

UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI
Școala doctorală de inginerie



TEZĂ DE DOCTORAT

**UTILIZAREA DERIVATELOR DIN DROJDII ÎN VEDEREA
REFORMULĂRII UNUI PREPARAT DIN CARNE**

**Doctorand,
PAUL MIHAI APOSTU**

**Conducător științific,
dr. ing. ANCA IOANA NICOLAU**

Seria: I4 Nr. 45

GALAȚI

2017

Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

Facultatea de Știința și Ingineria Alimentelor

Școala doctorală de inginerie



TEZĂ DE DOCTORAT

**Utilizarea derivatelor de drojii în vederea reformulării
unui produs din carne**

Doctorand

Paul Mihai Apostu

Conducător științific

Referenți științifici

Prof univ.dr.ing. Anca Ioana Nicolau

Prof univ.dr.Monica Butnariu

CS I dr.ing. Nastasia Belc

Prof univ.dr.ing. Petru Alexe

Seria: I4 Nr. 45

GALAȚI

2017

Seriile tezelor de doctorat susținute public în UDJG începând cu 1 octombrie 2013 sunt:

Domeniul **ȘTIINȚE INGINEREȘTI**

Seria I 1: **Biotehnologii**

Seria I 2: **Calculatoare și tehnologia informației**

Seria I 3: **Inginerie electrică**

Seria I 4: **Inginerie industrială**

Seria I 5: **Ingineria materialelor**

Seria I 6: **Inginerie mecanică**

Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**

Seria I 8: **Ingineria sistemelor**

Domeniul **ȘTIINȚE ECONOMICE**

Seria E 1: **Economie**

Seria E 2: **Management**

Domeniul **ȘTIINȚE UMANISTE**

Seria U 1: **Filologie - Engleză**

Seria U 2: **Filologie - Română**

Seria U 3: **Istorie**

Cuprins

Cuvânt înainte	13
Justificarea alegerii temei de cercetare	14
Justification of research.....	16
Obiective științifice.....	18
Scientific objectives	19
Structura tezei de doctorat	20
The PhD thesis summary	21
Notații și abrevieri.....	22

CAPITOLUL 1. REFORMULAREA PRODUSELOR ALIMENTARE DIN CARNE, CONTEXTUL EUROPEAN ȘI NAȚIONAL..... 24

1.1 Particularități privind reformularea produselor din carne . 25	
1.2 Aportul de sare în contextul European	26
1.3 Reformularea alimentelor în România	27
1.4 Aspecte tehnologice privind reformularea produselor din carne	28
1.4.1 Strategii generale.....	28
1.4.2 Strategii particulare	29
1.5 Ingredientele derivate din drojdii implicate în procesul de reformulare	29
1.5.1 Autolizate din drojdii	30
1.5.2 Polizaharide din drojdii.....	32

1.6	Funcționalitatea tehnologică a fibrelor alimentare	34
1.7	Înlocuirea glutamatului monosodic	35
1.8	Considerente economice	36
1.8.1	Strategii economice ce vizează reformularea produselor din carne	36
1.8.2	Strategii economice ce vizează prețul produselor alimentare reformulate	38
1.8.3	Strategii ce vizează conectarea la economia circulară.....	38
1.9	Aspecte legislative	39
1.9.1	Opinia științifică a panelului EFSA privind β – glucanii din drojdii	39
1.10	Riscuri asociate cu reformularea alimentelor	40
1.11	Aspecte generale privind tehnologia clasică de fabricare a prospăturilor	41
1.11.1	”Emulsia din carne”	41
1.11.2	Rolul ingredientelor	41
1.11.3	Compoziția tipică a sistemului ”emulsie din carne”	41
1.12	Interacțiunea proteine – polizaharide complexe	42
	Referințe.....	44
CAPITOLUL 2. ECHIPAMENTE, MATERIALE ȘI METODE.....		50

2.1	Echipamente	51
2.1.1	Echipamente specifice procesării cărnii.....	51
2.1.2	Aparatură de laborator	51
2.2	Materiale	52
2.2.1	Sticlărie și reactivi.....	52
2.2.2	Materiile prime, ingredientele și materialele auxiliare utilizate la fabricarea eșantioanelor de carne.....	54
2.3	Metode	55
2.3.1	Determinarea proteinei brute	55
2.3.2	Determinarea lipidelor totale	56
2.3.3	Determinarea conținutului de aminoacizi	56
2.3.4	Determinarea umidității.....	56
2.3.5	Determinarea substanțelor minerale (cenușă)	57
2.3.6	Determinarea conținutului de fibre totale	57
2.3.7	Metodologia de determinare a vâscozității pentru analiza preliminară	58
2.3.8	Metodologia de determinare a capacității de reținere a apei.....	58
2.3.9	Determinarea capacității de reținere a apei în sisteme martor de carne.....	59
2.3.10	Determinarea capacității de reținere a apei cu ajutorul testului decentrifugare	59
2.3.11	Metodologia de determinare a capacității de emulsionare	59
2.3.12	Metodologia de determinare a stabilității emulsiei.	60

2.3.13	Metodologia de determinare a conținutului de β – glucan	60
2.3.14	Determinarea glucanilor totali (solubilizarea, hidroliza și măsurarea α și β –glucanilor)	60
2.3.15	Determinarea α – glucanilor (solubilizarea, hidroliza și măsurarea α – glucanilor)	63
2.3.16	Metodologia de determinare a parametrilor texturii....	66
2.3.17	Parametrii texturii determinați instrumental	67
2.3.18	Metodologia de determinare a profilului texturii prin analiză senzorială	67
2.3.19	Analiza statistică	70
2.3.20	Ipoteze care stau la baza analizei ANOVA.....	70
2.3.21	Calculul varianței totale.....	71
2.3.22	Numărul gradelor de libertate	71
2.3.23	Testul F și distribuția datelor	71
2.3.24	Testul biunivoc de analiză a rangurilor ANOVA – Friedman.....	72
2.3.25	Metodologia de realizare a ”emulsiei din carne	72
2.3.26	”Software-uri” utilizate	74
	Bibliografie	75
 CAPITOLUL 3. FUNCȚIONALITATEA TEHNOLOGICĂ A SISTEMULUI ”EMULSII DIN CARNE” – β – GLUCANI DIN DROJDII		 76

3.1	Introducere	77
3.2	Materiale și metode.....	78
3.2.1	Materiale	78
3.2.2	Metode	78
3.2.3	Analiza chimică	78
3.2.4	Analiza preliminară a vâscozității	78
3.2.5	Capacitatea de reținere a apei	79
3.2.6	Capacitatea de emulsionare	79
3.2.7	Evaluarea stabilității emulsiei.....	79
3.2.8	Analiza statistică	79
3.3	Rezultate și discuții	80
3.3.1	Analiza chimică	80
3.3.2	Analiza reologică preliminară	81
3.3.3	Determinarea capacității de hidratare	85
3.3.4	Determinarea capacității de emulsionare	86
3.3.5	Determinarea capacității de stabilizare a emulsiei	88
3.4	Concluzii	93
	Bibliografie	95

CAPITOLUL 4. DETERMINAREA ENZIMATICĂ A β – GLUCANULUI DIN DROJDII ÎNCORPORAT ÎNTR-UN SISTEM ALIMENTAR TIP ”EMULSIE DIN CARNE 98

4.1	Introducere	99
-----	-------------------	----

4.2	Materiale și metode.....	100
4.2.1	Materiale	100
4.2.2	Metode	100
4.3	Analiza statistică.....	101
4.4	Rezultate și discuții	102
4.4.1	Măsurarea conținutului de β – glucan și adaptarea metodologiei de analiză la probele de carne	102
4.4.2	Acuratețea (exactitatea) și recuperarea.....	102
4.4.3	Precizia.....	103
4.4.4	Limita de detecție și limita de cuantificare	104
4.5	Concluzii	104
	Bibliografie	107

CAPITOLUL 5. INFLUENȚA β – GLUCANULUI DIN DROJDII ASUPRA TEXTURII PRODUSELOR DIN CARNE ȘI A GRADULUI DE ACCEPTABILITATE AL ACESTORA..... 109

5.1	Introducere	110
5.2	Materiale și metode.....	111
5.2.1	Materiale	111
5.2.2	Testul senzorial preliminar	111
5.2.3	Testul senzorial propriu-zis	112
5.2.4	Metode	113
5.2.5	Analiza profilului texturii	113

5.2.6	Evaluarea acceptabilității consumatorilor	113
5.3	Analiza statistică.....	113
5.4	Rezultate și discuții	114
5.4.1	Testul senzorial preliminar	114
5.4.2	Intensitatea culorii eșantioanelor.....	114
5.4.3	Intensitatea mirosului eșantioanelor	115
5.4.4	Intensitatea aromei eșantioanelor.....	115
5.4.5	Intensitatea gustului eșantioanelor	115
5.4.6	Analiza cu panel a fracturabilității eșantioanelor	116
5.4.7	Analiza cu panel a fermității eșantioanelor	116
5.4.8	Analiza cu panel a coezivității eșantioanelor	116
5.4.9	Analiza cu panel a gumozității eșantioanelor	117
5.4.10	Analiza cu panel a parametrului revenire	117
5.4.11	Analiza cu panel a elasticității eșantioanelor	117
5.4.12	Analiza cu panel a adezivității eșantioanelor	118
5.4.13	Analiza acceptabilității eșantioanelor.....	118
5.4.14	Analiza instrumentală a parametrului adezivitate	118
5.4.15	Analiza instrumentală a parametrului coezivitate	119
5.4.16	Analiza instrumentală a parametrului elasticitate	120
5.4.17	Analiza instrumentală a parametrului revenire ...	120
5.4.18	Analiza instrumentală a parametrului gumozitate	121
5.4.19	Analiza instrumentală a parametrului fracturabilitate	122
5.4.20	Analiza instrumentală a parametrului fermitate 1	122

5.4.21	Analiza instrumentală a parametrului fermitate 2	123
5.4.22	Testul senzorial	124
5.5	Concluzii	126

CONCLUZII GENERALE 128

Diseminarea rezultatelor	130
--------------------------	-----

Listă figuri	132
--------------	-----

Listă tabele	134
--------------	-----

Anexa 1 Tabele ce conțin analiza statistică discutată în Capitolul 5	138
--	-----

Specificații tehnice ale ingredientelor	153
---	-----

Curriculum vitae

Lista publicațiilor și evenimentelor unde s-a realizat diseminarea

Mulțumiri

Elaborarea prezentei lucrări nu ar fi fost posibilă fără înclinarea dascălilor mei de a șlefui imperfecțiunile preocupărilor mele.

Recunoștință îndrept, în primul rând, către persoana care a acceptat îndrumarea mea și care a stăruit chiar și atunci când lucrurile păreau fără sorti de izbândă, doamna profesor Anca Ioana Nicolau, dascăl care, cu o răbdare supraomenească, reușește să motiveze până și pe cei mai procrastinatori studenți.

Mulțumiri, stimă și considerație adresez îndrumătorilor mei, domnului profesor Petru Alexe și doamnelor profesoare Nicoleta Stănciuc și Iuliana Aprodu pentru contribuțiile, sfaturile și încurajările fără de care nu aș fi izbutit să finalizez teza.

Totodată, mulțumesc tuturor cadrelor didactice care au ales să mențină și să contribuie la prestigiul de care se bucură Facultatea de Știința și Ingineria Alimentelor din Galați, și a căror cuvinte încă răsună în amintirile studenților.

