferențiat, cu intensitate mai mare în cazul varianteleor cu adaos de enzime exogene.

Evoluția conținutului de azot solubil în acid fosfowolframic

Azotul solubil în acid fosfowolframic cuprinde doar peptidele cu greutate moleculară scăzută (până la aproximativ 600 Da) aminoacizii și compușii mici cu azot, cu excepția aminoacizilor dibazici (lizina, arginina, ornitina), a amoniacului și ai compușilor organici cu azot care sunt precipitați. Cantitatea de aminoacizi din această fracțiune variază de la un sortiment de brânză la altul și cu perioada de maturare. Conform rezultatelor determinărilor efectuate variația concentrației azotului solubil în acid fosfowolframic este redată în graficele din figura 8.2.

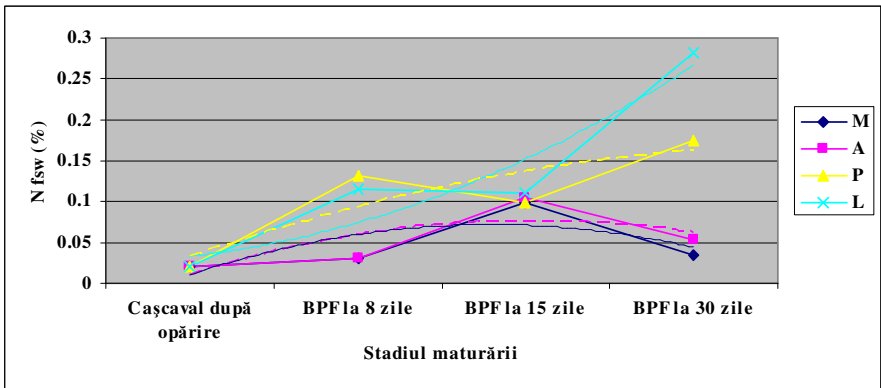


Figura 8.2. Evoluția azotului solubil în acid fosfowolframic la maturarea BPF

Azotul solubil în acid fosfowolframic urmează aceeași traiectorie pentru probele M și A la care se constată o evoluție constant crescătoare până la 15 zile, urmând ca după această perioadă să scadă, procesul practic oprindu-se. Scăderea azotului solubil remarcată după o anumită perioadă de timp poate fi interpretată ca metabolizarea ulterioară a aminoacizilor și peptidelor cu moleculă mică în compuși de aromă. Poate fi de asemenea un indicator a unei formări prea lente a peptidelor cu moleculă mare de către proteinaze.

O altă dinamică a conținutului de compuși cu azot solubili în acid fosfowolframic se observă în cazul probelor de brânză cu pasta filată P și L la care s-a constatat o aceeași evoluție ascendentă și după 15 zile de la fabricație până la sfârșitul perioadei analizate.

Evoluția conținutului de azot neproteic – NNP

În decursul maturării au loc transformări cantitative și calitative ale substanțelor azotoase. Proporțiile relative ale componentelor principale se modifică continuu, atât față de azotul total, cât și în cadrul fracțiunii azotului neproteic.

Variația fracțiunii azotului neproteic, care cuprinde formele azotoase simple, de-a lungul maturării celor patru variante de cașcaval este redată în figura 8.3.

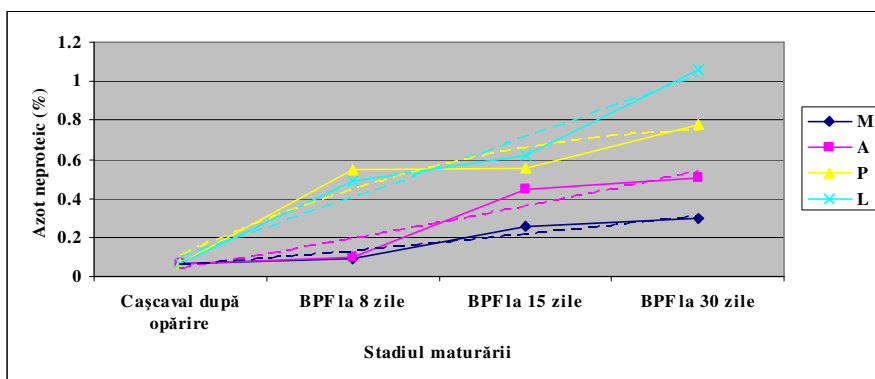


Figura 8.3. Evoluția azotului neproteic la maturarea BPF

În intervalul analizat azotul neproteic urmează o traiectorie ascendentă pentru toate variantele experimentale dar cu rate de creștere diferite, mai mici în cazul M și A și mai mari în cazul variantelor P și L.

După cele 30 de zile de maturare se observă că proba martor se caracterizează printr-un conținut de azot neproteic de doar 0,295% valoare mult inferioară conținutului în această fracțiune a probelor experimentale la care s-au adăugat enzime.

8.2. Compararea indicilor de proteoliză la maturarea BPF

Procesul de proteoliză se caracterizează prin evoluția calitativă și cantitativă a unor indici de maturare. Aceștia reprezintă rapoarte cantitative între componentele principale rezultate în urma unei proteolize limitate și complexul azotic global - exprimat prin azot total, cât și rapoarte sau diferențe între subfracții specifice și valoarea azotului total sau altor fracții.

În timpul procesului de maturare a brânzeturilor cu pastă filată raportul diferiților compuși cu azot se modifică de la o etapă la alta, diferit pentru fiecare din cele patru variante experimentale.

Evoluția Raportului de maturare

O schemă de evaluare a proteolizei primare poate considera raportul dintre azotul solubil în apă și azotul total, $NSA \times 100/ NT$ a cărui evoluție este ilustrată în figura 8.4. și care reprezintă raportul de maturare.

Examinând probele după 15 zile s-a constatat o evoluție a proteolizei manifestată prin creșterea concentrației fracțiunilor azotoase solubile și concomitent reducerea proporției de azot caseinic. Se accentuează profunzimea maturării prin hidroliza specifică a proteozelor și peptidelor și acumularea azotului în fracțiuni mai simple.

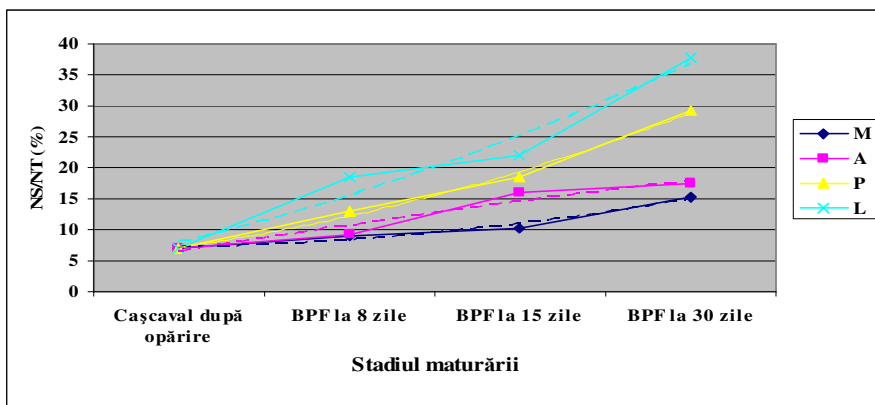


Figura 8.4. Evoluția raportului de maturare la fabricarea brânzeturilor cu pastă filată

Astfel, după 15 zile de maturare raportul de maturare arată o intensificare a proteolizei în cazul variantei A, atingând o valoare de 15,9% specifică unui produs maturat și care este cu 53,5% mai mare decât valoarea aceluiași raport de 10,37% pentru proba M, ceea ce indică o accelerare a maturării.

Este de remarcat, în acest stadiu al maturării, faptul că varianta L, cu adaos de amestec de enzime proteolitice și lipolitice prezintă cea mai mare proporție de azot solubil 0,852%, ceea ce demonstrează activitatea mai intensă a amestecului proteaze/lipaze utilizat.

La sfârșitul perioadei analizate gradul total de maturare este pentru varianta martor 15,1% comparabil cu valoarea înregistrată de proba A la 15 zile de maturare, apropiat de valoarea caracteristică probei P la doar 8 zile de maturare și chiar mai

mic decât cel specific probei cu amestec de enzime Promod și Lipomod la doar 8 zile de maturare. În cazul variantelor P și L, la 30 de zile de maturare, acest raport are valori de 28,4% respectiv 37,7% ceea ce indică o supramaturare a acestor brânzeturi. Procesul de solubilizare a azotului este mai intens în probele P și L care conțin Promod și amestec de Promod și Lipomod, probabil concentrații mult mai mari de enzime adăugate, și astfel eliberate în cașcaval, decât cele necesare desfășurării unui proces optim, mai rapid de maturare.

Există diferențe importante între cantitățile de azot solubil raportate la azotul total din cele 4 probe, cele mai mari valori pentru această fracțiune se constată în cazul variantelor P și L, ceea ce confirmă contribuția proteazelor exogene adăugate în cantitate prea mare la procesul de proteoliză, care au un rol major în eliberarea fracțiunilor azotoase solubile.

Evoluția raportului azot neproteic/azot total

Una dintre modalitățile de evaluare a proteolizei fine este aprecierea evoluției azotului neproteic raportat la azotul total NNP/NT de-a lungul perioadei de maturare, a cărei evoluție este ilustrată în figura 8.5. Cu cât acest raport (exprimat procentual) este mai apropiat de 100%, cu atât proteoliza este mai avansată.

