

Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

Școala doctorală de Inginerie



TEZĂ DE DOCTORAT

CERCETĂRI PRIVIND OBTINEREA, CARACTERIZAREA ȘI UTILIZAREA PROTEINELOR MIOFIBRILARE ÎN INDUSTRIA ALIMENTARĂ

Doctorand,

Ing. Floricel CERCEL

Conducător științific,

Prof. univ. dr. ing. Petru ALEXE

Seria I4: Inginerie industrială Nr 39

GALAȚI

2016

Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

Școala doctorală de Inginerie



TEZĂ DE DOCTORAT

CERCETĂRI PRIVIND OBTINEREA, CARACTERIZAREA ȘI UTILIZAREA PROTEINELOR MIOFIBRILARE ÎN INDUSTRIA ALIMENTARĂ

**Doctorand,
Ing. Floricel CERCEL**

Conducător științific,

Prof. univ. dr.ing.

Petru ALEXE

Referenți științifici

Prof. univ. dr.ing.

Adrian RIVIȘ

Cercetător științific grad I dr.ing.

Nastasia BELC

Prof. univ. dr.ing.

Victor CRISTEA

Seria I4: Inginerie industrială Nr 39

GALAȚI

2016

Seriile tezelor de doctorat sustinute 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**
- Seria U 4: **Filologie - Franceză**

Domeniul **MATEMATICĂ ȘI ȘTIINȚE ALE NATURII**

- Seria C: **Chimie**

Cuvânt înainte...

**„Ca să ai o idee grozavă,
trebuie să ai mai multe idei!”**

(Thomas Edison)

Sunt de formație militară. Când pleci la un drum trebuie să-ți pregătești cu grijă bagajele. Trebuie, să privești cu atenție drumul. Trebuie să crezi că-l poți parcurge că există un capăt ...

Nu știu câți oameni au crezut, cu adevărat, că eu pot parcurge un drum așa de greu.

Nu știu ce forță m-a făcut să merg cu atâta încăpățănare, numai înainte.

Mulțumesc, astăzi, acestei forțe nevăzute cu toată dragostea de care sunt eu în stare.

Știu câțiva oameni care au avut încredere în mine și sunt mândru că am avut încrederea lor deschisă:

Petru ALEXE cel mai sever „antrenor” și, deopotrivă, cel mai bun „părinte”,

Aurelia IONESCU marea doamnă a iluminării mele, meticuloasă, răbdătoare, pedagogă și generoasă dincolo de toate,

Mariana STROIU un paznic dăruit de Dumnezeu pentru toate căutările mele,

Iuliana APRODU pentru maturitatea spiritului științific într-un trup firav sau pentru victoria absolută a spiritului,

Daniela IANIȚCHI prieten adevărat, un prieten cu știința de a comunica la distanță, un prieten cu vocația luminii,

Camelia VIZIREANU ca girant a activității mele efective la doctorat,

Romulus BURLUC, Livia PĂTRAȘCU, Maricica STOICA, Cristian DIMA, Cristian TUDOSE, Lucia UNGUREANU mari prieteni și tovarăși de drum.

Și încă mulți alții din Universitate sau din armată, marii anonimi ai încrederii în mine.

La sfârșit sunt **Ei, Părinții**. Ei au dreptul la ultima lacrimă. De bucurie.

Da, am ajuns la capăt.

Un capăt care reprezintă un alt început de drum...

Mulțumesc!...

Florice**l CERCEL**

CUPRINS

OBIECTIVE.....	VI
STRUCTURA TEZEI DE DOCTORAT	1
LISTA ABREVIERI	2
LISTA FIGURI	6
LISTA TABELE	10
I. STUDIU DOCUMENTAR.....	12
Capitolul 1. Documentare	12
1.1. Introducere.....	12
1.2. Carnea ca materie primă	12
1.2.1. Proteinele cărnii	13
1.2.2. Proprietățile funcționale ale proteinelor musculare.....	19
1.2.3. Obținerea și utilizarea concentratelor de proteine musculare	24
1.3. Formarea filmelor biodegradabile/comestibile	27
1.3.1. Clasificarea filmelor și învelișurilor comestibile/biodegradabile	28
1.3.2. Procedee de obținere a filmelor comestibile/biodegradabile	29
1.3.3. Procedeele uscat de formare a filmelor.....	32
1.4. Metode de obținere a învelișurilor comestibile/biodegradabile	32
1.5. Proprietățile filmelor și învelișurilor comestibile bazate pe proteine.....	33
1.5.1. Solubilitatea filmelor	33
1.5.2. Proprietăți mecanice	33
1.5.3. Permeabilitatea la vapori de apă	33
1.5.4. Permeabilitatea la gaze	34
1.6. Aplicațiile filmelor și învelișurilor comestibile/biodegradabile	34
1.7. Microîncapsulare.....	35
1.7.1. Materialele utilizate pentru încapsulare	36
1.7.2. Tehnici de încapsulare	36
1.7.3. Aplicațiile încapsulării în industria alimentară	38
II. PARTEA EXPERIMENTALĂ	42
Capitolul 2. Materiale și metode.....	42
2.1. Materia primă.....	42
2.2. Obținerea concentratelor proteice liofilizate.....	45
2.3. Metode de analiză	46

2.3.1. Determinarea compoziției chimice aproximative	46
2.4. Proprietățile funcționale ale concentratelor/izolatelor proteice	46
2.4.1. Solubilitatea proteinelor	46
2.4.2. Absorbția apei și uleiului	46
2.4.3. Capacitatea de emulsionare	47
2.4.4. Capacitatea de spumare și stabilitatea spumei	47
2.5. Prepararea fimelor proteice	48
2.6. Proprietățile filmelor bazate pe proteine musculare de pește	48
2.6.1. Aspectul filmului	48
2.6.2. Măsurarea grosimii filmului	48
2.6.3. Permeabilitatea la vapori de apă (PVA)	49
2.6.4. Hidroliza cu protează	49
2.6.5. Solubilitatea filmului în diferite soluții denaturante	49
2.6.6. Solubilitatea filmului în apă	49
2.6.7. Transmisia luminii și transparența	50
2.6.8. Măsurarea proprietăților mecanice	50
2.6.9. Microscopie prin scanare electronica	50
2.7. Prepararea pâinii	51
2.7.1. Determinarea proprietăților pâinii	51
2.7.1.3. Porozitatea miezului de	51
Capitolul 3. Proteine miofibrilare	52
3.1. Studiul proprietăților funcționale ale concentratelor/izolatelor proteice	52
3.1.1. Solubilitatea proteinelor	54
3.1.2. Capacitatea de spumare și stabilitatea spumei	60
3.1.3. Capacitatea de emulsionare	65
3.1.4. Proprietățile de gelificare	71
3.2. Proteine de origine animală și vegetală	84
3.3. CONCLUZII PARȚIALE	85
Capitolul 4. Îmbunătățirea valorii nutritive a pâinii obținută din făină de grâu	87
4.1. Prepararea pâinii	87
4.2. Compoziția chimică a probelor de pâine	87
4.3. Conținutul de aminoacizi esențiali	88
4.4. Efectul proteinei de pește asupra calității pâinii	89
4.5. CONCLUZII PARȚIALE	91

Capitolul 5. Filme comestibile	92
5.1. Compoziția soluției formatoare de film	92
5.2. Compoziția aproximativă a proteinelor miofibrilare de Novac.....	92
5.3. Efectul compoziției și pH-ului soluției formatoare de film asupra proprietăților fizice ale filmelor bazate pe proteine miofibrilare de Novac.....	93
5.3.1. Aspectul filmelor	93
5.3.2. Grosimea filmelor.....	94
5.4. Conținutul de apă, solubilitatea în apă și permeabilitatea la vaporii de apă ale filmelor.....	99
5.4.1. Conținutul de apă și solubilitatea în apă	99
5.4.2. Permeabilitatea la vaporii de apă	104
5.5. Culoarea filmelor	109
5.6. Transmisia luminii și transparența filmelor.....	111
5.7. Proprietățile mecanice ale filmelor bazate pe proteine miofibrilare de Novac.....	113
5.8. Concluzii parțiale	115
Concluzii finale	118
Elemente de originalitate ale tezei de doctorat.....	122
Diseminarea rezultatelor cercetărilor	123
A. Articole publicate în reviste cotate ISI	123
B. Articole publicate în reviste cotate BDI.....	123
DIRECȚII DE DEZVOLTARE ULTERIOARE A CERCETĂRII PRIVIND PROTEINELE MIOFIBRILARE	126
STUDII ÎNCEPUTE DAR NEFINALIZATE	127
BIBLIOGRAFIE	129

OBIECTIVE

Teza **„Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară”** are rădăcini adânci, pentru că primele tatonări au început în urmă cu 9 ani.

Cristalizarea obiectivelor s-a realizat în trei zone: obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare.

1. Obținerea proteinelor miofibrilare.

a. Utilizarea unor surse diferite pentru obținerea proteinelor miofibrilare.

Au fost utilizate diverse cărnuri (porc, vită, ovină, pasăre, pește) și subproduse din carne comestibile (în special organe).

O atenție deosebită s-a acordat identificării surselor cu potențial comestibil direct mai scăzut.

b. Utilizarea unor tehnologii de extracție diferite.

S-a urmărit identificarea documentară a tehnologiilor de extracție a proteinelor miofibrilare și au fost vizate aplicații pentru toate sursele identificate.

Obiectivul urmărește adaptarea unor tehnologii pe surse diferite.

c. Optimizarea tehnologiilor de extracție.

Având în vedere variabilitatea surselor și a tehnicilor de extracție, s-a avut în vedere realizarea unor adaptări care să optimizeze randamentul de obținere a proteinelor miofibrilare.

2. Caracterizarea proteinelor miofibrilare obținute prin diverse tehnici și din surse diferite.

Caracterizarea proteinelor miofibrilare are ca miză înțelegerea funcțională a proteinelor pentru a putea exploata eficient toate proprietățile native.

Demersul științific avea să vizeze următoarele caracteristici:

a. Explorarea proprietăților funcționale generale

- Solubilitate;
- Interrelația proteină-apă (capacitatea de hidratare, capacitatea de reținere a apei, proprietăți de absorbție);
- Capacitatea de emulsionare;
- Capacitatea de spumare;
- Proprietăți reologice.

b. Explorarea unor proprietăți specifice

- structură microscopică;
- proprietatea de formare a filmelor comestibile;
- proprietăți de microîncapsulare.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

- c. Identificarea unor căi de dezvoltare a utilizării proteinelor miofibrilare.
Industria alimentară constituie un domeniu extrem de larg de utilizare.
Obiectivele noastre s-au concentrat în următoarele zone:
- produse din carne;
 - produse de panificație;
 - alimentație publică;
 - alimente funcționale;
 - alimente pentru piscicultură (zona microîncapsulării).

STRUCTURA TEZEI DE DOCTORAT

Teza de doctorat are 155 de pagini, 52 figuri, 22 tabele și este structurată în două părți, respectiv:

- I. STUDIU DOCUMENTAR - în care este prezentat - stadiul actual al cunoașterii prin studiul literaturii de specialitate;
- II. PARTEA EXPERIMENTALĂ - cuprinde rezultate, discuții, concluzii și contribuțiile personale.

Partea experimentală este structurată în patru capitole:

Capitolul 2. **Materiale și metode** – cuprinde enumerarea materiilor prime, obținerea concentratelor proteice liofilizate precum și o descriere a metodelor de lucru folosite;

Capitolul 3. **Studiul proprietăților funcționale ale concentratelor/izolatelor proteice** - proteinele miofibrilare, obținute din surse diferite, au fost caracterizate din punct de vedere funcțional prin determinarea solubilității proteinelor, proprietăților de emulsionare, spumare și de gelificare;

Capitolul 4. **Îmbunătățirea valorii nutritive a pâinii obținută din făină de grâu** - adăugarea de concentrat proteic de pește și concentrat proteic liofilizat de pește în aluat au îmbunătățit valoarea nutritivă a pâinii;

Capitolul 5. **Filme comestibile** – am prezentat obținerea și caracterizarea filmelor comestibile/biodegradabile.

PARTEA EXPERIMENTALĂ se încheie cu un subcapitol de *Concluzii generale și recomandări* prezintă sinteza concluziilor ce se desprind din cercetările efectuate.

LISTA ABREVIERI

A	- hârtie albă;
a*	- scală: roșu (+60) vs. verde (-60) - scară de culoare Hunter Lab;
AbA	- absorbanta citită pe fond alb;
AbN	- absorbanta citită pe fond negru;
ADP	- acidul adenzin difosforic;
AOAC	- Official Methods of Analysis;
ASTM	- American Societatea pentru Testarea Materialelor;
ATP	- acidul Adenzin trifosforic;
b*	- scală: galben (+60)/albastru (-60) - scară de culoare Hunter Lab;
BHA	- Butylated hydroxyanisole;
BHT	- Butylated hydroxytoluene;
CA	- conținutul de umiditate ;
CE	- capacitatea de emulsionare ;
CPMC	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - mușchi de Crap;
CPMC1	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de Crap;
CPMCL	- concentrat proteic miofibrilar liofilizat de crap;
CPMM	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de macrou;
CPMN1	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – mușchi de Novac;
CPMN2	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – mușchi de Novac;
CPMN3	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA - mușchi de Novac;
CPMP1	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – pulpă de porc;
CPMP2	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin Solubilizare în mediu acid (pH 2,7)

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

	și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de porc;
CPMP3	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu apă distilată;
CPMP4	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu tampon fosfat;
CPMPP 1	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – piept de pui;
CPMPP 2	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – piept de pui;
CPMV 1	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de vită;
CPMV 2	- concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de vită;
D x H	- diametru x înălțime;
DC	- mușchi Dicroism circular;
DH	- entalpia denaturării;
DHA	- acid docosahexaenoic;
δ	- unghiul de fază sau de deformare;
EDTA	- acidul etilendiaminotetraacetic;
EFSA	- Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară;
EPA	- acid ecosapentaenoic;
ER	- elongația procentuală la rupere;
ESB	- encefalopatia spongiformă bovină ;
FAO	- Food and Agriculture Organization;
FDA	- Food and Drug Administration din SUA;
G'	- modulul elastic de forfecare (de depozitare sau de înmagazinare);
G/V	- grame/volum;
HCl	- acid clorhidric;
HMM	- meromiozina grea;
INP	- acid inozinic;
IPA	- izolat proteic de anșoa;

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

KCl	- clorura de potasiu;
L*	- strălucirea, luminozitatea, alb/negru; 100/0 - scară de culoare Hunter Lab;
LD	- mușchi Longissimus dorsi ;
LDPE	- filme din material plastic (polietilenă de joasă densitate);
LMM	- meromiozina ușoară;
MDM	- carne dezosată mecanic;
N	- hârtie neagră;
NaBr	- bromură de sodiu;
NaCl	- clorură de sodiu;
NAD	- nicotinamide adenine dinucleotide
NADP	- nicotinamide adenine dinucleotide phosphate;
NaOH	- hidroxid de sodiu;
O	- ulei;
pI/PI	- punct izoelectric;
PM	- mușchi Psoas major;
PSE	- carne cu miopatie exudativa si depigmentare – pH scazut, carne acida;
PVA	- permeabilitate la vapori de apă;
RH	- umiditate relativă;
RT	- rezistența la tracțiune;
S1	- soluție de NaCl 0,6M;
S2	- soluție de uree 1,5M + NaCl 0,6M ;
S3	- soluție de uree 8,0M + NaCl 0,6M ;
S4	- soluție de 2-β-mercaptoetanol 0,5M + uree 8,0M + NaCl 0,6M ;
SA	- solubilitatea în apă;
SFF	- soluție formatoare de film ;
SM	- mușchi Semimembranosus ;
SSP	- proteine solubile în sare;
s.u.	- substanță uscată;

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

SV	- mușchi Serratus ventralis ;
T_0	- temperaturi de începere (inițială);
Tg	- tranziție glass ;
Tm	- temperatura maximă;
TSA	- total substanță uscată solubilizată în apă;
VI	- mușchi Vastus intermedius ;

LISTA FIGURI

Fig. 2.1. Schema generală de extracție a proteinelor miofibrilare – prin spălări repetate;

Figura 2.2. Schema de extracție prin procedeul acid și alcalin;

Figura 3.1. Influența pH-ului asupra solubilității proteinelor din mușchiul de pește;

Figura 3.2. Influența pH-ului asupra solubilității proteinelor din mușchiul de porc: CPMP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; CPMP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4; CPMP3 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu apă distilată; CPMP4 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu tampon fosfat;

Figura 3.3. Influența pH-ului asupra solubilității proteinelor din mușchiul de vită: CPMV 1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; CPMV 2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4.;

Figura 3.4. Influența pH-ului asupra solubilității proteinelor din piept de pui: CPMPP 1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; CPMPP 2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4;

Figura 3.5. Compararea solubilității proteinelor extrase prin metoda alcalină din diferite musculare: CPMC - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - mușchi de Crap; CPMP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – pulpă de porc; CPMV 1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de vită; CPMPP 1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – piept de pui;

Figura 3.6. Compararea solubilității proteinelor extrase prin metoda acidă din diferite surse musculare: CPMP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin Solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de porc; CPMV 2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin Solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de vită; CPMPP 2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – piept de pui;

Figura. 3.7. Influența pH-ului asupra solubilității proteinelor din mușchiul de novac;

Figura 3.8. Influența pH-ului soluției proteice asupra capacității de spumare la concentratele proteice de pește: CPMC1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de Crap; CPMM - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de macrou;

Figura 3.9.. Influența pH-ului soluției proteice asupra stabilității spumei la concentratele proteice de pește: CPMC1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

salină de KCl și EDTA – mușchi de Crap; CPMM - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de macrou;

Figura 3.10. Influența pH-ului soluției proteice și a tehnicii de extracție asupra capacității de spumare a concentratelor proteice din mușchi de porc: CPMP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – pulpă de porc; CPMP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin Solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de porc; CPMP3 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu apă distilată; CPMP4 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu tampon fosfat;

Figura 3.11. Influența pH-ului soluției proteice asupra stabilității spumei la concentratele proteice din mușchi de porc: CPMP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – pulpă de porc; CPMP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin Solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de porc; CPMP3 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu apă distilată; CPMP4 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu tampon fosfat;

Figura 3.12. Influența pH-ului soluției proteice și a tehnicii de extracție asupra capacității de spumare și a stabilității spumei a concentratului proteic din mușchi vită (extracție alcalină);

Figura 3.13. Influența pH-ului soluției proteice asupra capacității de emulsionare a concentratului de proteine miofibrilare de pește ((a – CPMC - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - mușchi de Crap; b – CPMM - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de macrou);

Figura 3.14. Influența pH-ului soluției proteice asupra capacității de emulsionare a concentratului de proteine miofibrilare de porc (a - CPMP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; b - CPMP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4; c - CPMP3 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu apă distilată; d - CPMP4 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu tampon fosfat);

Figura 3.15. Influența pH-ului soluției proteice asupra capacității de emulsionare a concentratului de proteine miofibrilare de vită (a - CPMV1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; b - CPMV2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4);

Figura 3.16. Influența pH-ului soluției proteice asupra capacității de emulsionare a concentratului de proteine miofibrilare de piept de pui (a - CPMPP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; b - CPMPP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4);

Figura 3.17. Modificarea modulului elastic și a unghiului de fază în funcție de temperatură - Omogenat de mușchi de crap (concentrația proteică 16,12%, pH 6,3, viteza de încălzire 1°C/minut);

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

Figura 3.18. Influența temperaturii asupra valorilor modulului elastic și unghiului de fază - Concentrat proteic de mușchi de crap extracție alcalină (CPMC1) (concentrația proteică 83,33% din s.u., viteza de încălzire 1°C/minut);

Figura 3.19. Influența temperaturii asupra valorilor modulului elastic și unghiului de fază - Concentrat proteic de mușchi de crap extracție acidă (CPMC2) (concentrația proteică 82,34% din s.u., viteza de încălzire 1°C/minut);

Figura 3.20. Modificarea modulului elastic și a unghiului de fază în funcție de temperatură - Omogenat de mușchi de macrou (Concentrația proteică 18,74%, pH 5,9, viteza de încălzire 1°C/minut) ;

Figura 3.21. Influența temperaturii asupra valorilor modulului elastic și unghiului de fază - Concentrat proteic de macrou umed, extracție în KCl și EDTA (CPMM) (Concentrația proteică 81,60%, pH 6,4, viteza de încălzire 1°C/minut);

Figura 3.22. Modificarea modulului elastic și a unghiului de fază în funcție de temperatură - Omogenat de mușchi de novac (Concentrația proteică 17,55% , pH 5,9, viteza de încălzire 1°C/minut) ;

Figura 3.23. Influența temperaturii asupra valorilor modului elastic și unghiului de fază - Concentrat proteic de mușchi de novac extracție alcalină (concentrația proteică 85,33% din s.u., viteza de încălzire 1°C/minut);

Figura 3.24. Influența temperaturii asupra valorilor modului elastic și unghiului de fază - Concentrat proteic de mușchi de novac extracție acidă.(concentrația proteică 88,84% s.u., viteza de încălzire 1°C/minut);

Figura 3.25. Influența temperaturii asupra valorilor modului elastic și unghiului de fază - Concentrat proteic de mușchi de novac extracție în KCl și EDTA (concentrația proteică 90,66% din s.u., viteza de încălzire 1°C/minut);

Figura 3.26. Influența concentrației proteice asupra modulului elastic la suspensiile de concentrat de proteine miofibrilare de macrou liofilizat (pH 7,0, viteza de încălzire 1°C/minut);

Figura 3.27. Influența concentrației proteice asupra unghiului de fază la suspensiile de concentrat de proteine miofibrilare de macrou liofilizat(pH 7,0, viteza de încălzire 1°C/minut);

Figura 3.28. Modulul elastic și delta versus temperatură - Omogenat de mușchi de vită;

Figura 3.29. Modulul elastic și delta versus temperatură - Izolat proteic de piept umed de pui extracție alcalină (CPMPP1) ;

Figura 3.30. Modulul elastic și delta versus temperatură - Concentrat proteic de porc liofilizat extracție acidă (CPMP1, 6% proteină, pH 7,0);

Figura 3.31. Modulul elastic și delta versus temperatură - Concentrat proteic de porc liofilizat extracție acidă (CPMP1, 8% proteină);

Figura 4.1 Caracteristicile externe ale probelor de pâine făină de grâu;

Figura 4.2 Caracteristicile interne ale probelor de pâine făină de grâu;

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

Figura.5.1. Filme realizate din soluții de compoziții diferite cu pH acid și alcalin;

Figura 5.2 Variația grosimii filmului pe baza de proteine de Novac în funcție de locația de măsurare (pH 2,7);

Figura 5.3 Influența concentrației de proteine asupra grosimii filmului (pH 2,7);

Figura 5.4 Grosimea filmelor în funcție de adaosul de glicerină și de zona de masurare (pH 2,7);

Figura 5.5 Variația grosimii filmului în funcție de nivelul de glicerină (pH 2,7);

Figura 5.6 Variația grosimii filmului pe baza de proteine din novac în funcție de locația de măsurare și de concentrația de proteine (pH 10,8);

Figura 5.7 Influența concentrației de proteine asupra grosimii filmului (pH 10,8);

Figura 5.8 Grosimea filmelor în funcție de adaosul de glicerină și de zona de masurare (pH 10,8);

Figura 5.9 Variația grosimii filmului în funcție de nivelul de glicerină (pH 10,8);

Figura 5.10 Grosimea filmelor pe bază de gelatină și cicl odextrină în funcție de punctul de măsurare (pH 2,7 și 10,8);

Figura 5.11. Variația conținutului de apă și a solubilității în funcție de conținutul de proteine al soluției formatoare de film cu pH 2,7;

Figura 5.12. Variația conținutului de apă și a solubilității în funcție de conținutul de proteine al soluției formatoare de film cu pH 10,8;

Figura 5.13.. Variația conținutului de apă și a solubilității în funcție de nivelul de glicerină (pH 2,7);

Figura 5.14. Variația conținutului de apă și a solubilității în funcție de nivelul de glicerină (pH 10,8);

Figura 5.15. Variația permeabilității la vapori de apă a filmelor în funcție de timp și nivel de proteine (pH 2,8);

Figura 5.16. Variația permeabilității la vapori de apă a filmelor în funcție de timp și nivel de proteine (pH 10,8);

Figura 5.17. Permeabilitatea la vapori de apă a filmelor în funcție de nivelul de proteine miofibrilare din soluțiile formatoare de filme cu pH 2,7 și 10,8;

Figura 5.18. Permeabilitatea la vapori de apă a filmelor în funcție de adaosul de glicerină din soluțiile formatoare de filme cu pH 2,7 și 10,8;

Figura 5.19. Permeabilitatea filmelor compozite în funcție de timp și pH.

LISTA TABELE

Tabelul 1.1. Compoziția aproximativă a mușchiului scheletal la animale [Forrest, ș.a, 1975];

Tabelul 1.2. Compoziția în aminoacizi a proteinelor componente ale țesutului muscular și conjunctiv și a diferitelor cărnuri alese (mg aminoacizi/g proteină) *MDM – Carne dezosată mecanic. Adaptat după [Pellet and Young, 1990];

Tabelul 3.1. Concentrate/izolate proteice, tehnica de obținere și concentrațiile în substanță uscată și proteine;

Tabelul 3.2. Dependența modulului elastic de temperatură și de metoda de extracție a proteinelor musculare;

Tabelul 3.3. Compoziția chimică globală a unor proteinele de origine vegetală și animală;

Tabelul 3.4. Proprietățile funcționale ale derivatelor proteice analizate;

Tabelul 4.1. Compoziția chimică aproximativă a materiilor prime;

Tabelul 4.2.. Rețetele de pâine conțin - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de Crap – CPMC1 și concentrat proteic miofibrilar liofilizat de crap - CMPCL;

Tabelul 4.3. Conținutul de aminoacizi esențiali (mg. aminoacizi/ gr. proteina) la făină și concentrate proteice de pește (Crap);

Tabelul 4.4. Compoziția chimică a probelor de pâine;

Tabelul 4.5.. Conținutul de aminoacizi esențiali (mg. aminoacizi/ gr.proteină) ale probelor de pâine și FAO;

Tabelul 4.6.. Conținutul de aminoacizi din probele de pâine raportat la conținutul de aminoacizi din proteina etalon FAO;

Tabelul 4.7. Indicii fizici ai probelor de pâine;

Tabelul 4.8.. Evaluarea senzorială a probelor de pâine;

Tabelul 5.1 Compozițiile soluțiilor formatoare de filme;

Tabelul 5.2 Compoziția aproximativă a proteinelor miofibrilare de Novac;

Tabelul 5.3 Grosimea filmelor bazate pe proteine miofibrilare de Novac;

Tabelul 5.4. Conținutul de apă, solubilitatea și permeabilitatea la vapori de apă ale filmelor;

Tabelul 5.5. Parametri de culoare ai filmelor comestibile;

Tabelul 5.6. Coeficienții de corelație Pearson dintre concentrația de proteine și parametri de culoare și între acestia;

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea
proteinelor miofibrilare în industria alimentară

Tabelul 5.7. Transmisia luminii și transparența filmelor;

Tabelul 5.8. Proprietățile mecanice ale filmelor biodegradabile bazate pe proteine miofibrilare de
Novac.

I. STUDIU DOCUMENTAR

Capitolul 1. Documentare

1.1. Introducere

Fabricarea produselor procesate de carne implică utilizarea diferitelor tipuri de cărnuri, organe, subproduse comestibile și slănină (ca materii prime), provenite, în principal, de la bovine, ovine și porcine, alături de un număr mare de ingrediente non-carne, cu rol important în formulările diferitelor produse. Aceste ingrediente stabilizează amestecurile și adaugă caracteristici și arome specifice. În mod tradițional, se utilizează în funcție de tipul produsului agenți de extensie și de îngroșare, apă, sare, nitriți, nitrați, ascorbați/erisorbați, glucide, antioxidanți, inhibitori de mucegai, condimente și aromatizanți.

Agenții de extensie sunt reprezentați de aditivii proteici, definiți ca proteine non-carne. În prezent, sunt disponibili comercial diferiți agenți de extensie și de îngroșare pentru utilizare la salamurile emulsionate, la salamurile cu structură eterogenă și la produsele de carne restructurate pentru îmbunătățirea capacităților de legare a apei și de emulsionare, a caracteristicilor de feliere și a consistenței. De asemenea, ei determină creșterea conținutului de proteine, adaugă arome specifice, îmbunătățesc randamentul la procesare și reduc costurile formulărilor. Cei mai importanți agenți de extensie pentru preparatele din carne sunt proteinele de soia, proteinele din lapte, amidonul, făinurile și drojdia. Cantitatea maximă permisă pentru agenții de extensie la producția de salamuri este de 3,5% și este strict reglementată prin lege în unele țări.

Consumatorii revendică tot mai mult produsele alimentare din carne care conțin diferiți aditivi. Ingredientele proteice de origine vegetală sunt percepute de consumatori ca aditivi, majoritatea fiind modificate chimic sau obținute din plante modificate genetic. În aceste condiții, apare deosebit de oportună dezvoltarea tehnologiilor de obținere a extractelor sau concentratelor proteice din cărnuri cu valoare alimentară și comercială redusă din organe și subprodusele comestibile de abator, utilizate drept ingrediente funcționale pentru produsele procesate din carne.

1.2. Carnea ca materie primă

Carnea este definită ca totalitatea țesuturilor care pot fi consumate ca aliment sau constituie materia primă de bază pentru obținerea unei game largi de produse din carne. Carnea este reprezentată de țesuturile moi ale carcabei: mușchi scheletali (30-65%), țesut gras (10-45%) și țesuturi conjunctive, vasculare și nervoase (Banu și colab., 1997). Alături de carne și unele organe interne și subproduse comestibile de abator de la diverse specii (bovine, porcine, ovine) se folosesc ca ingrediente pentru constituirea formulărilor de produse specifice din carne.

Chimia și comportamentul funcțional al cărnii, ca materie primă pentru procesare, derivă din caracteristicile țesutului muscular. Mușchiul este un țesut biologic cu o înaltă organizare, cu o structură intrinsecă complexă, o compoziție unică și foarte activ din punct de vedere biochimic. Anatomia, rigor mortis, compoziția și proprietățile funcționale sunt importante în utilizarea țesutului muscular în produsele de carne procesate (Ionescu și colab., 2009). Compoziția cărnii este foarte importantă pentru compoziția produsului finit. Din punct de vedere nutrițional, țesuturile musculare sunt bogate în proteine, care conțin toți aminoacizii esențiali, fiind totodată o sursă bună de zinc, seleniu, fosfor, fier, vitaminele B6, B12, niacină, colină (Lawrie, 2006), unele cărnuri fiind bogate și în vitamina K (Schurger și colab., 2000). Țesutul muscular are un conținut scăzut de glucide și fibre dietetice. Dacă gustul cărnii poate varia în funcție de specia

animalului, compoziția chimică a țesutului muscular (carne slabă) este relativ constantă (tabelul 1.1). Conținutul de grăsime din carne poate varia foarte mult în funcție de specie și de rasă, de modul de creștere a animalului, de partea anatomică a corpului și de metodele de abatorizarea și de prelucrare. Contribuția nutritivă a grăsimii este, în principal, cea calorică, spre deosebire de proteine care au, în special, rol plastic. Prin creșterea conținutul de grăsimi din carne scade valoarea nutritivă a acesteia. În plus, în carnea grasă există colesterol asociat cu grăsimea saturată.

Tabelul 1.1. Compoziția aproximativă a mușchiului scheletal la animale [Forrest și colab., 1975]

Component chimic	%	Component chimic	%
Apă (de la 65 până la 80 %)	75,0	Lipide neutre (0,5 până la 1,5%)	1,0
Proteine (de la 16 până la 22%)	18,5	Fosfolipide	1,0
Miofibrilare	9,5	Cerebrozide	0,5
Miozină	5,0	Colesterol	0,5
Actină	2,0	Substanțe azotate neproteice	1,5
Tropomiozină	0,8	Creatina și fosfocreatina	0,5
Troponine	0,8	Nucleotide: Acidul Adenozin trifosforic (ATP); Acidul Adenozin difosforic (ADP), etc.	0,3
Proteina M	0,4	Aminoacizi liberi	0,3
Proteina C	0,2	Peptide (anserină, carnozină etc.)	0,3
α-actinina	0,2	Alte substanțe neproteice (creatinină, ureea, inozina, acidul inozinic (IMP), (NAD), (NADP))	0,1
β-actinina	0,1	Glucide și substanțe extractive neazotate (0,5 până la 1,5%)	1,0
Sarcoplasmatică	6,0	Glicogen (0,5 până la 1,3%)	0,8
Proteine sarcoplasmatică solubile și enzime mitocondriale	5,5	Intermediari și produse ale metabolismului celular (hexoze și triozofosfați, acid lactic, acid citric, acid fumaric, acid succinic, etc.)	0,1
Mioglobina	0,3	Constituenți anorganici	1,0
Hemoglobina	0,1	Potasiu	0,3
Citocromi and flavoproteine	0,1	Fosfor (fosfați și fosfor anorganic)	0,2
Proteinele stromale	3,0	Sulf (inclusiv sulfați)	0,2
Colagen și reticulină	1,5	Clor	0,1
Elastină	0,1	Sodiu	0,1
Alte proteine insolubile	1,4	Alte (magneziu, calciu, fier, cobalt, cupru, zinc, nichel, mangan etc.)	0,1
Lipide (1,5 până la 13,0%)	3,0	-	

1.2.1. Proteinele cărnii

În general, proteinele sunt componentele funcționale de bază ale produselor alimentare procesate cu conținuturi ridicate de proteine, ele determinând proprietățile texturale, senzoriale și nutriționale ale acestora. Produsele alimentare includ diferite tipuri de proteine cu proprietăți structurale, fizico-chimice, funcționale și sensibilități diferite la încălzire și alte tratamente. Proprietățile funcționale ale proteinelor sunt acele proprietăți fizico-chimice care afectează

comportamentul lor în timpul procesării, depozitării și consumării sistemelor alimentare și contribuie la calitatea și atributele senzoriale ale produselor alimentare (Kinsella, 1976).

În general, proprietățile funcționale ale proteinelor importante în aplicațiile alimentare sunt:

- *hidrofile*: solubilitatea, umflarea și capacitatea de reținere a apei, proprietățile de spumare și capacitatea de gelificare;
- *hidrofile-hidrofobe*: capacitatea de emulsionare, de spumare;
- *hidrofobe*: capacitatea de gelificare, activitatea de suprafață.

În timpul vieții animalului, proteinele cărnii îndeplinesc funcții extrem de variate, ca reflectare a unui înalt grad de organizare structurală și de specializare. Din punct de vedere structural, proteinele sunt formate din unul sau mai multe lanțuri polipeptidice, fiecare constând din mai mulți radicali de aminoacizi, legați covalent prin legături peptidice. Toate proteinele, indiferent de funcție sau proveniență, sunt formate dintr-un grup de 20 α aminoacizi [compuși chimici care conțin două grupări funcționale ($-\text{NH}_2$ și $-\text{COOH}$) și catene diferite], aranjați în diferite secvențe specifice. O proteină nativă poate prezenta structuri secundare, terțiare și cuaternare stabilizate prin interacțiuni hidrofobe, legături de hidrogen și interacțiuni electrostatice între grupările funcționale ale aminoacizilor. În plus, structura pliată a proteinei poate fi stabilizată în continuare prin legături covalente *cross* puternice.

Compoziția chimică elementară a majorității proteinelor este similară, ele conținând în molecula lor: carbon (50 - 56%); oxigen (20 - 23%); hidrogen (6 - 8%); azot (15 - 17%); sulf (0 - 2%); fosfor (0 - 1%).

Proteinele cărnii reprezintă, după apă, componenții cei mai importanți ai organismelor animale. Proteinele musculare joacă un rol crucial în timpul prelucrării cărnii, fiind responsabile pentru formarea structurilor coezive și texturilor ferme induse termic la produselor bazate pe carne, gust și culoare.

Folosind drept criteriu de clasificare, localizarea proteinelor în țesutul muscular, ele se pot fi grupate în trei categorii: *proteinele sarcoplasmice*, proteinele granulare sau ale organelor celulare, nucleu, mitocondrii sau sarcozomi, de o deosebită importanță în metabolismul energetic al mușchiului; *proteinele miofibrilare* (funcționale sau structurale și regulatorii) și proteinele stromei, ce conțin substanțe de natură colagenică (Ionescu și colab., 2009).

1.2.1.1. Proteinele sarcoplasmice

Proteinele sarcoplasmice reprezintă un ansamblu de proteine solubile în apă și în soluții saline cu tărie ionică $\mu=0,15$ sau mai mică și la pH neutru, localizate în sarcoplasmă. Ele reprezintă 25-44% din totalul proteinelor mușchiului scheletal în funcție de specia animalului (Mackie, 1993; Ionescu și colab., 2006; Wahyuni și colab., 1998), conțin cel puțin 100-200 proteine diferite, în majoritate, enzime ale sistemului glicolitic, care participă la generarea ATP-ului pe cale anaerobă (glicoliză sarcoplasmică), la sinteza glucidelor și proteinelor, enzime mitocondriale implicate în transferul de electroni, în sinteza lipidelor și în ciclul acidului citric, precum și enzime lizozomale proteolitice.

Această grupă de proteine intervine în transformările biochimice care au loc în mușchi după moartea animalului (activitatea glicolitică și modificarea pH-ului cărnii proaspete) și în determinarea unor caracteristici senzoriale ale cărnii: miros, gust și culoare.

Proteinele sarcoplasmice au mase moleculare relativ mici (16 - 160 kDa), sunt încărcate electric, se separă ușor prin electroforeză și prezintă diferențe genetice, în funcție de specia animalului. Ele sunt reprezentate, în principal, de: miogen, mioglobină, mioalbumină și globulina X. Proteinele sarcoplasmice sunt proteine globulare care conțin numeroase grupări hidrofile și

grupări –SH, situate în interiorul moleculelor. Proteinele sarcoplasmatiche au proprietăți funcționale slabe, dar pot forma geluri și filme proteice în condiții speciale.

În general, proteinele sarcoplasmatiche au activitate de suprafață ridicată și acționează ca emulgatori și au tendința puternică de spumare.

1.2.1.2. Proteine miofibrilare

Proteinele miofibrilare sunt localizate în miofibrile, contribuie la organizarea filamentosă a mușchiului și participă direct la procesul mecanochimic al contracției și al rigidității musculare. Proteinele structurale reprezintă fracțiunea de proteine cea mai bogată din țesutul muscular (54-70% din totalul proteinelor țesutului muscular).

Proteinele miofibrilare, din punct de vedere tehnologic, contribuie la frăgezimea cărnii, determină capacitatea de reținere a apei și de hidratare a cărnii, capacitățile de emulsionare a grăsimilor și de gelificare. Proteinele miofibrilare prin aportul mare de aminoacizi esențiali, contribuie cu circa 70% din valoarea nutritivă adusă de carne. (Banu și colab., 1980, Ionescu și colab., 2009).