De asemenea, mulțumesc tuturor mentorilor și colegilor întâlniți pe parcursul formării mele

profesionale, mulțumesc doamnei Tamara Mihociu și colegului Adrian Mihăilă, care, cu sau fără știința lor, au îngăduit transferul cunoașterii în tainele procesării cărnii către un neinițiat.

Mulțumesc doamnei Nastasia Belc, șefilor de departamente și personalului "Institutului Național de Cercetare și Dezvoltare pentru Bioresurse Alimentare – București" pentru colaborarea, colegialitatea și susținerea acordată.

Mulțumesc persoanelor de a căror dragoste mă bucur în mod necondiționat, soției, părinților și fratelui meu care au înțeles și tolerat nebunia acestei perioade.

Vă mulțumesc tuturor.

Cuvinte cheie

Produs din carne, reformulare, extracte din drojdii, β – glucan, funcționalitate tehnologică, valoare nutrițională, analiza profilului texturii, reologie.

Structura tezei de doctorat

Teza de doctorat este structurată sub forma unei lucrări științifice ce cuprinde o parte introductivă (Capitolul 1), și o parte experimentală compusă din descrierea echipamentelor, materialelor și metodelor folosite (Capitolul 2) precum și din investigațiile de laborator realizate și discutarea rezultatelor obținute (Capitolele 3, 4 și 5).

Capitolul 1 sintetizează tematica abordată, de la contextul European până la cel național, în ceea ce privește reformularea alimentelor, cu precădere asupra reducerea nivelului de sare din produsele din carne. Totodată, în acest capitol sunt abordate elemente cheie privind reformularea produselor din carne, de la strategii economice și aspecte legislative până la substanțe ce pot fi folosite pentru îndeplinirea obiectivului general.

În **Capitolul 2** sunt prezentate în detaliu echipamentele, materialele și metodologiile de analiză folosite pentru elaborarea secțiunii experimentale.

Capitolele 3, 4 și 5 sunt structurate în formatul publicabil al unor lucrări științifice din domeniu.

Capitolul 3 investighează caracteristicile tehnologic – funcționale atât ale ingredientelor derivate din drojdii

separat, precum și ale sistemelor tip "emulsii din carne" formulate cu acestea. Acest lucru permite elucidarea tipului de interacții pe care derivatele din drojdii le stabilesc cu elemente pastei fine de carne, concluzia fiind una încurajatoare, permițând continuarea studiului.

Deoarece structura și implicit cantitatea de β – glucan ce a trecut prin aceleași transformări cu alimentul poate fi afectată, **Capitolul 4** descrie metodologia și măsura până la care acest polizaharid poate fi detectat în sistemele de carne propuse. De asemenea, în acest capitol sunt determinați parametrii de validare a metodei de detecție a β – glucanului din carne.

Lucrarea se finalizează cu teste de determinare a impactului ingredientelor derivate din drojdii asupra caracteristicilor texturii produsului finit precum și cu teste de acceptabilitate a consumatorilor, descrise în **Capitolul 5**.

Obiectivele propuse

Obiectivul major al tezei de doctorat este de a studia perspectiva reformulării unui produs din carne, realizat dintr-o pastă fină, în sensul diminuării conținutului de sare și polifosfați, menținând funcționalitatea tehnologică și acceptabilitatea acestuia de către consumatori, concomitent cu creșterea valorii nutriționale.

Obiectivul major al studiului a generat desprinderea **obiectivelor intermediare**:

- Determinarea gradului de funcționalitate tehnologică a derivatelor din drojdii utilizate în procesul de reformulare;

- Evaluarea impactului tehnologic a utilizării derivatelor din drojdii în sisteme model din carne;
- Determinarea concentrației de β -glucan din produsul de carne reformulat cu ajutorul derivatelor din drojdii;
- Evaluarea impactului adaosului de derivate din drojdii asupra caracteristicilor senzoriale produsului din carne reformulat, studii de textură și acceptabilitate.

Introducere

Consumul de carne și de produse din carne trebuie să facă parte dintr-un plan alimentar ce urmărește o nutriție echilibrată. Cu toate acestea, chiar dacă unele preparate din carne (parizer, crenvurști, cârnați polonezi) se bucură de o popularitate ridicată, ele sunt cunoscute ca fiind excedentare în anumiți componenți (sare, grăsimi saturate).

În contextul vieții urbane, în care timpul este resursa cea mai importantă, consumul ridicat de produse alimentare cu conținut mare de sare și grăsimi, pe o perioadă însemnată de timp, poate afecta sănătatea consumatorilor.

Acest fenomen a fost sesizat la nivel mondial și a determinat elaborarea de strategii și inițiative de reducere a factorilor de risc asociați cu consumul de alimente.

În acest sens Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a elaborat, în anul 2004, "Strategia globală privind dieta, activitatea fizică și sănătatea", ce oferă un plan de acțiune privind controlul și prevenirea bolilor netransmisibile.

Această strategie vizează și domeniul alimentar prin eliminarea acizilor grași – trans din alimente, precum și reducerea conținutului de sare din acestea. La nivel european, eforturile în acest sens au fost concretizate, în anul 2008, odată cu lansarea "Inițiativei Naționale a Sării" ce vizează reducerea cu 16% a sării în următorii 4 ani pentru toate categoriile de alimente cu scopul de a atinge limita recomandată de OMS de < 5g/zi sare (< 2g/zi sodiu) pentru adulți. Produsele din carne contribuie la aportul de sare și implicit de sodiu în dieta consumatorilor într-o măsură însemnată.

Problemele apar odată cu consumul excesiv de sodiu, fapt asociat cu efecte negative asupra sănătății, cel mai însemnat efect fiind cel ce vizează presiunea arterială. Sodiul este întâlnit în carne într-o concentrație cuprinsă între 60 – 80 mg/100g, echivalent cu 0,15 – 0,2 sare/100 g.

Compensarea reducerii clorurii de sodiu poate fi realizată prin adăugarea altor ingrediente care să conducă la aceeași funcționalitate ca aceasta. Această tehnică de substituție s-a realizat deja prin adăugarea altor săruri precum clorura de potasiu, clorura de magneziu, lactatul de potasiu sau diacetatul sodic¹⁻³.

Un alt aspect ce motivează derularea următorului studiu este legat de corelația sporită dintre consumul de produse din carne și în special de consumul de carne roșie și riscul de contactare a cancerului de colon. Deși studiile nu demonstrează o diminuare a conținutului de compuși nitrozo atunci când o dietă bogată în carne se suplimentează cu fibre alimentare^{4,5}, masa fecală crește, fenomen asociat cu un tranzit intestinal sporit și un timp de acțiune a factorilor pre-cancerigeni semnificativ diminuat.

Cele două aspecte descrise anterior, diminuarea cantității de sare și adaosul de fibre alimentare în produsele

din carne, pot fi realizate prin utilizarea derivatelor din drojdii.

O altă componentă extrem de valoroasă extrasă din pereții celulari de drojdii este β -glucanul, un polizaharid complex ce posedă importante proprietăți imuno modulatorii și tehnologic funcționale.

Cercetarea actuală propune diminuarea cantității de sare dintr-un preparat realizat din pastă fină de carne, în sensul micșorării cantității de sodiu ingerate de către consumatori.

Materiale și metode

Infrastructura utilizată pentru desfășurarea experimentelor descrise în prezenta lucrare aparține Institutului Național de Cercetare Dezvoltare pentru Bioresurse Alimentare IBA – București Galați și Universității "Dunărea de Jos".

2.1.1. Echipamente specifice procesării cărnii

- **Mașină de tocat:** K+G WETTER, Electric – Grinder B98 mm, model 640 (Biedenkopf, Germania). Utilizată pentru mărunțirea cărnii înainte de introducerea acesteia în cutter.

- **Cuter:** K+G WETTER, Bowl – Cutter 45l, model STL (Biedenkopf, Germania), utilizat pentru mărunțirea avansată a cărnii și pentru realizarea emulsiei din carne împreună cu celelalte ingrediente.

- **Mașină de umplere, sub vid:** VEMAG, model ROBOT 500 (Weserstraße, Germania), utilizată pentru umplerea membranelor cu emulsia din carne.

- **Celulă de fierbere – afumare:** SCHWAN, model Rakobak – 1500 – E – 90/P3000 – 1 ramă (Heilbronn - Böckingen, Germania), utilizată pentru realizarea tratamentului termic al probelor de carne.

- **Cameră de refrigerare (instalație frigorifică):** ZANOTTI model MZM105T57F, serie 1127531F, dimensiuni Lx lx H = 2110x1210x2060 mm, domeniu de temperatură de -12°C ... + 12°C. S-au utilizat două camere de refrigerare din aceeași serie și model, atât pentru depozitarea materiei prime, cât și a produsului finit.

- **Mașină fulgi gheață:** WEBER, Model WIS 400 1.1, capacitate 400 Kg / 24 h (Rheinstrasse, Germania). Folosită pentru generarea fulgilor de gheață necesari pentru răcirea cuterului și pentru realizarea amestecului apă și gheață ce intră în alcătuirea emulsiei de carne.

- **Clipsator semi – automat:** POLYCLIP, model PDC 700F – Tischmodel (Frankfurt, Germania), utilizat pentru închiderea sub vid, a batoanelor de produs / probă.

Pentru realizarea și analiza probelor elaborate în stația pilot de carne s-au utilizat echipamente și materiale uzuale de laborator.

Materia primă

Materia primă utilizată în derularea testelor tehnologice a constat în pulpă de porc, fasonată și fără șorici, pulpă de vită fără grăsime și slănină tare de porc. Carnea a fost achiziționată din două surse, distincția dintre

cele două constând în țara de proveniență: S.C INTEGRA S.R.L (pulpă de porc, pulpă de vită fără grăsime și slănină tare de porc, import Olanda) și S.C. FERMA ZOOTEHNICĂ S.R.L. (pulpă de porc, pulpă de vită fără grăsime, slănină tare de porc – Abator Florin Lazăr, Baia Mare, porci crescuți autohton).

Probele din carne realizate cu derivate din drojdii au fost supuse mai multor metodologii de analiză.

2.1.2. Metodologia de determinare a vâscozității pentru analiza preliminară

Pentru a evalua impactul adității ingredientelor derivate din drojdii cu concentrație mare de pereți celulari din drojdii și pentru a confirma comportamentul β – glucanilor raportat de literatură pe diferite matrici și pe produsele din carne, s-a realizat un studiu de vâscozitate preliminar. În acest sens, s-au formulat mai multe variante de bradturi din carne cu pereți celulari din drojdii și acestea au fost supuse studiilor reologice, în condiții de temperatură diferite. Bradturile din carne realizate au fost supuse testelor reologice utilizând reometrul AR 200ex. Ingredientul derivat din drojdii utilizat a fost "Angel Yeast Cell Wall - (Angel Yeast[®], China) cu un conținut de fibre \leq 40%. Reometrul utilizat a fost echipat cu un con cu unghiul de 4° și o placă Peltier cu diametrul de 4 cm. Odată ce probele au fost presate prin coborârea conului atașat reometrului, proba în exces a fost îndepărtată iar pe margine a fost turnat un film subțire de ulei pentru a împiedica pătrunderea aerului în probă. Pentru fiecare test, o cantitate de probă de 5 g a fost cântărită. Testele de determinare a dinamicii oscilatorii au fost realizate la un interval al frecvenței cuprins între 0,1 – 10 Hz. Toate măsurătorile reologice au

fost realizate în duplicat. Modulul de elasticitate (G') și modulul de vâscozitate (G'') precum și unghiul de fază (δ) au fost obținute direct din softul reometrului. Testul de măsurare a parametrilor vâscoelastici a fost realizat în intervalul de temperatură $4^\circ - 70^\circ\text{C}$.