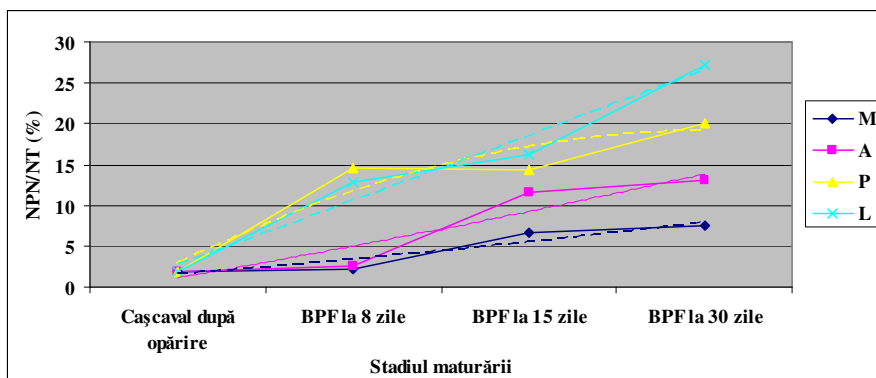


Figura 8.5. Evoluția raportului NNP/NT la maturarea brânzeturilor cu pastă filată

Din forma curbelor se observă că de-a lungul perioadei de maturare concentrația de azot neproteic NNP raportată la azotul total NT a crescut rapid în cazul variantelor P și L și a prezentat o creștere mai redusă în cazul variantelor M și A, ceea ce indică o activitate mai intensă a enzimelor proteolitice exogene adăugate în concentrație mare și a celor lipolitice.

Evoluția raportului de descompunere

O altă modalitate de evaluare a proteolizei ia în considerare raportul (Azot Aminic + Azot Amoniacal)/Azot total și care reprezintă **Raportul de Descompunere**, evoluția acestuia în diferite etape ale maturării fiind ilustrată în figura 8.6.

Se observă o evoluție ascendentă a acestui raport la toate variantele experimentale, în concordanță cu evoluția fracțiunilor de azot aminic, respectiv amoniacal.

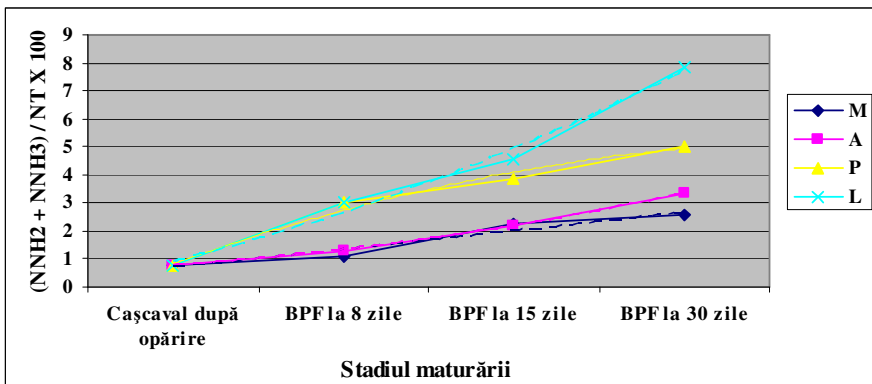


Figura 8.6. Evoluția raportului de descompunere la maturarea brânzeturilor cu pasta filată

Azotul aminic cuprinde numai aminoacizii liberi și peptidele cu o greutate moleculară sub 600 Da. Condiții de substrat favorabile (creșterea treptată a pH-ului și concentrații mărite de aminoacizi liberi) determină prezența unui potențial enzimatic exopeptidazic ridicat (în principal dezaminaze). Continuarea procesului de proteoliză prin acțiunea hidrolitică a acestor enzime asupra fracțiunilor simple de azot solubil, conduc la eliberarea unor cantități importante de amoniac.

Din forma curbelor se observă pe toată perioada de maturare că apar diferențe evidente între cele patru variante analizate, și astfel, se poate afirma că în probele de cașcaval la care s-au adăugat Promod respectiv amestec de enzime proteolitice și lipolitice au loc reacții de proteoliză mai intense, încă din primele zile de maturare.

În cazul probelor L și P la sfârșitul perioadei analizate se ating valori ale raportului de descompunere specifice brânzeturilor supramaturate.

Evoluția raportului azot cazeinic/azot total

Fracțiile proteice insolubile în apă conțin cazeina și produși primari de hidroliză ai acesteia cu greutatea moleculară mari. În cursul procesului de maturare are loc solubilizarea treptată a cazeinelor. Azotul cazeinic, calculat ca diferență între azotul total și azotul solubil, reprezintă cazeina nedegradată. Pe întreaga durată a procesului de maturare are loc o reducere continuă a concentrației fracțiunii cazeinice, așa cum se observă din figura 8.7.

Astfel, raportul azot cazeinic/azot total prezintă o evoluție descendentă, cu rate diferite de la o etapă la alta, specifice variantelor de brânzeturi analizate.

În cazul probei martor M degradarea cazeinelor este liniară, ușor descendentă de-a lungul celor 30 de zile de maturare, iar în cazul variantei A are loc o intensificare a procesului de degradare în intervalul 8–15 zile.

La sfârșitul perioadei analizate se observă diferențe destul de mari ale conținutului de azot cazeinic raportat la azotul total, între variantele analizate, gradul de maturare cel mai avansat îl prezintă proba L la care s-a constatat o solubilizare a

cazeinei de 23,14%, urmată de proba P cu de 33,12%, față de 11,31% în cazul variantei A și o solubilizare de numai 8,89% în cazul probei martor.

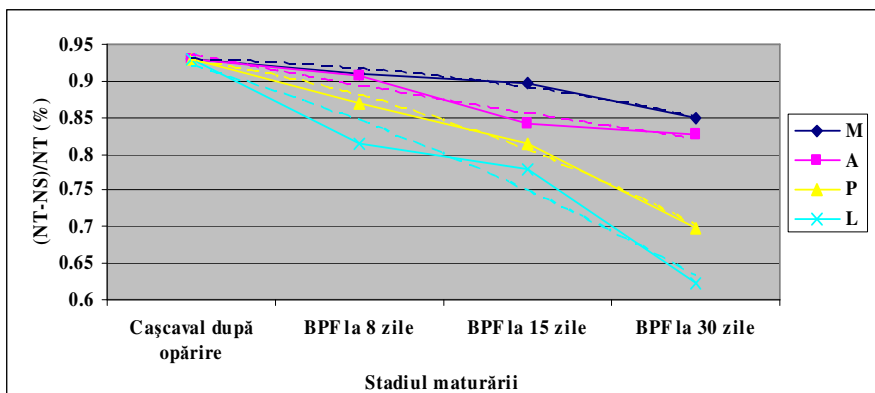


Figura 8.7. Evoluția raportului NC/NT la maturarea brânzeturilor cu pasta filată

Astfel, se poate spune că mai mult de 50% din conținutul de cazeină rămâne nedegradată în procesul de maturare, în toate variantele experimentale analizate.

Evoluția Raportului de Solubilizare la maturarea BPF

Procesul de solubilizare a azotului se accelerează în probele care conțin o concentrație mai mare de enzime și acestea se eliberează în mediu.

$$(\text{Azot Total} - \text{Azot Nепroteic}) / \text{Azot Total} \times 100 = \text{Raport de Solubilizare} (\%)$$

Evoluția raportului de solubilizare în timpul maturării brânzeturilor cu pasta filată experimentale este redată în figura 8.8., în diferite momente ale maturării.

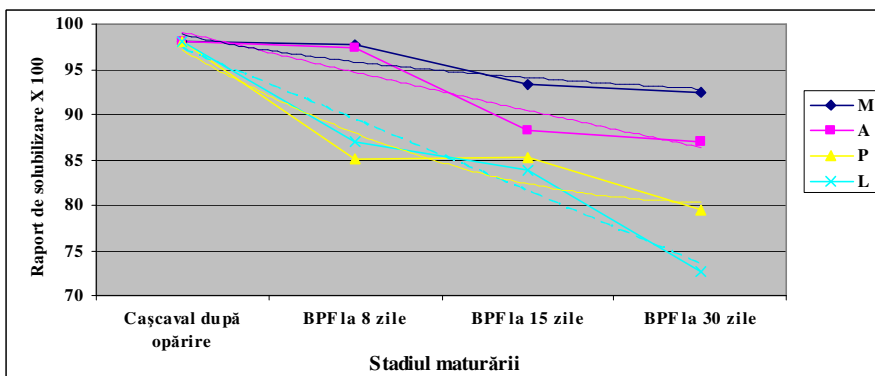


Figura 8.8. Evoluția raportului de solubilizare la maturarea brânzeturilor cu pasta filată

Se observă o aceeași evoluție descrescătoare pentru toate variantele analizate de-a lungul perioadei de maturare. Concomitent cu creșterea conținutului de azot neproteic valoarea raportului de solubilizare scade. La sfârșitul perioadei analizate proba L cu adaos de amestec de enzime proteolitice și lipolitice a înregistrat cea mai mare valoare a raportului de solubilizare de 72,67%, urmată de proba P caracterizată de valoarea acestuia de aproape 80% .

Rezultatele prezentate în figurile de mai sus arată că adaosul de enzime proteolitice influențează compoziția chimică a brânzeturilor, a fracțiilor proteice în special și implicit perioada de maturare. Aceste modificări sunt determinate de producerea în principal a unor compuși rezultați prin hidroliza proteinelor, ca rezultat al acțiunii enzimelor, și probabil al efectului sinergetic al acestora la formarea caracteristicilor senzoriale de gust, aromă, textură specifice.

Degradarea proteinelor și formarea de compuși cu azot solubili este favorizată de adăugarea diferitelor enzime proteolitice exogene. Astfel, analizând rezultatele obținute s-au constatat următoarele aspecte:

- La sfârșitul perioadei analizate gradul total de maturare este pentru varianta martor 15,18% iar pentru varianta A de 17,45%, valori specifice unor brânzeturi maturate. În cazul variantelor P și L valorile acestui raport de 28,45%, respectiv 37,75% indică o supramaturare a brânzeturilor.
- Deși atât în proba P cu Promod cât și în cea adaos de amestec de Promod și Lipomod s-a utilizat același dozaj de enzimă proteolitică, rezultatele experimentale obținute au arătat un efect proteolitic mai accentuat în cazul variantei experimentale și cu adaos de enzime lipolitice, obținându-se valori ale tuturor fracțiunilor azotoase și ale indicilor de maturare superioare celor obținute de celelalte probe în toate etapele procesului de maturare analizate. Toate aceste rezultate împreună cu datele privind analiza senzorială sugerează un posibil efect sinergetic al celor două tipuri de enzime utilizate împreună, proteolitică, respectiv lipolitică.
- Adaosul de enzime exogene promovează accelerarea maturării, reduce perioada de maturare cu 50% și determină obținerea unui produs calitativ în cazul variantei A și o reducere cu 65-70% a acestei perioade dar cu obținerea unui produs care prezintă caracteristici organoleptice neplăcute începând chiar cu cea de-8 zi de maturare pentru varianta L, în care s-a adăugat amestec de enzime proteolitice și lipolitice și din a 15-a zi pentru varianta cu adaos doar de Promod, cu o intensificare accentuată a acestui defect până la sfârșitul perioadei analizate. Modificările de gust, și aromă ale cașcavalului sunt destul de accentuate, astfel că brânzeturile cu adaos de Promod, respectiv Promod și Lipomod nu se pot consuma.