Proteinele miofibrilare au solubilitate intermediară între proteinele sarcoplasmatiche și stromale (insolubile în apă, dar solubile în soluții salină cu tărie ionică mai mare de 0,3 sau în soluții cu pH controlat). Ele sunt proteine fibrilare care se asociază între ele cu formarea unor structuri complexe paralele (Cuq și colab., 1995). Proteinele miofibrilare se împart în:

- *proteine contractile*: actina, miozina și actomiozina;
- *proteine reglatoare*: tropomiozina și complexul troponinic;
- *proteine citoscheletale*: nebulina și titina;
- *componente proteice minore cu funcții necunoscute*: proteinele M, C și F, α și β -actinina.

Proteinele miofibrilare îndeplinesc funcționalități multiple, care includ:

- capacitatea de gelificare;
- capacitatea de emulsionare;
- capacitatea de legare a apei;
- adeziunea.

Datorită acestor proprietăți proteinele miofibrilare tind să dezvolte o varietate de produse restructurate, texturizate, cum ar fi luncheon meat, șunci dezodate și restructurate, diferite tipuri de frankfurter, surimi și produse pe bază de surimi, filme comestibile bazate pe proteine miofibrilare.

Factorii care influențează funcționalitatea proteinelor miofibrilare sunt:

- a. *factori intrinseci*: compoziția în aminoacizi, secvențele peptidice, aranjamentul spațial, mărimea proteinelor, forma moleculei proteice, solubilitatea, concentrația proteinei extrase în faza apoasă, suprafața de hidrofobicitate și tipul de fibre musculare;
- b. *factori extrinseci*: pH, temperatură, viteza de încălzire, gradul de mărunțire și de oxidare, prezența diferitelor componente nonproteice, precum lipidele, mineralele, glucidele, acizii, aromele și alți factori de procesare care influențează structura proteinelor.

Miozina

Din punct de vedere structural, molecula asimetrică de miozină este un hexamer (2 trimeri) cu masa moleculară de 480 - 520 kDa. Ea conține două lanțuri grele, fiecare având aproximativ 2000 de resturi de aminoacizi. Cele două lanțuri polipeptidice grele conțin câte un domeniu N-

terminal și un domeniu C-terminal, ultimul fiind găsit la fiecare tijă pe o morfologie spiră-spirală, care menține cele două lanțuri grele împreună.

Miozina II, prezentă în mușchiul animalelor, are două capete globulare, cu lungimea de 15-18 nm și diametrul de 4,5 nm, atașate fiecare flexibil de sfârșitul uneia dintre cele două tije lungi cu configurație α -helix, cu profil unic. Tija moleculei de miozină are lungimea de 135-150 nm și diametrul de 1,5 nm. Miozina conține 4 lanțuri ușoare (câte 2 pentru fiecare cap globular, cu masa moleculară de 20 kDa), care leagă lanțurile grele în regiunea gâtului între cap și tijă. De fiecare lanț greu se leagă un lanț ușor esențial fosforilabil și un lanț ușor reglator, nefosforilabil. Lanțurile ușoare conțin 40-42 grupări -SH per moleculă, care funcționează ca modulatori ai activității ATP-azice a miozinei (Ionescu și colab., 2009) și participă la formarea legăturilor *cross* în timpul tratamentului termic la fabricarea produselor procesate de carne și a filmelor comestibile pe bază de proteine miofibrilare.

Miozina reprezintă 35% din proteinele musculare totale și 50-55% din conținutul proteic al miofibrilei. Miozina este o proteină cu valoare biologică ridicată, ea are o compoziție echilibrată în aminoacizi și conține toți aminoacizii esențiali. Conținutul ridicat de aminoacizi monoaminodicarboxilici (42%) determină caracterul pronunțat acid al miozinei, care are pH-ul punctului izoelectric la 5,4. Conținutul de aminoacizi diaminomonocarboxilici se situează la nivel de 19,3%.

Actina

Actina este o proteină globulară universală implicată în formarea miofilamentelor subțiri, componente majore ale citoscheletului. În fibrele musculare, ea joacă rol esențial, împreună cu miozina, în contracția musculară, fiind implicată direct în conversia energiei chimice în lucru mecanic. G-actina este formată dintr-un singur lanț polipeptidic, constituit din 375 resturi de aminoacizi, cu lungimea de 29 nm, diametrul de 2,5 nm și are masa moleculară de 24-70 kDa. Ea prezintă proprietatea de a polimeriza cu formare de filamente, actina F, cu masă moleculară de $1,5 \cdot 10^6$ kDa.

Tropomiozina

Tropomiozina este asociată cu actina și cu complexul troponinic. Asocierea contribuie la stabilizarea mecanică a fibrelor musculare. Troponinele sunt localizate în filamentele de F-actină, în lungul lanțurilor de tropomiozină. Atât α -, cât și β -actinina au funcții de reglare în mușchi. Proteina M are funcție enzimatică și structurală. Proteina C constă numai dintr-un singur lanț polipeptidic care se atașează la tija moleculei de miozină.

Titina și nebulina

Titina și nebulina constituie proteine structurale. Titina este o proteină gigant, cu masa moleculară de 2800 kDa. Ea reprezintă a treia proteină miofibrilară din punct de vedere cantitativ (Trinich, 1991). Filamentele de titină sunt paralele cu filamentele de actină și de miozină și contribuie la formarea și stabilizarea organizării acestora. Nebulina este o proteină structurală importantă a mușchiului și reprezintă 3-4% din proteinele miofibrilare totale. Nebulina și F-actina sunt direct asociate pe toată lungimea filamentelor ușoare.

Tropomiozina, complexul troponinic, titina și nebulina ca și fracțiunea minoră de proteine miofibrilare sunt puțin importante în determinarea proprietăților funcționale ale proteinelor miofibrilare.

1.2.1.3. Proteinele țesutului conjunctiv

Proteinele țesutului conjunctiv (proteinele stromale) transmit mișcarea generată de proteinele miofibrilare la scheletul corpului, de aceea proteinele țesutului conjunctiv sunt deosebit de rezistente și puternice.

Colagenul este proteina majoră a țesutului conjunctiv din carne și este similar celui găsit în piele, ligamente și tendoane. Conținutul de colagen variază cu tipul de mușchi și chiar în cadrul aceluiași mușchi, dar nu cu vârsta animalului, el devenind mai tare la animalele adulte și mai abundent la locul de atașare a mușchiului de os.

Mușchii utilizați pentru locomoție, cum sunt mușchii de la picioare au niveluri mai mari de colagen decât mușchii utilizați ca suport, cum sunt mușchii dorsali.

Proteinele stromale sunt insolubile în apă și soluții saline, dar sunt solubile în soluții acide sau alcaline. În mușchi, proteinele stromale, reprezentate în principal de colagen, se găsesc în epimisium, perimisium și endomisium, cu rol limitat în structura și textura cărnurilor tocate. Totuși, atunci când colagenul este suficient hidratat, se umflă și este convertit în gelatină, care exercită capacitate remarcabilă de legare a apei și de formare rapidă a gelurilor la răcire. Proteinele respective sunt importante pentru produsele procesate din materii prime cu conținut mai mare de țesut conjunctiv care sunt mai ieftine, au impact asupra texturii și calității produsului finit (aspicuri, tobe). În tabelul 1.2 este indicată compoziția în aminoacizi a unor cărnuri și proteine.

Tabelul 1.2. Compoziția în aminoacizi a proteinelor componente ale țesutului muscular și conjunctiv și a diferitelor cărnuri alese (mg aminoacizi/g proteină)

*MDM – Carne dezosată mecanic. Adaptat după [Pellet and Young, 1990]

Aminoacizi	Carne de vită	Carne de porc	Carne de oaie	Cărnuri procesate prin sărare	MDM*	Actină	Miozină	Tropomiozină	Colagen de bovină	Elastină de bovină
Acid aspartic	88	89	85	91	88	107	115	117	43	9
Treonină	40	51	49	49	32	77	54	31	18	9
Serină	38	40	39	42	38	8	41	40	35	7
Acid glutamic	144	145	144	129	142	40	229	320	99	19
Prolină	54	46	48	52	61	0	25	6	114	106
Glicină	71	61	67	80	82	3	26	9	187	189
Alanină	64	63	63	64	67	8	59	89	74	158
Valină	57	50	50	52	61	9	47	29	23	140
Metionină	23	25	23	22	28	2	33	25	8	Urme
Cistină	14	13	13	15	15	2	11	9	-	-
Izoleucină	51	49	48	49	39	4	55	39	15	31
Leucină	84	75	74	74	80	2	108	121	28	72
Tirozină	32	30	32	29	25	7	33	29	67	13
Fenilalanină	40	41	39	40	43	8	47	9	21	52
Aminoacizi din grupa histidinei	29	32	27	28	30	7	24	10	8	1
Lizină	84	78	76	74	78	0	146	184	30	4
Arginină	66	64	69	66	77	4	79	75	75	11

Colagenul

Colagenul este o proteină fibroasă stromală extrasă din țesuturile conjunctive, tendoane, piele, oase și sistemul vascular, care sunt deșeuri la prelucrarea cărnii. Colagenul este constituit din trei lanțuri polipetidice paralele, care se combină pentru a forma un triplu helix (Haug și colab., 2004).

Gelatina se formează atunci când colagenul este expus la un tratament termic blând în condiții acide sau alcaline (Badii și Howell, 2006). În acest proces, colagenul este parțial denaturat, dar la răcire se reformează parțial structura de helix triplu, alături de domenii nestructurate. Materialul proteic rezultat este definit ca gelatină.

Gelatina conține o mare cantitate de prolină, hidroxiprolină, lizină și hidroxilizină, care pot da reacții de condensare de tip aldol, pentru a forma legături *cross* intra- și intermoleculare între lanțurile de proteine. Gelatina este utilizată în industria alimentară pentru a îngroșa și texturiza alimentele, datorită proprietăților sale bune de gelifiere, ca agent de spumare datorită proprietăților bune de suprafață și în industria farmaceutică de mult timp. Recent, gelatinele marine au căpătat un mare interes din cauza stigmatului asociat cu encefalopatia spongiformă bovină (ESB), un risc potențial pentru gelatina obținută din țesutul collagen de la bovine. Gelatina de pește este obținută din pielea și oasele speciilor de pești care trăiesc în apele reci. Numai în Alaska, peste un milion de de lire sterline sunt generate anual prin valorificarea subproduselor acvatice (Avena-Bustillos și colab., 2006). Gelatina de pește are compoziția în aminoacizi diferită de cea a gelatinei de mamifere, ea conține un procent mai mic de prolină și hidroxiprolină; prin urmare, gelatinele de pește au temperaturi de topire și gelifiere mai scăzute (Balian și Bowes 1977).

1.2.2. Proprietățile funcționale ale proteinelor musculare

1.2.2.1. Capacitatea de reținere a apei

Capacitatea de reținere a apei este una din cele mai importante proprietăți ale cărnii la produsele procesate, ea afectează randamentul și suculența produsului finit. Capacitatea de reținere a apei este definită ca proprietatea cărnii de a reține apa proprie și adăugată în timpul aplicării unei forțe externe, cum sunt mărunțirea, cuterizarea, presarea și tratamentul termic. Proprietățile fizice importante ale cărnii crude care includ culoarea, textura și fermitatea sunt determinate, în mare măsură, de capacitatea cărnii de a reține apa; suculența și frăgezimea cărnii fierte fiind numai parțial dependente de aceasta însușire a cărnii. În mușchi, există trei forme de apă: legată, imobilizată și liberă. Apa legată reprezintă aproximativ 4-5% din apa mușchiului și este puternic legată de proteine (Banu și colab., 1997). Apa imobilizată este legată de moleculele de apă din stratul care înconjoară proteinele, reținerea acestor molecule de apă este cu atât mai slabă, cu cât crește distanța față de grupele reactive ale proteinelor. Apa liberă este apa reținută numai prin forțele de suprafață. Modificarea capacității de reținere a apei a cărnii este consecința modificării sarcinilor proteinelor și a mărimii spațiilor dintre filamentele subțiri și groase ale miofibrilelor, disponibile pentru a fi ocupate de apa imobilizată și liberă.

Proteinele miofibrilare sunt compuși macromoleculari cu structură tridimensională. Ele au în structura lor atât sarcini electrice pozitive, cât și negative, sarcini care acționează ca polii magnetilor, în sensul că sarcinile de sens opus se atrag între ele, iar cele de același sens se resping. Dacă numărul de sarcini negative crește, spațiul dintre proteine devine mai mare deoarece lanțurile proteice cu sarcini negative se resping între ele. Punctul izoelectric al proteinelor este acel punct la care numărul sarcinilor pozitive este egal cu numărul sarcinilor

negative și sarcina netă a proteinei este zero. Punctul izoelectric al proteinelor cărnii se situează în jurul pH-ului de 5,4-5,6 (pH-ul ultim rezultat după dezvoltarea normală a rigidității musculare pentru carnea de porc), pH-ul la care sarcina netă a proteinei este zero, spațiul dintre lanțurile polipeptidice este cel mai mic și capacitatea de reținere a apei are valoarea cea mai redusă.

Dacă pH-ul cărnii crește peste 5,4 (crește sarcina netă negativă), lanțurile proteice se resping între ele, spațiul dintre proteine crește, ca și capacitatea de reținere a apei. Aceste evenimente se produc la adaos de sare și polifosfați la carne. Clorura de sodiu dizolvată în apă se găsește în stare disociată ca ioni de Na^+ și de Cl^- . Ionii de Na^+ au o mică influență asupra spațiului liber dintre lanțurile proteice, dar ionii de Cl^- acționează prin creșterea sarcinii negative a proteinelor. De asemenea, adaosul de sare reduce punctul izoelectric al proteinelor la pH 4,5, cu toate că ea crește ușor pH-ul cărnii. Rezultatul adăugării sării este creșterea spațiului dintre lanțurile proteice și ameliorarea capacității de reținere a apei. Proteinele miofibrilare care leagă destulă apă devin solubile, nu se vor separa sau nu vor precipita în soluția electrolitică din carne. Cantitatea de proteine miofibrilare solubilizată este esențială pentru legarea bucăților de carne între ele la produsele de carne restructurate (semiconserve) și pentru caracteristicile de adezivitate, vâscozitate și de legare ale bradului (salamuri).

1.2.2.2. Proprietățile de gelificare ale proteinelor miofibrilare

Proteinele miofibrilare sunt responsabile pentru proprietățile texturale ale produselor procesate din carne (Yasui și colab., 1980; Asghar și colab., 1985). În general, ele sunt extrase în soluții saline cu tărie ionică mare (0,3-0,6M), sunt cunoscute ca proteine solubile în sare (SSP) și reprezintă 10% din greutate musculaturii striate (Asghar și colab., 1985). Dintre proteinele miofibrilare, miozina și actina contribuie cel mai mult la dezvoltarea caracteristicilor de gel la produsele procesate din carne sărată.

Gelificarea miozinei indusă termic conduce la formarea unei rețele cu structură tridimensională, care reține apă într-o stare mai puțin mobilă (Yasui și colab., 1979). Proprietățile fizice și reologice ale gelurilor de proteine globulare depind mai mult de dimensiunea moleculară și sunt mai puțin influențate de compoziția în aminoacizi a proteinei sau de secvența acestora (Damodaran, 1989), ceea ce probabil este valabil și în cazul proteinelor miofibrilare. În timpul formării rețelei este îmbunătățită retenția apei și a grăsimii; randamentul, textura și coeziunea produsului finit sunt condiționate de capacitatea de gelificare a proteinelor miofibrilare (Smith și colab., 1988).

Factorii care influențează proprietățile de gelificare indusă termic au fost studiate pentru diferite proteine miofibrilare, îndeosebi, miozina de vită, porc, pasăre, pește și iepure (Fretheim și colab., 1986; Smith și colab., 1988; Hennigar și colab., 1989; Chan și colab., 1992; Xiong, 1992; Lan și colab., 1995a, 1995b; Boyer și colab., 1996a, 1996b). Gelificarea proteinelor musculare implică denaturarea parțială, urmată de agregarea ireversibilă a capetelor miozinei prin formarea legăturilor disulfitice și tranziția corpului moleculei de la forma de helix la spirală care conduce la o rețea cu structură tridimensională (Samejima și colab., 1981; Smith și colab., 1988; Sharp și colab., 1992; Stone și colab., 1992). În timpul gelificării, miozina și alte proteine solubile în sare suferă modificări complexe ale caracteristicilor reologice, în funcție de temperatura și pH-ul la care sunt expuse (Egelandsdal și colab., 1986; Xiong, 1993).

Proteinele miofibrilare, extrase în soluții saline, participă în mod diferențiat la capacitatea de formare a gelurilor, miozina și actomiozina având importanță deosebită în gelificarea pastei de carne și a exsudatului la tratament termic sau sub acțiunea concentrațiilor ridicate de sare (formarea texturii salamurilor crude-uscate). Actina manifestă o capacitate de gelificare mult mai

redușă în comparație cu miozina, ea prin legare de miozină modifică caracteristicile de gelificare ale acesteia, în sensul reducerii acesteia, pe când tropomiozina nu manifestă efect asupra gelificării pastei de carne.

Caracteristicile de gelificare ale actomiozinei sunt determinate de porțiunea corespunzătoare miozinei, în special, de lanțul greu al moleculei de miozină, care prezintă specificitate de specie. Mai mult de jumătate din aminoacizii, care constituie molecula de miozină, sunt hidrofilii și aproximativ 80% din aceștia sunt aminoacizi cu caracter acid sau bazic și care prin expunere la suprafața moleculei intră în contact direct cu apa.

La realizarea rețelei structurale tridimensionale în timpul gelificării solului de proteine miofibrilare participă legăturile saline, de hidrogen, disulfitice și interacțiuni hidrofobe. Legăturile saline intermoleculare se formează între aminoacizii lanțurilor proteice încărcate cu sarcini diferite și au rol important în stabilizarea structurii rețelei diferitelor geluri alimentare.

În plus, în structura proteinelor miofibrilare există mulți aminoacizi capabili să formeze legături de hidrogen intermoleculare. Treonina, serina, hidroxiprolina și tirozina conțin o grupare hidroxil și resturile de prolină și hidroxiprolină conțin o grupare imino, ambele acționând ca donori sau acceptori de protoni, pe când resturile de glutamină și asparagină conțin o grupare carbonil care acționează ca un acceptor de protoni. Legătura intermoleculară disulfitică (-S-S-) se formează prin oxidarea a două resturi de cisteină.

Legăturile hidrofobe sunt generate de interacțiunile dipol-dipol, dintre moleculele nepolare. Aproximativ 25% din aminoacizii care alcătuiesc molecula de miozină sunt aminoacizi hidrofobi, cum este cazul alaninei, valinei, leucinei, izoleucinei, prolinei, triptofanului și fenilalaninei. Dacă aceste resturi hidrofobe sunt în contact cu moleculele de apă, se formează o "*clathrate*" sau "*iceberg*", instabilă termodinamic prin care un număr mare de molecule de apă sunt legate prin legături de hidrogen una de alta în jurul restului de aminoacid (hidratare hidrofobă), (Ionescu și colab., 2005).

Sursa și tipul mușchiului influențează proprietățile de gelificare ale proteinelor musculare. Proprietățile de gelificare ale proteinelor miofibrilare au fost studiate la diferite specii de animale, cum sunt: pui (Smith și colab., 1988; Xiong, 1992; Liu și Xiong, 1996; Lesiów și Xiong, 2003), vită (Fretheim și colab., 1986), porc (Robe și Xiong, 1993; Lan și colab., 1995a, 1995b), iepure (Boyer și colab., 1996a, 1996b), curcă (Barbut, 1997) și pește (Hennigar și colab., 1989; Chan și colab., 1992). Cofrade și colab., (1997) investigând proprietățile de gelificare termică ale actomiozinei de pui, porc și hec au remarcat că nu există diferențe semnificative în tăria maximă a gelului pentru speciile studiate, cu toate că pH-ul, nivelul de sare, concentrația proteinei au fost diferite de la caz la caz. În domeniul de pH 5,5-6,0 și tărie ionică 0,1-0,2M NaCl, proteinele miofibrilare de pui și porc formează geluri cu tărie maximă, dar numai în condiții optime privind concentrația proteinei, pH-ul, tăria ionică (12,97 mg/mL proteină, pH 5,7 și 0,22M NaCl). Actomiozina de hec este mai sensibilă la încălzire, decât cea de porc sau pui și formează geluri cu tărie adecvată în condițiile: 10 mg/mL proteină, pH 6,3 și 0,1M NaCl. Chan și colab., (1992), prin studierea legăturilor *cross* între proteinele extrase din mușchii de cod, hering și hec argintiu, au găsit că diferențele privind capacitatea de a forma geluri a celor trei specii de pești au fost determinate de capacitate HMM (meromiozina grea) de a forma legături transversale; moleculele HMM de hec argintiu și de cod pot polimeriza cu formare de agregate proteice mari, pe când cele de hering nu. HMM de cod și hec argintiu formează atât polimeri mici, cât și polimeri mari, dar HMM de hering formează numai polimeri mici. Formarea agregatelor mari constituie o preneccesitate pentru dezvoltarea unui gel cu elasticitate bună. Liu și colab., (2007) au constatat că miozina de pește a fost mult mai susceptibilă la gelificare indusă termic, decât miozina de porc. Camou și Sebranek (1991) investigând caracteristicile de

gelificare ale proteinelor mușchiului de porc PSE în comparație cu proteinele mușchiului de porc normal au constatat că tăria gelului extractelor PSE a reprezentat numai 45% din tăria gelului de control, la concentrații echivalente de proteină. Pierderea funcționalității mușchiului PSE a fost cauzată de denaturarea proteinelor ca rezultat al producerii rapide de acid lactic într-un mușchi cu temperatura ridicată (Park și colab., 1975). Stabursvik și colab., (1984) au arătat că denaturarea extensivă se produce în segmentul LMM (meromiozina ușoară) la mușchii PSE, cu o reducere în entalpia aparentă de 50%. La aceeași specie, proprietățile de gelificare ale proteinelor miofibrilare sunt influențate și de tipul de mușchi. Robe și Xiong (1993) au examinat proteinele solubile în sare extrase din mușchii *Longissimus dorsi* (LD) *Serratus ventralis* (SV) și *Vastus intermedius* (VI) prin testări reologice dinamice și au găsit că modulul de depozitare (G') a fost afectat de tipul de mușchi, VI conducând la geluri cu consistența mai tare în comparație cu SV și LD. Miofibrilele din mușchiul de porc *Semimembranosus* (SM), față de cele din *Psoas major* (PM) produc geluri mai tari (Westphalen și colab., 2006). În timpul încălzirii treptate a miozinei de iepure, în/sau fără prezența altor proteine miofibrilare, proteinele musculare din mușchiul cu contracție rapidă formează geluri considerabil mai rigide, decât cele obținute din proteinele din mușchiul cu contracție lentă (Boyer și colab., 1996a). În condiții similare de procesare, proteinele miofibrilare din mușchiul alb, în general, exercită proprietăți de gelificare mai bune decât cele din mușchiul roșu (Fretheim și colab., Xiong, 1992; Xiong, 1994; Lesiów și Xiong, 2001a). Diferențele între proprietățile reologice între mușchiul alb și roșu sunt atribuite factorilor intrinseci, cum sunt izoformele proteinelor miofibrilare (Asghar și colab., 1984). Liu și Xiong (1996) au precizat, de asemenea, că gelurile din proteinele miofibrilare din mușchii de la pulpele de pui produc moduli de depozitare mai mici, decât cele din piept de pui, independent de pH, tărie ionică și prezența antioxidantilor, diferențele fiind, în principal, atribuite izofomelor miozinei dependente de tipul fibrei și polimorfismului. Diferențe similare au fost raportate și de Lefèvre, ș.a. (1998) pentru mușchii de păstrăv, la o viteză de încălzire de $1^{\circ}\text{C}/\text{min.}$, dar nu și la temperatura de 60°C , la care au fost formate geluri solide de ambele tipuri de miofibrile. Totuși, la o viteză de încălzire mai mică de $0,25^{\circ}\text{C}/\text{min}$, miofibrilele din mușchiul alb formează geluri mai puternice la toate temperaturile.

Concentrația proteinei joacă un rol cheie în determinarea proprietăților de inducere termică a gelurilor. Ferry (1948) a fost primul care a propus teoria concentrației minime de gelificare (concentrația critică de proteine), sub care nu se poate forma o structură continuă tridimensională. Proteinele miofibrilare posedă o capacitate de gelificare termică mult mai mare decât proteinele vegetale. În mod normal, gelificarea se produce atunci când conținutul de proteine variază între 5 și 15% pentru proteinele vegetale (Arntfield și colab., 1990), pe când conținutul de proteine miofibrilare suficient pentru a induce un gel termic este de 0,5%. Diferența dintre concentrația minimă de gelificare a proteinelor miofibrilare și a proteinelor vegetale este, probabil, datorată compoziției în aminoacizi a proteinei și masei moleculare medie. Miozina este o moleculă filamentosă lungă cu 4500 aminoacizi și o masă moleculară medie de 500 kDa (Clark și colab., 2002), substanțial mai mare decât la majoritatea proteinelor vegetale. Componentele majore ale izolatelor proteice din soia, cum sunt glicina (legumina sau globulina 11S), au masa moleculară de 340 până la 375 kDa (Utsumi și colab., 1981) și β -conglucina (vicilina sau 7S globulina), 140 - 170 kDa (Petruccelli și Añón, 1995), care reprezintă 34% și respectiv 27% din izolatul proteic (Iwabuchi și Yamauchi 1987a, 1987b). Este posibil ca lungimea mai mare a lanțului polipeptidic al proteinelor miofibrilare să contribuie la o capacitate de gelificare mai mare, în comparație cu cel al proteinelor vegetale, mai degrabă decât aminoacizii specifici. Fermitatea și tăria gelului cresc cu creșterea concentrației de proteină indiferent de sursa proteică (Ishioroshi și colab., 1979, 1981; Foegeding și colab.,

1986; Fretheim și colab., 1986). Smith și O'Neill (1997) au raportat că prin creșterea concentrației de proteină de la 4 la 8% a crescut substanțial tăria gelului de *like-surimi* de pui. Prin creșterea concentrației de proteine miofibrilare cresc tăria, elasticitatea și adezivitatea gelurilor proteice (Brewer și colab., 2005), dar coezivitatea crește ușor și inconsistent. Ei au tras concluzia că întărirea gelului a fost cauzată de o creștere a ariei matricei ocupată de proteină, care mărește potențialul de interlegare la joncțiuni.

pH. Proprietățile de gelificare ale proteinelor depind de pH (Chang și colab., 2001a; Lesiów și colab., Xiong 2001a). La punctul izoelectric (pI), proteinele au sarcina netă zero, se agregă, rețin cea mai mică cantitate de apă și formează un gel slab sau nu formează gel (Smith, 2001). Agregarea proteinelor înainte de încălzire inhibă formarea gelului de proteine miofibrilare și depinde, în mare măsură, de sarcina electrostatică a moleculelor (Boyer și colab., 1996a), afectată de pH și de tăria ionică. În timpul denaturării și disocierii termice a moleculelor de proteine miofibrilare se modifică natura interacțiunilor electrostatice în funcție de valoarea de pH (Wang și colab., 1990). pH-ul optim pentru gelificarea miozinei, actomiozinei sau miofibrilelor la concentrație scăzută de sare (0,1-0,3M) a fost în jur de 6,0 (Ishioroshi și colab., 1979; Egelanddal și colab., 1986; Hermansson și colab., 1986; Paredi și colab., 1999). Mușchii albi și roșii prezintă capacități de gelificare diferite, influențate de valorile de pH diferite ale proteinelor mușchiului alb și roșu (Fretheim și colab., 1986). pH-ul optim pentru gelificarea mușchiului de pui în 0,6M NaCl sau KCl a avut valoarea 6,0 pentru miofibrilele din piept și 5,5 pentru miofibrilele din pulpe (Xiong și colab., 1991; Lesiów și colab., 2003). În cazul omogenatelor (paste) de mușchi de pulpe de pui, cele mai puternice geluri se formează la pH cuprins între 5,8-6,3, iar în lipsa sării, geluri elastice se formează la pH acid (3,16-4,06) (Ke și Hultin, 2005). Tăria gelurilor pe bază de paste de piept de curcă crește prin creșterea pH-ului de la 4,5 până la 7,5, pe când în cazul pastelor de mușchi de pulpă de curcă, tăria gelului crește de la pH 4,5 la 6,5, dar nu prezintă diferențe la pH 6,5 și 7,5. Proprietățile reologice ale proteinelor miofibrilare din LD au fost similare la pH 6,0 și 6,5, ceea ce demonstrează independența de pH, totuși la temperaturi peste 57°C, proteinele miofibrilare din mușchii SM și PM exercită valori ale lui G' mai mari la pH 6,0, în comparație cu cele de la pH 6,5 (Westphalen și colab., 2005, 2006). Diferențele pot fi atribuite variațiilor subtile ale proteinelor datorită tipului de mușchi sau metabolismului postmortem. Reducerea pH-ului omogenatului de carne de rechin în apă la 3,5 cu acizi organici, cum ar fi acidul acetic sau lactic, conduce la formarea gelului, gelificarea fiind dependentă de concentrația proteinei și de temperatură (Venugopal și colab., 2002). Gelificarea proteinei miofibrilare, în general, se produce prin încălzire, dar gelurile proteice se pot forma și la valori de pH reduse, fără încălzire. Hermansson și colab., (1986) au studiat efectele pH-ului și tăriei ionice asupra gelurilor de miozină induse termic și au observat, de asemenea, că atunci când soluțiile de miozină sunt dializate în tampon de pH 4 de KCl 0,6M, gelurile se formează spontan la 4°C. Liu și colab., (2008) au investigat relația dintre structura secundară și proprietățile de gelificare ale miozinei de porcine la diferite valori de pH prin dicroism circular (DC) și reologie dinamică și au găsit că proprietățile de gelificare au fost puternic dependente de pH. La pH neutru (7), spectru DC relevă că structura majoră a fost α -helix (>80%). Modificarea pH-ului departe de neutralitate descrește marcant conținutul de α -helix. Prin scăderea pH-ului de la 7 la 5,5, conținutul de α -helix a scăzut rapid de la 87,4% până la 15,8% și a crescut structura β -pliată de la 5,1% la 41,2%. Datorită prezenței mai multor structuri β -pliate aproape de pI (5,5-6,0) miozina de porcine poate coagula la 15°C. La pH 6,5-9,0, încălzirea poate cauza conversia parțială a α -helix în structură β -pliată și apoi în structuri de tip spirală răsucite la întâmplare. Miozina începe să formeze geluri la temperaturi mai mari de 38°C și tăria gelului descrește cu creșterea pH-ului. Disocierea structurii α helix, cât și formarea structurilor β -pliate joacă un rol

important în formarea gelului. Generarea gelurilor de proteine miofibrilare la valori de pH <5,3 la 24 și 32°C în timpul producției microbiene de acid lactic prin fermentație stă la baza dezvoltării texturii salamurilor nefierte sau crude și a șuncii sărate-uscate (Feiner, 2006).

Proprietățile de gelificare ale proteinelor musculare mai sunt influențate de temperatura de încălzire, viteza de creștere a temperaturii și de diverși adjuvanți.

Solubilitatea și proprietățile de gelificare sunt importante și la obținerea filmelor comestibile pe baza acestor proteine.

În prezent, carnea se poate utiliza ca atare sau proteinele musculare pot fi separate și utilizate ca ingrediente funcționale, cum sunt concentratele de proteine structurale (surimi, *like-surimi*) izolatele și hidrolizatele proteice.

1.2.3. Obținerea și utilizarea concentratelor de proteine musculare

1.2.3.1. Procedul surimi

Proteinele miofibrilare pot fi utilizate în diferite aplicații ca ingrediente funcționale numai după extragerea acestora din carne sau pește, purificare și concentrare.

Surimi este un concentrat de proteine miofibrilare de pește cu proprietăți elastice specific japonez, care, în prezent, prin transfer de tehnologie, a căpătat o largă dezvoltare și în alte țări, cum sunt Statele Unite ale Americii, Canada, Noua Zeelandă, Coreea, Spania, China etc. Dezvoltarea producției de surimi a fost stimulată de:

- creșterea cantității de materie primă cu valoare alimentară redusă, dar cu bune însușiri de gelificare, prin valorificarea cu succes a speciilor neutilizabile sau mai puțin utilizate în consumul uman (circa 30% din capturile de pește nu sunt destinate consumului uman datorită unor inconveniente legate de dimensiuni, de aspectul neatractiv și de conținutul mare de oase);
- disponibilitatea materiei prime pe tot timpul anului;
- dezvoltarea de noi produse pe bază de surimi;
- dezvoltarea atât a noilor tehnologii de fabricare și de conservare a produselor, cât și a echipamentelor și mașinilor incluse în liniile tehnologice de fabricarea a pastei de surimi și a produselor pe bază de surimi (Banu și Ionescu, 2009).

Procedul surimi implică tratamente succesive de spălare în apă sau diferite soluții pentru îndepărtarea componentelor indezirabile, precum proteinele sarcoplasmice, proteinele extracelulare (colagenice), lipidele, substanțele non-proteice și componentele sângelui (Cuq și colab., 1995; Monterrey-Q, 1998) din mușchiul de pește sau alte cărnuri separate mecanic.

Prepararea surimi din pește alb (hec, cod și pollock de Alaska) este descrisă de mai mulți autori (Lee, 1986; Pigott, 1976; Venugopal, 1992). După recepție, peștele proaspăt este conservat în gheață, rezoluția rigor mortis (5-20 ore) fiind necesară înainte de orice procesare. Peștele se spală, se decapitează și eviscerează cât mai rapid pentru a preveni migrarea proteazelor intestinale în mușchi. Se îndepartează coloana vertebrală, apoi se spală și se supune operației de separare mecanică a oaselor și a pielii. Spălarea cărnii tocate se repetă de 2-3 ori în 2-3 volume de apă rece pentru 5 minute și este urmată de îndepărtarea apei de spălare prin presare sau centrifugare. La ultima spălare se adaugă clorură de sodiu (0,1-0,3 g/100 g pește mărunțit) pentru a facilita eliminarea apei. După separarea țesutului conjunctiv, a oaselor și pielii prin site fine, carnea spălată și rafinată se presează într-o presă cu melc pentru descreșterea conținutului final de apă (80% apă la 100 g carne de pește spălată). Carnea de pește spălată este omogenizată cu agenți crioprotectori (5 g zaharoză, 5 g sorbitol și 0,3 g polifosfat pentru 100 g carne). Adăugarea agenților crioprotectori contribuie la prelungirea duratei de păstrare a concentratelor de proteine miofibrilare la -20 - -30°C, fără modificarea

proprietăților funcționale (Lee, 1984; Lee, 1986a; Park și colab., 1994; Park și Morrissey, 2000; Hultin și colab., 2000; Hultin, 2002, Banu și Ionescu, 2009) la congelare sau uscare prin pulverizare și liofilizare. Surimi din pește alb este incolor și fără miros și are proprietăți funcționale interesante, în special proprietăți de gelificare (Lanier, 1986). Anual sunt prelucrate 2-3 milioane tone de pește alb pentru fabricare de surimi, cu un cost de 2-5 dolari/kg în funcție de specia utilizată.

Surimi din pește alb, datorită mirosului slab, culorii albe și proprietăților funcționale excelente (capacitate de legare a apei, de gelificare și capacitatea de emulsionare bune), este utilizat ca ingredient funcțional în produsele restructurate pe bază de carne de vită, porc sau pasăre și într-o gamă largă de formulări exotice, cum sunt kamaboko, analogii de pește, picior de crab, scallop, midii și de stridii (Lanier, 1986; Ragenstein și colab., 1986), la fabricarea salamurilor de pește ca înlocuitor de carne și a filmelor comestibile și biodegradabile.

Prepararea surimi din pește pelagic gras (sardină, macrou, anșua și hering) necesită adăugarea de bicarbonat de sodiu (0,5 g/l) la prima apă de spălare pentru a elimina componentele grase și pigmenții. Surimi obținut din pește pelagic gras este mai puțin neutru decât surimi din pește alb. Surimi din sardină are proprietăți bune de gelificare, dar prezintă o culoare ușor cenușie și miros specific de pește (Roussel și Cheftel, 1988; Trevino și colab., 1990). Prin acest procedeu se obține un concentrat cu conținut ridicat de proteine miofibrilare, cunoscut ca surimi.

1.2.3.2. Produsul de tip surimi (surimi-like)

Produsul de tip surimi (surimi din carne) obținut din carnea altor specii de animale are proprietăți similare cu surimi de pește. Totuși, există informații limitate referitoare la prepararea și proprietățile funcționale ale produselor de tip surimi obținute din carnea de vită, porc, pasăre, pui (Park și colab., 1996; Smyth și O'Neill, 1997). Utilizarea cărnurilor roșii ca materie primă prezintă inconvenientul conținuturilor ridicate de pigment, grăsime, țesut conjunctiv și collagen. Totuși, acest procedeu poate crește valoarea bucăților de carne neutilizabile (carne sângerată, carne dezosată mecanic de vită, porc și pui, carnea de la găturile de pui) sau a subproduselor de abator (inimă) ceea ce conduce la creșterea profitabilității întreprinderilor (Smyth și O'Neill, 1997, Ionescu și colab., 2008). Spălarea apoasă, centrifugarea și strecurarea au fost utilizate pentru îndepărtarea pigmenților heminici, țesutului conjunctiv și a altor componente solubile în apă. Concentratul umed de proteine miofibrilare este desemnat drept surimi din carne.

Proprietățile de gelificare induse termic ale produselor surimi și surimi din carne sunt folosite pentru fabricarea diferitelor produse de carne și filme comestibile.

Prin aplicarea unor tehnologii similare cu cele folosite la fabricarea produsului surimi din carne de pește au fost obținute concentrate de proteine miofibrilare din inimă de vită, inimă de capră, carne recuperată mecanic de porc și de pasăre, carne de vită de pe beregăți (esofag), carne de vită de pe fălci (McKeith și colab., 1988; Desmond și colab., 1997 și 1998; Keny și colab., 1997; Dawkins și colab., 2000; Ionescu și colab., 2002, 2008 și 2010).

Tehnologia de obținere a concentratului de proteine miofibrilare din cărnurile roșii este mult mai dificilă, decât din carnea de pește, deoarece aceste cărnuri conțin mai multă grăsime, pigmenți și țesut conjunctiv, care trebuie să fie îndepărtate. Pentru separarea proteinelor miofibrilare, carnea de inimă curățată de vasele și cheagurile de sânge și de grăsimea externă, fin mărunțită se spală de mai multe ori fie cu apă răcită cu gheață (1:9), fie cu diferite soluții răcite (tampon fosfat de sodiu, tampon fosfat + NaCl, tampon fosfat + propilgalat și tampon fosfat + tripolifosfat, bicarbonat de sodiu). Pentru îndepărtarea apei sau soluției de extracție

fiecare spălare este urmată de centrifugare/presare, după ultima spălare efectuându-se și o filtrare pentru îndepărtarea țesutului conjunctiv.

În final, la concentratul umed de proteine miofibrilare din carne se adaugă un crioprotector sau un amestec de crioprotectori (sare, sorbitol și polifosfat) pentru a preîntâmpina denaturarea proteinelor în timpul depozitării în regim de congelare (-30°C). Concentratul proteic din cărnurile roșii poate fi utilizat ca ingredient funcțional la fabricarea cârnaților de vită, salamurilor emulsionate, la obținerea pateurilor.