2.1.3. Metodologia de determinare a capacității de reținere a apei

Capacitatea de hidratare sau de reținere a apei, a ingredientelor derivate din drojdii, a fost determinată prin două procedee, în sisteme martor din carne similar metodologiei descrisă de Shahidi, F. & Synowiecki ⁶ și aplicând testul centrifugării.

2.1.4. Determinarea capacității de reținere a apei în sisteme martor din carne

Pentru a reproduce formulele utilizate pentru obținerea produselor din carne din pastă fină, s-au realizat sisteme martor compuse din 70 g pulpă de porc, 15 g slănină tare de porc și 15 g apă distilată răcită. Ingredientele derivate din drojdii au fost adăugate în diferite concentrații în sistemele martor formulate după descrierea anterioară. Componentele ce au intrat în alcătuirea sistemului au fost mărunțite folosind un mixer Gorenje 800W până la formarea emulsiei, nu mai mult de 3 minute, până la o temperatură finală ce nu a depășit 15°C . S-a preparat și un sistem martor fără adaos de ingrediente derivate din drojdii pentru control.

Emulsiile de carne au fost lăsate la maturat timp de 1 oră la 4°C , au fost transferate în pungii de vid pentru a elimina aerul din acestea. Fierberea pungilor a fost efectuată la o temperatură de 95°C într-o baie de apă, timp de 1 oră,

urmată de răcire, într-o cameră de refrigerare timp de 2 ore. După răcire, pungile au fost deschise, apa rezultată îndepărtată iar carnea tamponată ușor cu hârtie de filtru pentru a îndepărta apa de pe suprafața acesteia. Masa a fost notată iar cantitatea exudatului a fost calculată ca diferența de greutate înainte și după tratamentul termic. Rezultatele sunt exprimate procentual ca pierderi la tratamentul termic față de control.

2.1.5. Determinarea capacității de reținere a apei cu ajutorul testului centrifugării

Un alt test folosit pentru a măsura capacitatea de reținere a apei a unor ingrediente este testul centrifugării, metodologie acceptată și utilizată de către Asociația Americană a Chimistilor Cerealieri (AACC). Testul constă în adăugarea unei cantități de apă suficiente la o cantitate cunoscută de ingredient pudră până acesta capătă o consistență păstoasă. Cântărirea ingredientului și hidratarea acestuia are loc în tuburi pentru centrifugă cu dop. Acestea sunt centrifugate timp de 10 minute la 4°C și 4000 rpm. După centrifugare supernatantul este îndepărtat și se recântărește tubul. Dacă nu există supernatant după centrifugare se va adăuga apă, se amestecă bine și se reia procesul de centrifugare la aceeași parametri.

2.1.6. Metodologia de determinare a capacității de emulsionare

Pentru a măsura capacitatea de emulsionare a ingredientelor derivate din drojzii s-a utilizat o metodologie modificată celei descrise de Swift C. E. (1961). Aceasta urmărește determinarea cantității de grăsime stabilizată de un ingredient, de regulă o proteină, în condiții standard.

Într-un pahar Berzelius de 600 mL se cântăresc 25 g de ingredient și se formează o dispersie folosind cantitatea de apă determinată în cadrul testului de măsurare a capacității de hidratare. Emulsiile au fost formate la temperatura de 15°C prin adăugarea treptată a uleiului de floarea soarelui și amestecând energic timp de 2 minute după fiecare adăugare de ulei cu ajutorul unui mixer (Gorenje 800W).

Vâscozitatea și forța de torsiune (en: torque) au fost măsurate cu ajutorul unui vâscozimetru (Brookfield DV-E), înregistrând totodată temperatura și timpul scurs de la ultima adăugare de ulei.

Scăderi bruște ale valorilor vâscozității și a forței de torsiune sunt un indicator fidel al destabilizării emulsiei.

2.1.7. Metodologia de determinare a stabilității emulsiei

Stabilitatea emulsiei a fost evaluată similar metodologiei descrise de Yogesh, Ahmad, Manpreet, Mangesh, & Das (2013). Diferite concentrații de ingrediente derivate din drojdiile (0,5%, 1%, 1,5%) și un amestec al acestora (1:1) au fost folosite pentru a stabili formulări de emulsii din carne. Emulsiile din carne au fost formulate conform Tabelului 2.3. Tuburi de centrifugă cu diametrul de 2,8 cm au fost umplute cu emulsiile astfel formate, iar după cântărirea și centrifugarea lor timp de 15 minute la 2.500 G, la o temperatură de 3°C, au fost închise ermetic și menținute pe o baie de apă la 70 °C timp de 30 de minute.

După etapa de fierbere, tuburile au fost deschise și așezate invers în plăci Petri de unică folosință, timp de o oră, pentru a colecta fluidul total eliberat. Pentru

determinarea cantității de apă, plăcile Petri ce conțin fluidul total eliberat, cântărite în prealabil, au fost introduse în etuvă, timp de 16 ore la o temperatură de 105°C. Conținutul de grăsime cedat este diferența dintre masa plăcilor ce conțin fluidul total eliberat înainte și după etuvare. Rezultatul este exprimat procentual drept pierderi din masa probei inițiale.

2.1.8. Metodologia de determinare a conținutului de β -glucani

Majoritatea β -glucanilor sunt ușor solubilizați în apă caldă sau în KOH, însă același tratament nu este eficient în solubilizarea β -glucanilor din ciuperci și drojdii.

Principiul metodei de determinare a β -glucanilor din drojdii (1,3:1,6 – D- glucan, 1,3 – β – D- glucan) constă în solubilizarea tuturor glucanilor, atât alfa cât și beta în acid clorhidric concentrat (37%; 10 N) pentru îndepărtarea legăturilor covalente cu alte polizaharide sau proteine pentru a îndepărta proprietățile de gelifiere. Acest pas este urmat de o etapă de hidroliză extensivă în HCl 1,3 N la 100°C timp de 2h. Hidroliza până la resturi de D – glucoză este finalizată de către un amestec de enzime înalt purificate (exo – 1,3 – β – glucanaze și β – glucozidaze), monomeri care mai departe sunt puși în reacție cu un sistem enzimatic GOPOD (amestec de glucozoxidază și peroxidază) ce conduce la formarea compușilor de culoare (chinoneimine).

Acest procedeu hidrolizează și orice α – glucan prezent în probă, prin urmare este necesară determinarea, în paralel, a α – glucanilor. Alfa glucanii sunt hidrolizați până la resturi de D – glucoză cu ajutorul amilo -

glucozidazei și până la formarea compușilor de culoare cu același sistem GOPOD.

Absorbanța soluțiilor este citită la 510 nm față de blanc. Pentru fiecare măsurătoare se includ probe control Megazyme de concentrație cunoscută (49%), în duplicat, și soluții de D – glucoză standard în cvadruplicat.

2.1.9. Determinarea glucanilor totali (solubilizarea, hidroliza și măsurarea α –glucanilor și a β – glucanilor)

Proba a fost mărunțită la o granulație de 0,5 mm. S-au adăugat aproximativ 100 mg (s-a notat greutatea cântărită) din probă în tuburi de hidroliză (20 x 125 mm) și se asigură că acestea au ajuns la baza tubului.

S-a adăugat 1,5 mL HCl concentrat (37% v/v) în fiecare tub, acestea au fost acoperite cu dop, iar conținutul a fost amestecat cu ajutorul unui vortex mixer. Tuburile s-au menținut pe o baie de apă la 30°C timp de 45 de minute cu amestecare la fiecare 15 minute pe un vortex mixer (pentru a asigura solubilizarea totală a β – glucanilor).

S-au adăugat câte 10 mL apă în fiecare tub, s-a acoperit cu dop și s-a agitat. Dopurile au fost desfăcute puțin și s-a menținut pe baie de apă la temperatura de 100°C timp de 2 h, după 5 minute dopurile au fost strânse bine.

Tuburile au fost răcite până la temperatura camerei, dopurile au fost deschise cu grijă și s-au adăugat 10 mL KOH 2 N.

S-a transvazat cantitativ conținutul tuburilor în baloane cotate de 100 mL, s-au spălat tuburile și s-a adus la semn cu soluție tampon acetat pH 5.0 cu amestecare prin inversie.

Alicote din fiecare suspensie au fost centrifugate timp de 10 minute la 1.500 g.

S-au transferat 0,1 mL alicote (în duplicat) din extractul centrifugat la baza tuburilor 16 x 100 mm.

S-a adăugat 0,1 mL amestec α – 1,3 – β – glucanaze și β – glucozidaze în soluție tampon acetat de sodiu pH 5.0, iar conținutul a fost amestecat pe un vortex mixer, s-a termostatat timp de 60 minute la 40°C.

S-au adăugat 3.0 mL amestec glucozoxidază / peroxidază (GOPOD) în fiecare tub și s-a termostatat timp de 20 minute la 40°C.

Absorbanța tuturor soluțiilor a fost măsurată la 510 nm față de soluția blanc.

Cu fiecare set de determinări, s-a inclus cel puțin o probă de β – glucan control, soluții blanc și standarde de glucoză de 100 μ g în cvadruplicat.

Soluția blanc constă în 0,2 mL de soluție tampon acetat de sodiu (200 mM, pH 5.0) + 3.0 mL reactiv GOPOD.

Standardul de D – glucoză constă în 0,1 mL D glucoză (1mg/mL) + 0,1 mL soluție tampon acetat de sodiu (200 mM, pH 5.0) + 3.0 mL GOPOD.

Modul de lucru este schițat în Fig 2.1.