Capitolul 9. Contribuții la determinarea microstructurii brânzeturilor cu pastă filată prin microscopie electronică

Textura este o caracteristică importantă a alimentelor și este percepută ca atare de către consumatori, ea jucând un rol esențial în formarea preferințelor pentru diverse alimente. Acest lucru este valabil mai ales în cazul brânzeturilor, fiind recunoscut faptul că textura brânzeturilor este unul dintre cele mai importante atribute în determinarea identității și calității lor. Din acest motiv, evaluarea texturii brânzeturilor reprezintă o cerință reală pentru industria laptelui.

Capacitatea superioară de întindere a brânzeturilor cu pastă filată după încălzire, în comparație cu alte tipuri de brânzeturi, poate fi atribuită în principal plasticizării pastei prin prelucrarea mecanică a cașului în cursul operației de opărire și frământare. În acest proces, unic în fabricarea brânzeturilor cu pasta filată, cașul măcinat este încălzit la aproximativ 57-60°C și frământat în apă sau saramură caldă la 78-82°C când pH-ul cașului este de aproximativ 5,2 unități. Efectul combinat al temperaturii înalte și pH-ul scăzut, în condițiile frământării determină o agregare a cazeinei și o contracție a benzilor de gel de paracazeină, formându-se fibre de paracazeină cu mare elasticitate (rezistentă la întindere). În urma acestei prelucrări mecanice, cașul frământat capătă o nouă structură fibrilară cu orientare lineară (paralelă cu direcția de întindere).

Au fost examinate prin microscopie electronică probe de cașcaval pe întreg parcursul procesului de fabricație cu ajutorul a trei tipuri diferite de microscopie electronice – SEM, ESEM, Confocal.

Figurile 9.1. – 9.5. prezintă imagini ale distribuției globulelor de grăsime și a rețelei proteice în cașcaval obținute cu microscopul SEM TESCAN VEGA II LMU, în diferite etape din momentul presării până la 10 zile de maturare.

Înainte de plasticizare cașul sărat și tocat prezintă formații de matrici de paracazeină care înconjoară spații în care se găsesc globule de grăsime (presare fig.9.1., înainte de opărire fig 9.2.).

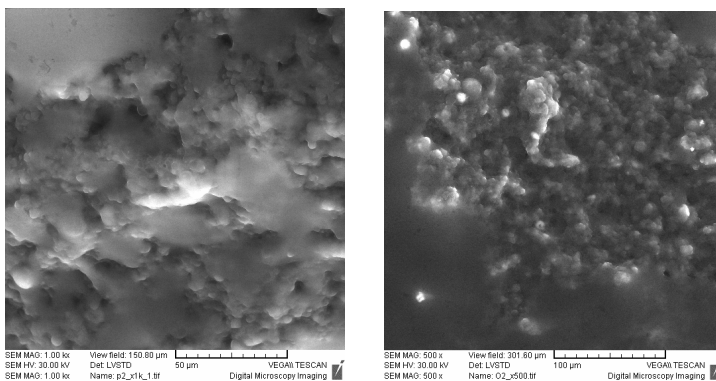


Figura 9.1. Granule de coagul în cursul presării Figura 9.2. Granule de caș înainte de plasticizare

După plasticizare cașcavalul prezintă o orientare a paracazeinei în fibre între care se găsesc aglomerări de grăsime care s-au solidificat (figurile 9.3., 9.4.). Imediat după operația de filare se observă reorganizarea agregatelor de paracazeină, matricea transformându-se într-o formă aproape liniară.

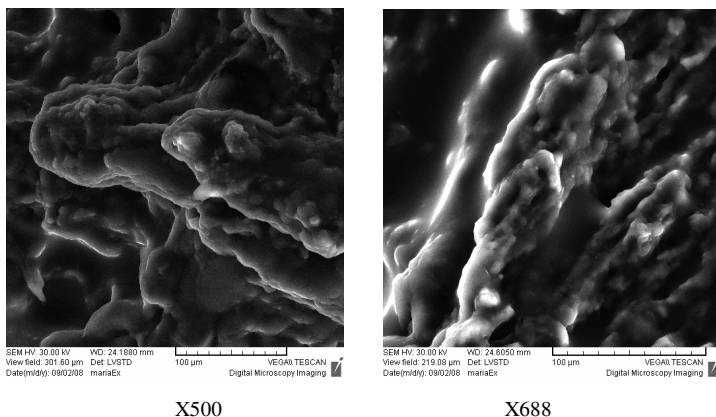


Figura 9.3. Pasta brânzei sub formă de fibre proteice plasticizate/texturate

După 10 zile de maturare, pasta de brânză maturată este formată din fibre de paracazeină hidratată care formează o fază proteică continuă în care este înglobată grăsimea, în principal, ca aglomerări (figura 9.4.).

Imaginile obținute – ale cașului înainte și după texturizare /plasticizare, precum și în etape diferite ale procesului de maturare a brânzeturilor cu pastă filată evidențiază clar formarea și linearitatea fibrelor proteice.

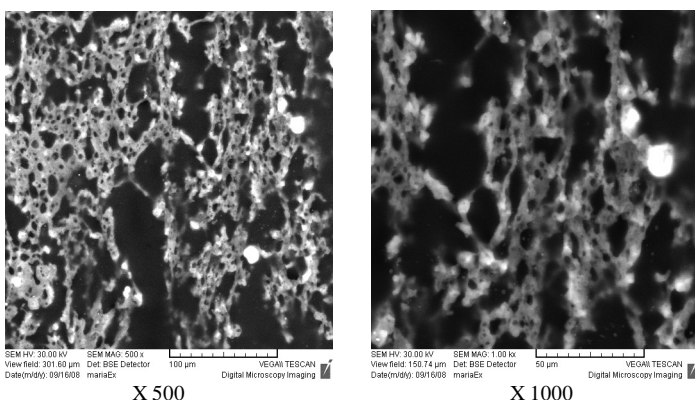
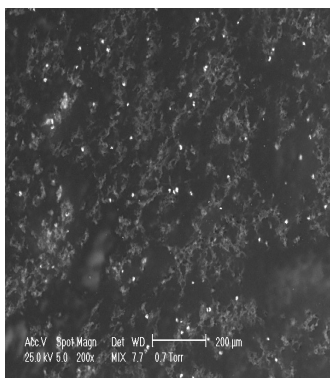


Figura 9.4. Brânză cu pastă filată, după 10 zile de maturare, prezentând o structură fibroasă care înglobează aglomerări de grăsime (x500)

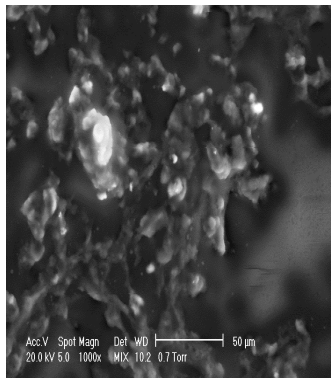
De asemenea, această reorganizare a structurii cașului a fost observată chiar și la magnitudini mai mici de către Taneya și al. (1992) utilizând microscopul cu lumină și colorarea diferențiată a grăsimii și fazei proteice a brânzei. Aceiași

cercetători, utilizând cryo-SEM, microscop care permite răcirea probelor în timpul examinării, au demonstrat că faza apoasă ca și grăsimea ocupă coloanele care separă fibrele de proteine în brânza filată.

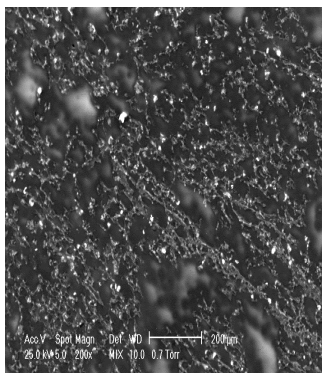
De aceea, s-a realizat urmărirea evoluției microstructurii probelor de caș și cașcaval în diferite etape de fabricație și cu ajutorul microscopului electronic *XL-30-ESEM TMP*, care nu necesită o pregătire prealabilă a probelor și care asigură răcirea acestora cu ajutorul freonului, imaginile obținute fiind ilustrate în figurile 9.5.a – g.



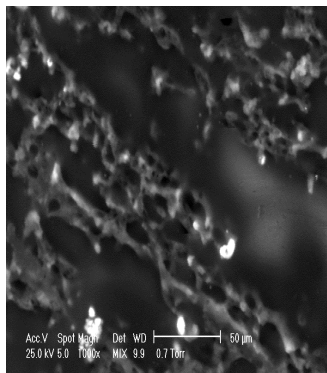
9.5.a) după presare (X200)



9.5.b) caș opărit-filat (X1000)



9.5.c) BPF după 2 zile de maturare (X200)



9.5.d) BPF după 2 zile de maturare (X1000)

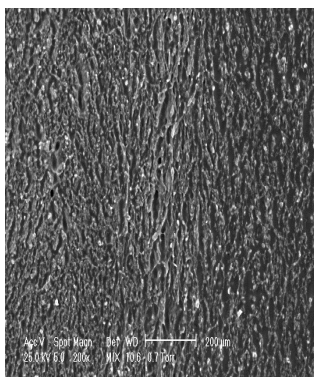
Figura 9.5. Imagini ale distribuției globulelor de grăsime și rețelei proteice în cașcaval obținute cu microscopul *XL-30-ESEM TMP*

Astfel, din examinarea în diferite momente ale procesului de obținere și de maturare se observă distribuția diferită a proteinei și grăsimii în funcție de etapa tehnologică. După presare, înainte de operația de opărire-filare, în imaginea 9.5.a) se observă o emulsie de picături rotunde de grăsime într-o matrice aproape omogenă de proteină care conține cristale de săruri emulsionate. Agregarea

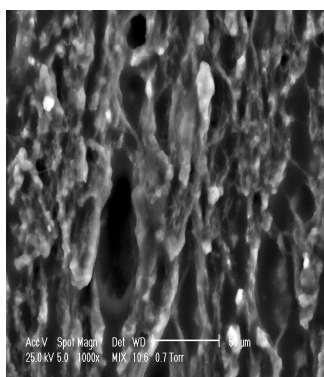
micelelor coagulate apare în timpul formării coagulului și aceasta a fost urmată de amalgamarea para-cazeinei în fibre liniare în timpul plasticizării (figura 9.5.b).