Proteinele miofibrilare și produsele de tip surimi și like - surimi, în prezent, sunt utilizate și ca materie primă pentru obținerea filmelor comestibile pe bază de proteine animale.

1.2.3.3. Obținerea concentratelor proteice prin tehnica schimbării pH-ului

La sfârșitul anilor 1990 și începuturile anilor 2000 a fost inventată și patentată o nouă tehnică de recuperare a proteinelor musculare din surse cu valoare alimentară redusă. Noua tehnologie este denumită metoda bazată pe schimbarea pH-ului (shift-pH) sau procedeul de solubilizare acidă sau alcalină a proteinelor musculare (Hultin și Kelleher, 1999, 2000). Acest procedeu constă din următoarele faze:

- omogenizarea masei musculare tocate cu apă; raportul carne : apă variază de la 1:5 până la 1:9 (Nolsøe și Undeland, 2009);
- solubilizarea proteinelor prin ajustarea pH-ului omogenatelor la valori de pH extreme la care proteinele au solubilitate maximă: 2,5-3,5 în cazul procedurii acid și la 10,2-12 în cazul procedurii alcaline;
- centrifugare la viteză mare pentru a elimina componentele non-proteice. În timpul centrifugării, omogenatele sunt separate pe baza densității în trei fracțiuni: grăsime, soluția proteică acidă sau alcalină și stratul de impurități cu densitate mai mare (piele, oase și membrane celulare) (Park și Lin, 2005);
- precipitarea proteinelor solubilizate prin ajustarea pH-ului la nivelul punctului izoelectric al proteinelor miofibrilare (pI = 5,2 - 5,5 și 4,4). La această valoare de pH, proteinele miofibrilare vor precipita deoarece nu sunt încărcate electric;
- centrifugare pentru separarea proteinelor sedimentate. După colectarea proteinelor funcționale valoarea pH-ului poate fi re-ajustată la nivelul pH-ului fiziologic al mușchiului (7,0);
- adăugarea crioprotectanților;
- congelarea în blocuri a izolatului proteic obținut la temperatura de -30°C și depozitarea la aceeași temperatură.

Procedul de prelucrare prin modificarea pH-ului este o metodă indicată pentru utilizarea cărnurilor cu valoare redusă, mai ales a acelor tipuri de materii prime cu conținuturi ridicate de grăsime și pigmenți care sunt dificil de separat prin procedeul convențional surimi.

Procedeele acid și alcalin de separare a proteinelor aplicate în industria peștelui și cărnii prezintă unele avantaje față de procedeul convențional surimi:

- nu implică îndepărtarea prealabilă a oaselor din materia primă (Nolsøe și Undeland, 2009);
- randament de extracție a proteinelor mai ridicat (Hultin și Kelleher, 1999). Choi și Park (2002) au raportat că procedeele de solubilizare alcalină și acidă în cazul speciei de pește Blue Whiting (*Micromesistius poutassou*) de Pacific a condus la o creștere a randamentului în proteine cu 20%, față de procedeul convențional cu trei spălări, ca urmare a recuperării tuturor proteinelor miofibrilare și a unei largi părți din proteinele sarcoplasmice atunci când pH-ul este ajustat la punctul izoelectric. De asemenea,

diverși cercetatori examinând posibilitatea utilizării tehnicii de extracție a proteinelor musculare prin modificarea pH-ului din diferite tipuri de cărnuri au obținut randamente variate, astfel:

- Kristinsson și Ingadottir (2002) au obținut la folosirea ca materie primă a cărnii de Tilapia randamente cuprinse între 61-68% prin aplicarea procedurii de solubilizare alcalină și 56-61% pentru procedeul acid;
- Undeland și colab., (2002) folosind carne de hering au obținut randamente cuprinse între 68-74% pentru ambele procedee de solubilizare;
- Batista (1999) a obținut un randament de 71,8% la extracția proteinelor din carnea de hec și monkfish;
- Betti și Fletcher folosind carne roșie de broiler au obținut un randament de 70%, în condițiile solubilizării proteinelor la pH 10,5 și a precipitării la pH 4,4;
- îndepărtarea eficientă a componentelor nedorite prin utilizarea centrifugării la viteză ridicată (Kristinsson și Hultin, 2003; Hultin și colab., 2005; Sanmartin și colab., 2009);
- prin folosirea unui raport optim apă:carne ambele fracțiuni lipidice neutre și polare sunt separate. Reducerea semnificativă a lipidelor și aromei de pește, conduce la evitarea proceselor de oxidare a lipidelor care afectează negativ aspectul, textura și valoarea nutritivă a concentratelor proteice, măbind termenul de valabilitate a produsului finit. De asemenea, apele uzate obținute la prelucrarea cărnurilor cu modificarea pH-ului conține mai puține părți solide ca urmare a utilizării procesului de centrifugare la viteză ridicată (Park și colab., 2003);
- îndepărtarea eficientă a toxinelor solubile în lipide în cazul peștilor toxici și a dioxinei (Vareltzis și Undeland, 2008);
- calitatea mai bună a proteinelor. Izolatele proteice obținute prin tratament alcalin posedă calități de gelificare mai bune decât cele preparate prin solubilizarea acidă sau procedeul convențional surimi (Yongsawatdigul și colab., 2004). Liang și Hultin (2003) au realizat solubilizarea proteinelor din carnea de curcă dezosată mecanic (CCDM) la pH 10,8, precipitarea la pH 5,2, raportul carne:apă fiind de 1:6.

Procedeele prezintă dezavantajul că tratamentele de ajustare a pH-ului induc unele modificări conformaționale, denaturare și agregare; izolatele proteice fiind folosite ca ingrediente funcționale în alte aplicații decât surimi. De asemenea, cele două stadii de centrifugare sunt controversate, de aceea se indică înlocuirea cu filtrarea (Nolsøe și colab., 2011).

1.3. Formarea filmelor biodegradabile/comestibile

Filme și învelișurile (de acoperire) biodegradabile/comestibile sunt straturi subțiri de materiale comestibile aplicate pe produsele alimentare și farmaceutice cu rol important în conservarea, distribuția și marketingul acestora. Filmele comestibile protejează produsul împotriva deteriorării mecanice, fizice și chimice și împotriva alterării microbiene (Tharanathan, 2005). Utilizarea lor în aplicații alimentare, mai ales la produse foarte perisabile, se bazează pe anumite proprietăți ale filmelor comestibile, cum ar fi costul, disponibilitatea, atributele funcționale, proprietățile mecanice (flexibilitate, rezistența la tracțiune), optice (luminozitate și opacitatea), efectul de barieră împotriva fluxului de gaze, rezistența structurală la apă și la microorganisme și acceptabilitate senzorială (Falguera și colab., 2004).

Filmele sunt produse din biopolimeri alimentari și aditivi de puritate alimentară. Biopolimerii formatori de film pot fi proteine, polizaharide și lipide. Filmele comestibile și membranele pot

îmbunătăți calitatea produselor alimentare, ele funcționând ca bariere împotriva uleiurilor, gazelor sau vaporilor. În plus, ele pot acționa ca transportori de substanțe active, cum ar fi antioxidanții, compuși antimicrobieni și de aromă, conducând la extinderea duratei de viață și la îmbunătățirea siguranței (Kester și Fennena, 1986; Krochta și Mulder Johnson, 1997; Hun și Gennadios, 2005). Biopolimerii includ:

- proteine: vegetale, musculare, gelatină și collagen, lactate, din ouă;
- polizaharide: amidon, pectină, metilceluloză, chitină;
- lipide sau combinații ale acestora (filme composite). Prepararea filmelor și membranelor comestibile bazate pe proteine musculare se poate realiza folosind:
 - a. *concentrate de proteine miofibrilare*:
 - surimi de pește (Cuq și colab., 1995, 1997), (Monterrey-Q, 1988);
 - surimi din carne de vită (Souza și colab., 1997);
 - surimi din carne dezosată mecanic de pasăre, mușchi de inimă (Ionescu și colab., 2008). Se poate utiliza surimi umed, congelat și decongelat, surimi uscat prin liofilizare (Monterrey-Q, 1998) sau în aer (Cuq și colab., 1997d);
 - b. *proteine sarcoplasmatiche* (Iwata 2001; Tanaka și colab., 2001). Proteinele sarcoplasmatiche spre deosebire de cele miofibrilare sunt proteine globulare care necesită inițial o denaturare termică pentru a forma o matrice continuă (Iwata și colab., 2000). Prin tratament termic se modifică structura proteinei globulare, cauzând o expunere a grupărilor -SH și în consecință se produc legături -S-S- între lanțurile proteice adiacente și, de asemenea, interacțiuni hidrofobe (Perez-Gogo și Krochta, 2001; Sobral și colab., 2004, 2005; Garcia și Sobral, 2005);
 - c. *mușchi de pește* care conține atât proteine miofibrilare cât și proteine sarcoplasmatiche (Tilapia de Nil, Paschoalich și colab., 2003).

1.3.1. Clasificarea filmelor și învelișurilor comestibile/biodegradabile

În funcție de materia primă utilizată pentru obținerea filmelor și învelișurilor comestibile/biodegradabile, aceste se împart în:

- *filme și învelișuri pe bază de poliglucide*:
 - celuloză (metilceluloză, carboximetilceluloză, hidroxipropilceluloză, hidroxipropilmetilceluloză);
 - chitină și chitosan (Elsabee și colab., 2013);
 - amidon: amiloză și dextrine (Liu și colab., 2005, Bertuzzi și colab., 2012);
 - pectine (Pérez Espitia și colab., 2014);
 - extracte din alge: algi-nați (Tapia și colab., 2007) și carrageenani (Park și colab., 2001; Briones și colab., 2004; Choi și colab., 2005, Abdou și colab., 2014);
 - polizaharide microbiene: pullulan (Qian Xiao și colab., 2012) și levan;
- *filme pe bază de proteine*: gluten de grâu (Gennadios și Weller, 1990; Gennadios și colab., 1993; Gontard și colab., 1992 și 1993; Sanchez și colab., 1995); zeină de porumb (Yamada și colab., 1995; Parris și Coffin, 1997), **ș.a.**, 1995, Padua și colab., 2002; Zhang și colab., 2010); proteine de mazăre (Guéguen și colab., 1998); proteine de năut (Janghund și Chinnan, 1999); proteine din semințe de bumbac (Marquie și colab., 1995); proteine de floarea soarelui (Orliac și colab., 2002, 2003); proteine de zer (Cisneros-Zevallos, 2003a); cazeinat de sodiu; proteine de soia (Valencia-Chamorro și colab., 2011); proteine musculare, collagen, gelatină (Karim și colab., 2008 și 2009;

Zainal și colab., 2013) și albumină de ou (Guilbert, 1986). Filme biodegradabile transparente au fost obținute cu succes din surimi congelat (Shiku și colab., 2004), proteine miofibrilare de merluciu albastru (Hamaguchi și colab., 2007), Tilapia (*Oreochromis niloticus*; Sabato și colab., 2007) și proteine de macrou de Atlantic (*Scomber scombrus*; Ogur și colab., 2015), proteine miofibrilare de vită, porc și pasăre (Orban și colab., 1992);

- filme pe bază de lipide: ceruri și acizi grași (Arthan și colab., 2009; Berga și Sobral, 2007; Jayasekara și colab., 2004);
- filme pe bază de rășini;
- filme compozite: bistraturi și conglomerate (Han și colab., 2005).

1.3.2. Procedee de obținere a filmelor comestibile/biodegradabile

Pentru obținerea filmelor proteice sunt utilizate două procedee:

- o *procedeul solvent* implică dispersia sau solubilizarea proteinei în soluția formatoare de film. Acest procedeu a fost studiat extensiv și aplicat pentru producerea filmelor și membranelor comestibile/biodegradabile din diferite proteine și, în special, din proteine miofibrilare (Cuq și colab., 1995, 1998; Monterrey-Q, 1988);
- o *procesul uscat* se bazează pe proprietățile termoplastice ale proteinelor la conținut redus de apă (Hernandez-Izquierdo și colab., 2008, De Graaf, 2000).

1.3.2.1. Procesul solvent de formare a filmelor

Formarea filmului prin procesul solvent necesită dizolvarea proteinelor miofibrilare prin ajustarea pH-ului soluției formatoare de film cu acid lactic, acid acetic sau hidroxid de amoniu. Condițiile fizico-chimice au fost optimizate prin omogenizarea soluțiilor formatoare de film astfel încât proteinele miofibrilare să nu precipite în soluție sau să conducă la soluții prea vâscoase pentru a fi ușor întinse sub formă de film subțire (Cuq și colab., 1995; Ocuno și Sobralm 1998; Ocuno și colab., 1998). Vâscozitatea soluțiilor formatoare de film este puternic modificată de pH și de conținutul de proteine. Conținuturi reduse de proteine sunt necesare pentru a obține soluții formatoare de film cu vâscozitate redusă. Vâscozitatea a fost minimă la pH cuprins între 4,5-6,5, dar formarea filmelor este inhibată de precipitarea proteinelor. Vâscozitatea adecvată a fost găsită la pH cuprins între 2,5-4,0 și la pH 9,0. Condițiile puternic alcaline (10,5-12) au fost raportate ca adecvate pentru formarea filmelor din carne de pește (Okamoro, 1978). Totuși, filmele formate în condiții puternic alcaline au avut un miros persistent și neplăcut de amoniac (Cuq și colab., 1995). Condițiile optime pentru prepararea soluțiilor formatoare de film bazate pe proteine miofibrilare au fost: pH = 3,0 și 2 g proteine/100 g soluție (Cuq și colab., 1995); pH = 2,5 și 1,25 g proteine/100 g soluție (Monterrey-Q, 1998).

Glicerolul, sorbitolul și zaharoza au fost testate ca plastifianți și au fost încorporați în soluțiile formatoare de film. Acidul lactic, utilizat pentru reglarea pH-ului soluțiilor formatoare de film (în locul acidului acetic), are efect plastifiant asupra filmelor (Souza și colab., 1998). Acidul lactic nu se evaporă în timpul uscării și astfel participă ca plastifiant al rețelei de film proteic.

Temperatura, pH-ul și conținutul de proteine din soluțiile formatoare de film nu afectează semnificativ proprietățile funcționale ale proteinelor. Proprietățile mecanice ale filmelor nu se modifică prin creșterea pH-ului soluției proteice de la 2,0 la 3,0 (Monterrey-Q, 1998; Monterrey-Q și Sobral, 1998).

Prepararea filmelor bazate pe proteine necesită formarea unei rețele macromoleculare mai mult sau mai puțin ordonată, continuă și cu conținut redus de umiditate care conțin numeroase interacțiuni distribuite uniform între lanțurile polimerice. Formarea legăturilor intermoleculare

depinde de forma proteinelor miofibrilare (fibrilare sau globulare) și de condițiile fizico-chimice din timpul procesării. Proteinele cu masă moleculară mare (miozina, actomiozina) și proteinele fibrilare (miozina, actomiozina și actina-F) în general pot forma filme cu proprietăți mecanice bune (Cuq și colab., 1998a), pe când proteinele globulare sau pseudoglobulare (actina G) necesită a fi denaturate înainte de formarea filmului.

Structura proteinelor miofibrilare și compoziția în aminoacizi influențează solubilitatea proteinelor și respectiv formarea gelurilor proteice (Acton și colab., 1983; Acton și Dick, 1984; Regenstien, 1984; Witig, 1988; Lavelle și Foegeding, 1993). Solubilitatea proteinelor miofibrilare este condiționată de tăria ionică a soluției, prin efectele *salting-in* (0,3-0,75) și *salting-out* (>0,75).

Proteinele miofibrilare sunt sensibile la variațiile de pH datorită conținutului lor ridicat de aminoacizi polari ionizați (27-31%). În apropierea pH-ului izoelectric ($pI=5,0$), repulsiile electrostatice sunt minime și proteinele nu sunt solubile (Orban și colab., 1992; Stefansson și Hultin, 1994). Solubilitatea proteinelor miofibrilare induce posibile modificări conformaționale și reacții de polimerizare - depolimerizare (Skaara și Regenstien, 1991).

Analiza electroforetică a dispersiilor de proteine miofibrilare relevă reducerea intensității benzii corespunzătoare lanțului greu al miozinei datorită proteolizei sau formării legăturilor intermoleculare covalente (Kamat și colab., 1992). Lanțurile grele ale miozinei sunt componentele principale implicate în proprietățile de gelificare ale proteinelor (Samejima și colab., 1989; Roussel și Cheftel, 1990; Sano și colab., 1990). Subunitățile de miozină participă, de asemenea, la formarea rețelelor prin stabilizarea lanțurilor grele de miozină (Samejima și colab., 1998).

Tropomiozina și G-actina inhibă în special interacțiunile miozină-miozină, fiind intercalate între molecule (Samejima, ș.a., 1982; Sano, ș.a., 1989 a,b,c). Miozina conține aproximativ 40 grupări -SH, dar nu și grupări -S-S-, care sunt formate în timpul agregării proteinelor miofibrilare (Roussel și Cheftel, 1990).

Contribuția interacțiunilor hidrofobe și a legăturilor de hidrogen între lanțurile polipeptidice în timpul formării rețelei au fost demonstrate (Niwa, 1975; Samejima și colab., 1981; Niwa și colab., 1982). Interacțiunile electrostatice au arătat efectul pozitiv al clorurii de calciu asupra rigidității gelurilor bazate pe proteine miofibrilare (Roussel și Cheftel, 1990). Rețelele structurale ale proteinelor miofibrilare sunt, de asemenea, formate în prezența transglutaminazei care catalizează legăturile intermoleculare izopeptidice (Kim și colab., 1993; Ionescu și colab., 2008). Aceste legături covalente măresc rezistența mecanică și elasticitatea gelurilor (Joseph și colab., 1994).

1.3.2.2. Mecanisme generale

Rețelele macromoleculare la filmele proteice sunt formate în trei stadii:

- denaturarea proteinelor prin ruperea legăturilor intermoleculare care stabilizează proteinele în stare nativă în timpul solubilizării sau tratamentului termic;
- aranjamentul sau orientarea lanțurilor polimerice;
- formarea rețelei tridimensionale stabilizate de noi interacțiuni și legături după ce agentul inițial care a determinat ruperea legăturilor intermoleculare este îndepărtat (îndepărtare solvent sau răcire).

Denaturarea proteinei indusă termic include inițial desfășurarea moleculei proteice pentru a expune situsurile de legare specifice care este urmată de agregare proteină-proteină pentru a forma o matrice de gel (Ziegler și Foegeding, 1991). După încălzire, o proteină complexă ca

miozina poate suferi multiple modificări conformaționale care pot fi atribuite diferitelor stabilități termice ale diferitelor domenii structurale sau subunități proteice (Smyth și colab., 1996).

În timpul gelificării, modificările conformaționale ale diferitelor proteine musculare și ale subunităților proteice sunt monitorizate prin tranzițiile endotermice ca și prin tranzițiile în timpul agregării. Prin încălzire dinamică multiplele tranziții ale modului de depozitare G_0 indică modificări ale modului de formare a rețelei de gel elastic și respectiv diferitele stadii ale denaturării structurale și agregării ulterioare. Valorile, domeniul și numărul de tranziții în care modificările în gelul elastic se produc variază cu specia, pH-ul, concentrația de sare, mediul ionic și cantitatea și tipul de proteine miofibrilare extrase (Culioli și colab., 1993; Fretheim și colab., 1986; Xiong, 1994). În condiții similare de procesare la concentrație redusă de proteine (2,5%), proteinele miofibrilare derivate din mușchiul alb de pasăre exercită proprietăți de gelificare mai bune în comparație cu proteinele miofibrilare din mușchiul roșu de pasăre (Lesiow și Xiong, 2001). Este acceptat că discrepanțele în gelificare între tipurile de fibre albe și roșii sau mușchi sunt atribuite izoformelor de proteine miofibrilare, în special miozinei, diferitelor paterne de agregare a proteinelor în timpul formării gelului (Xiong, 1994 și 1997).

Temperaturile endotermice pot implica disocierea legăturilor necovalente într-un anumit domeniu structural sau disocierea miofilamentelor sau subunităților proteinelor. Gradul necesar de denaturare a proteinelor în lanțuri polipeptidice pentru a iniția agregarea depinde de mediul ionic, condițiile de prelucrare termică și factorii intrinseci ai proteinei (conformația, izoforme, etc.). Acești factori joacă un rol esențial în dezvoltarea structurii de gel, rigidității și rezistenței gelului la forțele externe. Se sugerează că stadiul de denaturare trebuie să apară primul și mai repede decât de agregare, pentru a permite moleculelor de proteine denaturate de a se reorienta, de a interacționa la punctele specifice și în final să se formează o rețea cu structură tridimensională ordonată (Foegeding, 1988; Ziegler și Acton, 1984).

Smyth et al. (1996) au raportat 10 stadii de tranziții independente sau denaturări ale domeniilor structurale la 39,6, 43,7, 46,2, 47,5 (48,1), 50,9, 54,0, 57,4, 61,5, 63,1 și 67,2°C și au sugerat că fiecărui pic îi corespunde o anumită regiune particulară a moleculei de miozină. Cu excepția picurilor la 61,5 și 67,2°C, toate tranzițiile corespund aproape exact temperaturilor de denaturare a subunităților sau subfragmentelor de miozină ușoară (tija-LMM), lanțului greu (HMC), subunităților S-1 și S-2, meromiozinei grea (HMM) și lanțurilor ușoare (LC). Liu et al. (1996a) au găsit că miozina din pectoralii de pui (mușchi albi) și iliotalialis (mușchi roșii) (diferite concentrații de proteine, 1°C/minut) au entalpii calorimetrice mai mari (2140 și respectiv de 1965 kcal/mol) și temperaturi de începere a denaturării mai mari ($T_0=35,3$ și $35,8^\circ\text{C}$), decât miozina din mușchiul gastrocnemian (roșu) (1588 kcal/mol și $T_0=33,1^\circ\text{C}$).

Dudziak și Foegeding (1988) nu au detectat diferențe semnificative pentru temperaturile de începere a denaturării T_0 49,8 și $50,5^\circ\text{C}$, temperatura maximă de denaturare T_m 59,0 și $59,5^\circ\text{C}$ și entalpia denaturării ΔH , 2080 și 2260 kcal/mol a miozinei și complexului actomiozinic (40 mg/ml, 1°C/minut) izolate din mușchii albi și roșii de curcă.

De asemenea, Xiong și Brekke (1990a, b) nu au găsit diferențe pronunțate în ceea ce privește temperatura de debut pentru denaturarea proteinelor indusă termic (T_0 32 sau 30°C), temperatura maximă de tranziție (T_m 60,9 și $59,9^\circ\text{C}$) și hidrofobicitatea (o măsură a gradului de expunere a regiunii hidrofobe), în timpul încălzirii SSP din mușchii de piept și pulpe de pasăre. Cu toate acestea, alți autori (Dudziak și Foegeding, 1988; Xiong și Brekke, 1990a, b) au observat o mare diferență în proprietățile de gelificare între proteinele din mușchii albi și roșii. Prin urmare, în conformitate cu Xiong (1994) variațiile în procesul de denaturare nu au fost responsabile direct pentru diferențele în proprietățile gelificare ale proteinelor miofibrilare din

mușchi de pasăre albi și roșii. Alte modificări fizico-chimice sau procese, de exemplu, agregarea, par să joace un rol mai direct și esențial în gelifierea proteinelor.

1.3.2.3. Agregarea proteinelor

Liu și colab., (1996a) au observat că în timpul încălzirii izoterme la 45, 50 și 55°C miozina (0,7 mg / ml, 0,6 M NaCl, pH 6,0) din mușchii de piept de pui (pectoral) se agregă la temperatură mai joasă (45°C), decât miozina din mușchi roșii (iliotibialis și gastrocnemian, 50°C). Ratele de agregare pentru cele două tipuri de miozine musculare nu au fost diferite atunci când încălzirea s-a realizat izoterm la 50°C, dar tipurile de agregate au fost diferite. La 55°C, miozina extrasă din mușchiul gastrocnemian a avut o rată de agregare semnificativ mai mare, decât miozinele separate din mușchii pectorali și iliotibialis. Deși, toate miozinele au arătat tranziții endoterme la 36 - 45°C, o tendință semnificativă de agregare a fost observată în acest interval de temperatură numai la miozina mușchiului pectoral. Această diferență în agregare a fost atribuită de către autori diferențelor secvențiale ale izoformelor rapide și lente ale moleculelor de miozină. Smyth și colab. (1996), folosind o metodă turbidimetrică au raportat că miozina din pieptul de pui (10 mg / ml, 0,6 M NaCl, pH 6,5, 1°C/min) se agregă în două etape: în intervalul 50 - 53°C urmat de un platou între 54 - 59°C și în intervalul de temperatură cuprins între 60 - 70°C, care a fost punctul de agregare optim. Autorii leagă agregarea termică a sub-fragmentelor de miozină de denaturarea lor. La analiza endotermică lanțul greu al miozinei (MHC) a prezentat trei picuri la 46,4, 54,1 și 63,9°C, proteina întreagă între 45 și 63°C. S-1 subfragment se deanturează într-o singură tranziție, cu o T_m de 47,4°C și se agregă între 49 și 53°C.

1.3.3. Procedeu uscat de formare a filmelor

Proprietățile termoplastice ale proteinelor sunt definite în termeni de teoria tranziției *glass*. Încălzirea proteinelor termoplastice amorf peste temperatura de tranziție *glass* (T_g) produce materiale moi gumoase care pot fi turnate în filme de forme diferite. Răcirea la temperatura mediului ambiant transformă produsul elastic într-un material *glass* cu structură corespunzătoare mai mult sau mai puțin rigidă. Procedeu uscat a fost aplicat cu succes pentru obținerea filmelor sau materialelor rigide utilizând tehnologia de procesare *melt* (extrudare, modelare, proces *ripping mill*) dar numai câteva studii au fost publicate asupra materialelor crude termoplastice (Fritz și colab., 1994). Procedeu uscat a fost testat de Cuq și colab., (1997d) pe proteine miofibrilare pentru a produce filme și ambalaje rigide. Proprietățile termoplastice ale proteinelor miofibrilare au fost studiate prin analiză termică dinamică. Modificarea comportamentului mecanic între 215-250°C sunt asociate cu tranziția *glass* a proteinelor plasticizante. Degradarea termică a proteinelor miofibrilare se produce până la temperatura de 250°C.

1.4. Metode de obținere a învelișurilor comestibile/biodegradabile

Învelișurile comestibile/biodegradabile se obțin prin aplicarea mai multor metode:

- *imersie*. Metoda constă în imersarea produselor într-o soluție de acoperire.

Proprietățile învelișurilor depind de: densitatea, vâscozitatea și tensiunea superficială ale soluțiilor de acoperire, precum și de viteza de retragere a produsului din soluție (Cisneros-Zevallos, 2003b). În general, durata de imersare în soluția formatoare de film variază între 5-30 secunde (Ayranci și colab., 1997). Metoda prin imersie este cea mai indicată tehnică de obținere a învelișurilor cu grosime mare (Stone, 1994);

- *periere*. Metoda constă în aplicarea soluțiilor de acoperire la suprafața produselor alimentare cu ajutorul unor perii speciale. Metoda a fost aplicată pentru acoperirea castraveților și păstăilor de fasole proaspete și s-a dovedit a fi mai bună în comparație cu metoda de imersie sau de ambalare în termeni de reducerea a pierderilor de umiditate (Ayranci și colab., 1997);
- *pulverizare*. În industria alimentară, acoperirea prin pulverizare este metoda convențională utilizată atunci când soluția formatoare de înveliș nu este foarte vâscoasă, deoarece soluțiile foarte vâscoase nu pot fi pulverizate cu ușurință;
- *spumare*. La soluția formatoare de film se adaugă un agent de spumare. Spuma agitată este lăsată să curgă pe role aflate în mișcare. Periile distribuie spuma peste produs;
- *acoperire în pat fluidizat*.

1.5. Proprietățile filmelor și învelișurilor comestibile bazate pe proteine

1.5.1. Solubilitatea filmelor

Proteinele cu masă moleculară mare sunt, în general, insolubile în apă și astfel au potențial ridicat de a forma filme rezistente la apă (Cuq și colab., 1998). Filmele proteice nu își pierd integritatea după 24 de ore de imersie în apă (Cuq și colab., 1998b). Plasticizanții utilizați (sorbitol, glicerină sau zaharoza) la fabricarea filmelor bazate pe proteine cresc conținutul de substanță uscată solubilă în apă. În general, plasticizanții hidrofilii îmbunătățesc solubilitatea, aceasta crescând cu creșterea nivelurilor de plasticizanți adăugați. Monterey-Q (1998) a raportat că o parte semnificativă a glicerinei rămâne insolubilă în apă, ceea ce sugerează producerea unor interacțiuni proteină-glicină. De asemenea, prezența componentelor nonproteice din compozițiile de film (3-5 g/100 g) micșorează rezistența la apă a filmelor bazate pe proteine. Monomerii proteici și peptidele cu masă moleculară mică, formate în timpul condiționării soluțiilor formatoare de filme și imobilizate în rețea, pot constitui componente proteice solubile în apă (Cuq și colab., 1995).

1.5.2. Proprietăți mecanice

Proprietățile mecanice ale filmelor bazate pe proteine sunt, în general, evaluate prin teste de extensie în condiții izoterme, la RH controlat (procedura lui Bourne, 1968, modificată de Goutard și colab., 1992). Parametri urmăriți sunt: rezistența la întindere, elongația la valorile de rupere ale filmelor. Filmele bazate pe proteine miofibrilare au prezentat rezistențe la întindere mai mari (17 MPa) și elongațiile mai mici (23%) decât filmele pe bază de gluten (3,3 MPa și 192%) și zeină de porumb (3,9 MPa și 67%), dar rezistențe semnificativ mai mici în comparație cu filmele bazate pe polimeri sintetici [acetat de celuloză (66 MPa) și clorură de poliviniliden], dar similare cu cele ale polietilenelor de înaltă densitate (26 MPa) și joasă densitate (13 MPa). Distribuția și concentrația interacțiunilor intermoleculare afectează proprietățile mecanice ale filmelor bazate pe proteine miofibrilare. Proprietățile mecanice ale filmelor comestibile/biodegradabile pot fi îmbunătățite prin iradiere cu radiații γ (Sabato și colab., 2007), prin utilizarea alcoolului polivinil (Limpan și colab., 2012), transglutaminazei (Benjakal și Visessanguan, 2003, Oh, 2012), radiațiilor ultraviolete și zaharurilor (riboză și lactoză) ca agenți de reticulare (Bhat și Karim, 2014).

1.5.3. Permeabilitatea la vapori de apă

Valorile permeabilității la vapori de apă ale filmelor bazate pe proteine miofibrilare de pește sunt mai mari ($3,8-3,9 \times 10^{-12}$ mol.m/m².s.Pa) în comparație cu filmele sintetice: acetat de

celuloză ($0,28-0,90 \times 10^{-12} \text{ mol.m/m}^2.\text{s.Pa}$), polietilenă cu densitate înaltă ($0,014 \times 10^{-12} \text{ mol.m/m}^2.\text{s.Pa}$) și polietilenă de joasă densitate ($0,04-0,054 \times 10^{-12} \text{ mol.m/m}^2.\text{s.Pa}$), dar mai mică decât în cazul filmelor bazate pe zeină de porumb ($6,5 \times 10^{-12} \text{ mol.m/m}^2.\text{s.Pa}$) sau proteine din soia ($194 \times 10^{-12} \text{ mol.m/m}^2.\text{s.Pa}$). Permeabilitatea filmelor pe bază de proteine la vapori de apă este limitată datorită hidrofobicității inerente a proteinelor. Plasticizanții hidrofilii, precum glicerina, facilitează transferul de vapori de apă prin filmele bazate pe proteine.

1.5.4. Permeabilitatea la gaze

Filmele bazate pe proteine miofibrilare de pește au proprietăți excelente de barieră pentru gaze, în special oxigen și dioxid de carbon atunci când sunt uscate.

Valorile permeabilității la oxigen și dioxid de carbon ale filmelor bazate pe proteine miofibrilare de pește sunt cu trei ordine de magnitudine mai mici decât cele pentru polietilenă de joasă densitate. Lanțurile macromoleculelor devin mai mobile atunci când umiditatea este prezentă, ceea ce conduce la o creștere substanțială a permeabilității la gaze. Filmele bazate pe proteine miofibrilare de pește pot constitui ambalaje adecvate pentru controlarea schimbului respirator și conservarea fructelor și legumelor proaspete (Barron și colab., 1999), precum și pentru conservarea peștelui proaspăt care este sensibil la degradare oxidativă.

Proprietățile filmelor comestibile sunt influențate de plasticizanți, de umiditate și de acidul lactic utilizat pentru ajustarea pH-ului soluțiilor formatoare de filme (Souza și colab., 1998). Plasticizarea filmelor pe bază de proteine miofibrilare cu glicerină, sorbitol sau zaharoză descrește marcant rezistența filmelor și modulul elastic aparent și crește extensibilitatea și permeabilitatea la vaporii de apă (Cuq și colab., 1997b, Monterrey-Q, 1998). Creșterea conținutului de apă al filmului și a RH-ului mediului înconjurător modifică proprietățile de barieră și mecanice ale acestuia, datorită disrupției legăturilor de hidrogen dintre polimer-apă.

În cazul procedurii uscat de obținere a filmelor comestibile apa joacă rol de plasticizator al materialelor amorphe, asociat cu tranziția glass (Cuq și colab., 1997c; Souza și colab., 1998).

1.6. Aplicațiile filmelor și învelișurilor comestibile/biodegradabile

Filmele și învelișurile comestibile/biodegradabile sunt utilizate pentru preambalarea fructelor (căpșuni) și legumelor (castraveți), în industria cărnii și peștelui și în industria farmaceutică (Kester și Fenema, 1986; Herald și colab., 1995; Krochta și colab., 1997). Acestea pot feri alimentele de interacțiuni cu mediul înconjurător, pot preveni pierderile de masă sau de arome, contactul cu oxigenul sau contaminarea cu microorganisme (Kester și Fenema, 1986).

Avantajele utilizării filmelor și învelișurilor comestibile/biodegradabile

Filmele și învelișurile comestibile/biodegradabile asigură:

- reducerea pierderilor de apă prin întârzierea migrării umidității;
- frânarea migrării uleiurilor și grăsimilor;
- reducerea difuziei gazelor datorită permeabilității selective la dioxid de carbon și la oxigen;
- îmbunătățirea aspectului și a proprietăților texturale;
- asigură transportul unor aditivi alimentari (agenți antimicrobieni și antioxidanți, condimente, aromatizanți, pigmenți, absorbanți);
- reducea pierderilor de substanțe volatile de aromă;
- îmbunătățirea valorii nutritive a alimentelor, filmele și învelișurile fiind excelente vehicule pentru vitamine și minerale;
- creșterea rezistenței la infecțiile bacteriene și fungice.

Încorporarea agenților antioxidanți (BHA, BHT, acid citric și acid asorbic) și antiombiobieni (acid benzoic, benzoat de sodiu, acid sorbic, sorbat de potasiu și acid propionic) în filme și învelișuri comestibile/biodegradabile asigură îmbunătățirea siguranței și duratei de viață a produselor gata pregătite. Agenții antioxidanți adăugați la matricea fimului sau învelișului asigură protecție împotriva rânchezirii oxidative, degradării și decolorării unor produse alimentare. De asemenea, filmele și învelișurile comestibile/biodegradabile sunt prietenoase pentru mediul înconjurător, deoarece se consumă odată cu alimentul sau sunt biodegradabile, asigură rezolvarea problemei spațiilor de depozitare a deșeurilor și reduce costul de utilizare a unor subproduse (zer). Filmele de acoperire asigură ambalarea individuală a fructelor (căpșuni, prune) și a legumelor proaspete.

Dezavantaje:

Învelișurile și filmele comestibile/biodegradabile sunt mai scumpe decât amabalajele sintetice. Totuși, fabricanții consideră că avantajele nutriționale și de mediu justifică costurile mai ridicate. Filmele și învelișurile sunt amabalaje primare și sunt utilizate pentru ambalarea alimentelor în interiorul unui ambalaj sintetic secundar în timpul distribuției și depozitării produselor alimentare resepective.

1.7. Microîncapsulare

Microîncapsularea grupează un ansamblu de tehnici în care substanțele biologic active în stare solidă, lichidă sau gazoasă de mici dimensiuni sunt înconjurate complet de învelișuri individuale polimerice, astfel încât substanțele încorporate să fie cedate într-un anumit ritm și/sau în anumite condiții (Pîrvu și colab., 2011; Desai și colab., 2005; Vos și colab., 2010). Substanța în care se face încapsularea este denumită înveliș de acoperire, capsulă, material cărător, fază externă sau matrice (Wandrey și colab., 2009; Fang și colab., 2010).

Microcapsulele sunt particule sferice fine cu diametrul variind de la câțiva nm (nanocapsule) până la câțiva mm (microcapsule; Wandrey și colab., 2009), care pot fi împărțite în:

- microcapsule/nanocapsule omogene sau monolitice (microsfere/nanosfere) în care substanța activă este dizolvată sau dispersată în toată rețeaua polimerului;
- microcapsule/nanocapsule de tip rezervor (microcapsule/nanocapsule propriu-zise) în care substanța activă este înconjurată de matricea polimerului în stare monomoleculară sau polimoleculară și reprezintă miezul care este agregat cu câteva molecule, cristale sau lichid.

Structura microcapsulelor/nanocapsulelor este extrem de diversă și depinde, în majoritatea cazurilor, de tehnologia folosită.

Inițial, încapsularea a fost introdusă în domeniul biotehnologic pentru a îmbunătăți eficiența procesului de separare a celulelor producătoare, deoarece încapsularea permite separarea rapidă și eficientă a acestora de metaboliții produși.

În industria alimentară, procesul de încapsulare poate fi aplicat pentru o varietate de motive. Încapsularea este un instrument util pentru a îmbunătăți livrarea de molecule bioactive (antioxidanți, minerale, vitamine, fitosteroli, luteină, acizi grași, licopen) și celulele vii (probiotice) în produsele alimentare (Wandrey și colab., 2009, Vos și colab., 2010). În ultimii ani, industria alimentară a început să adauge compuși funcționali la diferite produse, care, de obicei, sunt foarte sensibili la condițiile de mediu, la prelucrare și/sau la condițiile gastrointestinale și, prin urmare, încapsularea impunându-se ca o măsură de protecție eficientă a acestora. Compuși funcționali sunt utilizați pentru a controla aroma, culoarea, textura sau pantru a garanta conservarea proprietăților funcționale. Încapsularea determină menținerea stabilității compușilor bioactivi în timpul prelucrării și depozitării (încetinește procesele de degradare: oxidare sau

hidroliză) și prevenirea interacțiunilor nedorite cu matricea alimentară (McClements și colab., 2009). În plus, încapsularea poate fi aplicată pentru:

- modificarea caracteristicilor fizice ale materialului original pentru a asigura o manipulare ușoară;
- a ajuta la separarea componentelor amestecului care altfel ar reacționa între ele;
- a furniza o concentrație adecvată și o dispersare uniformă a unui agent activ (Desai și colab., 2005).

1.7.1. Materialele utilizate pentru încapsulare

O gamă largă de substanțe poate fi utilizată pentru acoperirea sau încapsularea entităților de solide, lichide sau gaze de diferite tipuri și proprietăți, dar ele trebuie să fie recunoscute ca materiale sigure „GRAS” de Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară (EFSA) sau de Food and Drug Administration (FDA) din SUA (Wandrey și colab., 2009).