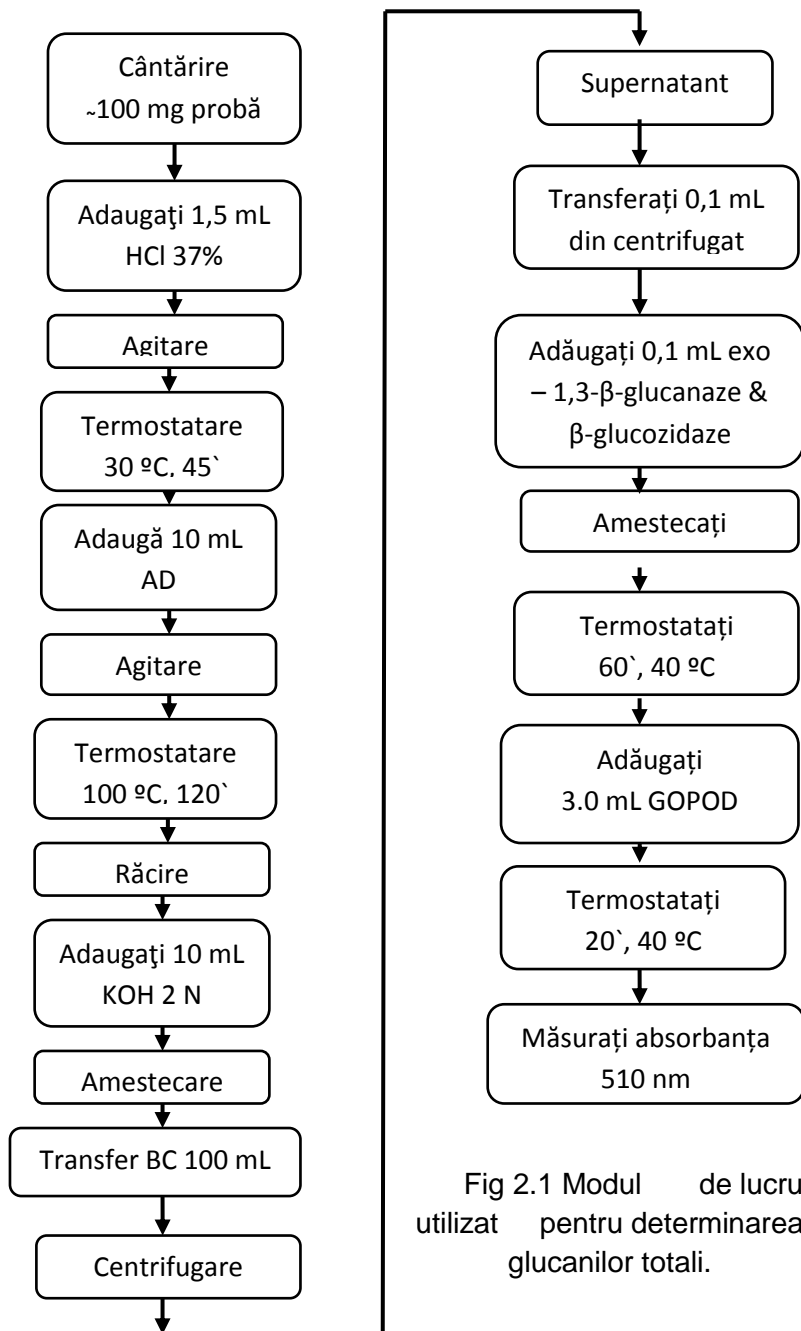


Fig 2.1 Modul de lucru utilizat pentru determinarea glucanilor totali.

2.1.10. Determinarea α – glucaților (solubilizarea, hidroliza și măsurarea α – glucaților)

Se adaugă aproximativ 100 mg în tuburi de hidroliză cu dimensiunea 20 x 125 mm astfel încât proba să ajungă la baza tubului.

Se amplasează tuburile pe un agitator magnetic și se adaugă 2 mL de KOH 2 N (pentru a dizolva fitoglicogenul / amidonul) și se amestecă timp de 20 minute pe o baie de gheață.

S-au adăugat 8 mL soluție tampon acetat de sodiu pH 3.8 în fiecare tub și s-a amestecat.

Imediat s-au adăugat 0,2 mL amiloglucozidază și invertază, s-a amestecat bine și s-au termostat tuburile pe o baie de apă timp de 30 minute la 40 °C (cu amestecare intermitentă).

a. Pentru probele ce conțin > 10 % α – glucați

Conținutul tuburilor au fost transvazate cantitativ în baloane cotate de 100 mL, s-a spălat și s-a adus la semn cu apă distilată. După o amestecare riguroasă s-au centrifugat alicote, timp de 10 minute la 1.500 g.

b. Pentru probele ce conțin < 10 % α – glucați

Se centrifughează tuburile, direct, timp de 10 minute la 1.500 g (fără realizarea diluției). Pentru probele astfel preparate volumul final va fi de 10.3 mL.

Indiferent de pasul urmat anterior (a. sau b.) se transferă 0,1 mL alicote (în duplicat) din supernatant în tuburi de sticlă de 16 x 100 mm, se adaugă 0,1 mL soluție

tampon acetat de sodiu (200 mM, pH 5.0), 3.0 mL reactiv GOPOD și se termostatează timp de 20 minute la 40°C.

Absorbanța tuturor soluțiilor se măsoară la 510 nm față de soluția blanc.

Modul de calcul este prezentat de ecuațiile 2.6, 2.7 și 2.8.

Modul de lucru este schițat în Fig 2.2.

NOTĂ: În general probele de drojdii și ciuperci conțin < 10 % α – glucani.

CALCUL:

$$\text{Glucanii totali (\% w/w)} = \Delta E \times F \times 100 / 0,1 \times 1 / 1000 \times 100 / W \times 162 / 180 \quad (2.6)$$

$$= \Delta E \times F / W \times 90$$

$$\alpha - \text{glucanii (\% w/w)} = \Delta E \times F \times 1000 \times 1 / 1000 \times 100 / W \times 162 / 180 \quad (2.7)$$

$$\text{sau} \quad = \Delta E \times F \times 103 \times 1 / 1000 \times 100 / W \times 162 / 180$$

$$= \Delta E \times F / W \times 90 \quad (\text{dacă volumul final este 100 mL})$$

$$\text{sau} \quad = \Delta E \times F / W \times 9,27 \quad (\text{dacă volumul final este 10,3 mL})$$

$$\beta - \text{glucanii (\% w/w)} = \text{Glucanii totali (\% w/w)} - \alpha - \text{glucanii (\% w/w)} \quad (2.8)$$

(+ oligomeri etc.)

(+ oligomeri etc.)

unde:

- ΔE – diferența de absorbanță dintre absorbanta soluției și absorbanta soluției blanc
- F – factor de conversie a absorbantei în μg a D-glucozei

$$F = 100 (\mu\text{g standard D – glucoză}) / \text{absorbanta GOPOD pentru } 100 \mu\text{g standard D – glucoză}$$

- 100/0,1 – factor de corecție a volumului pentru glucanul total (drojdii), au fost analizați 0,1 mL din 100 mL
- 103 – factor de corecție a volumului pentru α – glucan (au fost analizați 0,1 mL din 10,3 mL)
- 1000 – factor de corecție a volumului pentru α – glucan (au fost analizați 0,1 mL din 100 mL)
- 1/1000 – factor de conversie din μg în mg
- 100/W – conversie în 100 mg de probă (% w/w)
- W – greutatea probei luată în analiză
- 162/180 – factor de conversie din D – glucoză liberă, așa cum este determinată, în glucoză anhidră, așa cum are loc în β – glucani.

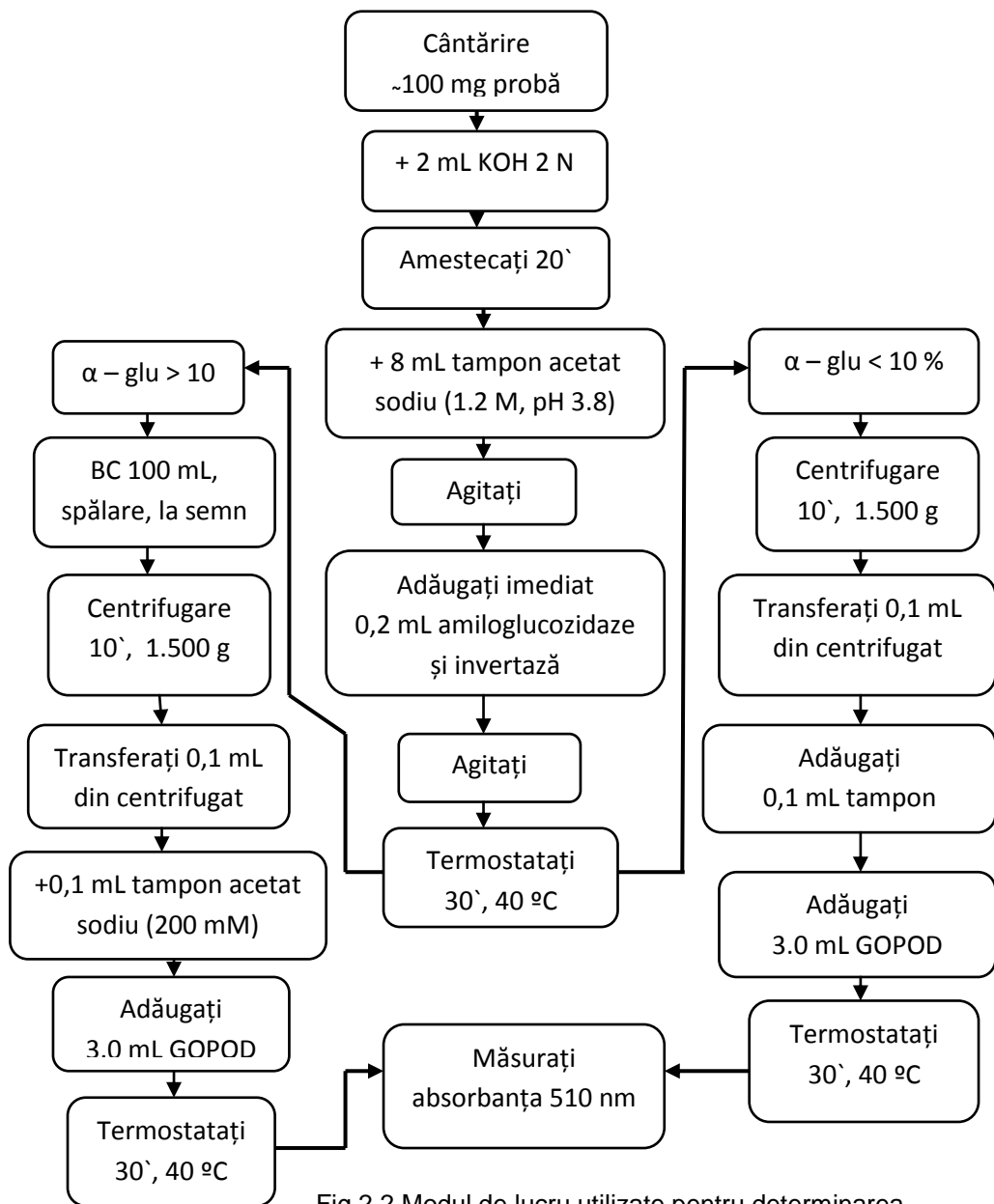


Fig 2.2 Modul de lucru utilizate pentru determinarea α - glucanilor.

2.1.11. Metodologia de determinare a parametrilor texturii

Testul de evaluare a profilului texturii dorește să imite procesul de masticăție, acesta fiind rulat sub forma unor cicluri cu dublă compresie (Fig 2.3). Cu ajutorul acestui test pot fi evaluate un număr mare de proprietăți ale texturii precum: fermitatea, fracturabilitatea, gumozitatea, adezivitatea, revenirea și elasticitatea produsului^{9,10}.

Principiul metodei constă în aplicarea unei tensiuni asupra eșantioanelor de carne, cu înregistrarea automată a forței de rezistență pe care aceasta o opune deformării.

În acest scop a fost folosit un dispozitiv Instron (5944L1809) echipat cu o celulă de încărcare de 50N și un platan de presiune cu un diametru de 4 cm. Acestea au fost folosite pentru a presa asupra unor eșantioane de $1\text{cm}^3 \pm 1$ mm, secționare în mod aleatoriu din întreaga masă a eșantioanelor.

Tensionarea eșantioanelor s-a realizat pe suprafața unei mese de presare cu latura de 10 cm. Prin intermediul softului Bluehill 3, dispozitivul a fost programat să aplice forța de tensionare asupra eșantionului de două ori.