După plasticizare, în timpul maturării și depozitării se observă o expansiune graduală a fibrelor proteice până când acestea ajung la o formă mult mai continuă și care includ picăturile de grăsime (figurile 9.5.c – 9.5.d).

După o perioadă de maturare de 10 zile, în figurile 9.5.e, f), în care preparatul este examinat la o magnitudine de 200X, respectiv 1000X, se observă foarte clar structura fibroasă densă, fibre de paracazeină aliniată aproape paralel și care cuprind aglomerări de grăsime ale cașcavalului.



9.5.e) BPF după 10 zile de maturare (X200)



9.5.f) BPF după 10 zile de maturare (X1000)

În imaginile obținute proteina apare ca o zonă luminoasă pe un fundal întunecat.

Aceleași rezultate au obținut și Auty și Keogh (1998) care au studiat prin microscopie confocală brânza Mozzarella în diferite etape ale procesului de obținere și maturare (drenaj, după plasticizare, după 76 zile de depozitare).

Formarea microstructurii brânzeturilor a fost urmărită în diferite etape ale procesării și prin utilizarea **microscopiei confocale** (figura 9.6.). Această metodă de investigare va da procesatorilor de brânzeturi mai multe informații despre cum modul de procesare influențează structura alimentelor și care în final va influența textura produsului finit.

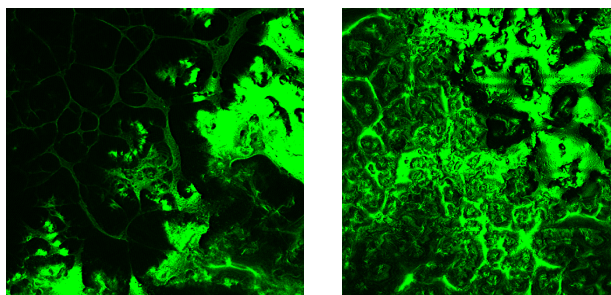


Figura 9.6. Imagini ale distribuției globulelor de grăsime și rețelei proteice în cașcaval obținute cu microscopul CLSM Leica Microsystems Heidelberg GmbH

Imaginile sunt pentru o probă, pe fiecare regiune obținându-se o serie de imagini la diferite nivele pe axa z.

Auty și al. (1998, 2001) și Guinee și al. (1999) cu ajutorul imaginilor obținute utilizând această tehnică de examinare, CLSM, au confirmat faptul că globulele de grăsime sunt redistribuite și concentrate în canalele care separă fibrele de paracazeină.

Ca urmare a faptului că s-au obținut rezultatele similare de către mai mulți cercetători se poate spune că, în viitor, formarea microstructurii ar putea fi monitorizată în timpul procesării prin utilizarea tehnicilor de analiză imagistică.

Capitolul 10. Analiza senzorială a cașcavalului în diferite etape de maturare

Este o certitudine faptul că analizele fizico-chimice și microbiologice se completează adecvat dar nu sunt suficiente, fără o apreciere senzorială, atunci când se urmărește analiza unui produs alimentar.

Calitățile psihosenzoriale ale produselor alimentare au un rol deosebit de important în reacția consumatorului față de alimente, în acceptarea sau respingerea lor.

Testarea senzorială s-a realizat pentru a stabili dacă brânzeturile cu pastă filată obținute prin adaosul de enzime (în vederea reducerii perioadei de maturare) prezintă caracteristici senzoriale optime comparabile cu ale probei martor.

Deoarece s-a dorit ca rezultatul testului să fie utilizat pentru modificarea procesului tehnologic actual, și anume adăugarea de enzime în vederea reducerii perioadei de maturare a brânzeturilor cu pastă filată, s-au utilizat evaluatori antrenați în domeniul produselor lactate, care să judece cu acuratețe tehnologică aceste produse, iar testul să fie cu totul descriptiv.

Pe baza aprecierilor celor cinci degustători privind influența enzimelor proteolitice/ lipolitice adăugate și pe baza **punctajului mediu total** (tabelul 10.1.) acordat s-a evaluat calitatea sezorială a produselor prin comparare cu o scară de 5 de puncte.

Tabelul 10.1. Aprecieri senzorială a BPF de-a lungul perioadei de maturare

Atribut senzorial	Punctaj mediu obținut											
Proba	M ₃	M ₄	M ₅	A ₃	A ₄	A ₅	P ₃	P ₄	P ₅	L ₃	L ₄	L ₅
Aspect exterior	5	5	5	5	5	5	5	5	4,8	5	4,8	4,4
Culoare	5	5	5	5	5	5	4,8	5	5	4,8	5	5
Aspect în secțiune	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4,8
Consistența	4,8	5	5	5	5	5	5	5	4,6	5	4,8	3,6
Miros	4,6	4,8	5	4,8	5	5	5	4,8	0,2	4,8	1,2	0
Gust	3,4	4,4	4,8	4,8	5	5	5	2,2	0	0,6	0,4	0

Astfel, conform acestei metode pentru evaluarea caracteristicilor senzoriale, probele foarte bune au fost A₄, A₅ și P₃, puțin mai bune decât variantele M₄ și M₅. Acest punctaj mediu total este în concordanță cu indicii de maturare obținuți, care confirmă faptul că enzimele adăugate în cazul probei A determină reducerea

perioadei de maturare și obținerea unui produs cu caracteristici organoleptice corespunzătoare. Nu același lucru se poate spune despre variantele P₅, L₅ la care indicii de proteoliză au valori specifice unor brânzeturi cu pastă filată maturate dar care, conform punctajului mediu total, nu pot fi livrate deoarece nu au întrunit un punctaj de minim 12,1 puncte. De asemenea din tabelul de mai sus se poate observa că nici probele P₄, L₃ și L₄ nu pot fi comercializate, chiar dacă punctajul mediu total este mai mare de 12,1 deoarece punctajul mediu pentru gust, respectiv pentru miros nu au valori de minim 2,8 puncte.

Analiza senzorială pe paneliști

Rezultatele testelor senzoriale bazate pe punctajul total obținut de fiecare probă în parte, în diferite etape ale procesului de maturare, sunt analizate conform scării de punctaj total (figura 10.1.).

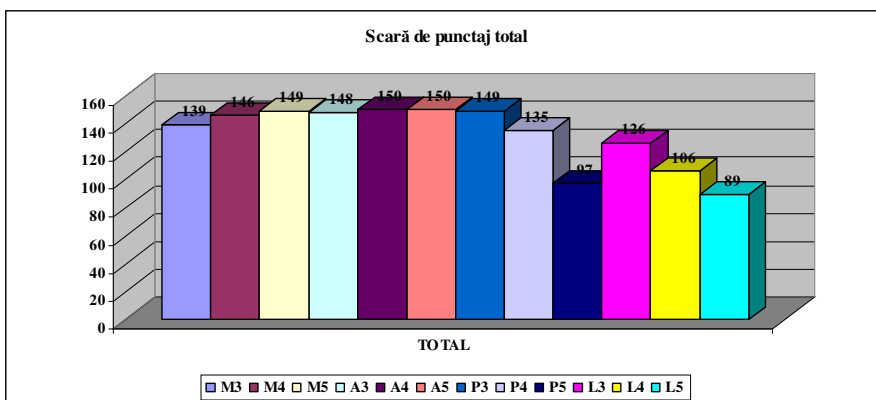


Figura 10.1. Scara de punctaj total – evaluare senzorială brânzeturi cu pastă filată

După cum se observă din figură, cele mai apreciate probe de brânzeturi cu pastă filată au fost A₄ și A₅ care au totalizat 150 de puncte fiecare. Cea mai puțin apreciată a fost proba L₅ care a totalizat un punctaj de 89 de puncte urmată de probele P₅ și L₄ cu câte 97 respectiv 106 puncte.

Analiza senzorială pe parametri senzoriali

Pentru aprecierea senzorială totală, pe baza punctajului total obținut de fiecare produs, s-a realizat reprezentarea grafică, diagrama radar (păianjen) pentru toți parametri senzoriali ai fiecărui produs testat conform scării de punctaj, figura 10.2. Graficul tip radar din figura 10.2. reflectă analiza senzorială a celor trei sortimente de brânzeturi cu pastă filată cu adaos de enzime de-a lungul perioadei de maturare în comparație cu proba martor, în funcție de punctajul total obținut de fiecare produs, pentru fiecare caracteristică senzorială testată.

Pe baza diagramei radar și conform datelor din tabelul 10.1. se poate remarca modul în care au fost apreciate BPF de către cei cinci degustători.

Punctajele obținute pentru cele patru tipuri de brânzeturi evaluate au fost identice sau foarte apropiate pentru culoare, aspect în secțiune, aspect exterior și chiar pentru consistență. Nu același lucru se poate spune despre atributele senzoriale gust și miros, unde au existat diferențe notabile.