Cele mai importante criterii de selectare a unui material de încapsulare sunt legate de funcționalitatea, concentrația la încapsulare, modul de eliberare, cerințele de stabilitate și constrângerile de cost. Materialele folosite pentru obținerea filmului de protecție la încapsulare sunt biomolecule naturale, de calitate alimentară, biodegradabile și capabile de a forma o barieră între faza internă și mediul exterior. Dintre toate materialele, cele mai utilizate pe scară largă pentru încapsulare în aplicațiile alimentare sunt polizaharidele:

- amidonul și derivații lor: amiloza, amilopectina, dextrina, maltodextrina, polidextroza, siropul de porumb solid;
- celuloza: carboximetilceluloza, metilceluloza, etilceluloza;
- exsudatele și extractele de plante: guma arabică, guma Tragacanth, guma Karaya, guma Mesquite, galactomanani, pectina și polizaharidele solubile din soia;
- extractele marine, cum ar fi caragenanii și alginatii;
- polizaharidele microbiene și animale, cum ar fi: dextranul, gellanul, xanthanul, chitosanul.

În afară de polizaharidele naturale și modificate și alte materiale s-au dovedit a fi adecvate pentru încapsulare, precum:

- ✓ proteinele: cazeina, proteinele din zer, gelatina și glutenul;
- ✓ lipidele: acizi și alcooli grași, ceruri (ceara de albine, ceara Carnauba, ceara Candelilla), gliceride și fosfolipide;
- ✓ alte materiale: PVP (polivinilpirolidona), parafina, șerlac (rășină naturală), materiale anorganice (Wandrey și colab., 2009).

Materialele de acoperire trebuie să posede o serie de proprietăți:

- să formeze filme pliabile, fără gust, stabile;
- să fie inerte față de ingredientele active;
- să asigure stabilizarea compușilor încapsulați;
- să fie nehigroscopice și să nu prezinte vâscozitate ridicată;
- să fie solubile în mediul apos sau în solvenți sau să sufere un proces de înmuiere;
- să fie economice.

1.7.2. Tehnici de încapsulare

Există numeroase tehnici disponibile pentru încapsularea compușilor activi, majoritatea bazate pe uscare, deoarece compușii încapsulați sunt de cele mai multe ori în formă lichidă. Tehnicile de încapsulare se clasifică în:

- fizice:
 - acoperire „pan” într-un dispozitiv de tip tigaie;
 - acoperire în strat fluidizat în curent de aer;
 - extrudare centrifugală și cu duze vibratoare, electrostatică, co-extrudare;
 - uscare prin pulverizare;
 - liofilizare;
- fizico-chimice:
 - gelificare ionotropă;
 - coacervare;
- chimice:
 - policondensare și reticulare interfacială;
 - polimerizare in situ și de tip matrice.

Tehnicile de uscare prin pulverizare și liofilizare sunt cele mai comune pentru asigurarea unui înveliș de protecție a compușilor funcționali (Choi și colab., 2004). Uscarea crește gradul de stabilitate în comparație cu suspensia /emulsia originală și asigură păstrarea compușilor funcționali pentru o perioadă lungă de depozitare (Guterres și colab., 2009; Zuidam și colab., 2009).

Uscarea prin pulverizare este una dintre cele mai vechi, economice și flexibile tehnici de încapsulare utilizate pe scară largă în industria alimentară (80-90% din produsele încapsulate; Porzio, 2007; Prüsse și colab., 2008). Ea conduce la obținerea unor particule de bună calitate, cu dimensiuni mai mici de 40 μm , cu efecte pozitive asupra caracteristicilor senzoriale și texturale ale produselor finite. Instalațiile de uscare prin pulverizare, larg utilizate în industria alimentară prezintă unele dezavantaje legate de complexitatea echipamentului, neuniformitatea condițiilor în camera de uscare și de imposibilitatea realizării controlului dimensiunilor particulelor.

Extrudarea constă în picurarea unei soluții apoase de polimer (alginat de sodiu 0,6-3%) într-o baie de gelifiere (în cazul alginatului, baia de gelifiere este reprezentată de o soluție de alginat de calciu 0,05-1,5M). Instrumentele de picurare pot fi: pipete, seringi, duze vibratoare sau de pulverizare, discuri atomizoare (Wandrey, 2009). În comparație cu alte tehnici de extrudare, JetCutter s-a dovedit a fi cea mai bună tehnologie pentru aplicații industriale la scară mare (Prüsse și colab., 2008). Extrudarea electrostatică este eficientă pentru producerea de particule foarte mici, până la 50 μm . O alternativă de extrudare este co-extrudarea, utilizată pentru a obține microparticule sferice cu un miez hidrofob și un înveliș hidrofob sau hidrofil (Zuidam și colab., 2009).

Agenții activi solubili pot fi înglobați într-o emulsie. În funcție de raportul apă/ulei există trei combinații de emulsii: apă-în-ulei, ulei-în-apă și emulsii duble apă-în-ulei-în-apă. O emulsie apă-în-ulei poate fi uscată prin diferite metode de uscare cum ar fi pulverizarea sau liofilizarea, obținându-se pulberi. Astfel de emulsii uscate ar putea fi încapsulate sau folosite în formulări instant pentru numeroase produse alimentare (Zuidam și colab., 2009). Pulverizare-racire sau pulverizare-refrigerare (diferențiate prin interavalul de temperatură) sunt tehnologii pentru producerea de agenți activi acoperiți cu lipide. Agentul poate fi dizolvat în lipide, prezent ca particule uscate sau în emulsii apoase. Pulverizare-răcire permite realizarea unor randamente ridicate și poate fi rulat în ambele moduri de prelucrare continuă și discontinuă. La pulverizare-răcire, particulele sunt păstrate la o temperatură scăzută într-un sistem similar cu granulara prin pulverizare în pat fluidizat (Zuidam și colab., 2009; Gouin, 2004).

Acoperirea în pat fluidizat este o tehnică de încapsulare în care un strat de particule sunt suspendate de un curent de aer la o anumită temperatură și pulverizate cu un material de

acoperire atomizat. Materialul de acoperire poate fi o soluție apoasă de celuloză sau derivați de amidon, proteine și gume (Dewwettinck și colab., 1999).

Liofilizarea poate fi folosită ca tehnică de încapsulare. Dezavantajele majore la liofilizare sunt legate de consumul mare de energie și de timpul lung de prelucrare. În plus, în timpul procesării se formează un înveliș cu structură poroasă deschisă între agentul activ și mediul înconjurător; ceea ce oferă o protecție slabă atunci când este necesară o eliberare prelungită a agentului activ (Zuidam și colab., 2009)

Includerea în molecule de ciclodextrine și în vezicule lipozomale oferă unele caracteristici specifice pentru agentii bioactivi, dar aceste tehnici sunt costisitoare și ca urmare sunt mai puțin exploatate. Ciclodextrinele au un buzunar interior lipofil de aproximativ 5-8 Å, în care o moleculă activă cu mărimea potrivită poate fi reversibil înglobată într-un mediu apos. Lipozomii sunt vezicule cu dimensiuni care variază de la 30 nm la câțiva microni. Mecanismul de formare a lipozomilor constă de fapt în interacțiuni hidrofil-hidrofobe între fosfolipide și molecule de apă.

1.7.3. Aplicațiile încapsulării în industria alimentară

Motivul principal al încapsulării ingredientelor active constă în îmbunătățirea stabilității în timpul prelucrării și depozitării produselor finale suplimentate cu agenți bioactivi.

1.7.3.1. Încapsularea probioticelor

Bacteriile probiotice (lactobacili, bifidobacterii) sunt definite ca microorganisme vii și componente alimentare bioactive care aduc beneficii sănătății umane, în cazul în care sunt prezente în cantități adecvate (Vos și colab., 2010). Probioticele sunt foarte sensibile la variațiile de pH, la stresul mecanic, la condițiile de transport și la enzimele digestive din stomac. În cazul încapsulării celulelor vii, alegerea sistemului de încapsulare este deosebit de important deoarece acesta trebuie să fie eficient și probioticele încapsulate trebuie să fie ușor de încorporat în produsele alimentare, fără a interfera cu textura și gustul produselor alimentare (produse lactate și salamuri crude uscate). Materialele cărătoare specifice sunt amestecuri de carbohidrați și/sau proteine. În general, sunt utilizate izolate proteice, gumă arabică, pectină, lapte praf degresat, amidon modificat, maltodextrină sau zaharuri (Wandrey și colab., 2009; Vos și colab., 2010). Frecvent se folosesc ca tehnici de încapsulare extruderea și liofilizarea (Kim și colab., 1996).

1.7.3.2. Încapsularea agenților de aromatizare

Uleiurile esențiale sunt originare din plante și fructe și sunt comun folosite ca agenți de aromatizare în alimente, băuturi, parfumuri, produse farmaceutice și cosmetice. În plus, uleiurile esențiale manifestă proprietăți antimicrobiene care pot constitui o alternativă eficientă pentru antibioticele responsabile pentru creșterea rezistenței bacteriilor și pentru aditivii chimici potențial cancerigeni. Uleiurile esențiale sunt compuse din: terpene, alcooli, acizi, ester, epoxizi, aldehide, cetone și amine (Bakkali și colab., 2008; Calo și colab., 2015). Pentru încapsularea uleiurilor se utilizează tehnicile: uscare prin pulverizare (Soottitantaw și colab., 2005); pulverizare - răcire, (tehnologie adecvată pentru a produce particule lipidice de aromă; Zuidam și colab., 2009); pulverizare-refrigerare; răcire în pat fluidizat; extrudare centrifugală; extrudare-răcire; încastrare în lipozomi și alte metode. Materialele purtătoare, utilizate în cazul uscării prin pulverizare, sunt mono- și dizaharidele, maltodextrina, siropul de porumb solid, amidonurile modificate, guma arabică, guma zădă, proteinele din lapte sau soia, gelatina hidrolizată și diverse combinații.

Scopul final al încapsulării agenților de aromă este acela de a controla eliberarea aromei și de a îmbunătăți stabilitatea în timpul prelucrării, depozitării și consumului produsului finit.

1.7.3.3. Încapsularea polifenolilor

În acest caz, încapsularea este utilizată pentru a masca gustul amar și astringent al polifenolilor și al altor compuși (Bell și colab., 2001) care prezintă activități antioxidante ridicate. Eficacitatea polifenolilor depinde de menținerea stabilității, bioactivității și biodisponibilității lor in vitro și in vivo. Gustul neplăcut al majorității compușilor fenolici este unul dintre motivele care limitează aplicarea lor la concentrații mai mari. O altă problemă este faptul că doar o mică parte a moleculelor rămân disponibile după administrare orală, datorită insuficientei rezidențe la suc gastric, permeabilității și solubilității reduse în tubul digestiv. În plus, instabilitatea acestora în condiții întâlnite la prelucrarea și depozitarea produselor alimentare (temperatură, oxigen, lumină) sau în tractul gastrointestinal (pH, enzime, prezența altor elemente nutritive), limitează beneficiile pentru sănătate ale polifenolilor (Bell și colab., 2001). Prin urmare, producătorii trebuie să furnizeze mecanisme de protecție, care să permită menținerea ingredientelor active până la timpul de consum și realizarea țintei fiziologice într-un organism (Chen și colab., 2006). Tehnologiile de încapsulare a polifenolilor includ: uscarea prin pulverizare, coacervarea, încastrarea în lipozomi, complexarea de includere, cocrystalizarea, încapsularea în drojdii și emulsii, nanoîncapsularea (Fang și colab., 2010).

1.7.3.4. Încapsularea uleiului de pește

Uleiul de pește este o sursă excelentă de acizi grași polinesaturați, precum acidul ecosapentaenoic (EPA) și docosahexaenoic (DHA) (Klaypradit, 2008). Uleiul de pește reduce riscul bolilor coronariene ale inimii, hipertensiunea, tromboza, simptomele de alergii, unele tipuri de cancer și rata de îmbătrânire (Kolanowski și colab., 2004).

Microîncapsularea ajută la depășirea principalelor probleme ale îmbogățirii alimentelor cu acizi grași ω -3, legate de aroma neplăcută de pește a uleiului și de oxidarea acizilor grași polinesaturați, care are o influență negativă asupra acceptabilității alimentelor (Gutcho, 1976). Stabilitatea substanței microîncapsulate este influențată de compoziția materialului de încapsulare și de mai mulți factori, cum ar fi solubilitatea, vâscozitatea, temperatura de tranziție glass sau de topire și de proprietățile de emulsionare. Carbohidrații, precum glucoza, zaharoza și polizaharidele (amidonul, maltodextrinele, pectina, alginatul și chitosanul) au fost folosite cu succes ca materiale de înveliș (Arshady, 1999; Hanewald și colab., 1968). Cu toate acestea, carbohidrații nu pot fi utilizați în sistemele de matrice pentru înveliș fără prezența unui constituent activ de suprafață, deoarece acestea nu au, în general, proprietăți de emulsionare. Încorporarea carbohidraților într-o matrice de perete îmbunătățesc proprietățile de uscare ale peretelui prin favorizarea formării unei cruste uscate în jurul picăturilor de compus microîncapsulat. Concentrațiile mari de zaharuri cu masă moleculară mică nu sunt indicate pentru uscarea prin pulverizare ca urmare a formării de pulberi lipicioase și caramelizării (Anandaraman și Reineccius, 1986; Chien și colab., 1991). Tehnologiile de producere a microcapsulelor cu ulei de pește frecvent folosite au fost: uscarea prin pulverizare a emulsiei, uscarea în pat fluidizat, coacervarea, uscarea „pan”, polimerizarea in situ, polimerizarea interfacială, extruderea centrifugală (Fakir și colab., 2015), încapsulare în ciclodextrină (Na și colab., 2011)

1.7.3.5. Încapsularea pigmentilor

Carotenoizii, inclusiv licopenul, în afară de funcțiile benefice pentru sănătatea oamenilor, sunt utilizați ca pigmenți naturali în produsele alimentare, băuturi, cosmetice și hrana unor animale, în special, păsări de curte și pește în locul coloranților artificiali (Britton și colab., 1995). În ultima vreme, interesul pentru licopen a crescut, datorită asocierii consumului de alimente bogate în licopen (roșii și produsele sale) și nivelului ridicat de licopen din plasmă, cu un risc scăzut de dezvoltare a cancerului de prostată (Van Den Berg și colab., 2000; Giovannucci, 2002; Venkateswaran și colab., 2004). Proprietățile, acțiunile și funcțiile licopenului sunt strâns legate de structura lui chimică. Lanțul polienic este responsabil atât pentru absorbția luminii vizibile, cât și pentru reactivitatea moleculară mare. În natură, cei mai mulți carotenoizi se găsesc în configurația trans (Mercadante și Egeland, 2004) mult mai stabilă în comparație cu izomerul cis. Totuși, în timpul prelucrării și depozitării, carotenoizii pot suferi cu ușurință modificării structurale în diferiți izomeri geometrici și, de asemenea, pot fi oxidați, cu scăderea sau pierderea proprietăților biologice.

Alternativa pentru a crește stabilitatea carotenoizilor și pentru a permite încorporarea lor într-un mediu hidrofил este tehnica de microîncapsulare, care asigură o barieră fizică care protejează pigmentul. Dintre tehnicile de microîncapsulare disponibile, procesul cel mai folosit este uscarea prin pulverizare.

1.7.3.6. Încapsularea micronutrienților

Deficiențele de iod, fier și vitamina A sunt probleme importante de sănătate publică, în special pentru copiii preșcolari și femeile gravide în țările cu venituri mici (Organizației Mondiale a Sănătății, 2000). Aceste deficiențe se datorează în principal dietelor monotone, de slabă calitate, care nu îndeplinesc cerințele pentru micronutrienți. Co-fortificarea alimentelor cu fier, iod și vitamina A poate fi avantajoasă din cauza interacțiunilor benefice ale acestor micronutrienți în metabolism. Studiile pe animale și om au arătat că anemia feriprivă afectează metabolismul tiroidian (Zimmermann și colab., 2000a,b; Hess și colab., 2002a,b). Deficitul de vitamina A poate exacerba anemia prin afectarea metabolismului fierului (Semba și Bloem, 2002). Vitamina A, împreună cu iodul, poate reduce hiperstimularea tiroidei și riscul pentru gușă (Zimmermann și colab., 2007). Încapsularea micronutrienților poate fi aplicată pentru a proteja bioactivitatea acestora și pentru a asigura calitatea produselor finite.

Fierul încapsulat este folosit pentru fortificarea făinurilor și produselor lactate. El descrește oxidarea acizilor grași, aminoacizilor și a altor nutrienți, care poate cauza modificări nedorite și reducerea valorii nutriționale a alimentelor cu aport de fier (Shrooyen și colab., 2001). De asemenea, reduce interacțiunile fierului cu unele componente ale alimentelor (taninuri, polifenoli, fitați, Hurrel, 2002), ceea ce ar conduce la modificarea culorii și la reducerea disponibilității fierului. Sunt încapsulați compuși ai fierului, precum sulfatul feros, fumaratul feros, pirofosfatul feric și fierul elementar (Zimmermann și colab., 2009). Încapsularea fierului poate fi realizată și în combinație cu acidul ascorbic, cu iodul sau cu vitamina A și iodul. Materialele de acoperire solubile în apă (celuloza, maltodextrina) nu asigură protecția împotriva oxidării fierului în mediul înconjurător, de aceea se recomandă încapsularea fierului cu uleiuri hidrogenate (ulei de castor, de soia), ceara Carnaube și lipozomi de lecitină de soia, care asigură o barieră eficientă pentru vaporii de apă, la un preț de cost relativ scăzut. Tehnicile de încapsulare pentru fier sunt: acoperire în pat fluidizat, pulverizare-răcire, pulverizare cooling.

De asemenea, sulfatul feros a fost încapsulat împreună cu acidul ascorbic și β -carotenu, folosind pentru încapsulare doi polimeri (alginat și chitosan) funcționalizați prin acilare cu clorura de palmitoil. Granulele au fost formate prin gelificare ionică, ele prezentând caracteristici

mecanice și fizice crescute (rezistență la perforare și deformare, viscoelasticitate, permeabilitate la vapori de apă și rata de umflare a gelului). Încapsularea a crescut puternic stabilitatea micronutrienților selectați (Han și colab., 2008).

Iodul este încapsulat în amidon modificat, gelatină sau hexametafosfat de sodiu, prin tehnicile de uscare pulverizare și de acoperire în pat fluidizat. Premixurile de iod și fumarat de fier sunt încapsulate printr-un proces ce se desfășoară în două etape: aglomerarea particulelor și acoperirea „pan”. După adăugarea dextrinei la premix, amestecul realizat a fost aglomerat și apoi acoperit cu lipide. Sarea dublă fortificată a demonstrat o mai stabilitate a iodului (Yusufali, 2002).

II. PARTEA EXPERIMENTALĂ

Capitolul 2. Materiale și metode

2.1. Materia primă

Exemplele de crap (*Cyprinus carpio*), novac (*Hypophthalmichthys nobilis*), plătică (*Abramis brama*) și macrou au fost procurate în stare proaspătă de la magazinul local de comercializare a peștelui. Peștele a fost transportat la laborator în gheață și apoi a fost păstrat la temperatura de 4°C, până la procesare. Peștele după cântărire, a fost desolzit, eviscerat, decapitat și filetat. Fileurile au fost dezosate și jupuite manual. Mușchii roșii au fost detașați manual și separați de mușchii albi. Mușchiul alb, rezultat după cântărire, a fost mărunțit prin utilizarea unei mașini electrice de tocat, prevăzută cu sită cu diametrul ochiurilor de 3 mm.

Cărnurile de vită și de porc și pieptul de pui în stare refrigerată au fost procurate de la magazinele comerciale specializate. Cărnurile de vită și de porc au fost alese de grăsime și țesut conjunctiv, iar pieptii de pui au fost dezosați și jupuiți. Cărnurile au fost tăiate în cuburi și mărunțite prin utilizarea unei mașini electrice de tocat, dotată cu sită cu diametrul ochiurilor de 3 mm.

Cărnurile tocate au fost împărțite în părți egale, fiind destinate obținerii unor derivate de proteine musculare prin diferite procedee: spălarea repetată a cărnurilor cu apă răcită sau diferite soluții de extracție concomitent cu omogenizarea la blender (3 spălări), urmată de centrifugare pentru îndepărtarea apelor de spălare; solubilizare acidă a proteinelor și precipitare acestora din soluție la pH-ul punctului izoelectric al proteinelor musculare; solubilizare alcalină a proteinelor și precipitare acestora din soluție la pH-ul punctului izoelectric al proteinelor musculare (figurile 2.1. și 2.2.).

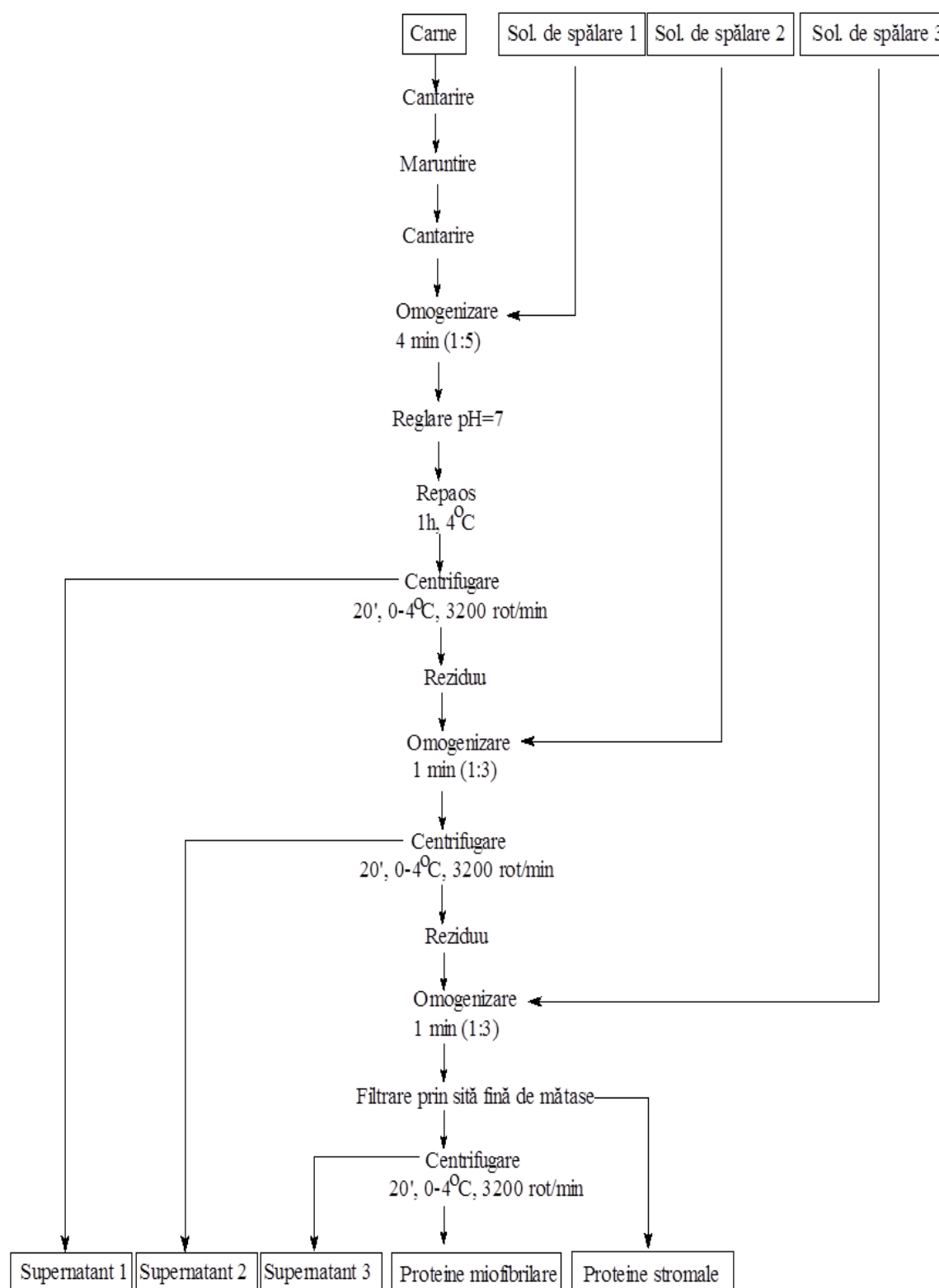


Figura 2.1. Schema generală de extracție a proteinelor miofibrilare – prin spălări repetate

Soluțiile de extracție au fost diferite în funcție de varianta adoptată:

Varianta I:

- soluție de spălare 1: KCl 0,15M + EDTA mM raport 1:5;
- soluție de spălare 2: KCl 0,15M + EDTA mM raport 1:3;

- soluție de spălare 3: KCl 0,15M raport 1:3.

Varaianta II:

- soluție de spălare 1: KCl 0,15M, tampon fosfat pH=7,0 (Na₂HPO₄ /NaH₂PO₄ 0,05M) raport 1:5;
- soluție de spălare 2: KCl 0,15M, tampon fosfat pH=7,0 (Na₂HPO₄ /NaH₂PO₄ 0,05M), raport 1:3;
- soluție de spălare 3: KCl 0,15M raport 1:3.

Varaianta III:

- soluție de spălare 1: apă distilată răcită cu gheață, raport 1:5;
- soluție de spălare 2: apă distilată răcită cu gheață, raport 1:3;
- soluție de spălare 3: apă distilată răcită cu gheață, raport 1:3.

Varaianta IV (utilizată în cazul cărnii de pasăre):

- soluție de spălare 1: NaCl 0,1M, EDTA 1mM, raport 1:5;
- soluție de spălare 2: NaCl 0,1M, EDTA 1mM, raport 1:3;
- soluție de spălare 3: NaCl 0,15M, raport 1:3.

Varaianta V (utilizată în cazul pieptului de pui):

- soluție de spălare 1: tampon fosfat pH=7,0 (Na₂HPO₄ /NaH₂PO₄ 0,05M), EDTA 1mM, NaCl 0,1M, raport 1:5;
- soluție de spălare 2: tampon fosfat pH=7,0 (Na₂HPO₄ /NaH₂PO₄ 0,05M), EDTA 1mM, NaCl 0,1M, raport 1:3;
- soluție de spălare 3: NaCl 0,1M raport 1:3.

Varaianta VI (folosită pentru extragerea proteinelor miofibrilare din piept de pui, inimă de vită și pește-crap):

- soluție de spălare 1: bicarbonat de sodiu 0,1M, NaCl 0,1M, raport 1:5;
- soluție de spălare 2: bicarbonat de sodiu 0,1M, NaCl 0,1M, raport 1:3;
- soluție de spălare 3: NaCl 0,1M, raport 1:3.

Varaianta VII (folosită pentru extragerea proteinelor miofibrilare pește-crap):

- soluție de spălare 1: bicarbonat de sodiu 0,1M, KCl 0,1M raport 1:5;
- soluție de spălare 2: bicarbonat de sodiu 0,1M, KCl 0,1M raport 1:3;
- soluție de spălare 3: KCl 0,1M raport 1:3.

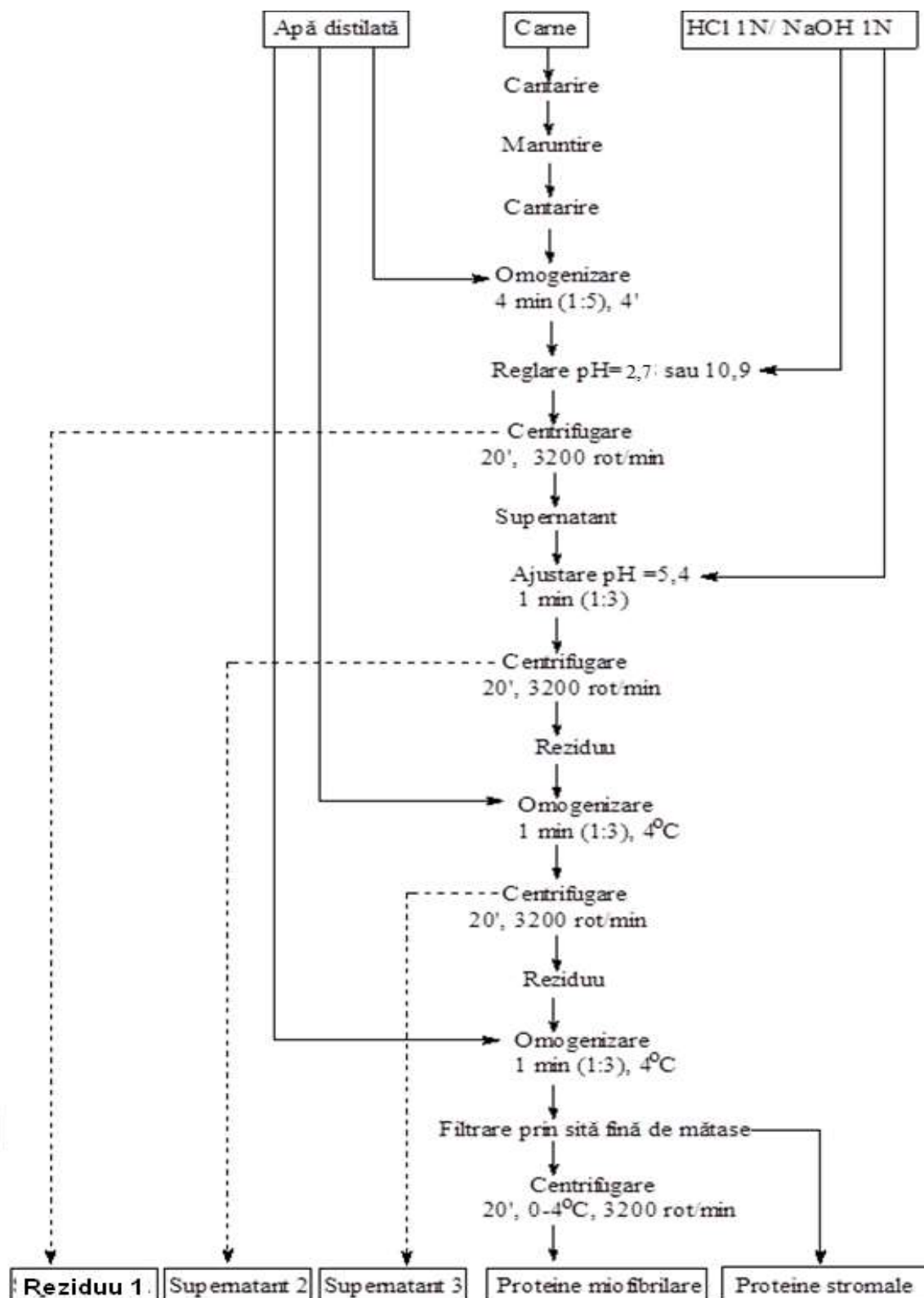


Figura 2.2. Schema de extracție prin procedeul acid și alcalin

2.2. Obținerea concentratelor proteice liofilizate

Pastele proteice umede, obținute prin diferite metode de extracție, au fost uscate prin liofilizare folosind aparatul de liofilizare de tip Alpha 1-4 LD Plus, furnizat de firma Christ.

Probele au fost mai întâi congelate la ultrafrizer, Platinum 500, la temperatura de -48°C , timp de 42 de ore și apoi uscate prin sublimare.

Condițiile de liofilizare au constat în:

- încălzirea pompei 20 minute;
- uscarea principală: 2 ore, presiune 1 mbar, temperatura -20°C ;
- uscarea finală: 20 minute.

2.3. Metode de analiză

2.3.1. Determinarea compoziției chimice aproximative

Conținuturile de apă, proteine, grăsime și cenușă au fost determinate prin utilizarea metodelor standard de analiză (AOAC, 1990). De asemenea, umiditatea a fost determinată și prin uscare rapidă până la masă constantă cu ajutorul Termobalanței Precisa XM 60 (SR. ISO 1442: 2010). Azotul total a fost determinat prin metoda semimicro Kjeldahl, mineralizarea efectuându-se în instalația de tip Trade Raypa. Proteinele globale au fost calculate prin multiplicarea conținutului de azot total cu factorul proteic 6,25. Toate analizele chimice au fost efectuate în duplicat. Proteinele solubile au fost determinate prin metoda colorimetrică Lowry (Ionescu și colab., 1992). Pentru determinarea conținutului de lipide prin metoda Soxhlet s-a utilizat instalația de extracție (Sistem Soxhlet – Velp. (SR 9065-10:2007).

Determinarea conținutului de cenușă (SR. ISO 936: 2009) s-a realizat în cuptorul de calcinare tip Thermolyne. Substanțele minerale totale sunt reprezentate de reziduul obținut după calcinarea la $525 \pm 20^{\circ}\text{C}$ și răcirea repetată a probelor până la masă constantă.

Toate substanțele chimice utilizate au fost de puritate analitică.

Determinarea pH-ului prin metoda potențiometrică (SR. ISO 2917: 2007) a fost efectuată cu ajutorul pH-metrului tip Hanna, folosind dispersii proteice cu concentrația de 10% (G/V), la temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

2.4. Proprietățile funcționale ale concentratelor/izolatelor proteice

2.4.1. Solubilitatea proteinelor

Solubilitatea proteinelor musculare de pește sau de carne de porc, vită sau pasăre a fost studiată la valori ale pH-ului cuprinse între 3 și 11. Inițial, a fost pregătită suspensia proteică cu concentrația de 1% în apă distilată prin agitare timp de 1 oră pe un agitator magnetic la temperatura camerei. Părți alicote din suspensie au fost prelevate pentru determinarea solubilității proteinelor la diferite valori ale pH-ului obținute după ajustare cu o soluție de HCl 2M sau NaOH 2M și agitare timp de 1 oră. După ajustarea pH-ului și aducere la volum cunoscut, probele au fost centrifugate la 3000 rpm, timp de 30 min. 10 ml supernatant au fost supuși mineralizării în conformitate cu metoda semimicro Kjeldahl împreună cu 15 ml H_2SO_4 concentrat și amestec oxidant într-o instalație de tip Trade Raypa. Cantitatea de proteine solubilizate a fost calculată prin amplificarea azotului total cu factorul proteic 6,25. Curbele de solubilitate a proteinelor au fost construite folosind nivelurile medii de proteine obținute pentru fiecare valoare de pH luată în considerare. Au fost efectuate probe duble pentru fiecare valoare de pH.

2.4.2. Absorbția apei și uleiului

Capacitatea de absorbție a apei a fost determinată prin centrifugare, în conformitate cu metoda descrisă de Sathe și colab., (1982a), cu unele modificări. Probele (3 g proteine musculare) au fost mai întâi uscate timp de 24 ore la 104°C și apoi plasate în tuburi de centrifugă pre-cântărite și dispersate în 25 ml de apă distilată. Dispersiile obținute au fost agitate ocazional. După 30 min de păstrare la temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, probele au fost

centrifugate timp de 30 minute la 3500 rpm. Supernatantul a fost îndepărtat, iar excesul de umiditate a fost eliminat prin uscare timp de 25 de minute la 50°C. În final, tuburile centrifugale au fost cântărite. Capacitatea de absorbție a apei a fost determinată pentru pH-ul normal al derivatului proteic și exprimată ca ml de apă absorbită/g de derivat proteic. Au fost efectuate probe duble.

Capacitatea de absorbție a uleiului a fost determinată conform metodei lui Lin și colab., (1974). Derivatul proteic (0,5 g) a fost omogenizată cu 6 ml de ulei de floarea soarelui într-un tub de centrifugă, cântărit în prealabil. În scopul unei mai bune dispersii a proteinei în ulei, conținutul tubului a fost agitat timp de 1 min cu o baghetă subțire de sticlă, apoi, probele au fost centrifugate la 3000 rpm, timp de 25 min, iar 30 min mai târziu uleiul separat a fost eliminat. Capacitatea de absorbție a uleiului a fost exprimată ca ml de ulei/g de derivat proteic, pentru probe duble.

2.4.3. Capacitatea de emulsionare

Pentru a studia efectul pH-ului asupra capacității de emulsionare a concentratelor de proteine musculare au fost realizate dispersii proteice cu concentrația de 1% (G/V). Pentru solubilizarea proteinelor, dispersiile proteice au fost agitate cu un agitator magnetic și ajustate la pH-uri diferite, cuprinse între 3 și 11, prin adăugare de HCl 2M sau NaOH 2M. Pentru determinarea capacității de emulsionare, 50 g de suspensie proteică au fost transferate în cuva unui agitator și împreună cu uleiul de floarea soarelui adăugat treptat dintr-o biuretă au fost omogenizate continuu până la distrugerea emulsiei (Beuchat, 1977). Măsurătorile au fost efectuate la 22°C ± 1°C, iar capacitatea de emulsionare a fost exprimată ca ml de ulei utilizați pentru emulsionarea unui g de derivat proteic. Au fost efectuate probe duble.

2.4.4. Capacitatea de spumare și stabilitatea spumei

Capacitatea de spumare și stabilitatea spumei au fost determinate conform metodei descrise de Lin și colab., (1974), cu unele modificări. 100 ml de dispersie proteică cu concentrația de 1% (G/V) au fost omogenizați cu mixerul Braun timp de 3 min. Volumul de dispersie a fost înregistrat înainte și după formarea spumei. Capacitatea de spumare a fost exprimată prin creșterea procentuală a volumului după agitare în raport cu volumul inițial, pentru probe duble, conform relației de mai jos:

$$\text{Creșterea în volum} = \frac{V_f - V_i}{V_i} \times 100;$$

unde:

V_f - volumul final al spumei;

V_i - volumul inițial al soluției.

Stabilitatea spumei a fost determinată prin înregistrarea scăderii nivelului spumei după păstrarea probelor agitate la temperatura camerei timp de 30, 60, 90, 120 și 150 minute, cu relația:

$$\text{Stabilitatea spumei. \%} = \frac{V_{ST} \times 100}{V_i},$$

unde:

V_{ST} - volumul de spumă după păstrare un anumit timp;

V_i - volumul inițial al soluției.

2.4.5. Proprietățile de gelificare

Proprietățile de gelificare au fost determinate prin măsurători reologice dinamice la oscilații de mică amplitudine, efectuate cu un reometru la tensiune controlată (AR 2000, TA Instruments, New Castle, DE) , atașat la un computer control software (Rheology Advantage Data Analysis Program, TA, New Castle, DE). Temperatura a fost monitorizată prin utilizarea unui sistem de control al temperaturii Peltier. Toate măsurătorile reologice au fost făcute utilizând o geometrie con placă de 40 mm, cu o unghi de 2° și un gap de 2000 μm . Pentru fiecare test, aproximativ 2 g de suspensie proteică au fost plasate la baza plăcii reometrului. Pentru prevenirea deshidratării s-a adăugat silicon de vâscozitate redusă în jurul marginilor plăcii. Măsurătorile au fost făcute la frecvență unghiulară constantă de 0,3142 rad/min (frecvența de 0,05 Hz) prin scanarea domeniilor de temperatură 4,3 - 74,9°C și 31 - 80°C. Au fost înregistrate modificările modulului de depozitare (G') și ale unghiului de fază sau de deformare (δ) în funcție de temperatură. Viteza de încălzire a fost programată la 1°C/min. Pentru toate probele a fost stabilit domeniul de vâscoelasticitate liniară la temperatură constantă de 20°C și la frecvența de 0,10 Hz. Pentru fiecare test, proba a fost menținută un timp de 5 minute pentru echilibrarea temperaturii. Probele au fost efectuate în duplicat.