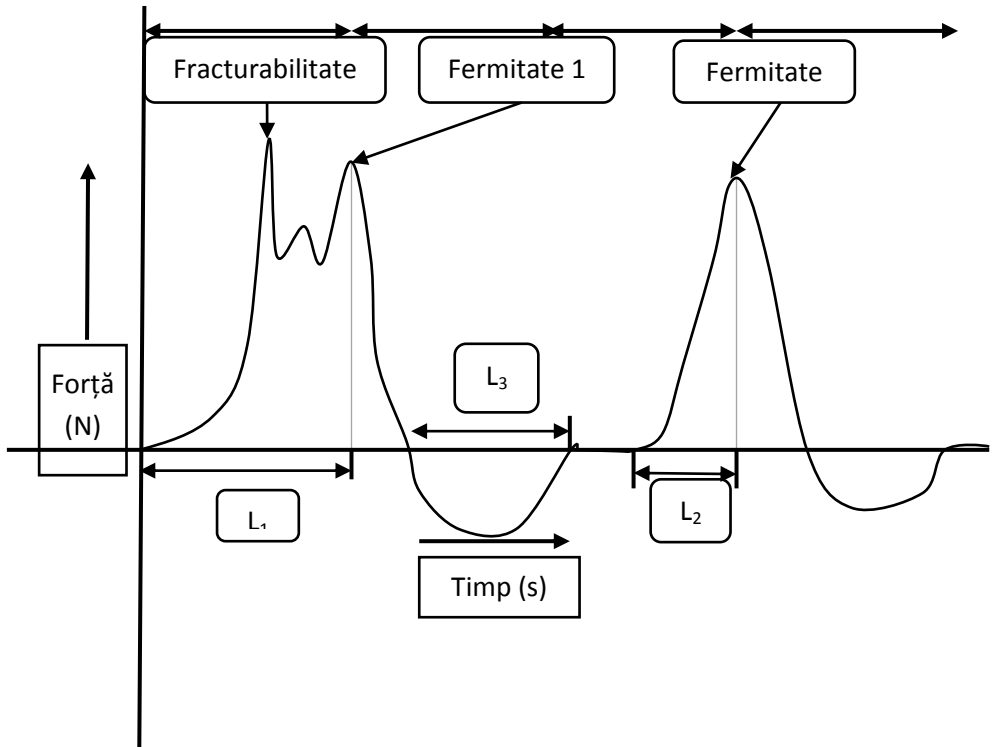


Fig 2.3. Elementele generale ale unui grafic specific testului de evaluare a parametrilor texturii

Prima compresie s-a realizat până la o deplasare egală cu 75% din înălțimea eșantionului cu o viteză de presare de 4 mm/s, apoi pistonul revine la poziția inițială și urmează a doua presare până la o deplasare egală cu 80% din înălțimea eșantionului, menținând viteza de compresie.

Dispozitivul înregistrează în timp real forțele de rezistență opuse de către eșantion și înălțimea din eșantion unde au fost înregistrate. Astfel software-ul dispozitivului a fost programat să înregistreze forțele și deplasările ca atare, acolo unde se impune, precum și calcularea

parametrilor texturii derivați din integrarea celor doi parametri înregistrați.

2.1.12. Parametrii texturii determinați instrumental

În urma prelucrării parametrilor forță, deplasare și timp, în mod automat de către software-ul instrumentului, pentru fiecare eșantion în parte, se obțin următorii parametri ai texturii.

- *Fracturabilitatea* – forța înregistrată la ruperea/distrugerea eșantionului, este forța măsurată la prima modificare semnificativă a primei curbe, primul punct de maxim. Acest parametru este corelat cu forța necesară fracturării produsului analizat la prima mușcătură.

- *Fermitatea* – este forța de rezistență opusă de către eșantion după ce produsul a fost fracturat, sinonimă cu duritatea produsului.

- *Elasticitatea* – este distanța după care materialul revine la înălțimea inițială după sfârșitul primei compresii și începutul celei de-a doua. De asemenea, este o măsură a vitezei cu care un aliment deformat revine la forma inițială după îndepărtarea forței deformatoare. Aceasta este calculată ca raportul dintre deplasările înregistrate în timpul compresiei ($L2/L1$).

- *Coezivitaea* – descrisă ca fiind rezistența legăturilor interne ce mențin forma eșantionului, aceasta se calculează prin raportul forțelor pozitive de sub curbele trasate în timpul primei și celei de-a doua compresii ($A2/A1$), în care $A1$ este lucrul mecanic sau energia necesară pentru a deforma eșantionul în cadrul primei

compresii, iar A_2 este lucrul mecanic sau energia necesară deformării aceluiași eșantion în cadrul celei de-a doua compresii.

- *Adezivitatea* – este descrisă drept rezistența înregistrată atunci când pistonul aparatului se desprinde de eșantion după prima compresie, aceasta este calculată prin integrarea ariei negative de sub curbă.

- *Gumozitatea* – este o măsură a porozității eșantionului și este calculată ca un produs dintre doi parametri descriși anterior, fermitate și coezivitate.

- *Revenirea* – este un indicator ce măsoară modul în care eșantionul revine sau tinde să revină la forma inițială după deformare, acest parametru este calculat prin relizarea raportului dintre energiile implicate în timpul primei compresii, atât la compresie cât și la decompresie (A_5/A_1).

2.1.13. Testul biunivoc de analiză a rangurilor ANOVA - Friedman

Testele ce atribuie anumite ranguri eșantioanelor analizate sunt de regulă analizate statistic folosind ANOVA – Friedman, urmat de un test de comparare multiplă în cazul în care ipoteza alternativă este respinsă. Astfel, similar procedurii de bază ANOVA, se stabilește ipoteza nulă conform căreia nu există diferențe semnificative între suma pătratelor rangurilor eșantioanelor analizate.

În cazul testului Friedman, se compară suma rangurilor pentru fiecare eșantion, ipoteza alternativă

presupune că nu toate sumele rangurilor sunt egale. Testul statistic Friedman este comparat cu valoarea critică a lui χ^2 ($\chi^2 < \chi^2_{p}$). Dacă valoarea p a testului este mai mică decât intervalul de încredere a testului, atunci se acceptă ipoteza alternativă. Acest lucru indică faptul că există cel puțin o sumă a rangurilor a unui eșantion semnificativ diferită în comparație cu un alt eșantion.

Pentru stabilirea gradului de corelare între datele obținute pentru parametrii de textură analizați de către cele două metode (senzorială și instrumentală) s-a folosit testul Pearson de corelare. Acesta a fost realizat automat folosind programul statistic IBM SPSS 22.

2.1.14. "Software-uri" utilizate

- Pachetul Microsoft® Office, pentru redactare în programul MS Word, managementul datelor și realizarea unor grafice în programul Excel (Redmond; Washington, S.U.A.: Microsoft, 2013)
- IBM SPSS v.22 – IBM Analytics pentru efectuarea analizei ANOVA, ANOVA - Friedman (IBM Corp., Armonk, NY, S.U.A.)
- Bluehill 3 – software pentru instrumentul de determinare a texturii, înregistrarea și calculul automat al parametrilor texturii (Norwood, MA, S.U.A.)
- Origin v.8 – software pentru realizarea graficelor (OriginLab Corp., Massachusetts, S.U.A.)
- Rheology Advantage Instrument Control AR

Rezultate și discuții

3.1.1. Analiza reologică preliminară

Analiza reologică preliminară realizată pe ingredientul "Angel Yeast Cell Wall", adăugat într-o pastă fină din carne (Tabelul 2.4) relevă o dinamică interesantă a bradturilor formulate cu acesta (Fig 3.1).

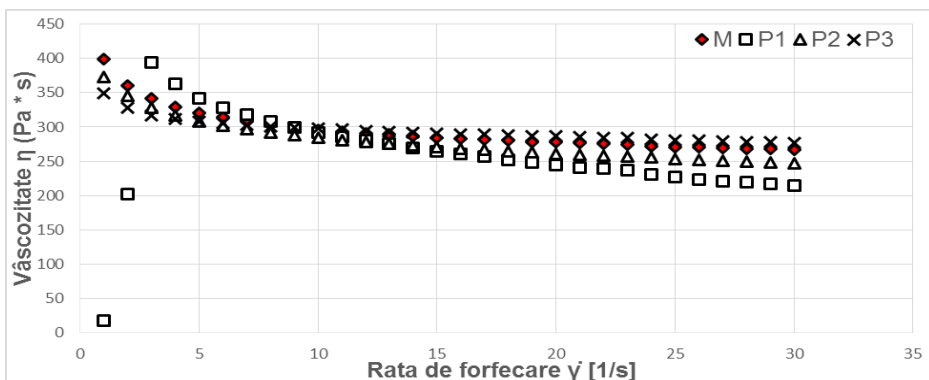


Fig 3.1 Comportamentul vâscozității bradturilor de carne formulate cu diferite concentrații de ingredient derivat din drojzii la o viteză de forfecare constantă (1/s)

Unghiul de fază delta, reprezentat de raportul dintre G'' și G' oferă o măsură relativă privind energia pierdută față de energia înmagazinată în timpul unei deformări ciclice. Un unghi de fază de 90° reprezintă astfel un material cu vâscozitate maximă iar un material cu elasticitate mare este caracterizat de valori ale unghiului de fază apropiate de zero. La prima analiză a datelor prezentate în figurile (Fig 3.2, Fig 3.3, Fig 3.4, Fig 3.5) valorile modulelor dinamicii reologice nu sunt afectate într-o măsură semnificativă odată

cu adiția și cu creșterea concentrației de ingredient cu pereți celulari din drojdii.

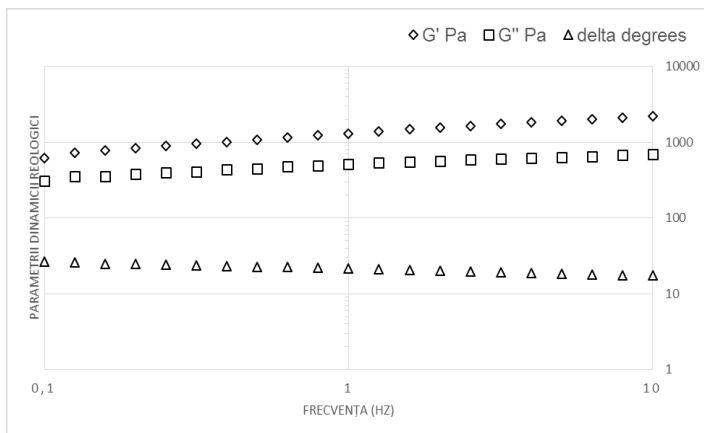


Fig 3.4 Parametrii dinamicii reologice (G' ; G'' ; delta) ai pastei din carne cu 0,5% adaos ingredient cu pereți celulari din drojdii (P2).

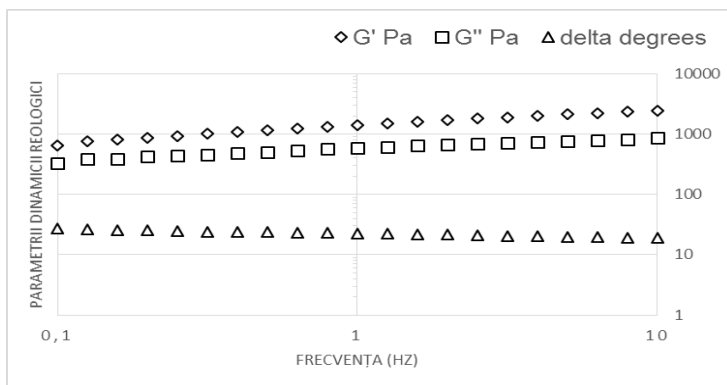


Fig 3.5 Parametrii dinamicii reologice (G' ; G'' ; delta) ai pastei din carne cu 0,7% adaos ingredient cu pereți celulari din drojdii (P3).