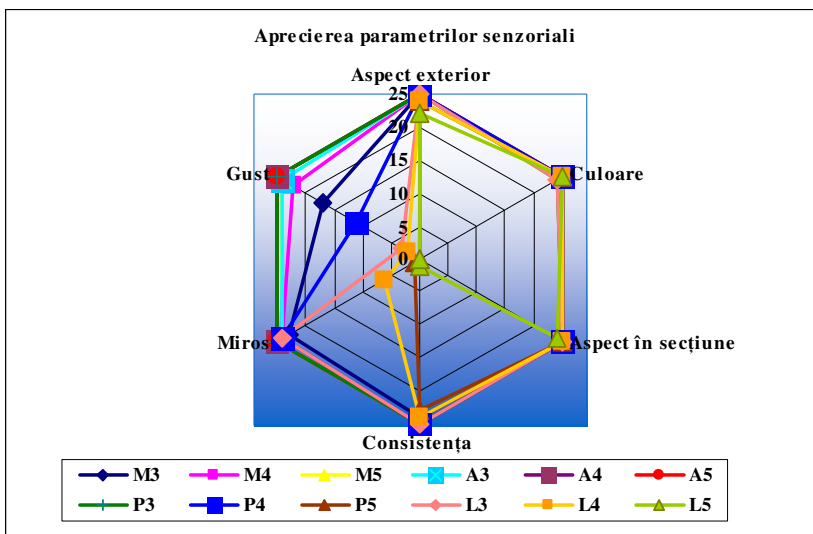


Figura 10.2. *Apreciere senzorială globală a BPF în diferite etape ale maturării*

Se observă că pentru probele A și M cu excepția gustului și mirosului, celelalte atribute senzoriale au obținut punctaje maxime, pentru ambele sortimente de brânzeturi, în oricare din etapele evaluate. Proba M₃ a obținut punctaje mai mici în ceea ce privește consistența și aroma de la unii evaluatori și a fost evaluat cu punctaje mai mici pentru gust de către toți evaluatorii.

Probele A₄ și A₅ au obținut punctaj maxim pentru toate cele 5 caracteristici senzoriale testate de la toți evaluatorii. Conform diagramelor radar întocmite se poate sesiza că motivul principal pentru care proba A₄ este superioară probei M₄ și comparabilă cu proba M₅ este în principal gustul, întrucât în cazul variantei A₄ este caracteristic, bine definit, pronunțat, plăcut, fără a prezenta nuanțe străine față de proba M₄ care prezintă un gust slab pronunțat, ușor acrișor.

A doua caracteristică care deține un rol hotărâtor în stabilirea locurilor în clasament este reprezentată de mirosul cașcavalului. Din acest punct de vedere, probele P și L au fost depunctate din cauză că mirosul acestora la sfârșitul perioadei analizate este ușor atipic, conducând la senzația de ranced, nespecific și chiar de descompunere în timp ce mirosul caracteristic probei A₄ este plăcut, potrivit sortimentului maturat, fără nuanțe străine, fapt ce îl clasează pe primul loc din această perspectivă, deoarece acesta s-a păstrat constant până la 30 de zile.

O altă caracteristică cu rol important în stabilirea clasamentului este reprezentată de consistența cașcavalului. Din acest punct de vedere, proba L a fost depunctată la

30 de zile, deoarece consistența acestora a fost atipică, fără elasticitate, conducând la senzația de ușor cleioasă, nespecifică, în timp ce probele A₄ și A₅ au o consistență potrivită sortimentului, prezentându-se ca o pastă fină, ușor elastică, cu aspect plăcut, onctuos fapt ce clasează această variantă de BPF pe primul loc din această perspectivă.

În concluzie, se poate afirma că în urma analizei celor patru probe de cașcaval în cele 3 etape ale procesului de maturare, proba A₄ a reușit să acumuleze prima cele mai multe puncte în urma analizei senzoriale, ceea ce îi conferă statutul de produs excelent în rândul produselor din gama sa. Caracteristicile senzoriale optime dezvoltate de proba A₄ s-au menținut până la sfârșitul perioadei analizate spre deosebire de probele P și L care, deși au întrunit punctaje superioare încă de la începutul perioadei analizate acestea s-au depreciat pe parcurs, datorită transformărilor survenite, ajungând ca în final să prezinte gust, miros și chiar și consistență necorespunzătoare.

Analiza statistică aplicată testării senzoriale

Analiza senzorială bazată pe produs a avut în vedere următorii indici calitativi ai brânzeturilor: aspect exterior, culoare, aspect interior, consistența, miros, gust.

Prin aplicarea analizei statistice se va afla dacă cele 4 tipuri de brânzeturi cu pastă filată testate în diferite momente ale procesului de maturare, diferă din punct de vedere al calităților senzoriale și dacă cei 5 paneliști utilizați la testare, au fost în consens în evaluările lor. Pentru analiza variației s-a utilizat aplicația „Data Analysis–Anova: single factor” din programul Microsoft Excel 2003 (tabelul 10.2.)

Tabel 10.2. Test ANOVA – cu 1 factor fără replicare

Sumar	Număr	Suma	Media	Varianța
M ₃	6	27,8	4,633333	0,390667
M ₄	6	29,2	4,866667	0,058667
M ₅	6	29,8	4,966667	0,006667
A ₃	6	29,6	4,933333	0,010667
A ₄	6	30	5	0
A ₅	6	30	5	0
P ₃	6	29,8	4,966667	0,006667
P ₄	6	27	4,5	1,276
P ₅	6	19,6	3,266667	6,042667
L ₃	6	25,2	4,2	3,12
L ₄	6	21,2	3,533333	4,554667
L ₅	6	17,8	2,966667	5,510667

Sursa variației	SS	df	MS	F	P-value	F _{critic}
Paneliști	36,3527	11	3,304798	1,890497	0,058661	1,952212
Eroare	104,8867	60	1,748111			
Total	141,2394	71				

SS - coloana sumelor de pătrate; df - grade de libertate;

MS - mediile sumelor de pătrate; p - valoarea probabilității;

F - raportul dintre media pătratică intergrup și media pătratică intragrup (testul Fisher).

Varianța cea mai mare, reprezentând pătratul abaterii față de medie a avut cea mai mare valoare pentru produsul P_5 (6,042667) și cea mai mică valoare, zero, pentru produsele A_4 , A_5 ceea ce indică faptul că aceste produse se apropie cel mai mult de medie.

Dacă se ia în considerație valoarea mediei obținute de cele 4 brânzeturi cu pastă filată, în câte trei momente diferite ale procesului de maturare, se observă că aceasta a fost cea mai mare în cazul produselor A_4 și A_5 (30), deci aceste produse au fost cele mai apreciate de către paneliști, cea mai mică valoare a mediei fiind obținută de produsul L_5 (2,966667), urmat de produsele P_5 (3,266667) și L_4 (3,533333) ceea ce indică faptul că aceste produse au fost cel mai puțin apreciate de către paneliști.

Din tabelul 10.2. se observă că $F < F_{\text{critic}}$, ceea ce înseamnă că nu au existat diferențe semnificative între punctajele acordate atributelor senzoriale, dar nici între părerile degustătorilor nu s-au remarcat diferențe semnificative. În urma calculului a rezultat o probabilitate mai mare de 0,05%, caz în care ipoteza nulă este adevărată.

Analiza senzorială își găsește în industrie și comerț o largă aplicare, cu efect practic la analiza și evaluarea calității produselor alimentare. Aceasta constituie o certitudine dacă avem în vedere faptul că analizele fizico-chimice și microbiologice nu sunt suficiente, deoarece nu evidențiază valoarea senzorială a alimentelor.

Capitolul 11. Utilizarea conceptului HACCP în asigurarea inocuității brânzeturilor cu pastă filată

Calitatea și siguranța produselor alimentare, deci și a brânzeturilor cu pastă filată cu maturare accelerată, reprezintă condiții esențiale care trebuie luate în considerație și realizate în procesul de fabricare.

Monitorizarea numărului total de bacterii și de celule somatice din lapte ar trebui să fie componente ale programului HACCP pentru a asigura siguranța alimentelor. Întrucât metoda HACCP are un înalt grad de specificitate, planul trebuie realizat pentru fiecare organizație în parte, în funcție de dotarea cu utilaje, ustensile, amplasare și de personalul respectiv.

COCLUZII FINALE

În urma cercetărilor întreprinse au rezultat următoarele concluzii:

1. Laptele materie primă provenit din zona județului Argeș, analizat în intervalul 2009-2010 a prezentat ușoare variații în funcție de zonele de colectare, de sezoane cât și pe ani. Astfel:
 - Caracteristicile chimice au fost aproape similare în cei 2 ani cu ușoare variații de la o lună la alta.
 - Gradul de impurificare al laptelui s-a încadrat în clasele II – III, ceea ce arată că nu întotdeauna se respectă igiena mulsului.
 - Din punct de vedere al conținutului de contaminanți, și anume pesticide, plumb, micotoxine, reziduuri de antibiotice s-a observat că în probele analizate, acestea se situează sub limitele admise.
 - În ceea ce privește numărul de celule somatice și de bacterii aerobe mezofile, deși laptele nu a corespuns în totalitate, totuși s-a observat o îmbunătățire a calității acestuia în anul 2010 față de 2009, probabil ca urmare a stimulării fermierilor prin acordarea de subvenții pentru plata laptelui în funcție de încadrarea acestuia în limitele admise, precum și a înființării de microferme.

Astfel, se poate spune că nu întreaga cantitate de lapte corespunde normelor Uniunii Europene, datorită în principal numărului mare de gospodării românești, care au între una și trei vaci și care nu respectă condițiile de întreținere a grajdurilor pentru bovine și nici condițiile stricte impuse din timpul mulsului, al manipulării și depozitării.