2.5. Prepararea filmelor proteice

Inițial, conținutul de proteine al soluției peliculogene a fost ajustat la 1%, 1,5%, 2% sau 2,5% și apoi a fost adăugat glicerolul ca plastifiant în proporție de 30%, 40%, 50% sau 70% raportat la proteine (g/g). În unele soluției peliculogene (2%) a fost înlocuită o parte din proteină (1 g/100g soluție) cu 1g gelatină/100g soluție sau cu 1g ciclodextrină. Soluția se agită moderat la un agitator magnetic (model ARE).

După dispersia completă a concentratului se reduce valoarea de pH la 2,7 cu acid acetic, pentru filmele acide sau se reglează pH- ul la 10,8 cu NaOH, pentru filmele alcaline. Soluția obținută a fost tratată termic pe o baie de apă (Model jswb-06T.) cu controlul temperaturii de la 25°C la temperatura de 90°C (1°C/min), cu menținerea acestei temperaturi timp de 30 minute. După răcire soluția a fost centrifugată timp de 20 minute la 6000rot./min. În final, supernatantul a fost turnat pe plăci PETRI (D = 90 mm.) pregătite în prealabil. S-a măsurat volumul soluției filmogene (20 ml.) turnată în plăcile PETRI. Deshidratarea se face la 30°C și umiditate relativă de 55-65% pentru 24 ore (Monterrey-Quintero și Sobral, 2000). Cântărirea tuturor componentelor filmului a fost efectuată la balanța analitică (Model Sartorius) cu o precizie de 0,0001g. După evaporarea apei, filmele rezultate au fost desprinse manual. Pentru determinarea proprietăților funcționale, filmele au fost condiționate la 22-25°C la 58% umiditate relativă într-un exicator cu soluție saturată de NaBr, pentru 7 zile.

Apoi, grosimea filmelor a fost măsurată în 9 locații diferite cu un micrometru digital (0,001 mm) la o probă cu diametrul de 6,5 mm.

2.6. Proprietățile filmelor bazate pe proteine musculare de pește

2.6.1. Aspectul filmului

Aspectul filmului a fost apreciat vizual, apreciind ușurința cu care se desprinde de placă, flexibilitatea, culoarea, prezența bulelor de aer și a crăpăturilor.

2.6.2. Măsurarea grosimii filmului

Grosimea filmului a fost măsurată prin utilizarea micrometrului în 9 locații alese la întâmplare. Precizia de măsurare a grosimii filmului a fost de $\pm 5\%$.

2.6.3. Permeabilitatea la vapori de apă (PVA)

Permeabilitatea la vapori de apă a fost măsurată prin folosirea metodei ASTM modificate de Gontard și colab., (1992). Proba de film a fost plasată pe o cupă de sticlă care conține gel de silică (RH 0%) și fixată cu unsoare de silicon și o bandă de material plastic. Cupa a fost plasată într-un exicator cu apă distilată (100% RH), la 30°C. Cupa a fost cântărită la intervale de 1 oră timp de 12 ore și permeabilitatea filmului a fost calculată cu ajutorul formulei:

$$PVA(10^{-10} gm^{-1}s^{-1}Pa^{-1}) = w \times x \times A^{-1} \times t^{-1}(P_2 - P_1)^{-1}$$

unde:

- w este creșterea în greutate, în g; x este grosimea filmului, în m;
- A este aria filmului expus, în m^2 ,
- t timpul de menținere;
- $(P_2 - P_1)$ este diferența de presiune parțială a vaporilor din atmosfera cu gel de silică și apă pură $(P_2 - P_1) = 2642$ Pa la 22°C.

Această procedură a fost repetată de două ori, făcându-se în total patru teste pentru fiecare tip de film.

2.6.4. Hidroliza cu protează

20 mg de pulbere de film măcinat au fost suspendate în 20 ml soluție enzimatică [0,2 mg α chimotripsină/ml de tampon Tris 40 mM - HCl (pH 7,6)]. Suspensia protează-substrat a fost incubată la 37°C timp de 120 minute (Yildirim & Hettiarachchy, 1998). Hidroliza a fost stopată prin adăugarea unui ml de soluție TCA 50% la 4 ml suspensie. După centrifugarea suspensiei la 4500rot./min. pentru 30 minute, supernatantul a fost îndepărtat și apoi au fost adăugați peste precipitat 4 ml soluție NaOH 0,5M pentru dizolvarea acestuia. Cantitatea de proteine din soluția de NaOH a fost determinată prin metoda Lowry din probe triple pentru fiecare tip de film. Hidroliza cu protează a fost calculat cu următoarea ecuație:

$$\%P_f = \left[1 - \left(\frac{P_2}{P_1} \right) \right] \times 100,$$

unde:

- P_f este conținutul procentual de proteină după incubare;
- P_1 este conținutul de proteine în precipitat înainte de incubare;
- P_2 este conținutul de proteine după incubare.

2.6.5. Solubilitatea filmului în diferite soluții denaturante

Probele de film au fost solubilizate în 4 soluții diferite: soluție de NaCl 0,6M (S1); soluție de uree 1,5M + NaCl 0,6M (S2); soluție de uree 8,0M + NaCl 0,6M (S3) și soluție de 2- β -mercaptoetanol 0,5M + uree 8,0M + NaCl 0,6M, conform indicațiilor lui Perez-Mateos, ș.a., 1997. Pulberea de film măcinat (25 mg) a fost imersată în 5 ml din fiecare soluție (S1, S2, S3 sau S4) și agitată ușor peste noapte la temperatura camerei prin utilizarea unui agitator. Soluția a fost centrifugată la 4500rot./min. pentru 30 min și concentrația proteinei din supernatant a fost determinată în probe triple prin utilizarea metodei colorimetrice Lowry.

2.6.6. Solubilitatea filmului în apă

Solubilitatea filmului în apă a fost determinată conform descrierii lui Tunc ș.a. (2007). Probele de film tăiate sub formă pătrată (4x4 cm) au fost uscate la etuvă la 105°C pentru 24 ore în vederea măsurării substanței uscate inițiale a filmului. Apoi, probele uscate au fost imersate în pahare cu apă distilată (50 ml) și agitate ocazional pentru 24 ore la 25°C, după care au fost

scoase din apă, tamponate cu hârtie de filtru Whatman nr.1, pentru a îndepărta excesul de apă și apoi uscate la 105°C până la masă constantă. Solubilitatea filmului în apă a fost calculată utilizând ecuația:

$$\text{Total substanță uscată solubilizată în apă (TSA), \%} = \left(\frac{G_i - G_f}{G_i} \right) \times 100,$$

unde :

- G_i este greutatea inițială a filmului, în g,
- G_f este greutatea substanței uscat a probei de film după imersare și uscare, în g.

Au fost efectuate probe triple pentru fiecare tip de film.

2.6.7. Transmisia luminii și transparența

Proprietățile de barieră ale filmelor pentru lumina ultravioletă și vizibilă au fost evaluate prin scanarea domeniului de lungimi de undă cuprinse între 200 și 800 nm, utilizând spectrofotometrul UV (Spectrofotometrul UV-VIS HACH), conform metodei indicate de Fang și colab., (2002), cu unele modificări. În acest sens, filmele au fost decupate în benzi dreptunghiulare cu dimensiunile (1x2 cm) și fixate pe benzi de mărimi identice de hârtie albă (A) și neagră (N). Opalescența a fost calculată ca raport procentual între absorbanta citită în cazul fondului negru (AbN) și absorbanta citită pe fond alb (AbA) [$AbN/AbA \times 100$] pentru fiecare lungime de undă. Transparența filmului a fost calculată cu următoarea ecuație (Han & Floros, 1997):

$$\text{Transparența} = \frac{A_{600}}{x},$$

unde:

- A_{600} este absorbanta la 600 nm,
- x - grosimea filmului.

Pentru aprecierea opalescenței și transparenței filmelor au fost efectuate probe triple.

2.6.8. Măsurarea proprietăților mecanice

Înainte de testarea proprietăților mecanice, filmele au fost condiționate timp de 48 ore la RH 50% și 25°C și a fost determinată grosimea medie a filmului pentru a estima aria secțiunii transversale a probei.

Rezistența la tracțiune (RT) și elongația procentuală la rupere (ER) au fost determinate utilizând Mașina universală pentru încercări, Testometric M350-5AT, care operează în conformitate cu Societatea Americană pentru Testarea Materialelor (ASTM), Metoda standard D882-22 (ASTM 2002). Din fiecare film au fost tăiate benzi dreptunghiulare (lățime 20 mm; lungime 50 mm) care au fost folosite pentru determinarea rezistenței la întindere și elongației procentuale la rupere. Rezistența la tracțiune (RT, MPa) a fost calculată prin împărțirea încărcăturii maxime (N) necesară pentru a întinde proba de film la suprafața secțiunii transversale (m²). Elongația la rupere (ER, %) a fost calculată prin împărțirea alungirii filmului în momentul rupturii la lungimea de prindere inițială (50 mm în acest studiu) a probelor înmulțită cu 100. Au fost testate câte 4 probe pentru fiecare film.

2.6.9. Microscopie prin scanare electronica

Studiile privind microstructura filmelor au fost efectuate cu ajutorul microscopul electronic Quanta 200 (FEI Company, Olanda). Probele de film au fost montate pe plăcuțe de aluminiu și morfologia suprafeței probelor de filme a fost vizualizată la o tensiune de accelerare de 20 kV.

2.7. Prepararea pâinii

La prepararea aluatului au fost folosite urătoarele materiale: făină, apă, sare și concentrat proteic de pește umed sau liofilizat. Frământarea s-a efectuat în Kitchen Aid (model 5 KSM 150, Anglia) în trei etape: 1 min la turația de 280 rpm; 1 min la 360 rpm și 20 secunde la 440 rpm. După amestecare, aluatul s-a menținut pentru fermentare, timp de 60 min. la 30°C și umiditatea relativă (RH) de 85%. Apoi, aluatul a fost scos din cuva malaxorului și împărțit în 2 părți de câte 320 g. Fiecare porțiune de aluat a fost formată ca pâine, plasată într-o tavă de copt și menținută în fermentator pentru încă 60 min. În final, aluatul a fost copt timp de 30 min la 230°C, într-un cuptor electric. După scoatere din cuptor, pâinea a fost răcită timp de 2 ore, la 20°C și 50% RH. Experimentările au fost repetate de două ori pentru fiecare rețetă folosită.

2.7.1. Determinarea proprietăților pâinii

2.7.1.1. Volumul specific al pâinii

Determinarea a constat în măsurarea volumului deplasat de pâine într-un mediu format din particule solide mici (de obicei semințe de rapită). Măsurătorile s-au efectuat după cântărirea prealabilă a probelor de pâine.

Trei măsurători au fost făcute pentru fiecare bucată de pâine și valorile medii au fost raportate la 1g de pâine (cm³/g) (Bordei și Burluc, 2003).

2.7.1.2. Elasticitatea a miezului de pâine

Din fiecare probă de pâine au fost decupate câte trei bucăți cilindrice de miez de pâine, cu dimensiunile 4,15 x 6 cm (D x H) cu ajutorul unui cuțit cilindric. Bucățile cilindrice au fost presate până la jumătate din înălțimea inițială (1 min), iar după îndepărtarea presei a fost înregistrată înălțimea finală (1 minut). Elasticitatea relativă reprezintă înălțimea după 1 minut de la revenire, exprimată în % față de înălțimea inițială, conform relației (Bordei și Burluc, 2003):

$$\text{Elasticitatea, \%} = \frac{H_f}{H_i} \times 100 ,$$

unde:

H_i - înălțimea inițială a cilindrului de miez, în mm;

H_f - înălțimea finală a cilindrului de miez, în mm.

2.7.1.3. Porozitatea miezului de pâine

Porozitatea pâinii reprezintă volumul total al porilor dintr-un anumit volum de miez exprimat în %. Din fiecare probă de pâine se decupează trei cilindri gradați dimensiunile 4.15 x 6 cm (D x H) cu ajutorul unui cuțit cilindric. După presarea acestora până la dispariția golurilor, bilele compacte se introduc într-un cilindru cu ulei pentru stabilirea volumului acestora. Porozitatea relativă a miezului se calculează prin împărțirea volumului inițial la volumul final și multiplicarea cu 100 (Bordei și Burluc, 2003).

2.7.1.4. Analiza senzorială

Analiza senzorială a probelor a fost realizată de un grup de 10 specialiști aparținând Departamentului de analize senzoriale al Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea Dunarea de Jos din Galați, România. Fiecare bucată de pâine a fost verificată prin sistemul de calitate de 30 puncte. Acest sistem include indicii fizici (volum specific, porozitate, elasticitate) și indicii senzoriale (volum pâine - 4 puncte; culoarea crustei - 4 puncte; textura - 6 puncte; porozitate - 6 puncte; aroma - 4 puncte și gust - 6 puncte).

Capitolul 3. Proteine miofibrilare

3.1. Studiul proprietăților funcționale ale concentratelor/izolatelor proteice

În prezent, există un interes crescut pentru utilizarea proteinelor miofibrilare extrase din surse ieftine (specii de pești neutilizabile, cărnuri de calitate inferioară, inimă de vită, carne dezosată mecanic de pasăre sau vită) ca sursa de proteine cu valoare biologică ridicată pentru alimentația omului și ca ingredient funcțional, datorită proprietăților funcționale deosebite ale lor. Au fost dezvoltate mai multe metode pentru obținerea concentratelor proteice din diferite surse proteice, cele mai multe dintre ele determinând o diminuare nesemnificativă a proprietăților funcționale ale proteinelor miofibrilare. Procedee recente se bazează pe solubilizarea proteinelor musculare la pH scăzut sau ridicat, separarea proteinelor solubile prin centrifugare și apoi precipitarea acestora la pH-ul punctului izoelectric.

Solubilizarea acidă sau alcalină și precipitarea proteinelor solubilizate la punctul izoelectric este un proces de recuperare care asigură separarea proteinelor miofibrilare de collagen, grăsime și oase. Acest proces de extracție a proteinelor nu necesită tratament termic denaturant.

Frecvent, în cazul materiilor prime slabe se folosesc procedee de îndepărtare a proteinelor sarcoplasmice, a grăsimii și a substanțelor extractive prin spălarea repetată a cărnii tocate cu apă rece sau cu diferite soluții răcite, urmată de îndepărtarea apelor/soluțiilor saline sau alcaline de spălare prin presare sau centrifugare. Acest procedeu este utilizat la obținerea produsului surimi (concentrat de proteine miofibrilare de pește) sau a produselor similare (like-surimi), cum sunt concentratul de proteine miofibrilare din carne dezosată de pasăre, carne sângerată și din inimă de vită (Ionescu și colab., 2008 și 2010)

Proteinele miofibrilare, obținute din surse diferite, au fost caracterizate din punct de vedere funcțional prin determinarea solubilității proteinelor, proprietăților de emulsionare, spumare și de gelificare.

În tabelul 3.1 sunt prezentate tipurile de concentrate/izolate de proteine miofibrilare, metodele de separare folosite și concentrațiile lor în substanță uscată și proteine. După conținutul de proteine, unele paste proteice pot fi incluse în categoria concentratelor proteice (conținutul de proteine cuprins între 70-87% din s.u.), conform clasificării propuse de *Food and Agriculture Organization* (Barzana și Garibay, 1994), iar altele în categoria izolatelor proteice la care conținutul de proteine a fost mai mare de 90% s.u.

Tehnica de separarea a proteinelor prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 a condus la cele mai bune rezultate în cazul cărnurilor de porc (85,17% s.u.), vită (92,42% s.u.) și pui (91,49% s.u.). Nivelul cel mai mic de proteine (73,98%) a fost înregistrat în cazul spălării repetate a cărnii de porc tocate cu apă (CPMP 3), ceea ce ne permite să considerăm că această tehnică este neadecvată pentru obținerea derivatelor proteice cu concentrație adecvată de proteine din carne de porc. Toate tehnicile folosite au inclus o operație de separare a proteinelor stromale, astfel încât concentratele obținute de noi conțin cu precădere proteine miofibrilare și sarcoplasmice și cantități mici din alte substanțe de însoțire. Pieptul de pui și pulpa de vită sunt surse mai bune de proteine miofibrilare și sarcoplasmice decât pulpa de porc sau carnea de crap și macrou.

Tabelul 3.1. Concentrate/izolate proteice, tehnica de obținere și concentrațiile în substanță uscată și proteine

Sursa	Denumirea concentratului de proteine miofibrilare	Metoda de extracție	Substanța uscată, g%	Proteine, g%
Mușchi de Crap	CPMC	Solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4	18,0 ^a ±0,87 ^b	15,10 ^a ±0,74 ^b (83,33% s.u.)
Mușchi de Crap	CPMC1	Extracție în soluție salină 0,15M KCl și 1mM EDTA	16,55 ^a ±0,82 ^b	15,12 ^a ±0,64 ^b (91,35% s.u.)
Mușchi de Macrou	CPMM	Extracție în soluție salină 0,15M KCl și 1mM EDTA	17,61 ^a ±0,81 ^b	14,37 ^a ±0,68 ^b (81,60% s.u.)
Pulpă de Porc	CPMP 1	Solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4	16,45 ^a ±0,80 ^b	14,01 ^a ±0,71 ^b (85,17% s.u.)
Pulpă de Porc	CPMP 2	Solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4	14,95 ^a ±0,73 ^b	12,41 ^a ±0,0,59 ^b (83,10% s.u.)
Pulpă de Porc	CPMP 3	Separare proteine miofibrilare prin extracție cu apă distilată	13,82 ^a ±0,68 ^b	10,21 ^a ±0,50 ^b (73,88% s.u.)
Pulpă de Porc	CPMP 4	Extracție cu tampon fosfat	18,31 ^a ±0,90 ^b	15,57 ^a ±0,75 ^b (85,04% s.u.)
Pulpă de Vită	CPMV 1	Solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4	14,21 ^a ±0,70 ^b	13,13 ^a ±0,66 ^b (92,42% s.u.)
Pulpă de Vită	CPMV 2	Solubilizare în mediu acidă (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4	15,69 ^a ±0,77 ^b	13,18 ^a ±0,65 ^b (84,00% s.u.)
Piept de Pui	CPMPP 1	Solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4	15,51 ^a ±0,77 ^b	14,19 ^a ±0,70 ^b (91,49% s.u.)
Piept de Pui	CPMPP 2	Solubilizare în mediu acidă (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4	14,69 ^a ±0,73 ^b	12,18 ^a ±0,60 ^b (82,91% s.u.)
Mușchi de Novac	CPMN1	Solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4	15,80 ^a ±0,87 ^b	13,49 ^a ±0,64 ^b (85,33% s.u.)
Mușchi de Novac	CPMN2	Solubilizare în mediu acidă (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4	14,17 ^a ±0,67 ^b	12,59 ^a ±0,64 ^b (88,84% s.u.)
Mușchi de Novac	CPMN3	Extracție în soluție salină 0,15M KCl și 1mM EDTA	16,17 ^a ±0,80 ^b	14,66 ^a ±0,73 ^b (90,66% s.u.)

a - Valori medii; b ± eroarea standard

Calitatea și stabilitatea unui produs proteic finit sunt afectate de proprietățile funcționale ale proteinelor (Xiong, 2000). Cele mai importante proprietăți funcționale, atunci când sunt obținute

concentrate sau izolate de proteine musculare, pentru utilizare în produsele alimentare sunt: solubilitatea, vâscozitatea, capacitatea de reținere a apei, de emulsionare și de gelificarea (Hultin și colab., 1999).

3.1.1. Solubilitatea proteinelor

Caracteristicile de solubilitate ale proteinelor miofibrilare sunt interesante datorită relațiilor cu alte proprietăți funcționale, îndeosebi cele de gelifiere și de reținere a apei (Hultin și colab., 1995). Proteinele musculare sunt diferențiate corespunzător prin solubilitatea lor. Proteinele sarcoplasmatiche sunt definite ca acele proteine solubile atunci când mușchiul este extras cu apă sau cu soluții cu tărie ionică redusă (soluție cu concentrație fiziologică sau mai mică). Proteinele miofibrilare sunt, în general, solubile în soluții cu tărie ionică $>0,3$. Modificarea solubilității proteinelor musculare poate fi obținută pe diferite căi, prin modificarea tăriei ionice, tipurilor de ioni, pH-ului și/sau temperaturii, astfel fiind afectată natura hidrofobă și/sau ionică a proteinelor. Mult timp a existat o convingere generală că pentru a fi formate geluri proteice bune este necesară solubilizarea proteinelor miofibrilare în soluții saline cu concentrație mare (0,3 - 0,6M), caracteristică produselor din carne sărată și cu adaos de polifosfați. Totuși, Stefansson și Hultin (1994) au arătat, că proteinele miofibrilare de cod sunt solubile în soluții cu tărie ionică mai mică de 0,3M, atât la pH neutru cât și la pH acid, deoarece forțele de repulsie datorate sarcinilor negative ale lanțurilor laterale ale proteinelor sunt suficiente pentru a menține separat moleculele proteice, atunci când există suficientă apă disponibilă (Stefansson și colab., 1994).

Solubilitatea proteinelor depinde de specia animalului, de tipul de mușchi, de modificările postmortem, timpul de expunere la valori de pH mai mici de 6,6 (Hultin și colab., 2005) și de tratamentele aplicate (congelare-decongelare).

Pentru a găsi valorile de pH corespunzătoare pentru solubilizarea și recuperarea maximă a proteinelor musculare, noi am construit curbele de solubilitate (concentrație proteine versus pH) pentru concentratele și izolatele de proteine miofibrilare din diferite surse. Curbele privind solubilitatea proteinelor sunt prezentate în figurile 3.1+3.4. Profilele de solubilitate au fost asemănătoare pentru toate pastele proteice analizate.

Concentratele de pește au prezentat solubilitate minimă în domeniul izoelectric, cu pH-ul cuprins între 5,5 - 7,0, caracteristic pentru majoritatea proteinelor musculare (Xiong, 1997), cele mai mici valori ale solubilității proteinelor fiind constatate la pH 5,5. Pentru concentratele/izolatele proteice obținute prin solubilizare alcalină și acidă au fost înregistrate valori mai mari ale solubilității la pH 5,5 (17,89-21,25%), decât pentru concentratele proteice obținute prin spălarea cărnurilor tocate cu apă sau cu diferite soluții (12,45-14,31%). Acest fapt îl explicăm prin prezența în constituția acestor concentrate proteice a proteinelor sarcoplasmatiche solubile în apă și în soluții cu tărie ionică mică și care reprezintă circa 20-30% din proteinele mușchiului (Haard și colab., 1994; Ionescu și colab., 2009). Proteinele solubile în domeniul punctului izoelectric au fost în principal proteine sarcoplasmatiche și posibil actină disociată. Așa după cum se poate vedea din figurile 3.1+3.4, peste 20% din proteine au fost solubile în domeniul de pH fiziologic (6,5-7,0), pH găsit în unele produse de carne sărată cu adaos de polifosfați.

Reducerea pH-ului față de punctul izoelectric a condus la o creștere substanțială a solubilității proteinelor până la pH 3,0 unde proteinele au prezentat o solubilitate mai mare de 87% pentru toate probele testate de noi. Maximul solubilității a fost atins la pH 3,0 la CPMPP1 (90,88%), CPMV1 (90,25%) și la CPMP4 (90,22%). Pentru concentratele proteice de pește valorile maxime de solubilitate au fost la pH 3,0 de 88,96% pentru crap și de 87,98% pentru macrou, valori inferioare celor raportate de Ingadottir, (2004), dar la valori de pH diferite, de

96% la pH 2,5 și de 90% la pH 1,5, pentru Tilapia. Scăderea solubilității la valori foarte reduse de pH (1,5) ar putea fi datorită agregării indusă de anioni, deoarece mai mult acid clorhidric în mediu va conduce la creșterea tăriei ionice a soluției și poate reduce repulsia electrostatică dintre proteine (Goto și colab., 1994; McClements, 1999).

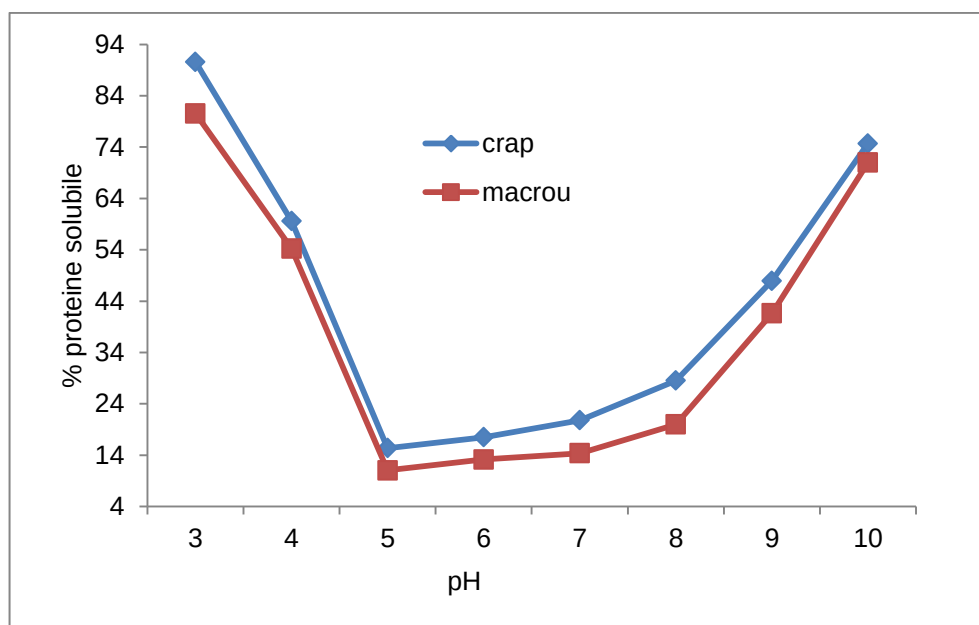


Figura 3.1. Influența pH-ului asupra solubilității proteinelor din mușchiul de pește

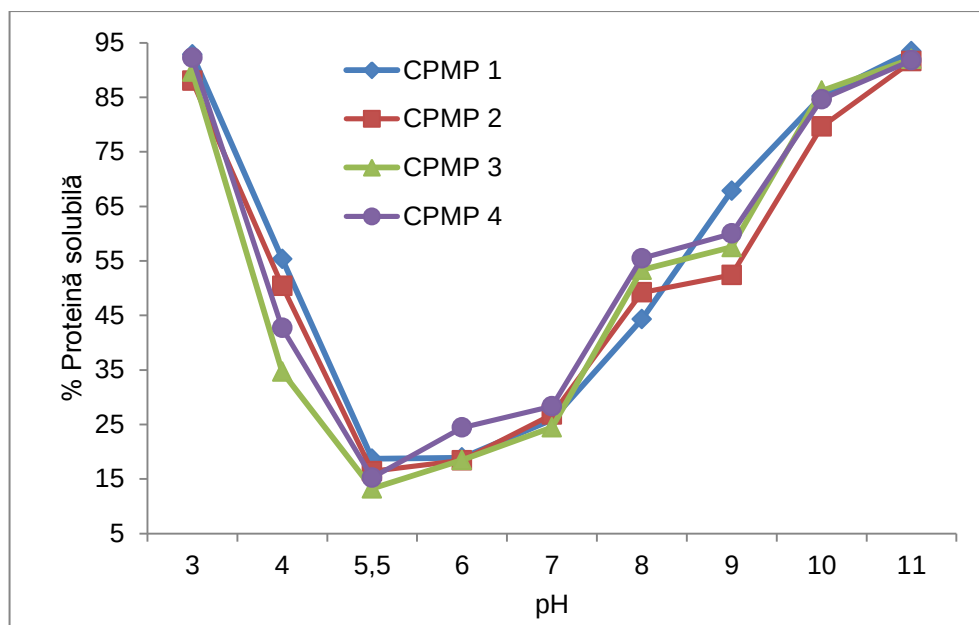


Figura 3.2. Influența pH-ului asupra solubilității proteinelor din mușchiul de porc: CPMP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; CPMP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4; CPMP3 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu apă distilată; CPMP4 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu tampon fosfat.

Creșterea pH-ului, peste punctul izoelectric a condus la o creștere treptată a solubilității proteinelor la pH-ul 8,0 - 11,0, valorile maxime de solubilitate fiind constatate la pH 11 (82,23-89,23%), ușor mai reduse față de valorile înregistrate la pH 3,0.

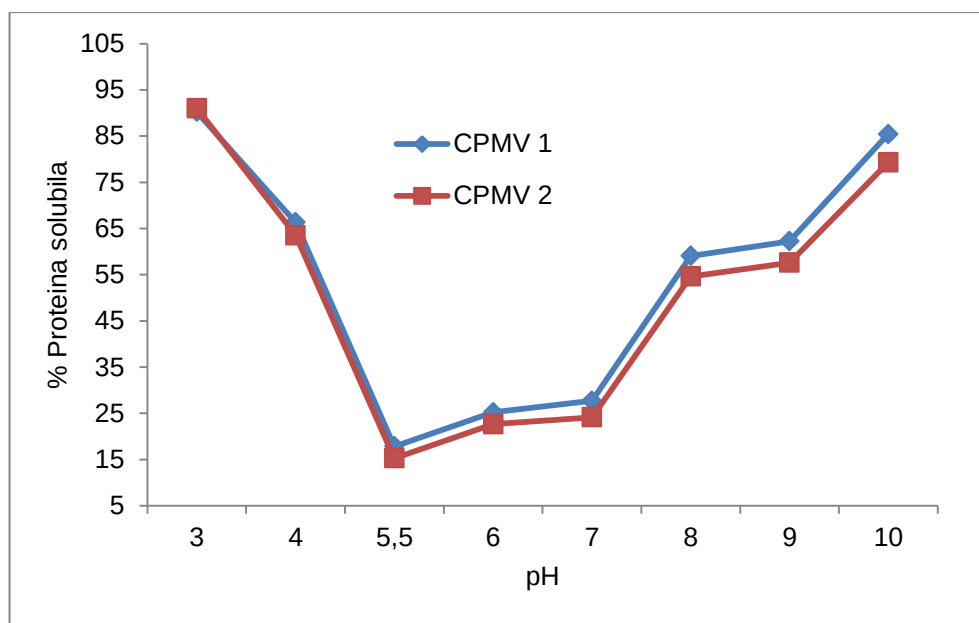


Figura 3.3. Influența pH-ului asupra solubilității proteinelor din mușchiul de vită: CPMV 1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; CPMV 2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4.

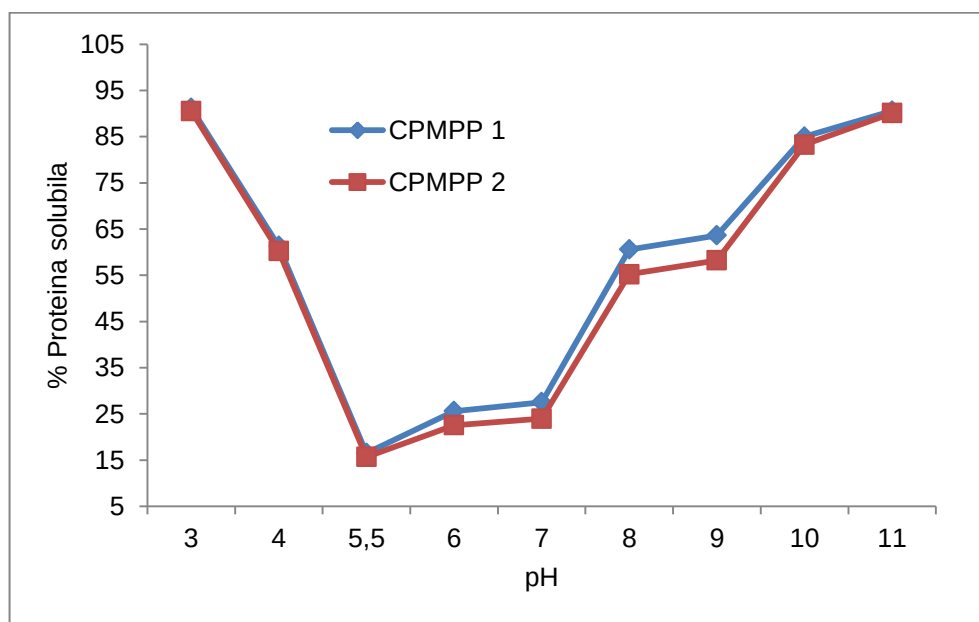


Figura 3.4. Influența pH-ului asupra solubilității proteinelor din piept de pui: CPMPP 1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; CPMPP 2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4.

În figurile 3.5 și 3,6 se face o comparație între profilele de solubilitate ale proteinelor din diferite surse musculare, în condițiile extracției alcaline și acide. Alura curbelor este asemănătoare pentru toate probele analizate, indicând un minim accentuat la pH 5,5 și maxime în domeniul puternic acid și alcalin. Cea mai bună solubilitate la pH-ul izoelectric a avut-o proteinele extrase din pieptul de pui, urmată de cele din mușchi de vită și cea mai mică solubilitate proteinele din mușchi de crap, în cazul extracției alcaline. În cazul extracției acide proteinele de porc au manifestat cea mai redusă solubilitate la PI. Profilele de solubilitate ale proteinelor sunt influențate în mică măsură de metoda de extracție acidă sau alcalină folosită, indiferent de sursa de proteine folosită (pește, porc, vită sau pasăre).

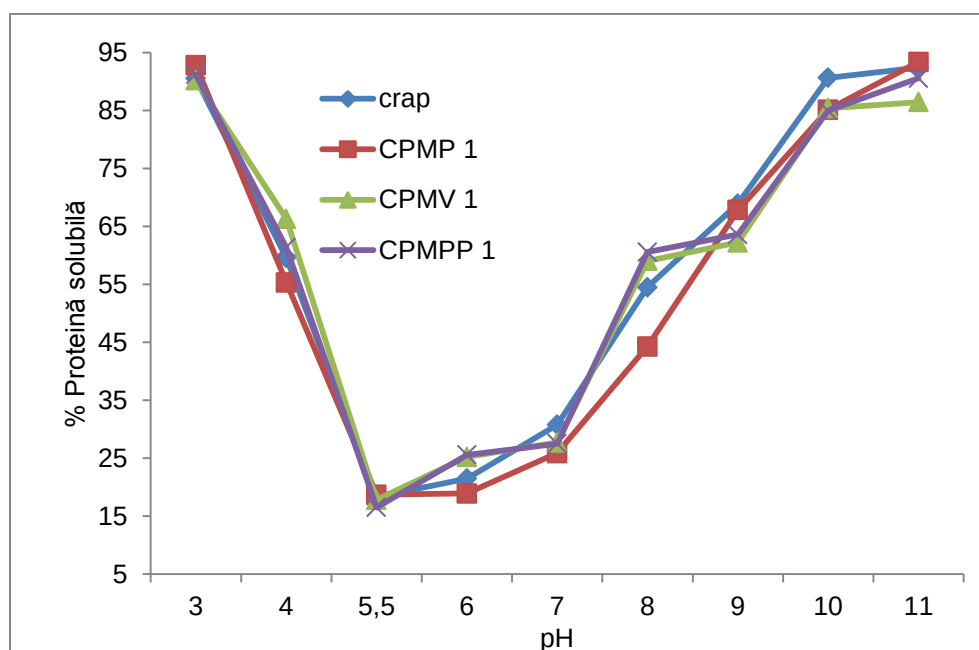


Figura 3.5. Compararea solubilității proteinelor extrase prin metoda alcalină din diferite musculare: CPMC - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - mușchi de Crap; CPMP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – pulpă de porc; CPMV 1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de vită; CPMPP 1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – piept de pui

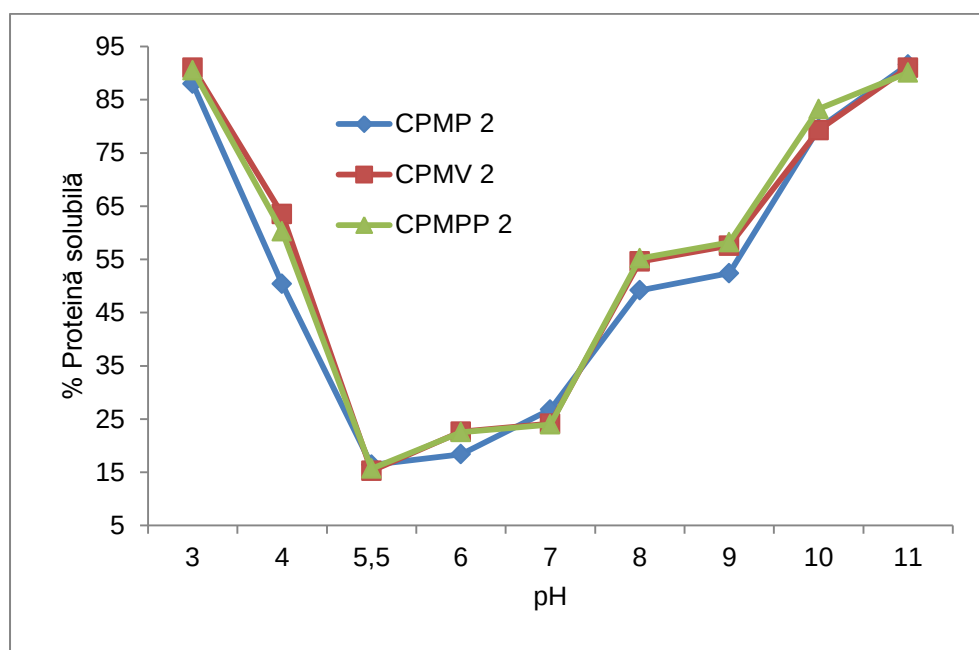


Figura 3.6. Compararea solubilității proteinelor extrase prin metoda acidă din diferite surse musculare: CPMP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin Solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de porc; CPMV 2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin Solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de vită; CPMPP 2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – piept de pui.

Coeficienții de corelație (*correl*) dintre valorile de pH și solubilitatea proteinelor a depins în mai mare măsură de sursa proteinelor, decât de tehnica de extracție. Pentru proteinele de crap (CPMC) coeficientul de corelație înregistrat a fost de 0,314, ușor mai mare decât pentru proteinele din macrou 0,289. În cazul proteinele extrase din mușchi de porc, coeficienții de corelație au fost aceeași (0,28) în cazul metodelor de separare alcalină și acidă (CPMP1 și CPMP2) și diferit pentru extracția în apă (0,395 pentru CPMP3) și în soluție de polifosfat (0,365 pentru CPMP4). Coeficienții de corelație între pH și solubilitatea proteinelor au fost puțin diferiți la proteinele de vită, fiind de 0,27 la CPMV1 și de 0,25 la CPMV2, pe când la proteinele din piept de pasăre coeficienții de corelație au fost aceeași 0,27 indiferent de tehnica de extracție folosită (alcalină sau acidă).