Evaluarea evoluției modulului de elasticitate și a modulului de vâscozitate în funcție de frecvență, relevă o tendință crescătoare odată cu creșterea concentrației de ingredient fapt transpus într-o creștere a caracterului vâsco-elastic între probe. În ceea ce privește evoluția modulelor G' și G'' în funcție de temperatură, se observă atât variații ascendente, cât și descendente pe anumite intervale de temperatură, intervalul de temperatură vizat a fost cuprins între 4 și 70°C simulând temperaturile atinse în timpul procesului tehnologic.

Modulul de elasticitate (G') în cazul matorului (M) are o ușoară tendință ascendentă în intervalul 1000 – 2000 Pa corespunzător intervalului de temperatură 4 – 25°C fenomen caracterizat de formarea gelului proteic și transpus într-o creștere a rezistenței matricei, urmată de un platou în jurul limitei de 2000 Pa până în zona de temperatură 52 – 61°C, unde matricea pierde din caracteristicile elastice din cauza precipitării proteinei.

Odată cu creșterea concentrației de pereți celulari crește și valoarea de bază a modulului de elasticitate pentru fiecare dintre probe, însă toate au un comportament similar pe durata tratamentului termic. Graficul (Fig 3.6) este caracterizat de o tendință ascendentă în intervalul de temperatura 4 – 14°C pentru fiecare dintre cele trei probe în parte (în domeniul fiecărei probe de rezistență elastică) respectiv: pentru P1 în intervalul 1160 – 1370 Pa; pentru P2 în intervalul 1330 – 1670 Pa; iar pentru P3 în intervalul 1420 – 1680 Pa.

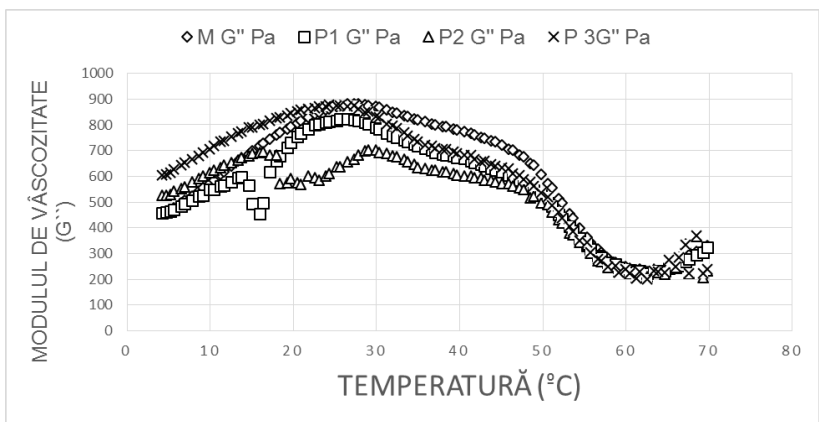


Fig 3.6 Evoluția modulului de elasticitate G' în intervalul de temperatură 4 - 70°C pentru probele studiate

Atât modulul de elasticitate G' cât și cel de vâscozitate G'' manifestă o zonă de inflexiune în intervalul de temperatura 14 – 20°C fenomen ce nu este întâlnit în martor și care poate fi atribuit doar modificării proprietăților vâsco-elastice în urma adăugării ingredientelor ce conțin pereți celulari din drojdie. Acest comportament oferă indicii privind degradarea termică a anumitor molecule simple provenite din ingredientul derivat din drojdie și trecerea acestora în faza de gel. În urma finalizării tratamentului termic al probelor de carne, atât martorul cât și probele formulate cu pereți din drojdie pierd semnificativ din caracterul vâscos în detrimentul celui elastic. Deoarece probele urmăresc aceeași tendință cu a pasteii de carne de referință concluzionăm că ingredientul adăugat intră în alcătuirea sistemului de carne, formează o structură tip rețea cu acesta și nu rămâne doar în suspensie.

3.1.2. Determinarea capacității de stabilizare a emulsiei

Comportamentul apei într-un preparat din carne este foarte important și este asociat cu numeroși factori (starea post mortem, pH-ul, conținutul de sare și polifosfați, adaosul de proteine și hidrocoloizi etc.). Sub formă legată, sau liberă, apa influențează semnificativ randamentul tehnologic, precum și caracteristicile microbiologice și senzoriale ale produsului finit. Exudatul și apa cedată după tratamentul termic este foarte importantă pentru formularea produselor obținute din emulsii de carne, deoarece acestea pot fi un bun indicator al stabilității sistemului.

Cantitatea de sare și de polifosfați adăugată modifică tăria ionică a mediului, cu implicații directe asupra extracției proteinelor, solubilizării acestora și implicit asupra stabilității sistemului. Studiile menționează o limită de diminuare a cantității de sare în produsele de carne din paste fine (sub 1,74% și mai sus de 1,23% sare) unde funcționalitatea proteinelor extrase este afectată, cu implicații directe privind randamentul tehnologic ¹¹.

Studiul pentru determinarea stabilității emulsiei dorește să elucideze impactul adității ingredientelor derivate din drojii asupra produselor de carne din paste fine unde nivelul cantității de sare se află sub limitele menționate mai sus. Astfel, s-au formulat sisteme martor din carne conform Tabelului 2.3, s-a măsurat fluidul total eliberat (FTE), grăsimea eliberată (GE) precum și apa eliberată (AE) pentru eșantioanele formulate cu diferite concentrații de ingrediente derivate din drojii în medii de carne cu tării ionice diferite.

În ceea ce privește stabilitatea sistemului, probele control (C_1 – formulată cu Mix A; C_2 – formulată cu Mix B) au un comportament diferit una față de cealaltă. Proba control formulată cu Mix-ul A înregistrează valori semnificativi mai mici, în ceea ce privește FTE, (cu până la 5,13%; $p < 0.01$), în comparație cu C_2 – formulată cu Mix B.

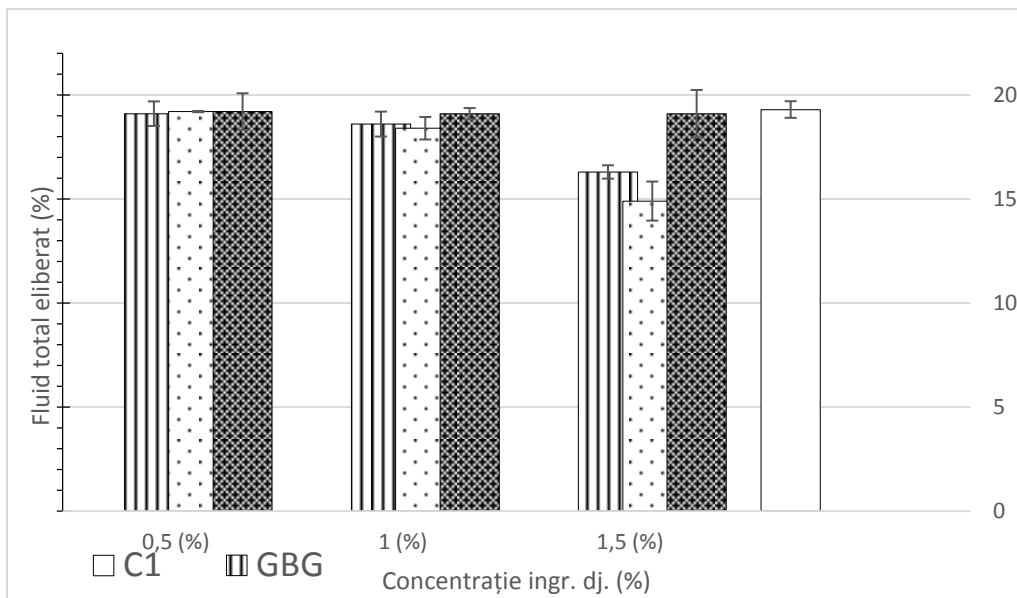


Fig 3.11 Fluidul total eliberat (FTE) pentru diferite concentrații de ingrediente derivate din drojdiile ale sistemelor martor din carne formulate cu Mix A

Impactul adității ingredientelor derivate de drojdie asupra sistemelor de carne realizate cu Mix-ul A nu este unul semnificativ în domeniul de concentrației 0,5% - 1%, însă observăm reduceri semnificative ale FTE atunci când se utilizează o concentrație de 1,5% (Fig 3.11). În cazul

utilizării GBG 1,5% - Mix A, se înregistrează o descreștere a FTE de 3% în comparație cu GIYB 1,5% - Mix A de 4,4%. Combinația dintre GIYB 1,5% și Mix A reușește să aducă nivelul FTE sub 15%, comportament asociat conținutului ridicat de proteine din alcătuirea acestuia care ajută la stabilizarea sistemului prin comportamentul similar unui emulgator.

În cazul utilizării Mix-ului B, unde tăria ionică a mediului scade în comparație cu Mix-ul A, GIYB nu înregistrează modificări semnificative în domeniile mici de concentrație (0,5% - 1%), cu toate acestea observăm o diminuare de 2% a FTE la concentrația de 1,5% față de C₂ (Fig 3.12). Aici în schimb, observăm un comportament interesant al ingredientului bogat în β – glucani din drojzii, acesta reușind diminuări semnificative ale FTE în comparație cu C₂ chiar și în domenii mici de concentrație (de aproximativ 2% la 0,5% - 1%) precum și o diminuare considerabilă de 4% atunci când este utilizat la nivel de 1,5% (Tabelul 3.4).

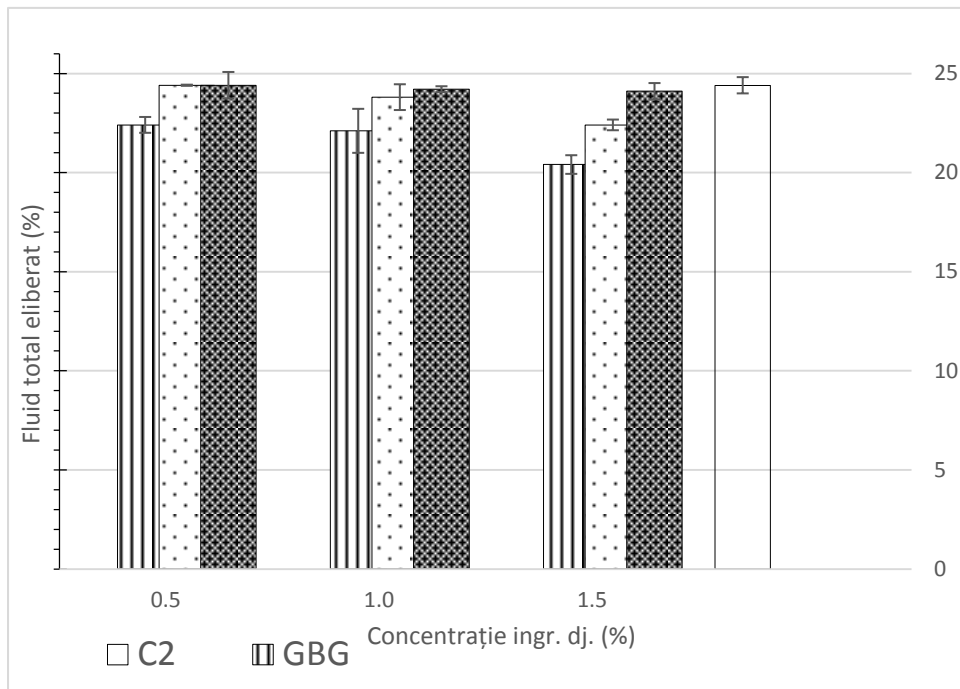


Fig 3.12 Fluidul total eliberat (FTE) pentru diferite concentrații de ingrediente derivate din drojdii ale sistemelor martor din carne formulate cu Mix B

Ambele ingrediente derivate din drojdii manifestă acțiunea de stabilizare a sistemului prin interacțiunea acestora cu apa, AE fiind principalul parametru redus. Cantitatea de grăsime eliberată nu diferă semnificativ față de probele control în cazul ingredientelor adăugate separat, însă acest parametru (GE) crește semnificativ în cazul eșantioanelor amestec (1:1), înregistrând valorile cele mai mari la concentrațiile de 0,5% (4,7% GE) și 1%(4,6% GE).