2. Compoziția chimică a brânzeturilor cu pastă filată a fost aproape identică pentru toate variantele analizate. Astfel:
 - Ca urmare a deshidratării pastei brânzeturilor cu pastă filată analizate conținutul de substanță uscată a crescut continuu astfel că, după 30 de zile de maturare cele 4 variante experimentale au avut un conținut de substanță uscată de cca. 59,5%.
 - Conținutul de grăsime raportată la substanța uscată a rămas aproximativ constant pe toată perioada analizată.
 - Conținutul de sare a avut o creștere mai intensă în primele 8 zile de maturare și a continuat să crească moderat atingând valoarea de 2,9% după 30 de zile de maturare, moment în care BPF au fost ambalate în folie termocontractibilă și depozitate astfel încât, aceleași valori ale conținutului de sare au fost identificate și la 60 de zile.
 - Diferențe ceva mai mari s-au constatat în cazul evoluției acidității, astfel că la 30 de zile de la fabricație valori cuprinse între 216 – 233⁰T au fost specifice probei martor și probelor cu enzime proteolitice, în timp ce proba cu adaos de amestec de enzime proteolitice și lipolitice a prezentat o aciditate mai mare, probabil datorită acumulării de acizi grași produși prin lipoliză.

- Dacă după presare s-a observat o scădere a pH-ului ca urmare a fermentării lactozei, după operația de opărire/filare s-a observat o creștere continuă a acestui indice ca urmare a acumulării de produși cu caracter alcalin rezultați din degradarea proteinelor (peptide, amine, amoniac, aminoacizi, etc).
3. În ceea ce privește fracțiile proteice s-au constatat următoarele:
- Nivelurile de azot solubil (NS/NT) au crescut de-a lungul perioadei dematurare pentru toate variantele experimentale, dar cu rate diferite de creștere, mai intense în cazul probelor cu adaos de enzime exogene. În cazul probei cu Accelase creșterea a fost lentă în primele 8 zile, apoi mai intensă atingând valoarea specifică unui produs maturat, de 15,924% după 15 zile de maturare și a continuat să crească, astfel că la sfârșitul perioadei analizate valoarea acestui raport a fost 17,4%. În cazul probei martor proteoliza a fost mai scăzută în primele 8/15 zile de maturare și mai intensă în ultimele 2 săptămâni, azotul solubil ajungând la valoarea de 15,181% din valoarea azotului total la sfârșitul perioadei analizate.
 - Azotul neproteic a avut o evoluție crescătoare pe toată perioada dematurare. Acumulările au fost influențate de tipul și concentrația de enzimă adăugată și desigur de stadiul maturării. Astfel, cele mai mici niveluri de azot neproteic au fost constatate la proba martor. Formarea de azot neproteic (NPN/NT) a fost mai intensă la probele experimentale cu adaos de enzime exogene în raport cu proba martor. Se observă că la brânzeturile cu adaos de Promod și a amestecului de Promod și Lipomod proteoliza este incomparabil mai avansată obținându-se valori ale raportului dintre azotul neproteic și azotul total, index al proteolizei, din ce în ce mai mari și mai apropiate de 100 (figura 8.5.).
 - În ceea ce privește evoluția azotului aminic și amoniacal, valorile acestor indicatori cunosc o evoluție ascendentă, cu rate diferite de creștere. Valoarea raportului de descompunere evoluează proporțional cu valorile azotului aminic și a celui amoniacal și invers proporțional cu ale azotului total. Cele mai mari creșteri ale acestui raport, încă din primele 8 zile de maturare, sunt caracteristice probelor cu enzimă proteolitică Promod și cu amestec de Promod și enzimă lipolitică Lipomod, tendință de creștere care s-a menținut, astfel că la sfârșitul perioadei analizate aceste probe au avut un conținut de azot aminic și amoniacal de 5% respectiv 7,8% din azotul total. În cazul probelor martor și cu adaos de protează Accelase raportul de descompunere a avut valori de 2,5% respectiv 3,3% după 30 de zile de maturare.
 - Având în vedere cele de mai sus menționate, se poate concluziona că adăugarea de enzime proteolitice a determinat accelerarea maturării

brânzeturilor cu pastă filată, prin reducerea perioadei de maturare datorită în special hidrolizei rapide a peptidelor mici.

4. Analiza senzorială descriptivă a fost utilizată pentru a determina impactul „adaosului de enzime exogene” asupra caracteristicilor senzoriale. Acestea s-au corelat cu fracțiunile azotoase și cu indicii de maturare determinați, constatându-se următoarele:
 - Proba cu adaos de Accelase a obținut maximul de punctaj atât după 15 zile de maturare cât și la 30 de zile de la toți cei cinci evaluatori. Deoarece și indicii de proteoliză caracteristici acestor probe indică un produs maturat se poate spune că dozaajul enzimei adăugate în vederea accelerării maturării este cel corect și nu se impun schimbări în ceea ce privește calitatea sau proprietățile lor.
 - În cazul variantelor cu adaos de Promod respectiv cu adaos de amestec de Promod și Lipmod s-a realizat o reducere mai accentuată a duratei de maturare dar, s-au obținut brânzeturi cu pastă filată cu defecte de gust și aromă.
 - Prelucrarea statistică a datelor experimentale a demonstrat că nu există valori aberante, toate datele obținute având o evoluție normală.
 - Chiar dacă indicii de maturare sugerează obținerea unui produs maturat pentru toate variantele experimentale cu adaos de enzime într-un timp mai scurt decât proba martor, analiza senzorială a demonstrat că nu toate aceste brânzeturi pot fi comercializate, datorită modificărilor neplăcute ale gustului, mirosului și chiar a consistenței în unele cazuri.
 - Interesant este faptul că în cazul adaosului unei combinații de enzime proteolitice și lipolitice s-a evidențiat o intensificare a proteolizei față de cea determinată în cazul adăugării aceleași proteaze, în aceeași proporție dar, singură, nu în amestec cu diferite lipaze, sugerând un posibil efect sinergetic. Rezultatele obținute sunt în concordanță cu cele ale altor cercetători Lin, Jeon, Roberts și Milliken, 1987 și Kheadr-Ehab, Vuilleumard și El-Deeb 2003 (*Wilkinson, 2004*).
 - Deși la sfârșitul perioadei analizate s-au constatat diferențe ale intensității aromei între cele 4 variante de cașcaval, în ceea ce privește concentrația acizilor grași individuali au existat doar diferențe foarte mici. Aceleași rezultate au fost obținute și de Bills și Day (1964) analizând aroma diferitelor brânzeturi Cheddar. Și în acest caz proporțiile relative ale acizilor grași liberi $C_{6:0} - C_{18:3}$ în brânză au fost similare cu cele din grăsimea laptelui indicând faptul că aceștia au fost eliberați în mod nespecific.
5. S-a studiat microstructura brânzeturilor în diferite momente ale procesului de fabricare/maturare observându-se transformarea rețelei cazeinice dintr-o formă amorfă într-una fibroasă, compactă care înglobează picăturile de grăsime.

6. Deoarece este extrem de importantă obținerea de brânzeturi sigure pentru consum, s-a elaborat un plan HACCP, exemplul prezentat fiind unul general, menit să ofere doar informații de bază. Programele preliminare variază, de aceea este necesară documentarea acestui plan și adaptat specificului companiei și al procesului de producție.
7. Procedul propus poate fi realizat fără modificări importante ale procesului tehnologic.
8. Folosirea enzimelor pentru accelerarea maturării brânzeturilor presupune costuri relativ scăzute, acțiune specifică, dar poate prezenta dificultăți de încorporare uniformă a enzimelor, risc de supramaturare, apariția defectelor de gust și aromă.
9. Dintre cele patru tipuri de enzime utilizate, de origini diferite, una a corespuns scopului urmărit. Astfel, în cazul variantei cu adaos de Accelase, prin utilizarea acestei enzime s-a reușit să se accelereze procesul de maturare al brânzeturilor cu pastă filată, cu obținerea unor caracteristici senzoriale optime de culoare, gust, aromă, consistență.

Stabilirea ierarhiei probelor pe baza indicilor de proteoliză și a punctajului mediu total

Prin corelarea rezultatelor analizelor fizico - chimice, indicilor proteolitici și evaluării senzoriale au rezultat următoarele:

- ordinea de eficiență a enzimelor adăugate pentru accelerarea maturării brânzeturilor cu pastă filată este Accelase > Proba Martor > Promod > Lipomod;
- enzima proteolitică Accelase adăugată sub formă de soluție, prin pulverizare, înainte de introducerea în forme a cașcavalului opărit și filat, în proporție de 0,75g/kg cașcaval asigură reducerea perioadei de maturare la 15 zile, cu 50% mai mică față de cașcavalul proba martor.

Avantajele care decurg din reducerea perioadei de maturare conduc necondiționat la mărirea capacității de maturare, a reducerii cheltuielilor cu personalul, energia, manopera.

Recomandări

- Se recomandă utilizarea unor doze de enzime proteolitice mai mici decât cele specificate de către producător pentru a diminua riscul supramaturării și evitarea apariției de gust amar și aromă neplăcută.
- Deoarece există posibilitatea să apară defecte de gust și aromă pronunțate chiar din primele zile de maturare în cazul utilizării de enzime proteolitice în amestec cu enzime lipolitice sunt necesare testări suplimentare pentru stabilirea dozajului optim, astfel încât să se obțină nu numai o reducere a perioadei de maturare (conform parametrilor fizico-chimici și ai indicilor de proteoliză) dar și obținerea unor caracteristici senzoriale caracteristice.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Ca și contribuție principală, se poate afirma că s-a obținut reducerea perioadei de maturare la jumătate, mai precis la 15 zile. În contextul economic actual, acest fapt este extrem de important pentru obținerea de brânzeturi cu pastă filată într-un sistem economic care permite dezvoltarea și diversificarea gamei sortimentale.