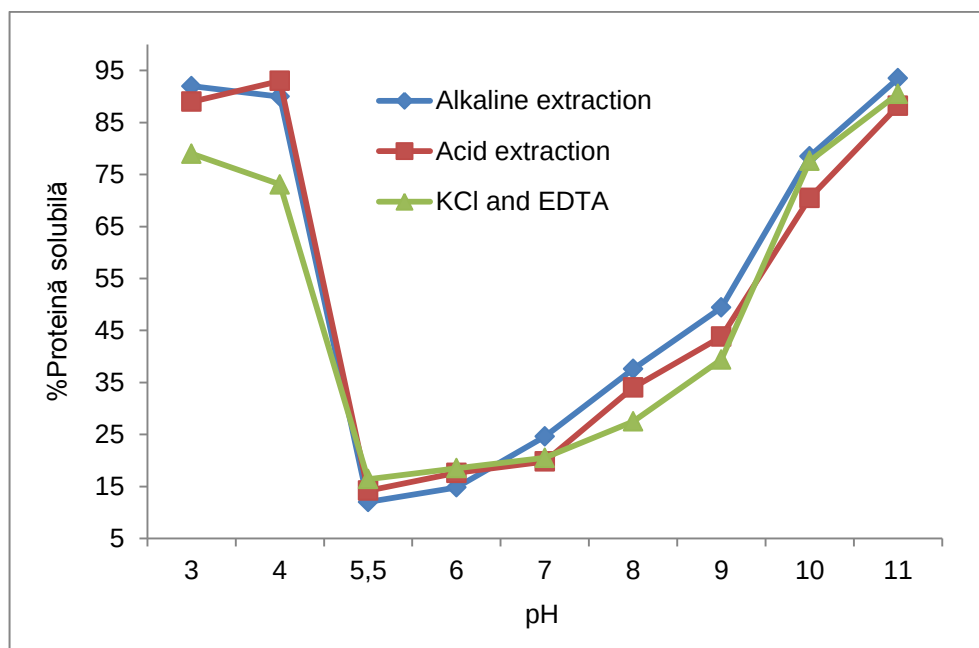


Figura. 3.7. Influența pH-ului asupra solubilității proteinelor din mușchiul de Novac.

Prin schimbarea valorii de pH a soluției proteice, proteina dobândește o sarcină netă negativă sau pozitivă la care hidratarea resturilor încărcate și repulsia electrostatică determină o creștere a solubilității (Damodaran și colab., 1996). La valori de pH apropiate de pH-ul izoelectric al proteinelor se reduce repulsia dintre lanțurile de proteine și se produce asocierea acestora. Ca urmare, majoritatea proteinelor prezintă solubilitate minimă la punctul izoelectric (pI), deoarece lipsa de repulsie electrostatică promovează interacțiuni hidrofobe (proteină-proteină) și agregarea moleculelor de proteine. Datorită agregării proteinelor în aceste condiții, ele pot fi separate din soluție cu ajutorul unei forțe centrifuge corespunzătoare.

Pentru merlan de Pacific, Choi și Park (2002) au arătat că solubilitatea proteinelor cea mai mică a fost constatată la pH 5,0, valoare de pH, care a fost indicată drept pH-ul potrivit pentru precipitarea și recuperarea proteinelor solubilizate. Solubilitatea maximă a fost înregistrată la pH 1,5 în domeniul acid și la pH de 11,0 pentru domeniul alcalin. Curba de solubilitate pentru catfish a arătat valori maxime de solubilitate la pH 2,5 și 11,0 și o valoare minimă la pH 5,5, sugerând că cele două valori de pH ar fi adecvate pentru solubiliza proteinele și pH-ul 5,5 pentru precipitarea proteinelor din soluție (Kristinsson și colab., 2003).

Tăria ionică a unei soluții are un impact dramatic asupra dependenței profilului de solubilitate al proteinelor musculare de pH. Dagher și colab., (2000) au arătat că solubilitatea proteinelor mușchiului de cod cresc dramatic în domeniul de pH 8,9-9,2 la o tărie ionică de 0,001M. Totuși, efectele pH-ului la concentrații mari de sare nu a depins ca atunci când concentrația de sare era scăzută.

Același comportament s-a observat și la proteinele obținute din mușchi de novac, figura 3.7.

Curbe de solubilitate similare cu cele obținute de noi pentru crap, novac și macrou au fost stabilite de Undeland și colab., (2003), pentru hering și de Kim și colab., (2003), pentru merlan de Pacific.

La pH sub 5,5, proteinele devin încărcate negativ ceea ce conduce la repulsia electrostatică care facilitează proteinele să lege apa și să se umfle. La fel la pH mai mare decât punctul

izoelectric, proteinele capătă sarcină netă pozitivă care conduce la repulsie, la hidratarea proteinelor și creșterea mărimii hidrodinamice a proteinelor, a vâscozității soluțiilor proteice (Damodaran și colab., 1996).

3.1.2. Capacitatea de spumare și stabilitatea spumei

Solubilitatea proteinelor este o necesitate pentru proprietățile funcționale ale proteinelor (Damodaran, 1996). Un omogenat proteic cu solubilitate ridicată se presupune a avea o capacitate de spumare mare.

Efectul pH-ului asupra capacității de spumare a fost studiat pentru unele tipurile de concentrat proteic/izolat proteic, obținute de noi. Din figurile 3.8.-3.12 se poate vedea că pH-ul mediului de dispersie al proteinelor a influențat în mare măsură proprietățile de spumare și stabilitatea spumei. Capacitatea minimă de spumare pentru proteinele musculare din diferite surse a fost constatată la pH 5,5, unde și solubilitatea a fost cea mai mică; solubilitatea proteinelor având o contribuție importantă la comportamentul la spumare al proteinelor. În domeniul acid de pH, cea mai mare capacitate de spumare a fost înregistrată la pH 4,0, iar în domeniul alcalin la pH 10. În mediu puternic alcalin, prin solubilizarea proteinelor miofibrilare, îndeosebi a HMM, se asigură îmbunătățirea capacității de spumare.

Concentratul proteic din macrou, obținut prin extracție în soluție de KCl 0,15 M și EDTA 1 mM, a avut o capacitate de spumare mai bună decât concentratul proteic din mușchi de crap, obținut prin solubilizare alcalină (figura 3.8). Creșterea tăriei ionice (concentrației de săruri), posibil, a influențat capacitatea de spumare a proteinelor de pește.

Stabilitatea spumei a fost, de asemenea, condiționată de pH și de tipul concentratului proteic analizat. Spumele pe bază de concentrate proteic de macrou au prezentat o stabilitate mai bună decât cele pe bază de concentrate proteic din crap pe aproape tot domeniul de pH, cu excepția pH-urilor 9 și 10 (figura 3.9), la care situația a fost inversă.

Coeficientul de corelație (*correl*) dintre creșterea procentuală de volum și valoarea de pH a fost mai mare la CPMM (0,710) decât pentru CPMC (0,666), situația fiind inversă în cazul corelației dintre stabilitatea spumei și pH (0,672 pentru CPMC, față de 0,372 la CPMM). Diferențele de comportament la spumare le punem pe seama atât a tehnicilor diferite de separarea a proteinelor musculare de pește, cât și pe istoricul speciilor de pești, luate în studiu.

Așa după cum se poate vedea din figura 3.10, capacitățile de spumare ale concentratelor proteice din mușchi de porc au variat în funcție de tehnica de extracție folosită și de pH. La pH 4,0, au fost constatate cele mai mari capacități de spumare pentru CPMP1 (125% creșterea de volum) și CPMP3 (140%). Pentru toate tipurile de concentrate capacitatea de spumare a scăzut la pH 5,5, pH-ul punctului izoelectric al proteinelor din carne, scăderea fiind mai accentuată pentru CPMP1 (45%) și CPMP3 (50%), în comparație cu CPMP2 (40%) și CPMP4 (50%). În general, proprietățile de spumare reduse ale proteinelor corespund cu pH-ul izoelectric (Pearson, 1983). Pentru valori de pH superioare punctului izoelectric, capacitatea de spumare a crescut treptat până la pH 10, după care au fost constatate ușoare reduceri la pH 11, la majoritate probelor. Coeficienții de corelație (*correl*) dintre valorile de pH și capacitățile de spumare au fost mult mai mici pentru CPMP1 (0,229) și CPMP3 (0,153), în raport cu CPMP2 (0,871) și cu CPMP4 (0,705). Proprietățile de spumare au fost găsite a fi ușor mai ridicate la proteinele extrase din mușchiul de porc în mediu alcalin, în comparație cu mediul acid. Rezultatele noastre confirmă pe cele raportate de Hyrynets și colab., (2010) pentru proteinele recuperate prin procedeul alcalin din carne de curcă dezosată mecanic.

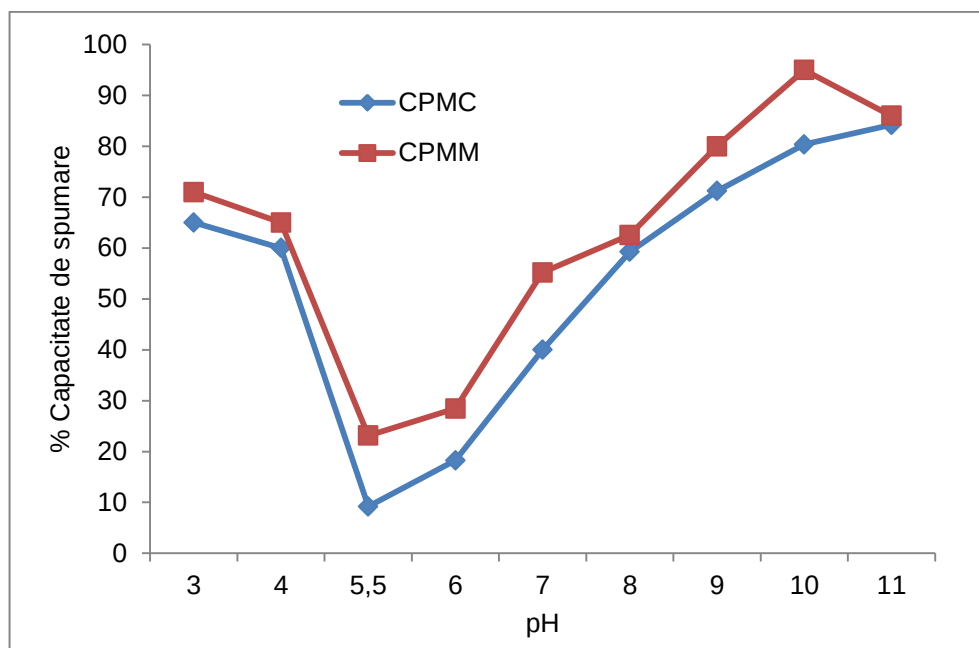


Figura 3.8. Influența pH-ului soluției proteice asupra capacității de spumare la concentratele proteice de pește: CPMC1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de Crap; CPMM - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de macrou;

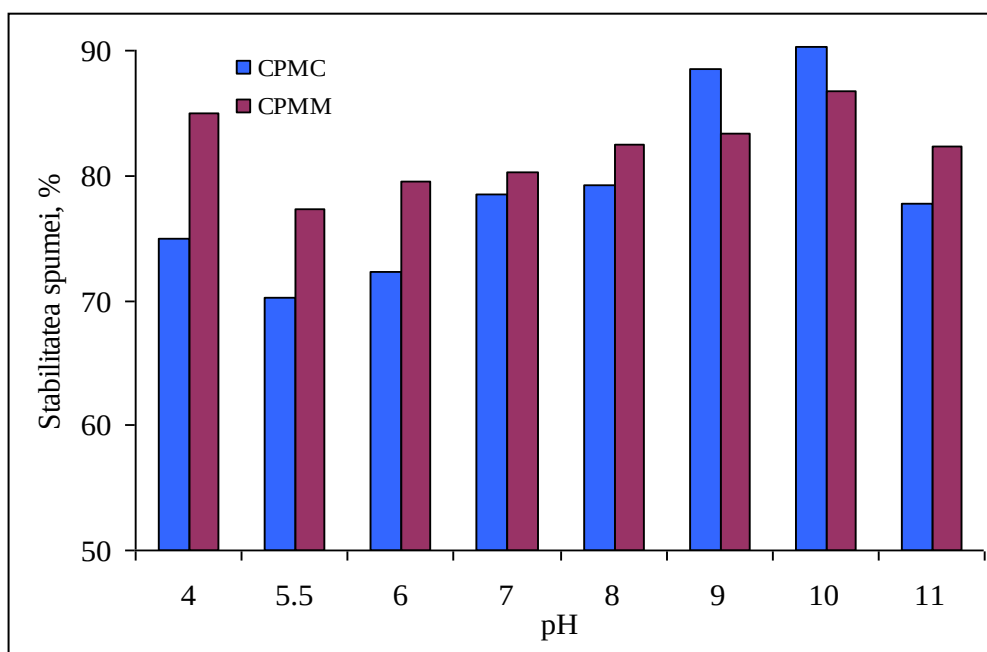


Figura 3.9. Influența pH-ului soluției proteice asupra stabilității spumei la concentratele proteice de pește: CPMC1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de Crap; CPMM - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de macrou.

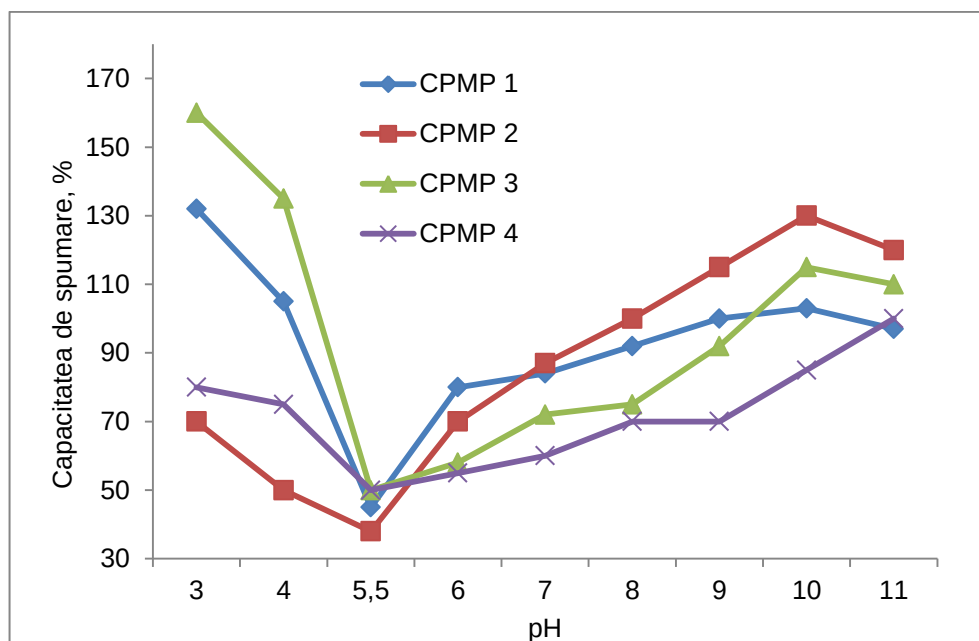


Figura 3.10. Influența pH-ului soluției proteice și a tehnicii de extracție asupra capacității de spumare a concentratelor proteice din mușchi de porc: CPMP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – pulpă de porc;

CPMP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin Solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de porc; CPMP3 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu apă distilată; CPMP4 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu tampon fosfat.

Ca și capacitatea de spumare, stabilitatea spumei a depins de tipul concentratului și de valoarea de pH (figura 3.11). Cea mai redusă stabilitate a fost constatată la pH 5,5. Stabilitatea spumei s-a corelat slab cu valorile de pH, coeficienți de corelație mai mari fiind constatați pentru probele CPMP1 (0,438) și CPMP3 (0,452). Pentru CPMP2 și CPMP4 coeficienții de corelație dintre pH și stabilitatea spumei au fost de 0,128 și respectiv 0,268, situație inversă decât în cazul capacității de spumare.

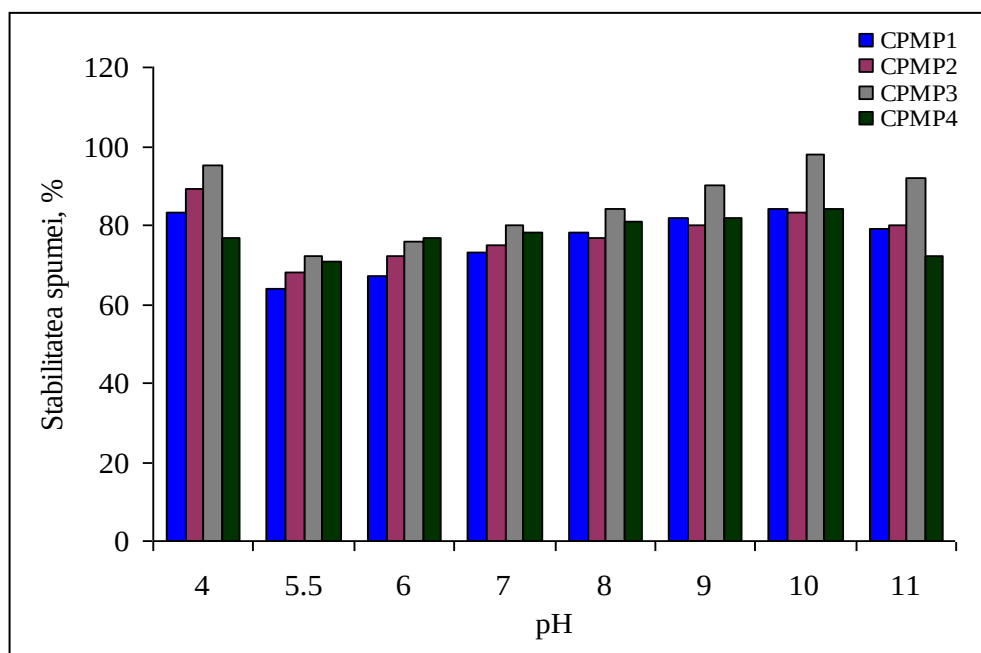


Figura 3.11. Influența pH-ului soluției proteice asupra stabilității spumei la concentratele proteice din mușchi de porc: CPMP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 – pulpă de porc; CPMP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin Solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - pulpă de porc; CPMP3 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu apă distilată; CPMP4 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu tampon fosfat.

Concentratul proteic de vită, obținut prin procedeul alcalin (figura 3.12), a prezentat o capacitate redusă de spumare în domeniul acid (30% la pH 4,0) și o valoare minimă de 15% la pH 5,5. Capacitatea de spumare a crescut moderat în domeniul de pH cuprins între 6-9, ca apoi să crească semnificativ la pH 10 (45%) și 11 (75%). Stabilitatea spumei a prezentat aceeași tendință cu creșterea de volum, cu excepția pH 11 (92%) la care a fost constată o scădere a stabilității spumei în raport cu pH-ul 10 (96%).

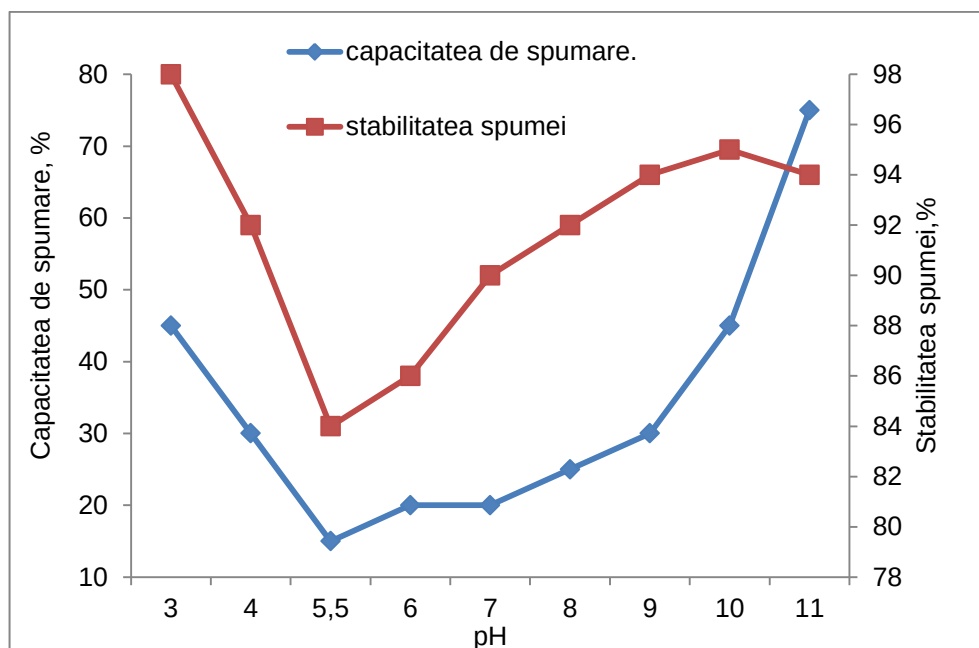


Figura 3.12. Influența pH-ului soluției proteice și a tehnicii de extracție asupra capacității de spumare și a stabilității spumei a concentratului proteic din mușchi vită (extracție alcalină - CPMV 1)

Creșterile de volum ale spumei pe bază de CPMV1 s-au corelat pozitiv cu valorile de pH, coeficientul de corelație constatat de noi fiind 0,744, spre deosebire de capacitatea de spumare, stabilitatea spumei s-a corelat mai slab ($correl = 0,332$).

În cazul concentratelor proteice din pește capacitățile de spumare s-au corelat foarte bine cu solubilitatea proteinelor, coeficienții de corelație găsiți de noi fiind 0,941 pentru CPMC și 0,905 pentru CPMM. La concentratele proteice din mușchi de porc coeficienții de corelație au fost de asemenea pozitivi, dar valorile lor au fost extrem de variabile în funcție de tehnica de extragere utilizată (0,742 pentru CPMP1; 0,945 pentru CPMP2; 0,553 pentru CPMP3 și 0,930 pentru CPMP4).

Funcția de bază a proteinelor în formarea spumei este de a descrește tensiunea interfacială prin absorbția lor la interfață, de a crește vâscozitatea și proprietățile elastice ale fazei lichide și de a forma filme rezistente la interfața aer-lichid. Diferitele proteine posedă capacități diferite de spumare, tensiunea de suprafață nu se modifică proporțional cu capacitatea de spumare. Viteza de difuzie a proteinelor la interfața aer-lichid este diferită, ca și timpii necesari pentru a atinge o valoare constantă a tensiunii de suprafață (Zayas, 1997).

Formarea spumelor pe bază de proteine implică difuzia proteinelor solubile la interfața aer-apă, modificarea conformațională rapidă și rearanjarea la interfață, iar stabilitatea spumei necesită formarea unui film gros, coeziv și vâscoelastic în jurul fiecărei bule de aer (Petrucelli și colab., 1994), deci, capacitatea de a forma spumă este o funcție de conformația moleculei proteice. Stabilitatea spumei depinde de natura filmului și reflectă gradul de interacțiune proteină-proteină din matricea proteică (Mutilaning și colab., 1996). Stabilitatea spumei este ameliorată în domeniul de flexibilitate maximă a proteinei, care îmbunătățește vâscozitatea fazei apoase, concentrația proteinei și grosimea filmului (Phillips și colab., 1994).

La obținerea produselor procesate pe bază de carne, spumarea proteinelor solubilizate în soluția salină este un proces nedorit, datorită înglobării aerului la cuterizare sau la malaxare.

Aerul înglobat în compozițiile de salam sau în cărnurile injectate și malaxate poate conduce la obținerea unor produse cu structuri poroase, la degradarea pigmentilor de culoare și la procese oxidative la nivelul sistemului lipidic. Evitarea înglobării aerului se realizează prin malaxare și umplere în membrane sub vid. Deși proteinele miofibrilare au proprietăți de spumare cu mult mai reduse, decât proteinele globulare, la obținerea soluțiilor pelculogene se recomandă, totuși, vidarea acestora, pentru evitarea obținerii unor filme poroase.

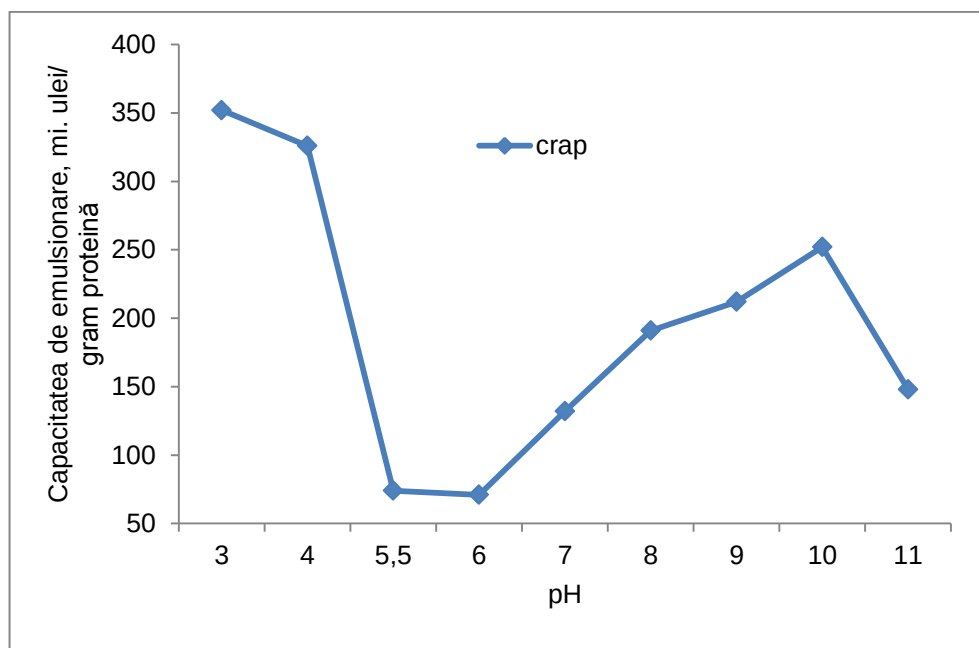
3.1.3. Capacitatea de emulsionare

Capacitatea de emulsionare (CE) a fost determinată pentru toate concentratele și izolatele de proteine miofibrilare, obținute din diferite surse și prin folosirea diferitelor tehnici de separare, în funcție de valoarea de pH a soluției proteice, în domeniul 3-11.

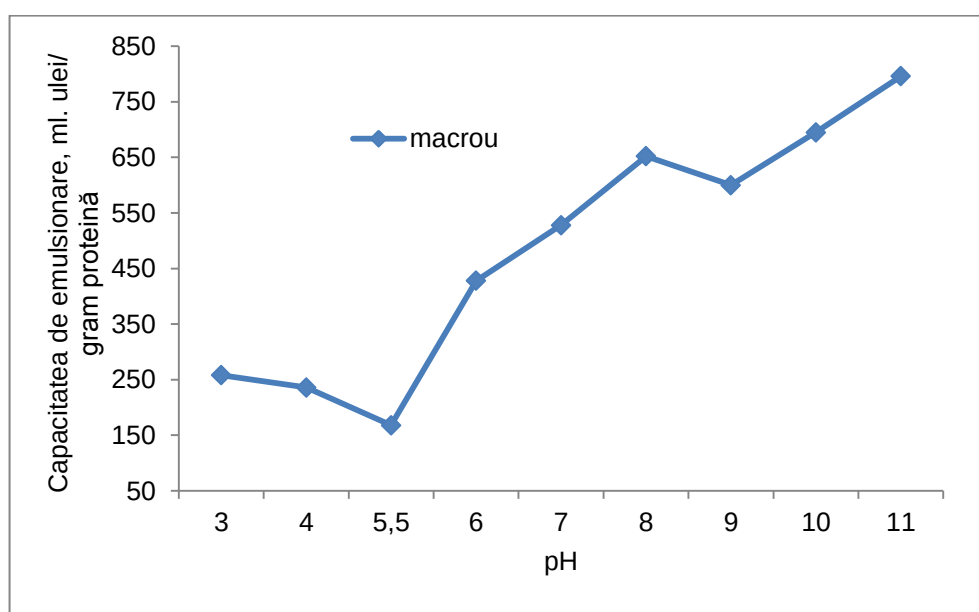
Datele referitoare la variația capacității de emulsionare sunt prezentate grafic în figurile 3.13-3.16. Pentru toate probele de concentrat proteic capacitatea de emulsionare a fost condiționată de pH-ul soluției proteice, care a influențat direct solubilitatea concentratului proteic.

Cele mai mari valori ale capacității de emulsionare au fost înregistrate la pH 4,0 și 10 pentru majoritatea pastelor proteice. Se poate observa o scădere a capacității de emulsionare în domeniul acid de pH cuprins între 3-5,5 și o creștere în domeniul neutru și alcalin 7-11. În cazul concentratelor de pește am constatat valori mai mari ale capacității de emulsionare pe tot domeniul de pH pentru CPMM în raport cu CPMC, pentru care profilul curbelor a fost diferit (figura 3.13 a și b). Pentru CPMC au fost înregistrate valori mai mari ale CE la pH 4,0, în comparație cu CPMM, dar situația a fost inversă în domeniul alcalin. În plus, în curba de variație a capacității de emulsionare în funcție de pH pentru CPMC se observă un palier pentru domeniul izoelectric, unde valorile lui CE au fost cele mai mici (71-74 ml ulei/g proteină), pe când la CPMM curba nu există acest palier ci numai o valoare minimă la pH 5,5 de 168 ml ulei/g proteină. Proprietățile de emulsionare diferite la cele două tipuri de concentrate proteice de pește le punem pe seama tehnicii de extracție folosite, tăriei ionice diferite și pe caracteristicile compoziției concentratelor, CPMC conține și proteine sarcoplasmice precipitabile la pH 5,5.

În cazul concentratelor proteice de porc proprietățile tensioactive, de difuzie a proteinelor la interfața și de formare a filmelor proteice rezistente au depins de metoda de extracție a proteinelor și de solubilitatea lor la diferite valori de pH. Curbele de variație a capacității de emulsionare în funcție de valorile de pH (figura 3.14 a, b, c și d) indică existența domeniului izoelectric pentru CPMC1 și CPMC3 la pH cuprins între 5,5-6,0, în care CE a avut cele mai mici valori, un domeniu acid (5,5-4) caracterizat prin îmbunătățirea proprietăților de suprafață prin reducerea pH-ului soluției proteice și un domeniu alcalin (7-10) caracterizat prin creșterea CE. În cazul concentratelor CPMC2 și CPMC4 profilul curbelor indică dispariția domeniului izoelectric, curbele prezentând o valoare minimă a CE la pH 5,5. În raport cu pl, creșterea și descreșterea valorii de pH a soluției proteice a determinat creșterea diferită a valorilor CE în funcție de domeniul de pH acid sau alcalin și de modul de extracție. În mod asemănător concentratelor proteice de porc, s-au comportat și concentratele proteice de vită, CPMV1 și CPMV2 (figura 3.15 a și b), cu deosebirea că la derivatele proteice de vită, CE a avut valori mai mari la pl sau în domeniul izoelectric.

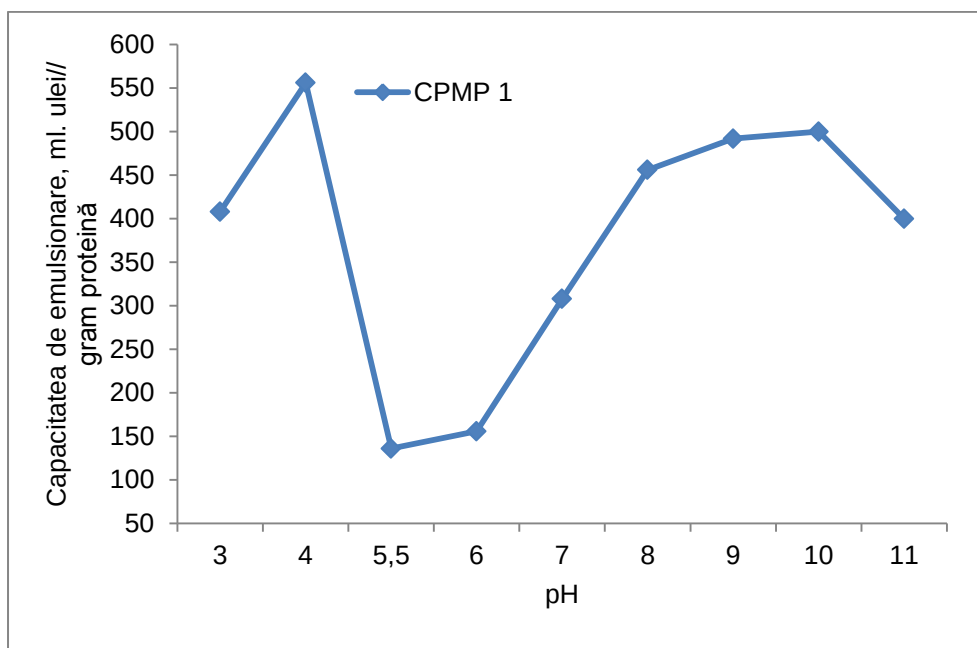


(a)

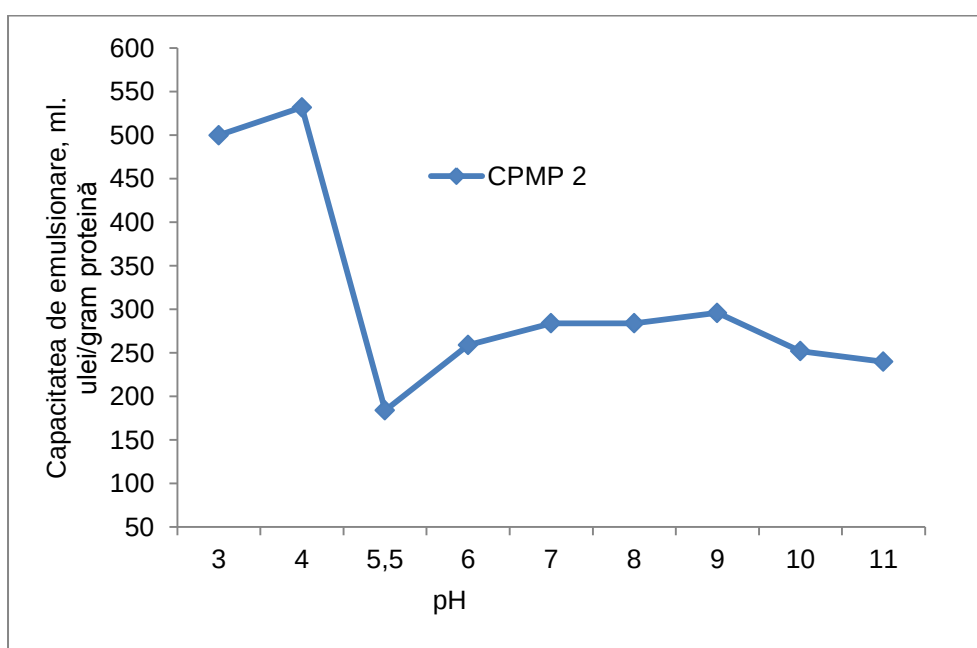


(b)

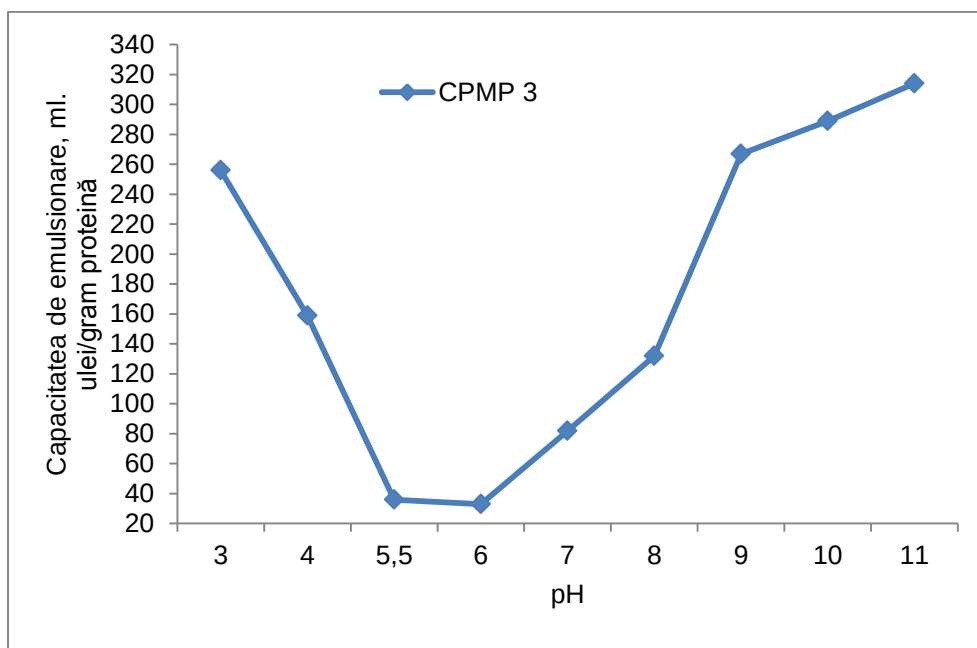
Figura 3.13. Influența pH-ului soluției proteice asupra capacității de emulsionare a concentratului de proteine miofibrilare de pește (a – CPMC - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4 - mușchi de Carp; b – CPMM - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de macrou).