4.1.1. Măsurarea conținutului de β – glucan și adaptarea metodologiei de analiză la probele din carne

Ingredientele derivate din drojdii (GOLDCELL IY B și GOLDCELL BETA GLUCAN) precum și probele de carne formulate cu acestea au fost supuse analizei pentru determinarea conținutului de β – glucani folosind kitul de analiză achiziționat de la Megazyme. Procedura folosește o metodă colorimetrică pentru determinarea conținutului de β – glucani din drojdii, ciuperci, furaje și alte materiale.

Procesul de hidroliză descompune până la D-glucoză și α – glucanii din probă (glicogen, amidon etc.) de aceea, în paralel, este necesară și cuantificarea acestora. Alfa glucanii sunt hidrolizați până la resturi de D – glucoză de către amiloglucozidaze, apoi, în prezența sistemului enzimatic GOPOD are loc formarea compușilor de culoare ce absorb lumina la lungimea de undă de 510 nm. Pentru fiecare măsurătoare au fost incluse în duplicat probe control de β – glucani (cu un conținut de 49% β – glucani) și în cvadruplicat probe standard de D – glucoză.

După răcirea și mărunțirea probelor, au fost luate în analiză aproximativ 100 mg. În timp ce pentru probele pulberi de ingrediente derivate din drojdii și pentru control nu s-au realizat modificări în ceea ce privește prelungirea timpilor de hidroliză, pentru probele de carne au fost necesare prelungiri ale acestor etape.

4.1.2. Acuratețea (exactitatea) și recuperarea

Acuratețea metodologiei modificate a fost evaluată prin realizarea testelor de recuperare pe probele de carne formulate. Datele procesate au fost utilizate pentru a obține un grafic (Fig 4.2) ce ilustrează corelația dintre concentrația de β – glucan adăugată și cea obținută în urma determinării, corelație care indică faptul că metoda satisface criteriile de acceptare pentru recuperare și astfel asigură acuratețea ($R^2 = 0,986$). Recuperarea variază de la 73,62% (P6) până la 89,73%(P₁) (Tabelul 4.2).

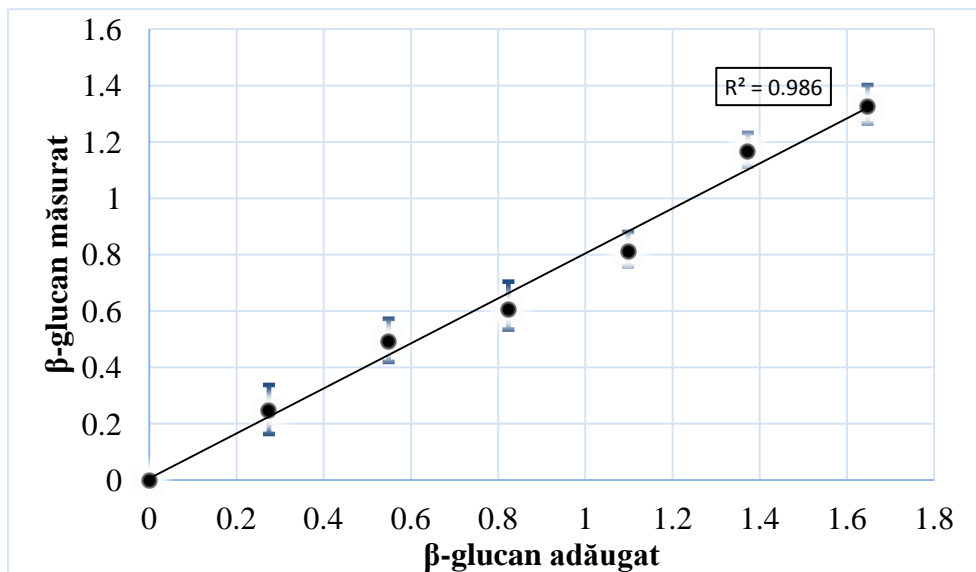


Fig 4.2 Acuratețea (exactitatea) metodologiei aplicate de determinare a conținutului de β – glucani

4.1.3. Precizia

Precizia din cursul unei zile pentru determinările de β – glucan a fost evaluată prin calculul valorilor RSD % (deviației standard relative), valori obținute în urma analizei a șase probe alicote pentru proba formulată cu cea mai mică concentrație de β - glucani. Precizia în zile diferite a fost realizată prin efectuarea analizei în trei zile diferite, valorile RSD% pentru precizia din cursul zilei și pentru precizia pentru zile diferite au fost de 5,3% și 5,8% respectiv, valori considerate acceptabile având în vedere complexitatea matricei analizate (Tabelul 4.3; Tabelul 4.4).

Tabelul 4.3 Precizia metodologiei de determinare a conținutului de β – glucani din probele de carne, în cursul unei zile de analiză

Proba	[β – glucan măsurată (mg)	Valoarea medie (mg)	SD	RSD (%)	p
P ₁	0,2481	0,2388	0,0126	5,3	< 0.05
	0,2357				
	0,2370				
	0,2315				
	0,2580				
	0,2224				

4.1.4. Limita de detecție și limita de cuantificare

Limita de detecție (LOD) și limita de cuantificare (LOQ) sunt definite ca fiind cantitatea minimă la care analitul poate fi detectat și respectiv, concentrația cea mai mică de analit care poate fi calculată cu precizie și acuratețe (exactitate).

$$\text{LOD} = 3 * \text{SD} / a \quad (4.1)$$

și

$$\text{LOQ} = 10 * \text{SD} / a \quad (4.2)$$

unde:

- SD – deviația standard pentru măsurătorile efectuate pe soluțiile blanc
- "a" – panta liniei de calibrare (Fig 4.3).

Pentru această metodă adaptată LOD a fost de 0,033 mg/mL și LOQ de 0,101 mg/mL. LOD este o măsură a sensibilității analitice, concentrațiile detectate sub această valoare au o probabilitate mai mică de detecție; această valoare poate fi folosită pentru a valida metodologia de analiză și pentru a interpreta datele obținute.

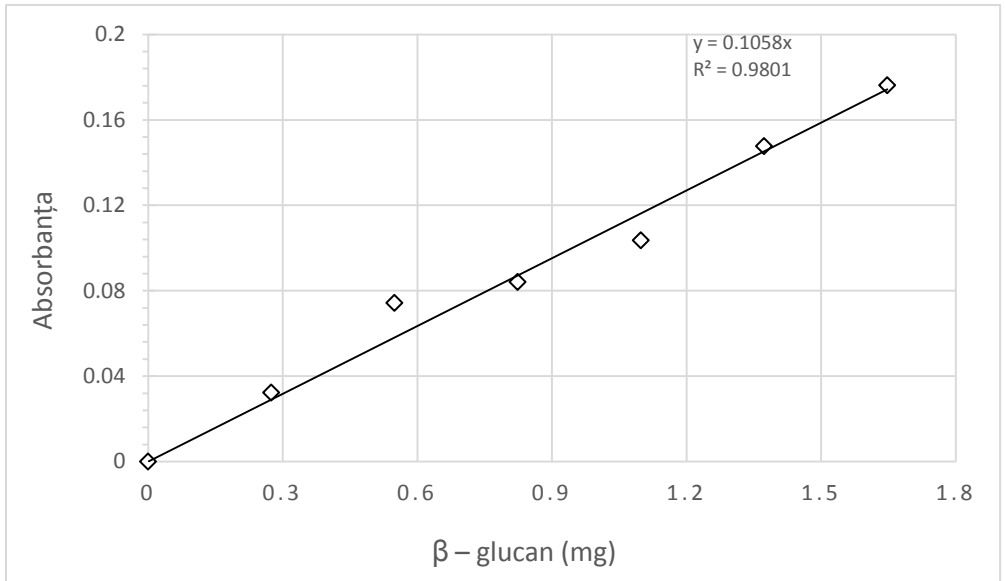


Fig 4.3 Linearitatea metodologiei de determinare a conținutului de β – glucan in intervalul de concentrație studiat

Toate datele de concentrație ale β – glucanului măsurate se află peste valoarea LOD, dovadă a exactității metodologiei adaptate.

5.1.1. Analiza profilului texturii

Analiza profilului texturii determinată instrumental a fost realizată automat, după programarea software-ului dispozitivului. Fiecare determinare a fost realizată pe cel puțin 10 cuburi de probă. Înregistrându-se diferențele de

textură dintre probele de carne realizate cu diferite concentrații de ingrediente derivate din drojdii.

5.1.2. Evaluarea acceptabilității de către consumatori

Gradul de acceptabilitate de către consumatori a fost stabilit cu ajutorul unor persoane instruite. Probele din carne au fost secționare și așezate pe farfurii din plastic în dreptul codului oferit, fiind analizate în spații special amenajate.

5.2. Analiza statistică

Datele ambelor experimente au fost prelucrate statistic, pentru un interval de încredere de $p < 0,05$. Pentru a determina diferențele semnificative dintre datele obținute pentru o singură probă a fost utilizat testul de discriminare a rangurilor ANOVA. După stabilirea ipotezei nule și a ipotezei alternative a urmat evaluarea rezultatelor pentru a stabili între rangurile căror eșantioane există diferențe semnificative prin desfășurarea testelor *post hoc*. Testele *post hoc* presupun aplicarea unei metodologii de analiză similară testului inițial, utilizând de această dată și uneltele statisticii descriptive (valoare mediană, deviație standard, valoare maximă, valoare minimă). Pentru a evidenția între rangurile căror eșantioane există diferența semnificativă s-au rulat teste *post hoc* Friedman – ANOVA, eșantioanele fiind comparate în pereche.

5.2.1. Testul senzorial propriu-zis

În cadrul acestui test au fost comparate datele obținute pentru textura probelor formulate cu diferite concentrații de amestec de ingrediente derivate din drojdii (GIYB și GBG) față de martor.

În urma prelucrării datelor a fost trasat un grafic (Fig 5.10) cu două profiluri ale texturii. Probele a căror concentrație de β – glucan a fost cuprinsă între 0,274 - 0,823 mg (P1 și P3) au un profil similar al texturii cu martorul, iar probele a căror concentrație de β – glucan a fost cuprinsă între 1,098 – 1,647 mg (P4, P5 și P6) au înregistrat un profil diferit față de martor.