Restul contribuțiilor listate sunt o consecință a ideii principale:

- realizarea a patru experimente practice pentru demonstrarea ideii enunțate;
- cercetări privind modificările proteolitice în timpul obținerii și maturării celor patru variante experimentale de brânzeturi cu pastă filată; analize fizico – chimice, calcularea unor fracții proteice și indici de maturare;
- evaluarea senzorială a brânzeturilor în diferite etape ale perioadei de maturare și interpretarea statistică a rezultatelor obținute;
- stabilirea unor corelații între nivelul modificărilor fizico-chimice, proteolitice, indicii de maturare, caracteristicile senzoriale și stadiul maturării brânzeturilor cu pasta filată;
- identificarea enzimei proteolitice adecvate;
- stabilirea dozei optime și a momentului în care aceasta trebuie adăugată;
- determinările experimentale au evidențiat rolul pozitiv al adaosului de enzime asupra reducerii perioadei de maturare, efecte cuantificate prin analiza fizico–chimică, senzorială și calcularea indicilor de maturare;
- realizarea unor studii de microscopie electronică pentru achiziția de date privind evoluția microstructurii brânzei de-a lungul fabricării și maturării în vederea stabilirii factorilor care pot influența obținerea unui cașcaval cu caracteristici structurale optime;
- aprecierea calității laptelui materie primă la nivelul județului Argeș și în particular al laptelui prelucrat de SC Brădet SRL, unitatea unde s-a realizat studiul experimental;
- elaborarea unui model al sistemului de siguranța alimentelor bazat pe principiile HACCP în vederea obținerii unor produse sigure pentru consum.

DIRECȚII VIITOARE DE CERCETARE

Sistemul propus în teză nu este unic. În mod evident, experimentul realizat reprezintă doar un punct de plecare pentru dezvoltarea sistemului precum și pentru alte abordări, astfel:

- studiile privind accelerarea procesului de maturare a brânzeturilor cu pastă filată cu adaos de enzime se impun a fi continuate, pentru a se stabili cantitatea optimă pentru enzimele utilizate dar și pentru alte enzime precum și modalitatea de încorporare, astfel încât să se asigure o distribuție uniformă și o activitate maximă, fără ca acestea să fie inactivate și/sau denaturate înainte de utilizare. Trebuie avută în vedere atât reducerea perioadei de maturare cât și obținerea unui produs cu gust și aromă echilibrată, care să se dezvolte rapid și să se mențină stabil în produs pentru o perioadă lungă.
- trebuie realizat un calcul precis al costurilor pe care le implică realizarea acestui sistem de maturare în urma căruia să se poată stabili cu exactitate beneficiul adus producătorilor asupra prețului produsului finit;
- implementarea unui sistem specific, unitar de apreciere senzorială a brânzeturilor, formarea de degustători profesioniști, crearea unei baze „materiale” (laboratoare de testare specializate pe domeniul respectiv), dezvoltarea unor mecanisme mai sofisticate pentru aprecierea caracteristicilor senzoriale bazate și pe argumentația emoțională.
- dezvoltarea de instrumente de analiză a microstructurii produselor alimentare, sau mai precis de pregătire a probelor în vederea analizei (care să nu producă deformări, mascări ale caracteristicilor specifice); aprofundarea cunoștințelor în domeniul interpretării rezultatelor obținute folosind tehnicile de analiză imagistică existente.

Introducerea de enzime pentru stimularea și reglarea maturării brânzeturilor cu pastă filată constituie încă subiectul a numeroase cercetări. Se urmărește în special prevenirea pierderilor de proteine, asigurarea întreruperii activității enzimatice la momentul dorit fără a influența astfel consistența și structura produselor, precum și realizarea de însușiri senzoriale superioare, în special prevenirea amărelilor și mirosului de rânced.

Consider că teza de doctorat cu tema: „*Studiul comparativ al metodelor de accelerare a procesului de maturare a brânzeturilor cu pastă filată*” are o relevanță deosebită în industria produselor lactate, respectiv domeniul brânzeturilor cu pastă filată, motivat de faptul că pe lângă elucidarea aspectelor științifice și optimizarea reducerii perioadei de maturare, va avea o finalitate practică, rezultatele cercetărilor urmând a fi diseminate/analizate și implementate în industrie.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Anglade Patrick, 1998 – „*La fromagerie à la ferme: Concevoir, réaliser, équiper son atelier de transformation du lait à la ferme*”, Editeur Méthodes et communications.
2. Ardo, Y., M.Barbosa, S. Pochet, A. Polychroniadou, 1994 – „*Comparison of Two Fractionation Schemes for the evaluation of Cheese Proteolysis*”, În: Bulletin of the International Dairy Federation, Brussel.
3. Azarnia, S., N. Robert, B. Lee, 2006 – „*Biotechnological methods to accelerate cheddar cheese ripening*”, Departament of Food Science and Agricultural Chemistry, Canada, Jul-Sep;26(3):121-43.
4. Bahrim G., 2003 – „*Culturi starter*”, în Știința și Ingineria fabricării brânzeturilor, Editura Academica, Galați.
5. Bartels H.J., Johnson M.E., Olson N.F., 1987 – „*Accelerated ripening of Gouda cheese. Effect of heat-shocked thermophilic lactobacilli and streptococi on proteolysis and flavour development*”, În: Milchwissenschaft 42 (2): 83-88.
6. Bech, A.M., 1996 – „*Enzymes for the acceleration of cheese ripening*”, În: International Dairy Federation, No. 269, Belgium, Brussel.
7. Beresford T. P., Fitzsimons N.A, Brennan N.L., Cogan T.M., 2001 – „*Recent advances in cheese microbiology*”, În: International Dairy Journal 11 (2001) 259–274.
8. Berg J.C.T., 1990 – „*Strategy for dairy developments in the tropics and subtropics*”, Pudoc, Wageningen.
9. Borda D., 2007 – „*Tehnologii în industria laptelui – Aplicații ale presiunii înalte*”, Editura Academica, Galați.
10. Borda D., 2005 – „*Cercetări privind procese biotehnologice în cursul maturării brânzeturilor în saramură*”, În: „Revista de Politica Științei și Scientometrie, Număr Special 2005 - ISSN- 1582-1218.
11. Brennan, J.G., 1998 – „*Texture perception and measurement*”, În: J.G.Pigot (Ed) Sensory analysis of foods, London Elsevier Applied Science.
12. Briggs S.S., 2003 – „*Evaluation of lactic acid bacteria for the acceleration of cheese ripening using pulsed electric fields*”, Department of Agricultural and Biosystems Engineering Macdonald Capus of McGill University Montreal, Quebec, Canada.
13. Cakmakci S., Gurses M., Gundogdu E., 2011 – „*The effect of different packaging materials on proteolysis, sensory scores and gross composition of tulum cheese*”, African Journal of Biotechnology Vol. 10(21), pp. 444-449, 23 May, 2011.
14. Callec Christian, 2002 – „*The Complete Encyclopedia of Cheese*”, Rebo Publishers.
15. Carić, M., Milanović, S., 1994 – „*Recent advances in Kashkaval cheese technology*”, Proceedings of the Third California Cheese Symposium, University of California, pp. 1–17.
16. Carić, M., Milanović, S., 2004b – „*Pasta filata Cheeses*”. În: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Third edition, volume 2, Fox, P.F. ed., pp. 251 – 277, Chapman&Hall, London.
17. Cetinkaya, A., H. Yaman, M. Elmali, G. Karadagoglu., 2005/2010 – „*A Preliminary Study of Kashar Cheese and its Organoleptic Qualities Matured in Bee Wax*”, În: Internet Journal of Food Safety V (6) 1-4.
18. Christensen, M.I.E. Tove, A.M. Bech, H. Werner (1991). *Methods for crude fractionation (Extraction and Precipitation) of nitrogen components in cheese*, În: Bulletin of the IDF 261.
19. Chintescu A., Toma N., 2001 – „*Producția industrială de brânzeturi*”, Editura Ceres, București.
20. Cogan T. M., 2000 – „*Cheese microbiology*”, În: Fundamentals of cheese science P. F. Fox, T. Guinee, T.M. Cogan, & P. L. H. McSweeney (Eds.), Gaithersburg: Aspen Publishers.
21. Costin G.M., 2003 – „*Știința și ingineria fabricării brânzeturilor*”, Editura Academica, Galați.
22. Costin G.M., Macovei V.M., 2006 – „*Laptele aliment medicament*”, Editura Academica, Galați.
23. Costin G.M., Grecu, Gh., (2002) – „*Lipoliza și procesele complementare în brânzeturile cu pastă filată*”, În: Buletin de Informare pentru Industria Laptelui, 17(1) p. 16.