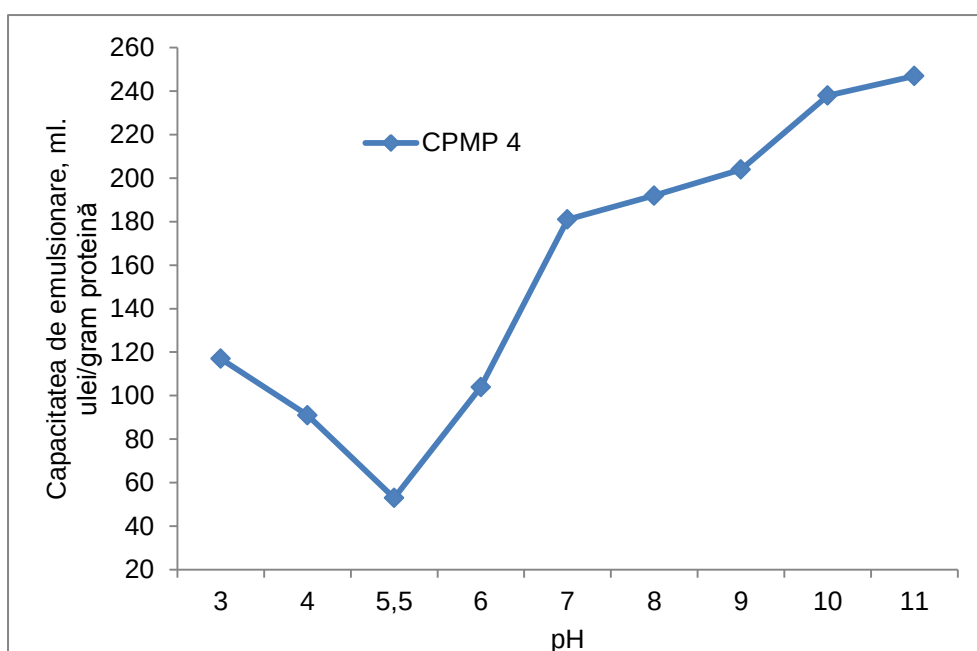
(a)



(b)

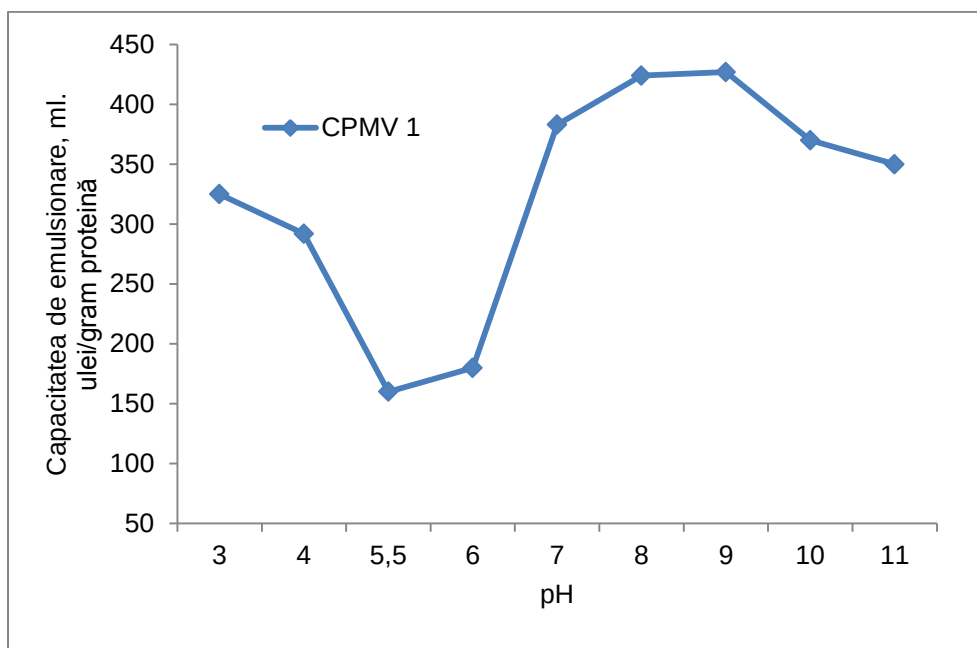


(c)

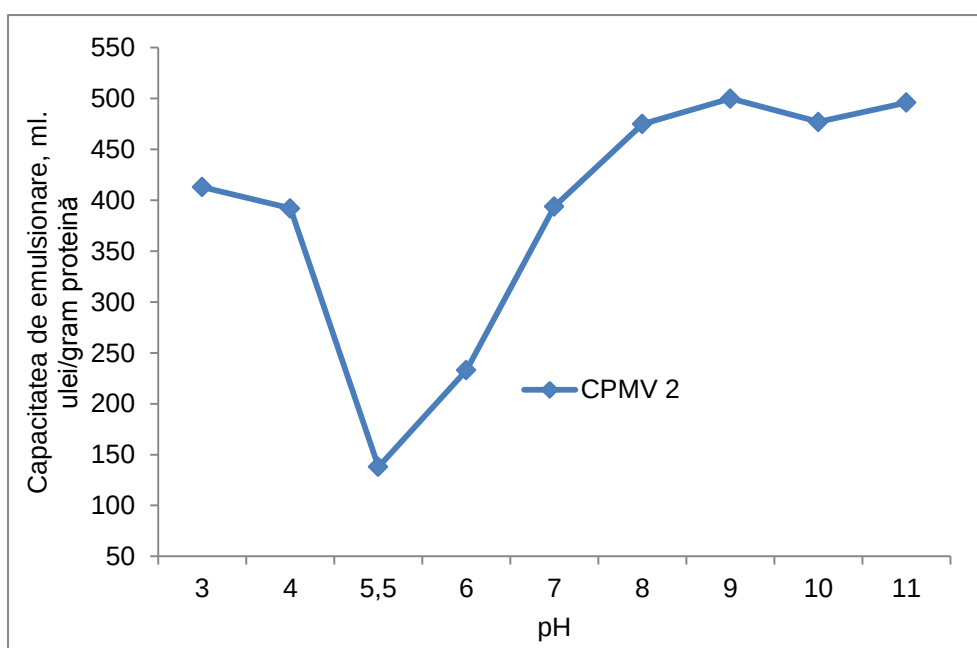


(d)

Figura 3.14. Influența pH-ului soluției proteice asupra capacității de emulsionare a concentratului de proteine miofibrilare de porc (a - CPMP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare alcalină (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; b - CPMP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4; c - CPMP3 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu apă distilată; d - CPMP4 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție cu tampon fosfat).



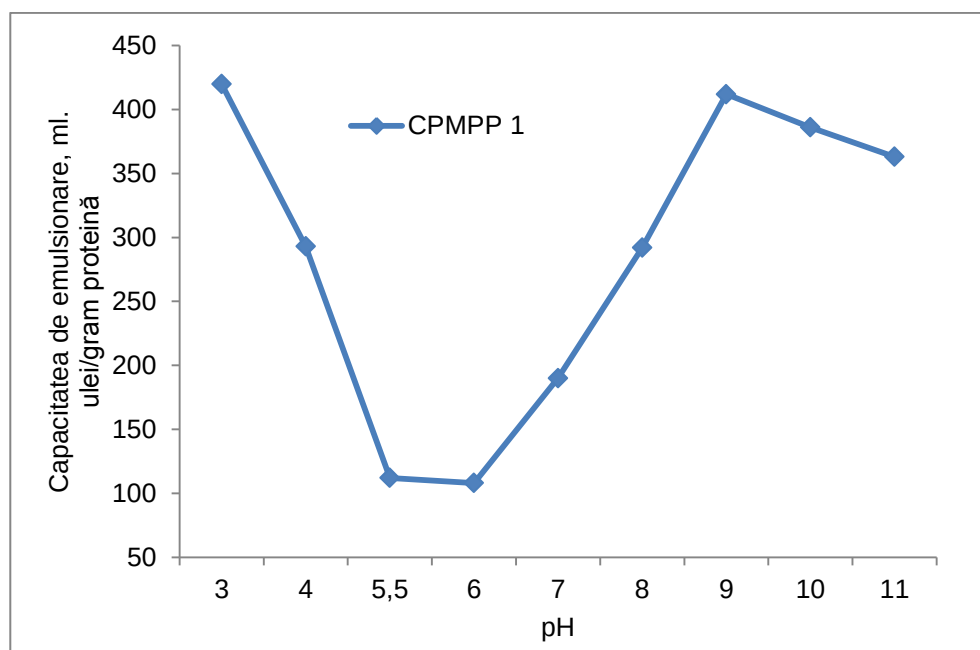
(a)



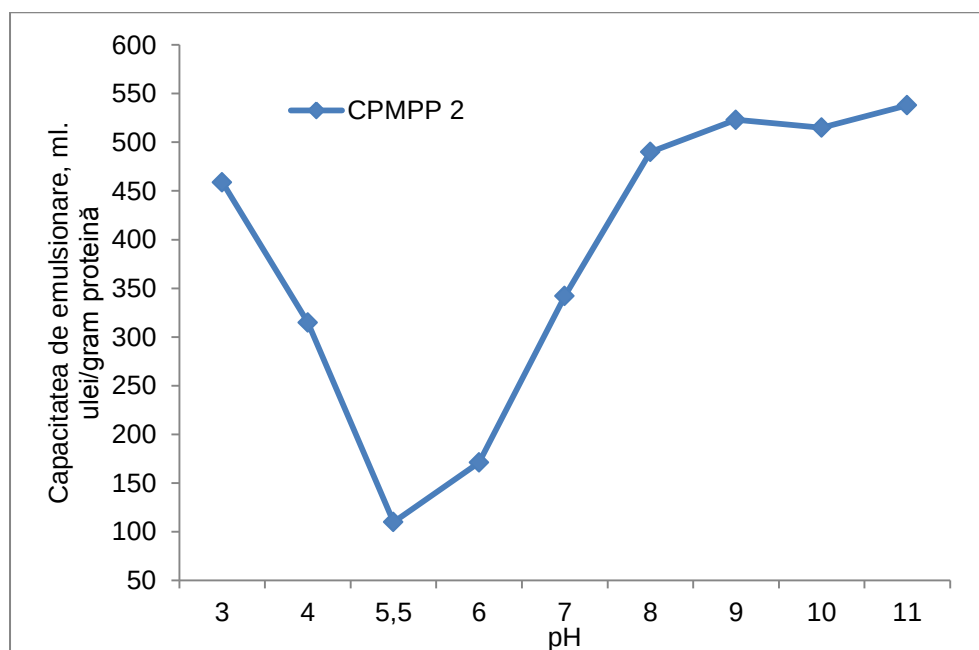
(b)

Figura 3.15. Influența pH-ului soluției proteice asupra capacității de emulsionare a concentratului de proteine miofibrilare de vită (a - CPMV1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; b - CPMV2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4)

Profilul curbelor de variație ale CE în funcție de pH-ul soluției proteice la izolatele proteice de piept de pui (figura 3.16 a și b) a fost asemănător concentratelor proteice de vită și porc obținute prin aceeași metodă de extracție, dar valorile CE au fost diferite pentru toate valorile de pH în funcție de sursa de proteină (mușchi de piept de pui, porc sau vită).



(a)



(b)

Figura 3.16. Influența pH-ului soluției proteice asupra capacității de emulsionare a concentratului de proteine miofibrilare de piept de pui (a - CPMPP1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu alcalin (pH 10,8) și precipitare la pH izoelectric 5,4; b - CPMPP2 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin solubilizare în mediu acid (pH 2,7) și precipitare la pH izoelectric 5,4).

Proprietățile de emulsionare ale proteinelor structurale de porc, vită și pasăre prezintă importanță practică deosebită la obținerea produselor procesate de carne. În general, pentru ameliorarea proprietăților de emulsionare ale proteinelor se adaugă polifosfați alcalini, care modifică pH amestecului de salam și determină disocierea actomiozinei în actină și miozină, ultima prezentând însușiri tensioactive mai bune decât complexul actomiozinic. Proteinele cărnii solubile în apă (sarcoplasmatică) exercită proprietăți de emulsionare mai slabe decât proteinele solubile în sare (miofibrilare). Proteinele miofibrilare sunt emulgatori buni în produsele procesate de carne (îndeosebi la salamurile emulsionate). Efectul de emulsionare al proteinelor cărnii include formarea filmelor proteice groase și rezistente în jurul particulelor de grăsime. Acest efect este legat de cantitatea de proteină solubilizată în apa cărnii sau cea adăugată în timpul mărunțirii fine. Hidrofobicitatea, solubilitatea și conținutul de grupări –SH ale proteinelor cărnii extractibile în sare influențează proprietățile de emulsionare și de legare a grăsimii (Zayas, 1997)..

3.1.4. Proprietățile de gelificare

Proteinele miofibrilare sunt responsabile pentru proprietățile texturale ale produselor procesate din carne (Yasui și colab., 1980; Asghar și colab., 1985). În general, proteinele extrase în soluții salină cu tărie ionică mare (0,3-0,6M), cunoscute ca proteine solubile în sare (SSP), reprezintă 55 până la 60% din proteinele musculare totale sau 10% din greutatea musculaturii scheletice (Asghar și colab., 1985). Dintre proteinele miofibrilare, miozina și actomiozina contribuie cel mai mult la dezvoltare caracteristicilor de gel la produsele procesate din carne sărată.

Noi am studiat proprietăților de gelificare ale unor omogenate de mușchi (crap, macrou, novac, vită), concentrate proteice umede (crap, piept de pui, macrou, novac) și derivate proteice liofilizate (de porc și macrou).

În cadrul studiului nostru, am urmărit comportamentul reologic al suspensiilor proteice prin scanarea unor domenii largi de temperaturi (4,3-74,8°C sau 31-80°C) și monitorizarea parametrilor: *modulul elastic* și *unghi de fază* (δ). Mărimile reologice au fost stabilite prin *metoda reologică dinamică la deformare mică*, nedistructivă, condusă în regiunea liniară a vâscoelasticității, care permite determinarea naturii elastice și vâscoase a probei testate.

Modulul elastic de forfecare (de depozitare sau de înmagazinare, G') reprezintă măsura energiei eliberate pe ciclu de deformare pe unitate de volum și proprietatea care face corelație cu natura elastică a materialului.

Unghiul de fază sau de deformare (δ) reprezintă măsura preponderenței proprietăților vâscoase (caracteristice lichidului) și a proprietăților elastice (caracteristice solidului) în comportamentul vâscoelastic al unui material. Unghiul de fază este legat de formarea legăturilor din gel în timpul încălzirii/deformării, în principal, la creșterea temperaturii/descrășterea frecvenței oscilațiilor.

3.1.4.1. Comportamentul reologic al proteinelor de pește

Așa după cum se poate vedea din figurile 3.17-3.19, valorile modulului elastic și ale unghiului de fază (δ) în cazul omogenatului și a derivatelor proteice din mușchi de crap au evoluat diferit în funcție de domeniul de temperatură și de natura probei.

În cazul *omogenatului de mușchi de crap* (pH 6,3), modulul elastic a avut o evoluție descendentă moderată în domeniul de temperaturi cuprins între 4,3-35,9°C, caracterizat prin valori ridicate ale lui G' , 29580 Pa la temperatura de 4,3°C și 19850 Pa la 35,9°C. Acest interval este urmat de un alt domeniu de temperaturi (35,9-51,9°C) caracterizat prin reducerea mai

accentuată a parametrului respectiv până la o valoare minimă de 11970 Pa (51,9°C). În aceste domenii de temperatură diminuarea modului de înmagazinare o punem pe seama modificării complexe a structurii proteinelor mușchiului de pește ca urmare a denaturării anumitor fracțiuni proteice. Denaturarea structurilor cuaternare, terțiare și secundare la aplicarea unui stres extern (încălzirea), posibil, a implicat disocierea subunităților din filamentele proteice, desfacerea punților disulfitice (-S-S-), interacțiunilor necovalente dipol-dipol dintre aminoacizii polari și a interacțiunilor dintre aminoacizii nepolari din lanțurile laterale, precum și conversia parțială a structurilor α -helix și β -pliate la configurația de spirală răsucită la întâmplare.

Termoreograma, prezintă în continuare, o porțiune apropiată de un platou în domeniul 50,9-59,9°C, posibil caracteristic denaturării și agregării simultane a unor fracțiuni proteice, având în vedere natura complexă a sistemului investigat. Constatările noastre sunt în acord cu cele raportate de Westphalen și colab., (2005), care au constatat existența platoului în domeniul 50-57°C, în cazul probelor de proteine miofibrilare cu pH 6,0 și concentrație mai redusă.

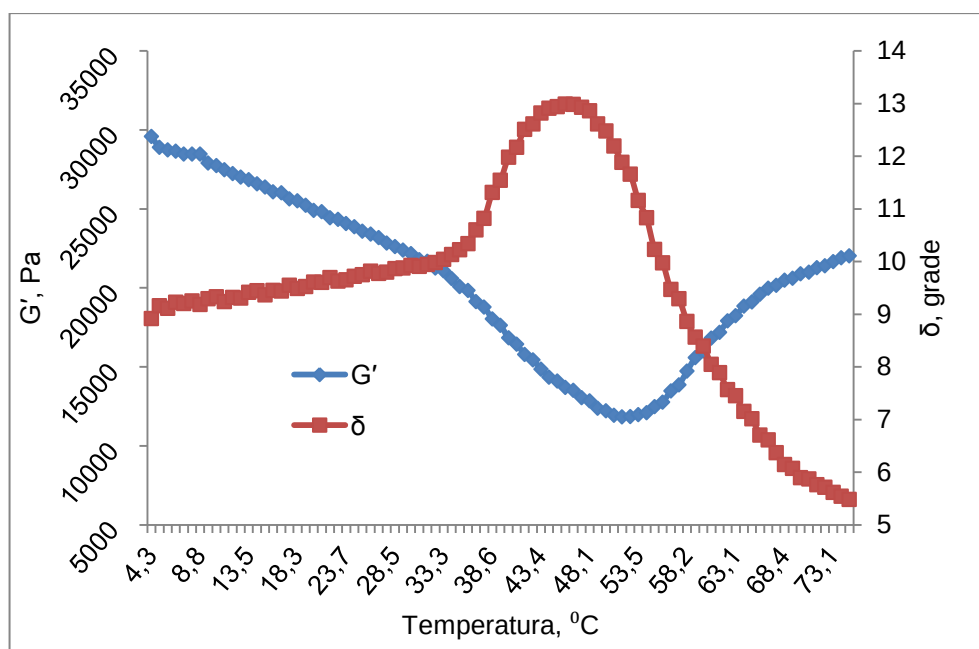


Figura 3.17. Modificarea modului elastic și a unghiului de fază în funcție de temperatură – Omogenat de mușchi de crap (concentrația proteică 16,12%, pH 6,3, viteza de încălzire 1°C/minut)

Începând cu punctul de inflexiune al curbei (51,9°C), valorile modului elastic au crescut extrem de lent la început, apoi creșterea a fost accentuată după temperatura de 59,9°C până la terminarea procesului de încălzire la 74,8°C. Acest comportament reologic este caracteristic gelificării termice a proteinelor mușchiului de crap și creșterii tăriei gelului format. Formarea gelului presupune agregarea ireversibilă a proteinelor denaturate cu formarea a noi legături disulfitice, în special, între capetele globulare ale miozinei și tranziția spiralei helicate a tijei moleculei de miozină la o structură de rețea tridimensională (Stone și colab., 1992; Sharp și colab., 1992; Samejima și colab., 1981). Modificările caracteristicilor reologice în funcție de temperatură ale omogenatului de crap sunt confirmate și de evoluția unghiului de fază.

Termoreograma unghiului de fază (figura 3.17) indică o evoluție inversă în raport cu modulul elastic. Valorile reduse ale unghiului de fază, cuprinse între 6,96-12,57°, pe tot

domeniul de temperatură 4,3-74,8°C sunt specifice corpurilor vâscoelastice la care componenta elastică a fost permanent preponderentă în raport cu componenta vâscoasă. Zonei de palier din termoreograma modulului elastic îi corespund cele mai mari valori ale unghiului de fază, >12,0°.

În figurile 3.18 și 3.19 sunt prezentate termoreogramele modulului elastic și ale unghiului de fază pentru concentratele umede de proteine, extrase din mușchiul de crap prin procedeul alcalin și acid. Profilul termoreogramelor concentratelor proteice a fost similar cu cel al omogenatului de mușchi de crap cu deosebirea că valorile modulului elastic au fost diferite, fiind cu mult mai mari în cazul omogenatului de mușchi (tabelul 3.2). Dacă comparăm cele două tipuri de concentrate proteice (acid și alcalin) se poate observa că valorile lui G' au fost mai mari pentru concentratul proteic alcalin în raport cu cel acid. Pentru cele două tipuri de concentrat proteic temperatura de tranziție de la sol la gel a fost aceeași (50,8°C), puțin mai mică decât cea înregistrată în cazul omogenatului de mușchi (51,9°C).

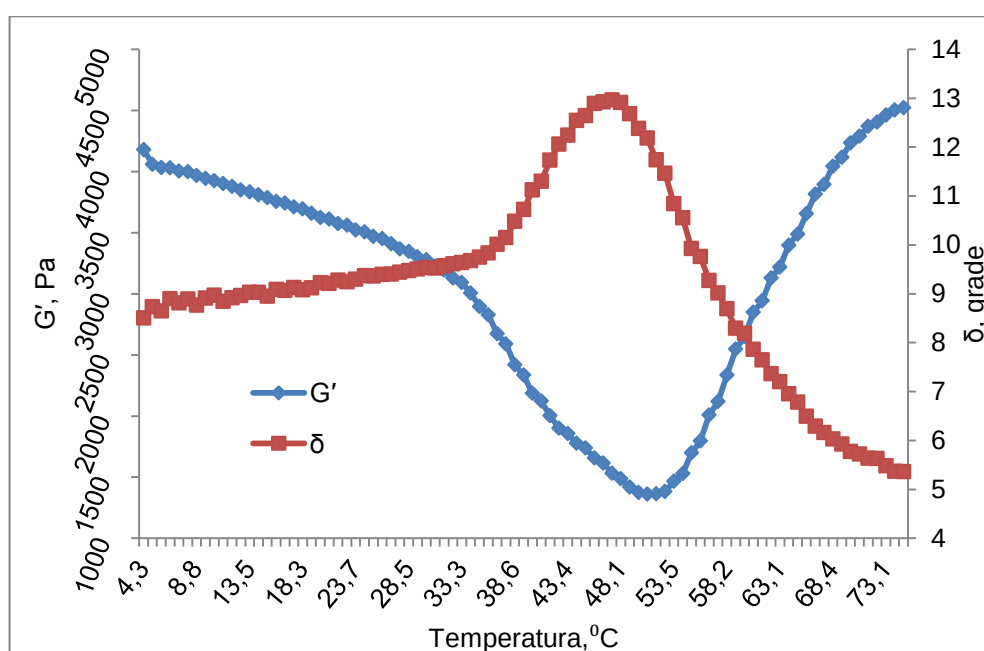


Figura 3.18. Influența temperaturii asupra valorilor modulului elastic și unghiului de fază - Concentrat proteic de mușchi de crap extracție alcalină (CPMC1) (concentrația proteică 83,33% din s.u., viteza de încălzire 1°C/minut)

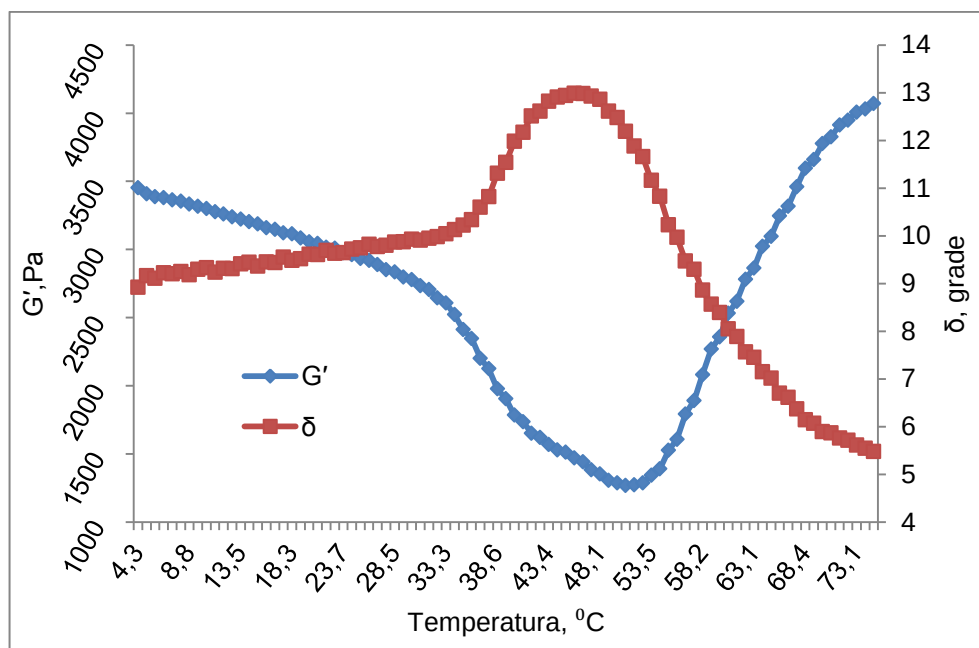


Figura 3.19. Influența temperaturii asupra valorilor modulului elastic și unghiului de fază – Concentrat proteic de mușchi de crap extracție acidă (CPMC2) (concentrația proteică 82,34% din s.u., viteza de încălzire 1°C/minut)

Modificarea caracteristicilor reologice la încălzire ale concentratelor proteice de crap în raport cu omogenatul de mușchi de crap, (tabelul 3.2) le punem pe seama complexității mai mari a omogenatului, diferențelor privind conținutul proteic și valorile de pH caracteristice și eventualelor modificări denaturante în sistemul proteic în timpul tratamentelor de extracție (Yongsawatdigul și Park, 2004). Concentrația proteică și pH-ul sunt parametri extrem de importanți la gelificarea termică a proteinelor cărnii. În plus, este cunoscut faptul că în timpul extracției proteinelor musculare prin procedeul acid, datorită concentrației mari de acid clorhidric suferă modificări care influențează proprietățile funcționale și reologice.

Tabelul 3.2. Dependența modulului elastic de temperatură și de metoda de extracție a proteinelor musculare

Natura probei	Modul elastic, Pa			
	4,3°C	50,8°C	51,9°C	74,7°C
Omogenat de mușchi	29.580	-	11.840	22.020
Concentrat proteic - Extracție alcalină	4.178	1.382	-	4.523
Concentrat proteic - Extracție acidă	3.453	1.269	-	4.070

Capacitatea mai redusă de a forma geluri a proteinelor tratate în mediu acid, în comparație cu cele tratate în mediu alcalin poate fi datorată unor modificări conformaționale (pierderea parțială a lanțului greu de miozină) sau datorită conformației nefavorabile a proteinelor în timpul tratamentului acid (mai multe grupări hidrofobe care conduc la agregate mai mari și la un gel mai puțin ordonat). O altă explicație ar fi cea legată de prezența proteinelor sarcoplasmice denaturate care sunt reținute la procesul acid, dar nu și la cel alcalin (Ingadottir, 2004).

În cazul *omogenatului de mușchi de macrou* și a concentratelor proteice umede și liofilizate, tranziția solului proteic la gel a fost studiată în timpul încălzirii în domeniile de temperatură cuprinse între 5,5-80°C și respectiv 31-80°C, prin monitorizarea modulilor de depozitare (elastic sau de înmagazinare) și a unghiului de fază ca și în cazul crapului. Efectele temperaturii asupra celor doi parametri sunt indicate în figurile 3.20-3.21 pentru cele trei tipuri de probe (omogenat de mușchi de macrou, concentrat proteic umed și concentrat proteic liofilizat; concentratul a fost obținut prin extracție cu soluție de KCl 0,15M și EDTA 1 mM). Din figurile respective pot fi desprinse informații asupra modificărilor structurale în funcție de temperatură, acestea fiind dependente de natura probei.

În cazul *omogenatului de mușchi de macrou*, din termoreograma modulului de depozitare (G') se evidențiază o descreștere abruptă a modulului elastic odată cu creșterea temperaturii în intervalul 5,5-30,1°C și una moderată în domeniul 30,1-46,1°C, când se atinge o valoare a lui G' de 2068 Pa (46,1°C). Intervalul de temperatură 30,1-46,1°C poate corespunde regimului de *setting* a pastei de macrou la temperatură ridicată, stabilit în mod experimental de fabricanții de kamaboko din Japonia (30-45°C). Temperaturile peste 30°C determină denaturarea proteinelor miofibrilare, cu modificarea configurației α -helix urmată de expunerea resturilor hidrofiele și sulfite, care ulterior sunt implicate în procese de agregare și gelificare. Denaturarea proteinelor a condus la o creștere a fluidității structurii de semigel și la disruperea unor rețele proteice de gel, formate anterior în stadiu timpuriu și la descreșterea valorii lui G' , până la valoarea minimă de 1190 Pa (52,5°C). Apoi, se constată în intervalul de temperatură (52,5-74,9°C) creșterea continuă a valorii lui G' până la valoarea finală de 2815 Pa (74,9°C), valoare de 5,26 ori mai mică decât nivelul inițial al modului elastic ($G' = 14830$ Pa la 5,5°C). Creșterea lui G' observată relevă formarea legăturilor intermoleculare și producerea tranzițiilor conformaționale sau structurale. Formarea structurii de gel la temperaturi reduse este evidențiată și prin evoluția valorilor unghiului de fază care au scăzut semnificativ în intervalul 5,5-16,8°C, după care au rămas aproape constante până la temperatura de 52,5°C. Peste această temperatură valorile lui δ au scăzut continuu ca dovadă a producerii interacțiunilor intra- și intermoleculare specifice gelificării termice a proteinelor. Se poate remarca proprietățile de gelificare mult mai reduse ale proteinelor miofibrilare de macrou, în comparație cu cele de crap cu toate că nivelul proteic a fost mai mare la omogenatul de macrou. Conținutul mai mare de grăsime, proporția de mușchi albi și roșii și istoricul tratamentelor la care au fost supuse speciile de pești analizate pot motiva aceste diferențe.

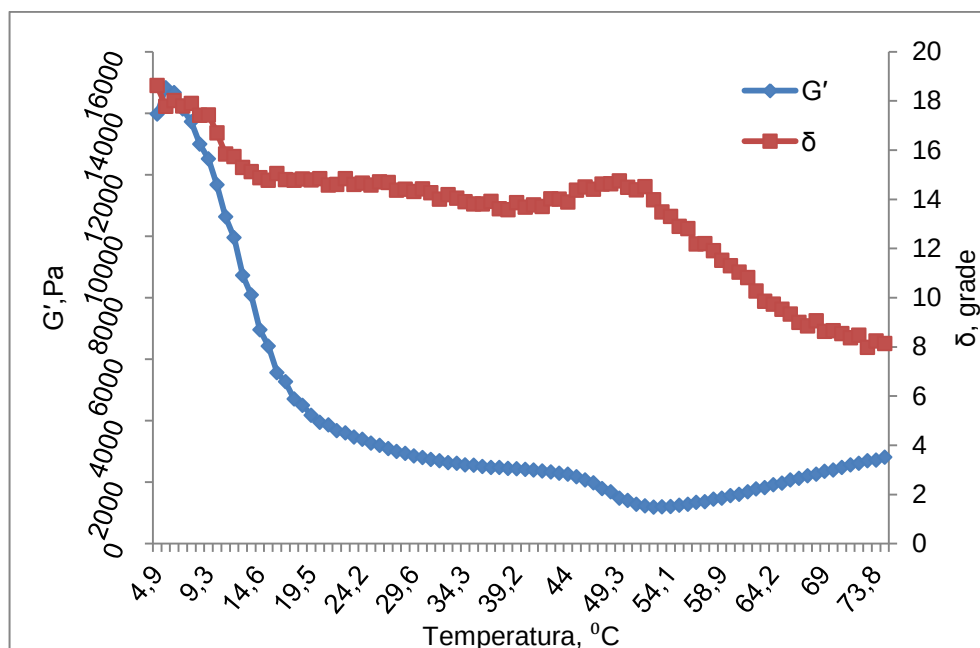


Figura 3.20. Modificarea modului elastic și a unghiului de fază în funcție de temperatură – Omogenat de mușchi de macrou (Concentrația proteică 18,74%, pH 5,9, viteza de încălzire 1°C/minut).

În condiții asemănătoare de procesare, proteinele miofibrilare din mușchii albi exercită, în general, proprietăți de gelificare mai bune decât cele din mușchii roșii (Fretheim și colab., 1986; Xiong, 1992; Xiong, 1994; Lesiów și Xiong, 2001a; Lesiów și colab., 1998). Diferențele privind proprietățile reologice între mușchii albi și roșii sunt atribuite unor factori intrinseci, cum sunt izoformele proteinelor miozinei (Asghar și colab., 1984) și polimorfismului.

Din figura 3.21 se poate vedea comportamentul reologic al concentratului de proteine miofibrilare din mușchi de macrou umed, care se deosebește de cel al omogenatului de mușchi de macrou. Din termoreogramă se constată valori mai mici ale modului elastic la concentratul proteic la începutul tratamentului termic, de 2587 Pa la 5,5°C, față de 14830 Pa la aceeași temperatură la omogenat și mai mari la sfârșitul procesului de încălzire de 5196 Pa la concentrat și 2815 Pa la omogenat. Deci, prin spălarea repetată a cărnii de macrou tocată cu soluție de KCl 0,15M și 1mM EDTA se îmbunătățesc proprietățile proteinelor de macrou de formare a gelului la tratament termic. Profilul curbei indică existența a trei puncte de inflexiune la 42,8°C ($G' = 1372$ Pa), 50,8 ($G' = 2229$ Pa) și la 54 ($G' = 2028$ Pa). Rezultatele sunt în concordanță cu cele raportate de Westphalen și colab., (2006) care au găsit punctele de inflexiune la 41, 50 și 57°C la proteinele miofibrilare din mușchi de porc (*Semimembranosus*, *Longissimus dorsi* și *Psoas major*).

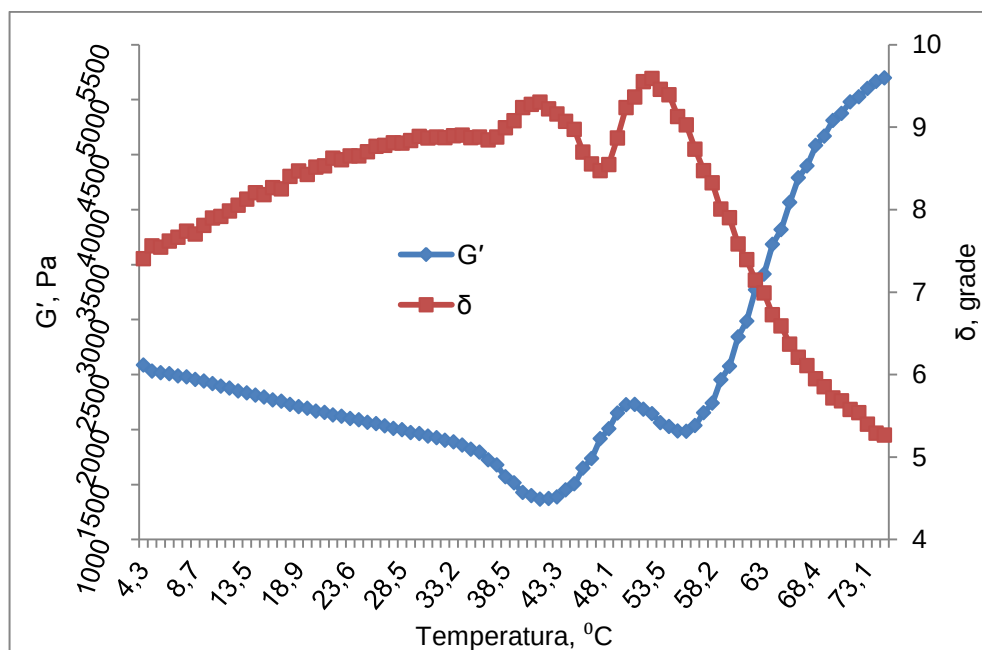


Figura 3.21. Influența temperaturii asupra valorilor modulului elastic și unghiului de fază – Concentrat proteic de macrou umed, extracție în KCl și EDTA (CPMM) (Concentrația proteică 81,60% din s.u., pH 6,4, viteza de încălzire 1°C/minut)

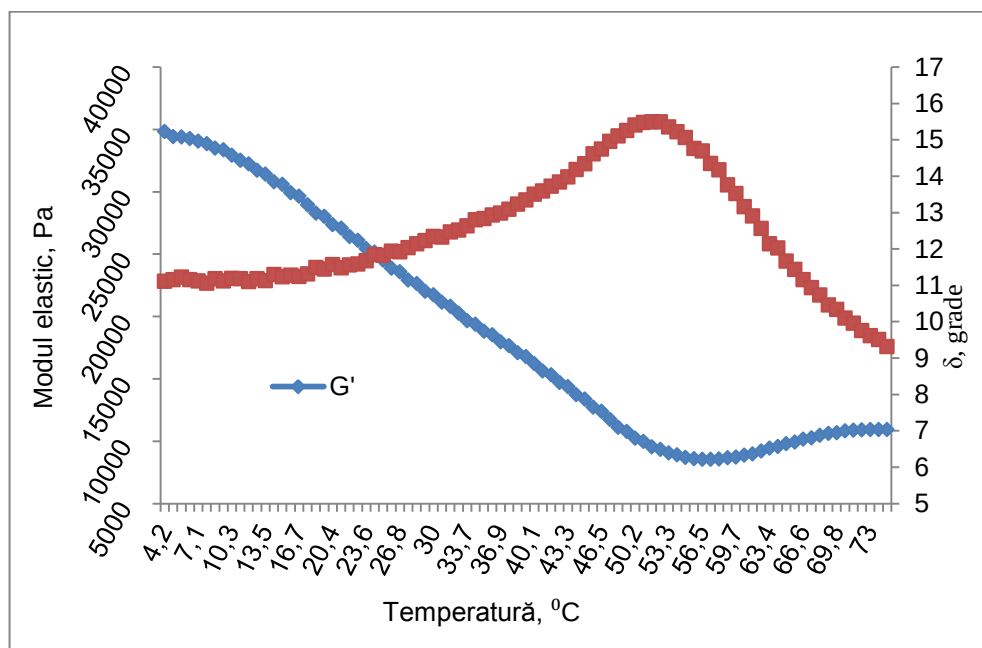


Figura 3.22. Modificarea modulului elastic și a unghiului de fază în funcție de temperatură – Omogenat de mușchi de novac (Concentrația proteică 17,55%, pH 5,9, viteza de încălzire 1°C/minut)

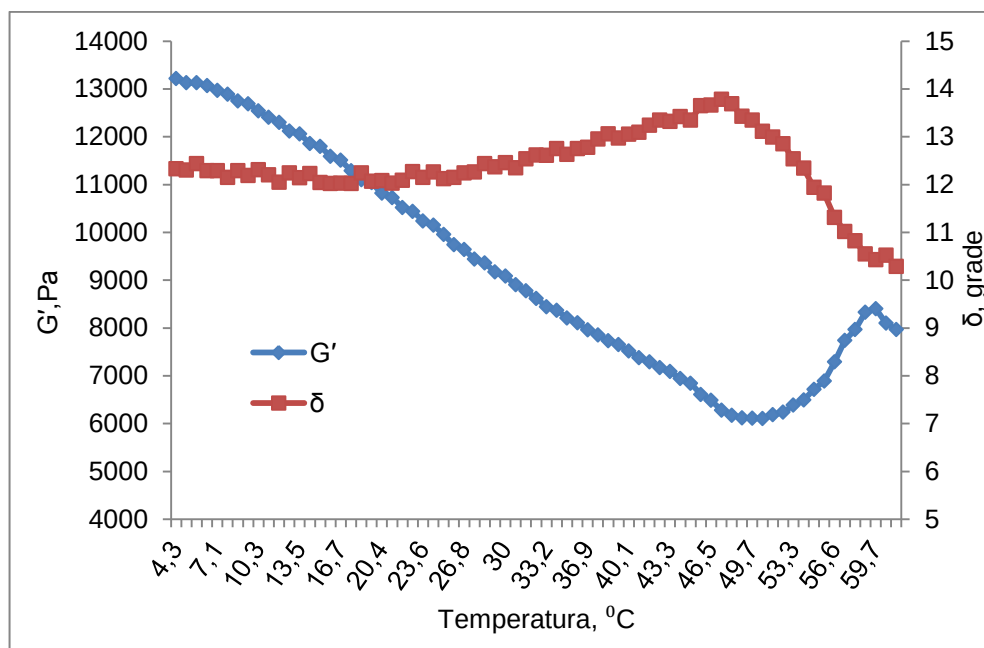


Figura 3.23. Influența temperaturii asupra valorilor modului elastic și unghiului de fază – Concentrat proteic de mușchi de novac extracție alcalină (Concentrația proteică 85,33% din s.u., viteza de încălzire 1°C/minut).