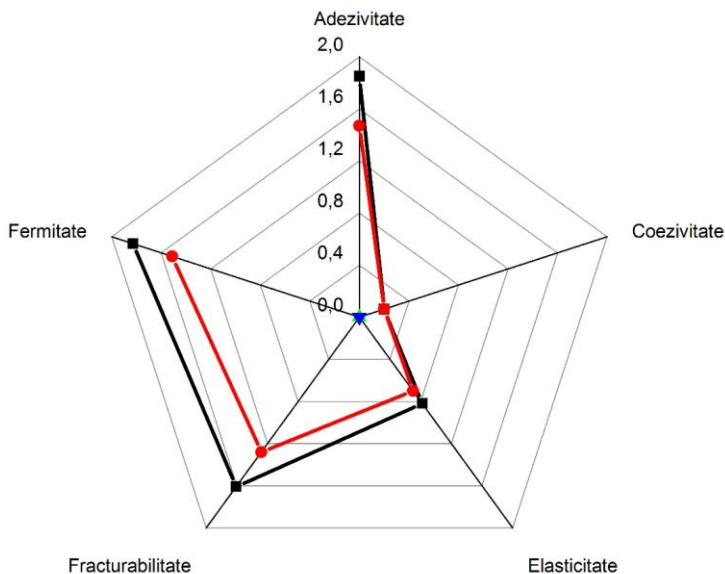


Fig 5.11 Analiza profilului texturii pentru probele din carne formulate cu β -glucani din drojdii. Sunt reprezentate valorile medii fără diferențe semnificative pentru probele P4, P5 și P6 (profilul roșu) și pentru probele M, P1, P2 și P3 (profilul negru), unde M este proba fără β -glucan adăugat iar P-urile sunt probe ce conțin diferite cantități de β -glucan (mg/100 g pastă de carne) potrivit Tabelului 1.

Concluzii generale

Activitățile de cercetare din secțiunea experimentală a tezei au vizat determinarea funcționalității tehnologice a ingredientelor derivate din drojdii cu conținut ridicat de β – glucani, determinarea conținutului de β – glucani din produsul finit și influența acestuia asupra texturii și gradului de acceptabilitate.

Având ca fundament rezultatele prezentate în fiecare capitol experimental se pot formula următoarele concluzii generale:

Rezultatele analizei reologice pe braturile de carne obținute cu pereți celulari de drojdii relevă un comportament similar cu cel al matorului, prin urmare adăugarea de β – glucani din drojdii (în intervalul 0,3% - 0,7% pereți celulari din drojdii) nu modifică semnificativ, în sens negativ, reologia pastei de carne.

Ingredientele derivate din drojdii, indiferent de sursa acestora, pot influența semnificativ capacitatea de reținere a apei, capacitatea de emulsionare și de menținere a stabilității emulsiei, proprietăți aflate în directă corelație cu compoziția fizico – chimică a acestora.

Având în vedere faptul că derivatele din drojdii pot influența stabilitatea sistemului, în sensul de îmbunătățire a acesteia, pot fi folosite cu succes în condițiile de reformulare realizate prin diminuarea cantității de sare și polifosfați.

Atunci când sunt adăugate ingrediente ce pot oferi produselor beneficii privind sănătatea consumatorilor, este imperativă detecția și demonstrarea prezenței lor, motiv pentru care a fost aplicată cu succes o metodă enzimatică sensibilă, pentru determinarea conținutului de β – glucan, înregistrând o bună acuratețe și precizie.

Adaosul de ingrediente derivate din drojdii poate modifica parametrii senzoriali și acceptabilitatea produselor din carne formulate cu acestea. Produsele au un gust și o culoare mai pronunțată în relație cu martorul, iar produsele reformulate, cu un conținut de sare și polifosfați redus sunt percepute mai sărate odată cu creșterea concentrației de derivate din drojdii.

S-a obținut un produs din carne cu valoare nutrițională îmbunătățită prin prisma creșterii conținutului de proteină, diminuării cantității de sare și adaosului de fibre alimentare din drojdii.

Contribuții originale și perspective de continuare a cercetării

Prin rezultatele obținute în urma experimentelor efectuate în cadrul prezentei lucrări, am contribuit la extinderea cunoașterii privind utilizarea derivatelor din drojdii în paste fine din carne prin următoarele elemente științifice:

Am măsurat funcționalitatea tehnologică a diferitelor ingrediente derivate din drojdii ce conțin β – glucani în

diferite procente pentru a stabili fezabilitatea utilizării acestora în pastele fine din carne.

Am optimizat raportul în care anumite ingrediente derivate din drojdii pot fi adăugate în sisteme de carne realizate din paste fine astfel încât produsul finit să rețină caracteristicile de textură similare cu produsul convențional.

Am optimizat metodologia de determinare a β – glucanilor din drojdii și am aplicat-o cu succes în cuantificarea β – glucanilor din sisteme de carne din paste fine. Deoarece prezenta lucrare oferă perspective de a obține un produs finit utilizând un ingredient ce poate conferi mențiuni de sănătate acestuia este necesară și dovedirea prezenței ingredientului în sistem după tratamentul termic.

Am stabilit concentrația ingredientelor derivate din drojdii (utilizate în acest studiu) și implicit a β – glucanului, ce pot fi adăugate în pastele fine de carne pentru obținerea unui produs finit acceptat de consumatori în condiții de reformulare în ceea ce privește conținutul de sare și polifosfați.

Cercetările pot fi extinse pentru a:

Studia impactul adăției de ingrediente derivate din drojdii asupra saramurilor de injectare, din perspective reologice, în cazul fabricării produselor fiert – afumate ce necesită injectare și a influenței asupra retenției saramurii de maturare și a randamentului tehnologic precum și studii perspectivei de reformulare prin acest procedeu.

De interes deosebit ar fi studiul impactului adăției de ingrediente derivate din drojdii asupra reformulării produselor din carne crud uscate, reprezentând produsele din carne cu cel mai mare conținut de sare, având în

vedere considerente microbiologice și impactul asupra timpului de maturare.

Pentru produsele fiert afumate (salamuri și cârnați) ce utilizează emulsii de șorici și/sau sisteme gelificate la rece ce încorporează faza lipidică este interesantă aplicarea derivatelor din drojdii pentru contribuții la stabilizarea sistemului și oferirii aromei caracteristice de carne.

Diseminarea rezultatelor

Articole științifice

1. Technological and sensory role of yeast β - *glucan* in meat batter reformulations. Apostu P.M., Mihociu T. E., Nicolau A. I., Journal of Food Science and Technology 2016, IF 1,241 doi: 10.1007/s13197-017-2696-3.
2. Enzymatic quantification of β – *glucan* in a finely comminuted meat product system. Apostu P. M., Nicolau A. I., Mihociu T. E., Catană L., Food Analytical Methods, 2017, IF 2,167. doi:10.1007/s12161-017-0856-8

Participări la conferințe științifice

Conferințe internaționale

1. "Reformulating meat products with yeast extracts and autolysed yeast". **Apostu P. M.**, Nicolau A. I., HighTech Europe Case study, produse din carne mai sănătoase – cerințe și soluții, 22 – 26 aprilie 2013.
2. "Analysis of the local context of food reformulation in the countries participating in the SALUX project". **Apostu P. M.**, Macri A., "The SALUX project conference, 21 January 2014, Budapest, Hungary."
3. "Antioxidant capacity assessment of the fat soluble vitamins from heat treated meat products formulated with sea buckthorn oil (*Hippophae rhamnoides*) and walnut (*Juglans regia L*)". Mihociu T. E., Israel F. R., Manolache F., Belc N., Ionescu V., **Apostu P. M.**, "3rd International Conference and Exhibition on Nutrition @ Food Sciences, September 23 – 25, Valencia, Spain."
4. "Instrumental measurement of texture of a meat product formulated with yeast cell walls". **Apostu P. M.**, Nicolau A. I., Scientific Conference of Doctoral Schools from "Dunărea de Jos" University of Galați, Third edition- Galați, 4 – 5 June 2015.
5. "Yeast derived ingredients addition to meat model systems: a study". **Apostu P. M.**, Nicolau A. I., "Diaspora în Cercetarea Științifică și Învățământul Superior din România – Diaspora și prietenii săi" Timișoara, 2016.
6. "Yeast β -glucan cuantification in meat model systems". **Apostu P. M.**, Nicolau A. I., Scientific Conference of Doctoral Schools from "Dunărea de

Jos” University of Galați, Fourth edition- Galați, 2nd – 3rd of June 2016.

7. Lipid oxidation when adding vegetal oils and walnut in meat products. Mihociu T. E., Belc N., **Apostu P. M.**, Manolache F., Ionescu V., Mustățea G. 1st Black Sea Association fo Food science and Technology – B-Fost Congress – Macedonia 22- 24 September 2016.

Conferințe naționale

1. ”Perspective de utilizare a derivatelor de drojdie în vederea reformulării unui produs din carne”. **Apostu P. M.**, Nicolau A. I., Conferința Științifică a Școlii Doctorale Dunărea de Jos Galați, CSSD-UDJ, Mai – 2013.

Proiecte de cercetare

1. ”Optimizarea nutrițională a unor preparate din carne cu valorificarea unor plante bogate în principii active (OPTIMEAT).”
2. ”A European network to follow-up the reformulation of manufactured foods in terms of the reduction of the level of fat, saturated and trans fat, salt and sugar. Identification and exchange of good practices on the technical and economical aspects of reformulation in small and medium sized enterprises (SALUX).”

Alte articole asociate perioadei de doctorat

1. Lipid oxidation when adding vegetal oils and walnut in meat products. Mihociu T. E., Belc N., **Apostu P. M.**, Manolache F., Ionescu V., Mustățea G. 1st

Black Sea Association for Food Science and Technology – B-Fost Congress – Macedonia 22- 24 September 2016.

Bibliografie selectivă

1. Desmond, E. Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Sci.* **74**, 188–96 (2006).
2. Devlieghere, F., Vermeiren, L., Bontenbal, E., Lamers, P.-P. & Debevere, J. Reducing salt intake from meat products by combined use of lactate and diacetate salts without affecting microbial stability. *Int. J. Food Sci. Technol.* **44**, 337–341 (2009).
3. Evaluation of Technological Approaches to Salt Reduction. Available at: https://www.fdf.org.uk/resources/salt_reduction_2012.pdf. (Accessed: 7th March 2016)
4. Verma, A. K. & Banerjee, R. Low-sodium meat products: retaining salty taste for sweet health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **52**, 72–84 (2012).
5. Cummings, J. H., Hill, M. J., Bone, E. S., Branch, W. J. & Jenkins, D. J. A. The effect of meat protein and dietary fiber on colonic function and metabolism; II. Bacterial metabolites in feces and urine. *Am. J. Clin. Nutr.* (1979).
6. Shahidi, F. & Synowiecki, J. Protein hydrolyzates from seal meat as phosphate alternatives in food processing applications. *Food Chem.* **60**, 29–32 (1997).
7. Swift C. E., L. C. F. A. J. Comminuted meat

emulsions - the capacity of meat to emulsify fats. 15: 468 (1961).

8. Yogesh, K., Ahmad, T., Manpreet, G., Mangesh, K. & Das, P. Characteristics of chicken nuggets as affected by added fat and variable salt contents. *J. Food Sci. Technol.* **50**, 191–6 (2013).
9. Jaworska, G., Bernaś, E., Biernacka, A. & Maciejaszek, I. Comparison of the texture of fresh and preserved *Agaricus bisporus* and *Boletus edulis* mushrooms. *Int. J. Food Sci. Technol.* **45**, 1659–1665 (2010).
10. Henriques, F., Guiné, R. P. F. & Barroca, M. J. Influence of Drying Treatment on Physical Properties of Pumpkin. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* **7**, 53–58 (2012).
11. Aaslyng, M. D., Vestergaard, C. & Koch, A. G. The effect of salt reduction on sensory quality and microbial growth in hotdog sausages, bacon, ham and salami. *Meat Sci.* **96**, 47–55 (2014).