24. Coulson, J., D.Pawlett, R. Wivell, 1991 – „*Accelerated Ripening of cheddar cheese*”, In: Bulletin of the IDF 269 International Dairy Federation.
25. El-Hofi, M.A., A.Azza Ismail, H.R.Abd. Rabo. Fawzia, M. El-Dieb Samia, O.A.Ibrahim, 2010 – „*Studies on Acceleration of Ras Cheese Ripening by Aminopeptidase Enzyme from Buffaloes' Pancreas. II- Utiliation of Buffaloes' pancreas aminopeptidase in acceleration of Ras cheese ripening*”, In: Journal of American Science 6(9).
26. El-Soda M., Madkor M., Tong P.S., 2000 – „*Evaluation of commercial adjuncts for use in cheese ripening; comparison between attenuated and not attenuated lactobacilli*”, In: Milchwissenschaft 55 (5): 260-263.
27. Fernandez-Esplá, M.D., P.F.Fox, 1998 – „*Effect of Adding Propionibacterium shermanii NCDO 853 or Lactobacillus casei ssp. casei IFPL 731 on Proteolysis and Flavor Development of Cheddar Cheese*”, In: J.Agric. Food Chem 46, 1228-1234.
28. Florea, T., 2001 – „*Chimia alimentelor*”, vol. II, Editura Academică, Galați.
29. Fox, P.F., Guinee T.P., T.M., Cogan, T.M., Mc. Sweeney, P.L.H., 2000 – „*Fundamentals of Cheese Science*”, Aspen Publ. Maryland.
30. Fox, P.F., J.M.Wallace, S.Morgan, C.M.Lynch, E.J.Niland&J.Tobin, 1996 – „*Acceleration of cheese ripening*”, *Antonie van Leeuwenhoek*, In: International journal of general and molecular microbiology 70: 271-297.
31. Guinee T.P., 2007 – „*Salt in cheese*”, In: Cheese Problems Solved, Edited by McSweeney P.L.H., Published by Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Abington, Cambridge, England, pages 80-81.
32. Hassan, H.N., 1988 – „*Microstructure and texture of some cheese varieties in Egypt*”, Alex. Sci. Exch. 9, 53–67.
33. Iordăchescu G., 2009 – „*Analiza senzorială a produselor alimentare*”, curs IFR, Universitatea Dunărea de Jos, Galați.
34. Jewel C., Cashman K. D., 2003 – „*The effect of conjugated linoleic acid and medium-chain fatty acids on transepithelial calcium transport in human intestinal-like Caco-2 cells*”, In: British Journal of Nutrition (2003), Volume 89, Issue 05, pp 639-647.
35. Juan, B., A.J. Trujillo, V. Guamis, M. Buffa and V. Ferragut, 2007 – „*Rheological, textural and sensory characteristics of high-pressure treated semi-hard ewes' milk cheese*”, In: International Dairy Journal 17, 248-254.
36. Kocak, C., Bitlis, A., Gursler, A. and Avsar, Y.K. (1996 – „*Effect of added fungal lipase on the ripening of Kasar cheese*”, In: Milchwissenschaft 51, 13–17.
37. Kosikowski, F.V. and V.V. Mistry, 1997 – „*Soft Italian cheese – Mozzarella and Ricotta*”, In: Cheese and Fermented Milk Foods. Origins and Principles, 3rd ed, Kosikowski, F.V., Westport, L.L.C., CT. p. 174–193.
38. Kansal V.K., 2002 – „*Bioprotective Role of Cow Milk in Human Health*”, In: National Dairy Research Institute, Karnal-132001, Haryana.
39. Kheadr-Ehab, Vuilleumard J.C., El-Deeb S.A., 2003 – „*Impact of liposome- encapsulating enzyme cocktails on Cheddar cheese ripening*”, In: Food Research International, 36, 242-252.
40. Kujawski, M., G. Cichosz, E. Podhajna, B. Sanko, 2003 – „*Effect of ripening temperature on proteolysis and organoleptic properties of Edam-type cheese*”, In: Food Science and Technology 6(1).
41. Lawrence R.C., Creamer L.K., Gilles J., 2004 – „*Texture development during cheese ripening*”, In: Journal of Dairy Science, volume 70, Issue 8, august 1987, Dairy Research Institute, Palmerston North, New Zealand.
42. Madkor S.A., El-Soda M., Tong P.S., 2000 - „*Evaluation of commercial adjuncts for use in cheese ripening; Effect of addea freeze – shocked adjunct lactobacilli on proteolysis and sensory qualitz of reduced fat Cheddar cheese*”, In: Milchwissenschaft 54(3):382-386
43. McSweeney P.L.H., 2007 – „*Cheese Problems Solved*”, Published by Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Abington, Cambridge CB21 6AH, England.
44. Milanović, S. and Carić, M., 1998 – „*Unique technology of pasta filata cheeses – changes of components during ripening*”, In: Pasta Filata Cheeses, Niketić, G., Pudja, P., Milanović, S. and Sekulović, N., eds, Beograd. pp. 89–98.

45. Nicolau A., 2006 – „*Microbiologie generală. Factori care influențează dezvoltarea microorganismelor*”, Editura Academica, Galați.
46. Omar M.M., El Zayat, Ali I., 1986 – „*Ripening changes of Kashkaval cheese made from cows milk*”, Food Chem., vol.22, nr.2, 83-94
47. Pârvu E., 2003 – „*Calitatea laptelui și a brânzeturilor*”, În: Revista „*Food&Drinks Globus*”, anul 5, nr. 42, februarie 2003.
48. Powitz W.R., 2007 – „*Water Activity: A New Food Safety Tool*”, În: Food Safety Magazine.
49. Prandini A., Sigolo S., Piva G., (2011) – „*A comparative study of fatty acid composition and CLA concentration in commercial cheeses*”, În: Journal of Food Composition and Analysis, 24,55–61.
50. Raksakulthai, R., M. Rosenberg, N.F.Haard, 2006. „*Accelerated Cheddar Cheese Ripening with an Aminopeptidase Fraction from Squid Hepatopancreas*”, În: Food Chemistry and Toxicology.
51. Rayan, A.A., Kalab, M., Ernstrom, C.A., 1980 – „*Microstructure and rheology of process cheese*”, Scanning Electron Microscopy, 3, 635-643.
52. Rotaru G., Borda D., 2001 – „*H.A.C.C.P. Sistem științific de asigurare a calității, Calitate și Management*”, nr.4, ISSN 1582-8794, p.41.
53. Saldo, J., P.L.H. McSweeney, E. Sendra, A.L. Kelly, B. Guamis, 2002 – „*Proteolysis in caprine milk cheese treated by high pressure to accelerate cheese ripening*”, În: International Dairy Journal 12, 35-44.
54. Saldo, J., E. Sendra, B. Guamis, 2000 – „*High Hydrostatic Pressure for Accelerating Ripening of Goat's Milk Cheese: Proteolysis and Texture*”, În: Journal of Food Science vol.65, no. 4.
55. Sarikaya Hande, 2006 – „*Somatic cell populations in milk: Importance in mammary gland physiology and behaviour during technological processing*”, În: Technische Universität München.
56. Segal R., Barbu I., 1982 – „*Analiza senzorială a produselor alimentare*”, Editura Tehnica, București.
57. Singh T.K., Drake M.A., Cadwallader K.R., 2003 – „*Flavour of Cheddar Cheese: A Chemical and Sensory Perspective*”, În: Comprehensive reviews in food science and food safety, vol.2, pp. 139-162.
58. Sprong C., Marco H., Van der Meer, 2001 – „*Bactericidal Activities of Milk Lipids*”, În: Antimicrobial Agents and Chemotherapy, V.45, N.4, P. 1298-1301.
59. Șoptică F., Nicolau A., 2007 – „*Biotrasabilitatea patogenilor în lanțul produselor lactate*”, În: Buletin de Informare pentru Industria Laptelui 2-3/2007.
60. Tamime A.Y. 2006 – „*Optional preliminary treatments, Brined cheeses, Society of dairy technology*”, Blackwell Publishing SDT, Oxford, UK, cap.3, pag.83-84.
61. Tunick, M.H., Mackey, K.L., Smith, P.W. and Holsinger, V.H., 1991 – „*Effects of composition and storage on the texture of Mozzarella cheese*”, În: Neth. Milk Dairy J. 45, 117–125.
62. Walstra, P., Wouters, J.T.M., Geurts, T.J., 2006 – „*Dairy Science and Technology*”, 2nd ed. CRS Press. Taylor&Franci, U.S.A.
63. Wilkinson M.G., Kilcawley K.N., 2005 – „*Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening*”, În: International Dairy Journal, 15(2005), p. 817-830.
64. Zaharia S., Costin G.M., 2008 – „*Contribuții la determinarea microstructurii brânzeturilor cu pastă filată prin microscopie electronică*”, În: BIIL, 23, nr. 3-4.
65. Zaharia N.S., 2011 – „*Bactofugarea metodă pentru îmbunătățirea calității și siguranței laptelui destinat fabricării brânzeturilor*”, În: Revista Română de Medicină Veterinară, Vol. 21, nr.3/2011,ISSN: 1220 - 3173 cod 239 B+.
66. Zaharia N.S., Rotaru G., 2011 – „*Studies on acceleration of Penteleu pasta filata cheese ripening by exogenes enzymes*”, În: Agricultura Revista de Știință și Practică Agricolă, Anul XX, nr. 77-78/1.2/2011, pag. 126-132, Cluj.
67. Zaharia N.S., 2011 – „*Studies of the microstructural development in pasta filata cheese*”, A 10-a Conferință de chimia colorizilor și suprafețelor, cu participare internațională 9-11 Iunie 2011; În: Annals of „Dunărea de Jos” University of Galati Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics, Fascicle II, Year III, XXXIV, B+, 2011, Special Issue, pag. 213-217

Surse accesate prin internet:

68. <http://www.foodsci.uoguelph.ca> – Universitatea Guelph, Ontario, Canada.
69. www.cheese.com
70. www.en.wikipedia.com
71. www.econtext.ro

Diseminarea rezultatelor cercetărilor

- Zaharia N.S., Costin G.M., 2008 – „*Contribuții la determinarea microstructurii brânzeturilor cu pastă filată prin microscopie electronică*”, Buletin Informativ în Industria Laptelui, nr. 23, nr. 3-4, ISSN 1124-3655.
- Zaharia N.S., 2011 - „*Bactofugation method for improving milk's quality and safety for cheese manufacture*”, Revista Română de Medicină Veterinară, Vol. 21, nr.3/2011, ISSN: 1220-3173, cod 239 B+.
- Zaharia N.S., Costin G.M., 2011 – „*Research regarding accelerated ripening of pasta filata cheese*”, Euroalimint 2011; Annals of „Dunărea de Jos“ University of Galați Mathematics, Physics, Theoretical, Mechanics Fascicle II, Year III (XXXIV) 2012, cotate B+ (în curs de publicare).
- Zaharia N.S., 2011 – „*Studies of the microstructural development in pasta filata cheese*”, a 10-a Conferință de chimia coloizilor și suprafețelor cu participare internațională 2011, (Poster); Annals of „Dunărea de Jos“ University of Galați Mathematics, Physics, Theoretical, Mechanics Fascicle II, Year III (XXXIV) 2011, pag. 213-217, ISSN 2066-7124, cotate B+, Indexed in: Cambridge Scientific Abstracts (CSA) EBSCO.
- Zaharia N.S., Rotaru G., 2011 – „*Studies on acceleration of Penteleu pasta filata cheese ripening by exogenous enzymes*”, În: Agricultură – Știință și practică Agricolă, Cluj, Anul XX, nr. 77-78/1.2./2011, pag. 126-132, nr. 2/2011, ISSN 1221-5317 Index Copernicus.
- Zaharia N. S., 2012 – „*A comparative study of fatty acid composition in raw milk and pasta filata cheese*”, În: Revista Română de Medicină Veterinară, Vol. 25, nr.3/2012, ISSN: 1220-3173, Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI) (în curs de publicare).
- Zaharia N. S., 2012 – „*Aspects of milk's quality in Arges county*”, În: Revista Română de Medicină Veterinară, Vol. 26, nr.4/2012, ISSN: 1220-3173, Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI) (în curs de publicare).