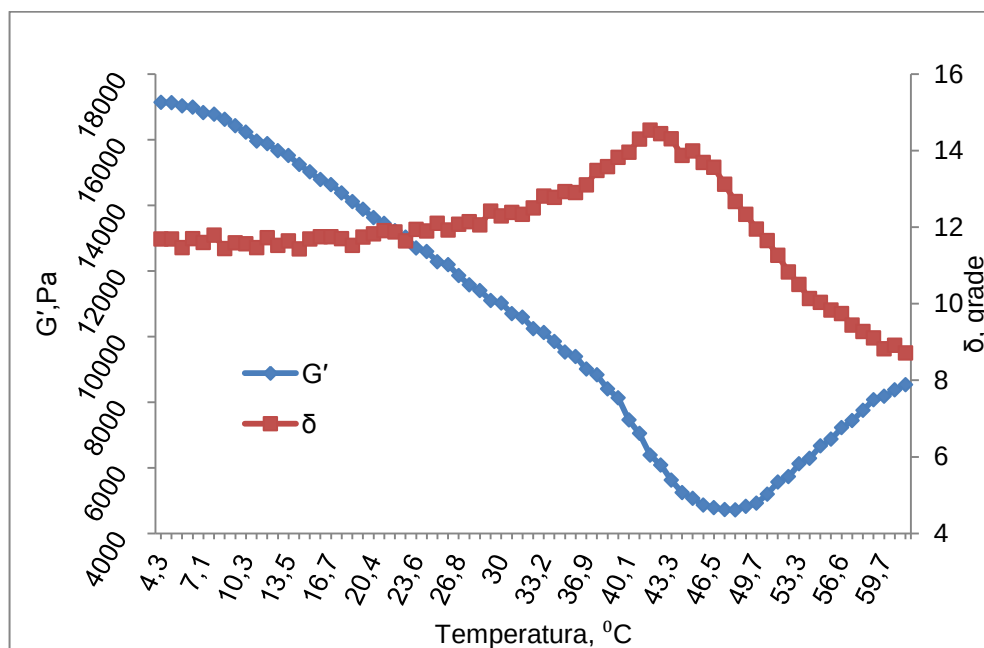


Figura 3.24. Influența temperaturii asupra valorilor modului elastic și unghiului de fază – Concentrat proteic de mușchi de novac extracție acidă (Concentrația proteică 88,84% din s.u., viteza de încălzire 1°C/minut)

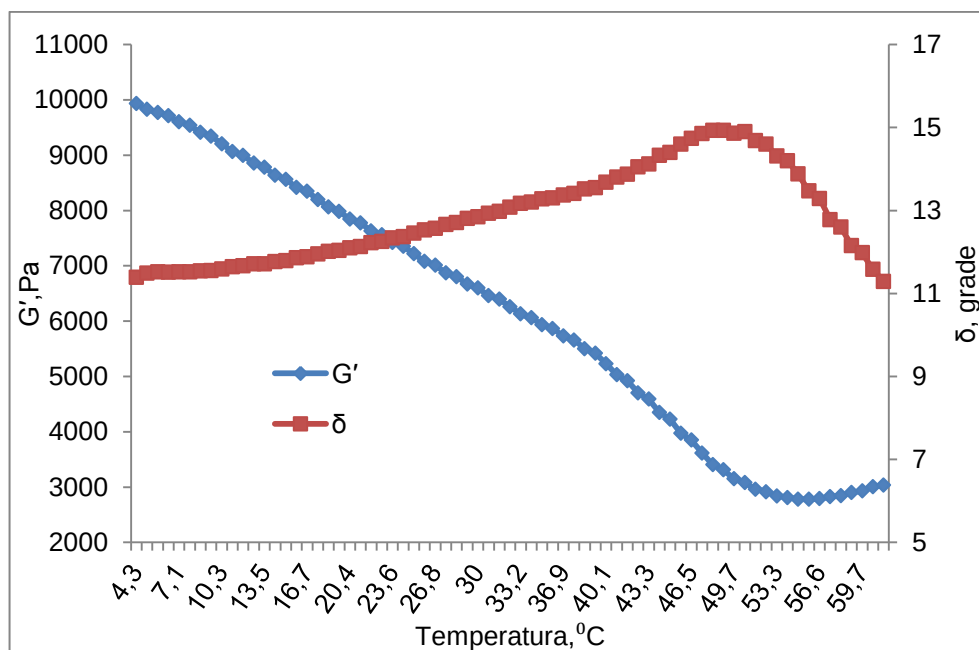


Figura 3.25. Influența temperaturii asupra valorilor modului elastic și unghiului de fază – Concentrat proteic de mușchi de novac extracție în KCl și EDTA (Concentrația proteică 90,66% din s.u., viteza de încălzire 1°C/minut)

Comportamentul reologic al omogenatului de mușchi de novac (figura 3.22), al concentratului proteic de mușchi de novac obținut prin extracție alcalină (figura 3.23), al concentratului proteic de mușchi de novac obținut prin extracție acidă (figura 3.24) și al concentratului proteic de mușchi de novac obținut prin extracție în KCl și EDTA (figura 3.25) este asemănător cu a celorlalte tipuri de pește. Profilul celor două curbe (modul elastic și unghi de fază versus temperatură) indică producerea unor modificări în sistemul proteic ca și în cazul altor derivate proteice.

În figurile 3.26 și 3.27 sunt prezentate termoreogramele suspensiilor proteice în funcție de concentrația derivatului proteic liofilizat din mușchi de macrou. Profilul curbelor diferă în mică măsură, dar valorile modului au variat cu nivelul de concentrat din suspensie. Prin creșterea concentrației de la 9 la 12% modulul elastic a crescut de la 211,8 Pa la 501,7 Pa la 31°C. La temperatura de 39,6°C se observă mici picuri cărora le corespund valori ale lui G' diferite în funcție de concentrația derivatului proteic (215,5-496 Pa), iar temperatura de 51,4°C poate fi considerată temperatura de începere a creșterii tăriei gelului. La sfârșitul procesului termic valorile modului elastic au fost net superioare valorilor corespunzătoare temperaturii de 31°C, fiind cu atât mai mari cu cât concentrația proteinei a fost mai mare. Proteinele de macrou liofilizate au manifestat proprietăți de gelificare semnificativ mai mici în comparație cu concentratul de proteine miofibrilare umed. Astfel, la 31°C, valoarea modului elastic a fost cu 4,14-12,33 ori mai mică decât valoarea concentratului umed, diferența micșorându-se substanțial la temperatura de 71,9°C, la care a fost de 1,9-4,4 ori mai mică, în funcție de concentrația proteinei. Uscarea prin liofilizare a proteinelor structurale din mușchiul de pește fără adaos de crioprotectori conduce la denaturarea proteinelor și la pierderea capacității de formare a gelurilor (Lanier și colab., 1992).

Concentrația proteinei joacă un rol cheie în determinarea proprietăților de inducere termică a gelurilor, de aceea trebuie să se determine concentrația minimă de gelificare pentru fiecare tip de proteină sau derivat proteic. Rezultatele noastre sunt în acord cu raportările altor cercetători,

care au constatat că fermitatea și tăria gelului cresc cu creșterea concentrației de proteină indiferent de sursa de proteină (Ishioroshi și colab., 1979, 1981; Foegeding și colab., 1986; Fretheim și colab., 1986). Prin creșterea concentrației de proteină de la 4 la 8% crește tăria gelului de surimi de pui (Smith și O'Neill, 1997). Utilizând proteine miofibrilare, Brewer și colab., (2005) au demonstrat, de asemenea, dependența proprietăților de gelificare de concentrația proteinei, evidențiată prin creșterea tăriei, elasticității și aderenței cu creșterea concentrației proteinei, coezivitatea crescând numai ușor. Ei au tras concluzia că întărirea gelului este consecința creșterii ariei matricei ocupată de proteină, ceea ce mărește potențialul de interlegare la joncțiuni.

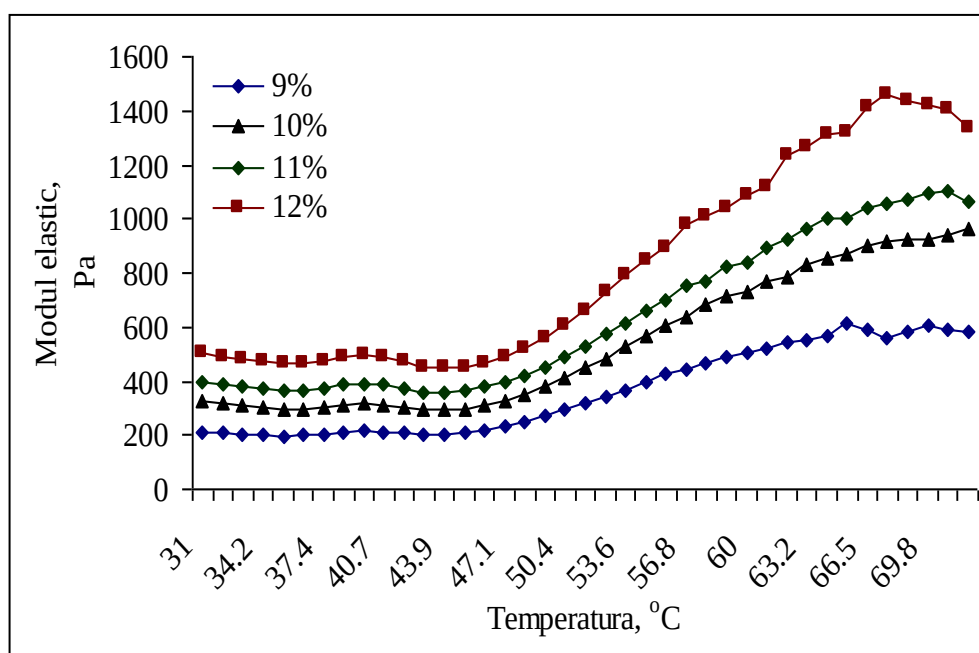


Figura 3.26. Influența concentrației proteice asupra modului elastic la suspensiile de concentrat de proteine miofibrilare de macrou liofilizat (pH 7,0, viteza de încălzire 1°C/minut)

Profilul termoreogramelor unghiului δ indică aceeași dependentă a parametrului respectiv de concentrația proteinei din sistem (figura 3.27).

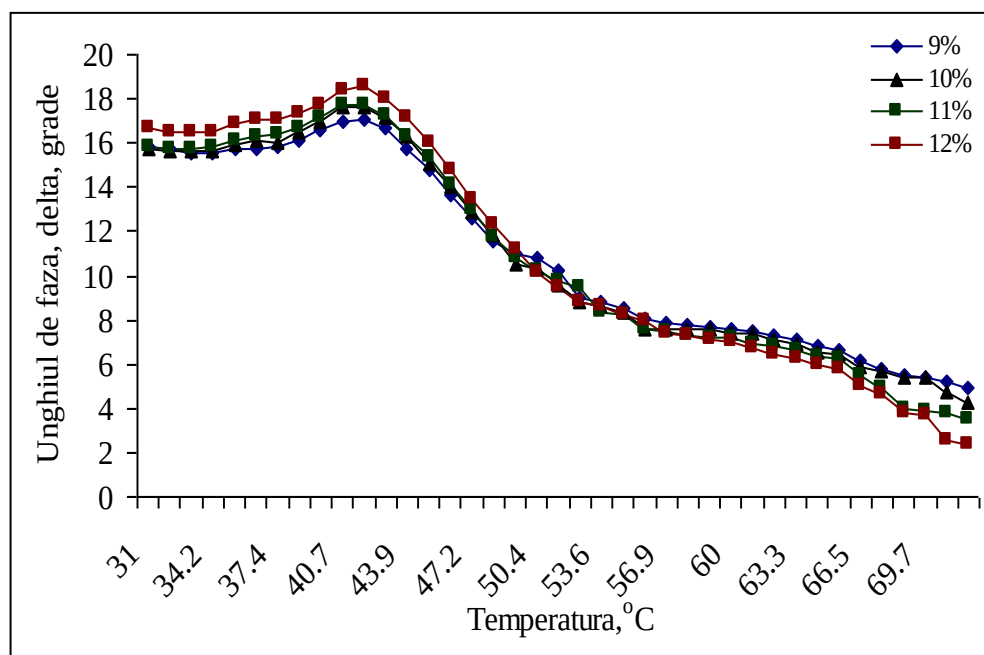


Figura 3.27. Influența concentrației proteice asupra unghiului de fază la suspensiile de concentrat de proteine miofibrilare de macrou liofilizat (pH 7,0, viteza de încălzire 1°C/minut)

3.1.4.2. Comportamentul reologic al proteinelor de vită

În figura 3.28 este prezentat comportamentul reologic al omogenatului de mușchi de vită în timpul tratamentului termic. Valorile modului elastic la omogenatul de vită au fost mai mici decât cele ale omogenatului de crap și mai mari decât în cazul pastei de carne de macrou pentru același interval de temperatură. Din curbă se pot distinge trei domenii de temperatură: 30,2-52,7°C, caracterizat prin reducerea valorilor modului elastic de la 14730 Pa la 4838 Pa, posibil, ca urmare a denaturării, disocierii și modificării conformaționale accentuate a unor proteine din mușchiul de vită (F-actină, miozină, LMM); 52,7-62,3°C, interval de temperatură în care modulul elastic a variat extrem de puțin până la 6634 Pa (62,3°C), o creștere ușoară fiind constatată numai peste temperatura de 58°C; 62,3-74,6°C corespunde rearanjării rapide a lanțurilor proteice prin formarea a noi legături intramoleculare și a structurii de gel care s-a consolidat continuu. Temperatura mai mare de 70°C determină modificări conformaționale majore care implică și monomerul de actină (Vujdani, 1996) și creșterea elasticității gelului proteic.

De asemenea, în curba de variație a unghiului de fază în funcție de temperatură, în cazul omogenatului de vită (figura 3.28) se pot observa mai multe intervale de temperatură în care s-au produs modificări structurale ale proteinelor musculare indicate de valorile lui δ . În intervalul de temperatură 30,2-45,7°C valorile lui δ s-au menținut aproape constante, dar valorile ridicate (17,49-20,23°) confirmă elasticitate mai redusă a sistemului și fluidificarea omogenatului prin disocierea unor proteine. Posibil, F-actina disociază în lanțuri individuale; miozină în lanțurile grele și ușoare, helixul tijei miozinei se transformă în spirale răsucite la întâmplare. Intervalul 47,5-54,2°C este caracterizat prin reducerea valorilor unghiului δ , de la 16,49° la 13,16° și prin generarea unor noi legături între lanțurile proteice. Se remarcă apoi alte două zone de instabilitate ale valorilor lui δ , un palier, o creștere ușoară și un alt palier în intervalul 54,2-63,4°C, corespunzătoare transformării helixului la spirală și regroupării rapide a acestora. În intervalul de temperatură cuprins între 63,4-74,6°C valorile unghiului δ au scăzut continuu,

dovada formării gelului proteic și rigidizării structurii lui (15,25-10,7°C). Unghiul de fază mic la 74,6°C indică un comportament reologic al gelului proteic asemănător unui corp solid.

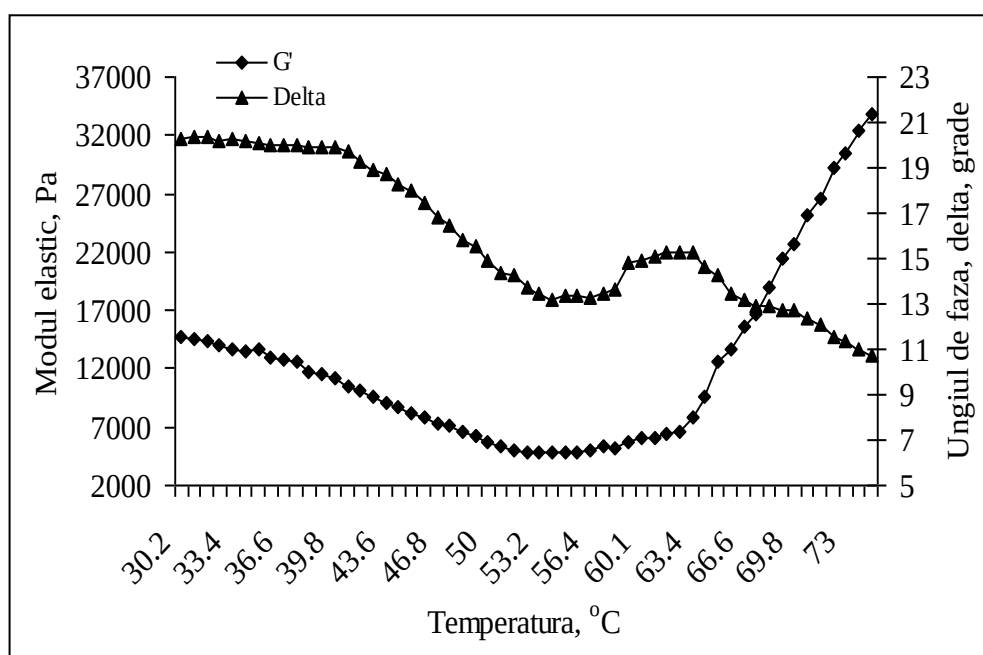


Figura 3.28. Modulul elastic și delta versus temperatură –
Omogenat de mușchi de vită

3.1.4.3. Comportamentul reologic al proteinelor de piept de pui

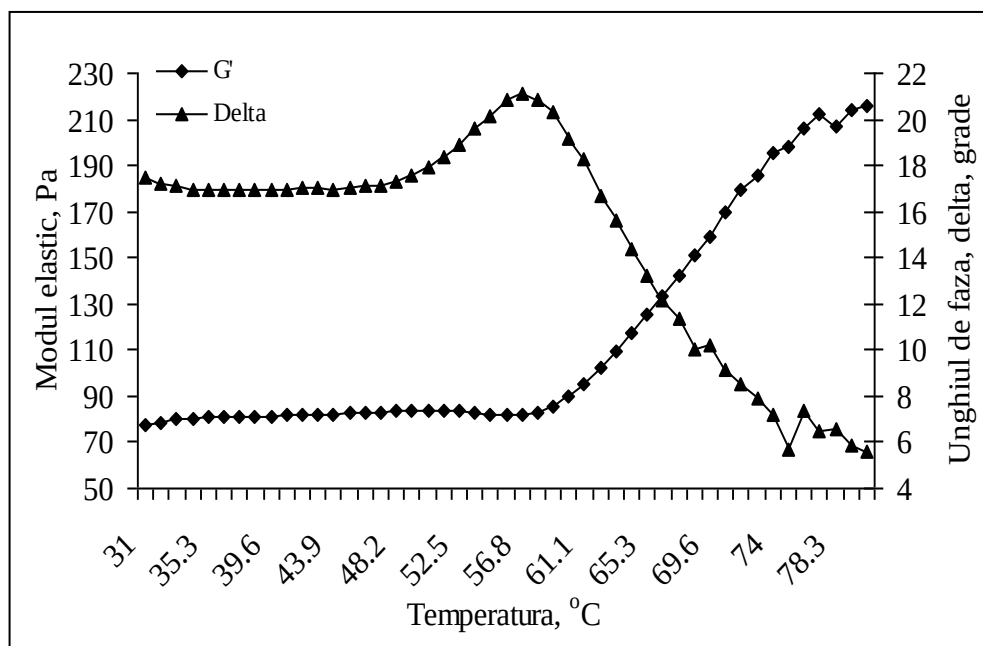


Figura 3.29. Modulul elastic și delta versus temperatură –
Izolat proteic de piept umed de pui extracție alcalină (CPMPP1)

Comportamentul reologic al izolatului umed de piept de pui obținut prin solubilizare alcalină este indicat în figura 3.29. Profilul celor două curbe (modul elastic și unghi de fază versus temperatură) indică producerea unor modificări în sistemul proteic ca și în cazul altor derivate proteice.

3.1.4.4. Comportamentul reologic al proteinelor de porc

În figurile 3.30 și 3.31 sunt prezentate evoluțiile modului elastic și a unghiului δ pentru concentratul proteic de porc liofilizat, obținut prin solubilizare acidă. Comportamentul reologic arată dependența puternică de concentrație a parametrilor reologici. Se observă că prin creșterea concentrației de proteină de la 6 la 8%, modulul elastic crește substanțial. Termoreograma la concentrația de 6% proteină prezintă un pic accentuat la temperatura de 60°C, curbe cu profil asemănător pentru G' fiind obținute și de Westphalen și colab., (2006) pentru suspensiile de proteine miofibrilare din mușchii SM (pH 6,5) și PM (pH 6,0) cu concentrații de 2,3% proteină. Noi am observat o creștere a tăriei gelului de la 52,5°C, care este considerată temperatura de denaturare a miozinei, la 60°C și apoi o reducere a elasticității gelului până la 80°C, domenii de temperatură diferite de cele constatate de Westphalen și colab., (2006). Diferențele le punem pe seama concentrației proteice și pH-ului diferite al suspensiilor proteice și eventualelor denaturări suferite de proteine structurale de porc în timpul extracției acide și liofilizării în absența crioprotectorilor. Profilul termoreogramei modului elastic la concentrația de 8% a fost total diferită de cea găsită de noi la concentrația de 6% proteină și de cele raportate de Westphalen și colab., (2006) pentru diferite tipuri de mușchi de porc. Termoreogramele unghiului δ a fost, de asemenea, diferite în funcție de concentrația proteică.

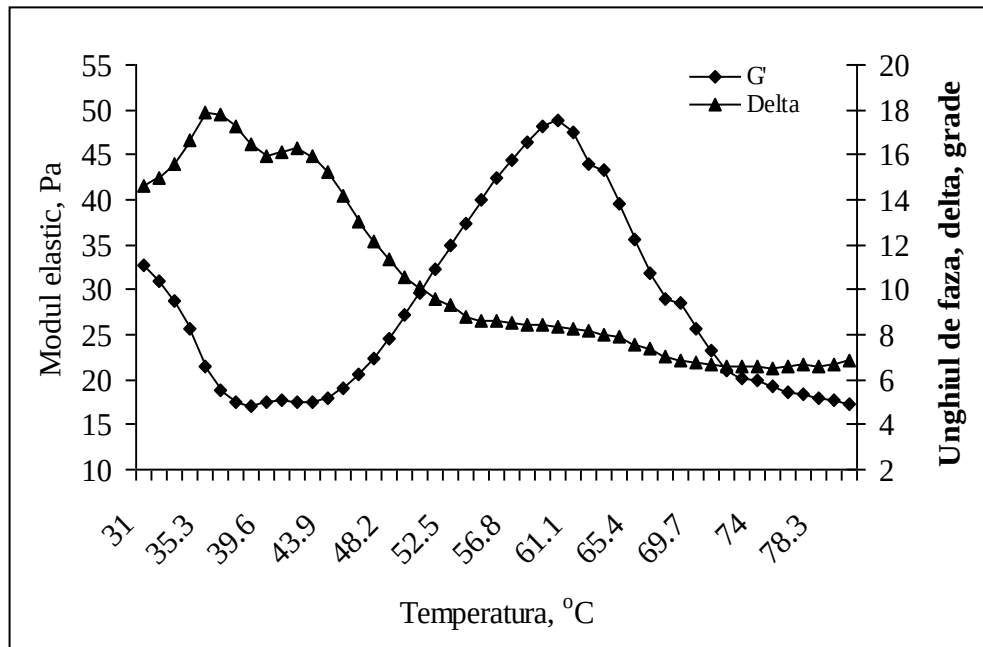


Figura 3.30. Modulul elastic și delta versus temperatură –
Concentrat proteic de porc liofilizat extracție acidă (CPMP1, 6% proteină, pH 7,0).

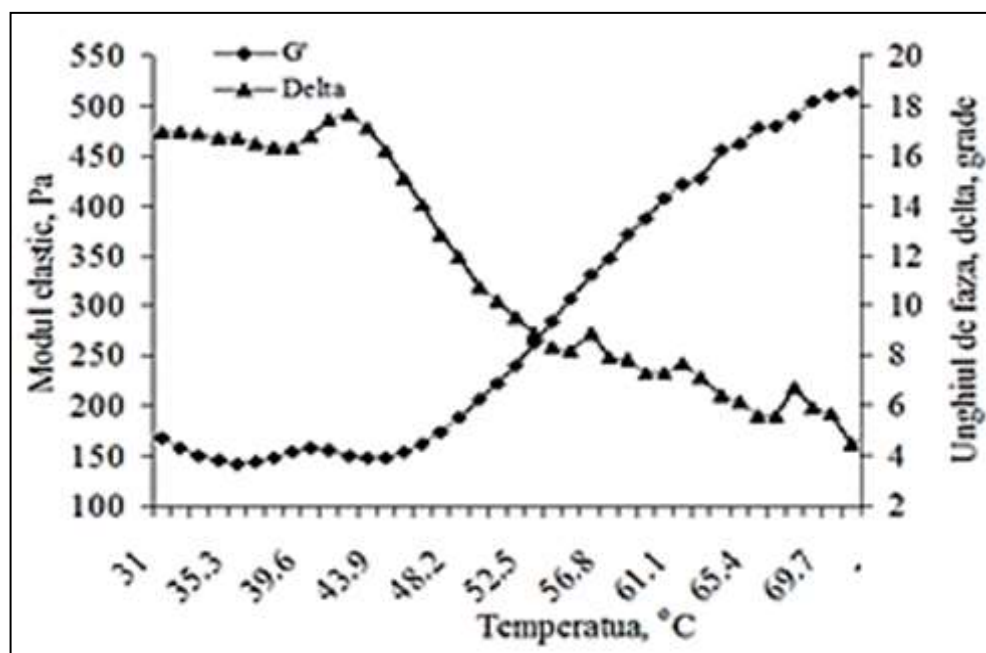


Figura 3.31. Modulul elastic și delta versus temperatură –
Concentrat proteic de porc liofilizat extracție acidă (CPMP1, 8% proteină)

Proprietățile de gelificare indusă termic au fost studiate pentru diferite proteine miofibrilare de vită, porc, pasăre, pește și iepure de mai mulți cercetători (Fretheim și colab., 1986; Smith, și colab., 1988; Hennigar și colab., 1989; Chan și colab., 1992; Xiong, 1992; Lan și colab., 1995a, 1995b; Boyer și colab., 1996a, 1996b). Ei au stabilit dependența proprietăților de gelificare ale proteinelor miofibrilare, în special ale miozinei, de sursa de proteine, de tipul de mușchi, de pH, tărie ionică, concentrația proteinei, temperatură și viteza de încălzire. Gelificarea proteinelor musculare implică denaturarea parțială urmată de agregarea ireversibilă a capetelor miozinei prin formarea legăturilor disulfite și tranziția capului moleculei de miozină de la forma α -helix la cea de spirală răsucită la întâmplare care conduce la formarea unei rețele cu structură tridimensională (Samejima și colab., 1981; Smith și colab., 1988; Sharp și colab., 1992; Stone și colab., 1992). În timpul gelificării, miozina și alte proteine solubile în sare suferă modificări complexe ale caracteristicilor reologice în funcție de temperatură și pH la care sunt expuse (Egelanddal și colab., 1986; Xiong, 1993).

Gelificarea miozinei indusă termic conduce la formarea unei rețele cu structură tridimensională, care reține apă într-o stare mai puțin mobilă (Yasui și colab., 1979). Prin formarea rețelei de gel este îmbunătățită retenția apei și a grăsimii; randamentul, textura și coeziunea produsului finit fiind condiționate de capacitatea de gelificare a proteinelor miofibrilare (Smith și colab., 1988).

3.2. Proteine de origine animală și vegetală

În tabelul 3.3 este prezentată compoziția chimică globală a unor derivate proteice de origine vegetală și animală, altele decât proteinele miofibrilare, iar în tabelul 3.4 sunt înscrise proprietățile funcționale ale derivatelor proteice analizate.

Tabelul 3.3. Compoziția chimică globală a unor proteinele de origine vegetală și animală

Concentrat/Izolat proteic	Substanța uscată, %	Proteină, %	Lipide, %	Cenușă, %
Cazeinat de sodiu	90,10	81,30	1,15	5,2
Gelatină	92,50	90,6	-	1,8
Izolat proteic de soia	91,47	83,7	1,83	4,79
Faină de soia	91,35	65,40	1,52	2,815
Izolat proteic de lupin	91,25	87,37	0,43	2,45

Tabelul 3.4. Proprietățile funcționale ale derivatelor proteice analizate

Concentrat/ Izolat proteic	Capacitate de hidratare, ml H ₂ O/g	Capacitate de spumare, %	Stabilitatea spumei, %	Capacitate de emulsionare, ml ulei/g proteină
Cazeinat de sodiu	21,92	220	70,78	175,24
Gelatină	8,13	150	60,00	103,00
Izolat proteic de soia	5,63	1,85	64,91	101,82
Faină de soia	2,00	95,00	84,61	61,83
Izolat proteic de lupin	18,243	53,85	71,43	181,66

Datele analitice obținute de noi sunt similare celor raportate în fișele tehnice ale derivatelor proteice respective.

3.3. CONCLUZII PARȚIALE

Conținutul de proteine al derivatelor proteice a fost condiționat de proveniența mușchiului și de tehnica de extracție aplicată. Mușchii de piept de pasăre și vită au condus la obținerea unor derivate proteice cu conținuturi de proteine mai mari de 90% s.u.

Solubilizarea proteinelor musculare, în mediu puternic alcalin, urmată de precipitarea acestora din soluție la pH-ul punctului izoelectric (pI) asigură și recuperarea proteinelor sarcoplasmice care precipită la pH 5,5.

Tehnologia clasică de obținere a produsului surimi de spălare repetată cu apă răcită și centrifugare/presare a cărnurilor de pește fin mărunțite nu este adecvată în cazul cărnii de porc, ea nu asigură separarea corespunzătoare a grăsimii și pigmentilor și conduce la un concentrat proteic cu conținut redus de proteine structurale și proprietăți funcționale inferioare.

Proprietățile funcționale ale derivatelor proteice au fost dependente de sursa de proteine, tehnica de separare și de forma de prezentare: concentrate umede sau liofilizate. Tehnica de conservare prin liofilizare în lipsa crioprotectorilor a influențat negativ funcționalitatea concentratelor.

Solubilitatea proteinelor musculare, componente ale derivatelor proteice, este o proprietate critică, ea controlează celelalte caracteristici funcționale ale proteinelor (capacitatea de emulsionare, de spumare și de formare a gelurilor).

Profilul de solubilitate al concentratelor/izolatelor de proteine musculare a variat în funcție de natura produsului și de pH-ul soluției proteice. Toate derivatele proteice au prezentat un minim

de solubilitate la pH 5,5 și două domenii de solubilitate maximă la pH puternic alcalin (11,0) și puternic acid (3,0).

Concentratele/izolatele proteice obținute prin solubilizare alcalină sau acidă și precipitare la pI sunt caracterizate printr-o solubilitate mai bună în domeniu izoelectric 5,5-6,5, valori de pH frecvent întâlnite în diferite formulări de salamuri sau în produsele restructurate, unde ar putea fi utilizate ca ingrediente funcționale.

Proprietățile de suprafață ale derivatelor proteice (spumare și emulsionare) au depins de sursa de proveniență a cărnii, de tehnica de extracție și tratamentul la care a fost supusă carnea înainte de extracție.

Capacitatea de spumare și stabilitatea spumei pentru toate derivatele proteice au fost minime la pH 5,5. Creșterea/scăderea valorii de pH față de pI îmbunătățește proprietățile de suprafață ale proteinelor structurale, creșterea de volum a spumei fiind mai mare la pH 10, decât la pH 3,0.

Solubilitatea proteinelor și capacitatea de spumare se corelează pozitiv, coeficienții de corelație au depins mai mult de sursa de proteine musculare, decât de tehnica de extracție. Solubilizarea alcalină a condus la derivate proteice cu proprietăți de spumare ușor îmbunătățite față de solubilizarea acidă, ca și extracția în soluții de tărie ionică mai mare.

Capacitatea de emulsionare a concentratelor de proteine musculare a fost dependentă de valoarea de pH a soluției proteice. Capacitatea de emulsionare minimă a fost înregistrată în regiunea izoelectrică în domeniul de pH 5,5 - 6,0 caracterizată prin cea mai mică solubilitate a proteinelor. Pentru unele aplicații alimentare proprietățile de emulsionare pot fi îmbunătățite prin modificarea valorii pH-ului mediului de dispersie al derivatelor proteice.

Capacitatea de absorbție a proteinelor la interfața apă-ulei, stabilizarea filmelor proteice formate în jurul picăturilor de ulei și reducerea tensiunii interfaciale a fost condiționată puternic de sursa de proteine, metoda de extracție și de compoziția concentratelor proteice (numai proteine miofibrilare sau proteine miofibrilare + proteine sarcoplasmice).

Variația modului elastic (G') și a unghiului de fază (δ) în timpul tratamentului termic al suspensiilor proteice reflectă modificări profunde la nivelul sistemului proteic (denaturare, disociere și reasociere) în funcție de temperatură.

Toate tipurile de concentrate/izolate de proteine musculare s-au comportat din punct de vedere reologic ca sisteme vâscoelastice cu componenta elastică mare, dar variabilă în funcție de temperatură, sursă de proteine, metodă de extracție și de procesul de uscare prin liofilizare.

Valorile modului elastic au fost direct proporționale cu concentrația proteinei din suspensia proteică (concentrat proteic liofilizat de macrou). Coeficienții de corelație dintre concentrația proteinei și modulul elastic în timpul încălzirii (30-71,9°C) au înregistrat valori peste 0,930, valori ușor mai crescute la concentrații proteice mai mici.

Concentratele/izolatele proteice analizate posedă capacități funcționale adecvate pentru utilizare în diverse sisteme pe bază de carne aducând produselor un plus de valoare nutritivă prin componenta lor proteică, dar se justifică obținerea lor din punct de vedere economic în cazul speciilor de pești neutilizabile, cărnurilor de calitate inferioară și al unor organe.

Concentratele/izolatele proteice studiate prin proprietățile lor funcționale, solubilitate și caracteristici de gelificare, pot reprezenta materii prime adecvate pentru generarea de filme și învelișuri proteice biodegradabile.

Capitolul 4. Îmbunătățirea valorii nutritive a pâinii obținută din făină de grâu

4.1. Prepararea pâinii

În tabelul 4.1 am prezentat compoziția chimică a materiilor prime: făina de grâu, concentrat proteic miofibrilar liofilizat de Crap (CPMCL) și concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de Crap (CPMC1).

Tabelul 4.1. Compoziția chimică aproximativă a materiilor prime
(CPMC1 - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de Crap; CPMCL - concentrat proteic miofibrilar liofilizat de Crap)

	Umiditate %	Proteina %	Lipide %	Cenusa %
Făina de grâu	13,80	10,00	0,90	0,48
CPMC1	83,45	15,12	0,10	0,30
CPMCL	7,10	89,7	0.50	1.70

Rețetele detaliate fost rezumate în tabelul 4.2. Cantitatea de apă a fost stabilită în funcție de aluatul din proba martor I (martor C), la Konsystograf Typ SZ-5 din Sadkiewicz Instruments.

Conținutul de aminoacizi esențiali (mg / g) la făină și FPC (tabelul 4.3.) a fost calculat conform [www.nutritionvalue.org]. Conținutul de aminoacizi esențiali a fost calculat pentru fiecare aminoacid esențial prin următoarea formulă: [miligrame de aminoacizi din proteinele din probă 1g / miligrame de aminoacizi a proteinei de referință 1g] x 100. Modelul de referință utilizat a fost cel stabilit de FAO (Seligson și Mackey, 1984)

Tabelul 4.2.. Rețetele de pâine conțin - concentrat proteic miofibrilar obținut prin extracție în soluție salină de KCl și EDTA – mușchi de Crap – CPMC1 și concentrat proteic miofibrilar liofilizat de Crap - CPMCL;

Proba	Făină, g	CPMC1, g	CPMCL, g	Ulei (O), g	Apă, ml	Drojdie, g	Sare, g
I	200	-	-	-	120	6	3
II	200	140	-	10	61	6	3
III	200	140	-	-	61	6	3
IV	200	-	20	-	146	6	3

Tabelul 4.3. Conținutul de aminoacizi esențiali (mg aminoacizi./ g. proteina) la făină și concentrate proteice de pește (crap).

Proba	Val	Iso	Leu	Lys	Met + Cis	Thr	Trp	Phe + Tyr
Făină	49	43	84	18	44	31	12	92
Concentrat proteic de pește	51,5	46	81	92	41	44	11	83

4.2. Compoziția chimică a probelor de pâine

Așa cum se arată în Tabelul 4.4. probele de pâine cu proteine de pește sunt caracterizate prin conținutul ridicat de proteine, lipide și cenușă. Nivelul de proteine (% su) este îmbunătățit de la 9,73 la C la 19,26 la pâinea cu concentrat proteic și la 19,37, în probele de pâine cu concentrat proteic liofilizat.

Tabelul 4.4. Compoziția chimică a probelor de pâine

Proba	Umiditate (%)	Proteine		Lipide		Cenușă	
		%	% s.u.	%	%s.u.	%	% s.u.
I	42,98	5,55	9,73	0,25	0,43	0,50	0,87
II	48,58	9,90	19,26	3,83	7,46	0,53	1,03
III	49,29	9,66	19,09	0,35	0,69	0,60	1,17
IV	46,03	10,45	19,37	0,34	0,63	0,78	1,45

Valoarea nutritivă a probelor de pâine suplimentate cu concentrat proteic miofibrilar umed de crap (CPMC1) și concentrat proteic miofibrilar liofilizat de crap (CPMCL) a fost îmbunătățită datorită unui conținut de aminoacizi esențiali mai echilibrat, în special în lizină.

Îmbunătățirea valorii nutritive prin suplimentarea pâinii cu diferite surse de proteine a fost raportată anterior în literatură în diverse lucrări precum Campos și El-Dash (1978), El-Dash și colab., (1980), Schoenlechner și colab., (2013), Suhrendo și colab., (1993).

4.3. Conținutul de aminoacizi esențiali

Concentratul proteic de pește și concentratul proteic de pește liofilizat au îmbogățit în aminoacizi esențiali probele de pâine după cum se observă din următoarele tabele 4.5 și 4.6.

Tabelul 4.5.. Conținutul de aminoacizi esențiali (mg. aa/ gr.proteină) ale probelor de pâine și FAO

Proba	Val	Iso	Leu	Lys	Met + Cis	Thr	Trp	Phe + Tyr
I	43,00	38,00	69,00	24,00	39,00	28,00	11,50	77,00
II	47,00	42,00	74,00	54,50	40,00	35,00	11,00	75,00
III	46,50	41,20	74,00	52,80	40,00	34,80	10,70	75,00
IV	47,00	41,60	74,90	56,10	40,00	35,60	12,50	75,00
FAO	50,00	40,00	70,00	55,00	35,00	40,00	10,00	60,00

În tabelul 4,5 este arătat conținutul de aminoacizi esențiali (mg. aa/ gr.proteină) ale probelor de pâine și în tabelul 4.6 este prezentat conținutul de aminoacizi din probele de pâine raportat la conținutul de aminoacizi din proteina etalon FAO.

În proba martor (I) lizina și treonina sunt aminoacizii deficitari. Adaosul de CPMC1 și CPMCL au îmbunătățit conținutul de lizină și treonină, dar treonina este încă un aminoacid deficitar (doar în jur de 10%) (tabelul 4.5)

Tabelul 4.6.. Conținutul de aminoacizi din probele de pâine raportat la conținutul de aminoacizi din proteina etalon FAO

Proba	Val	Iso	Leu	Lys	Met + Cis	Thr	Trp	Phe + Tyr
I	86,0	95,0	98,5	44,0	111,0	70,0	115,0	128,0
II	94,0	105,0	106,0	99,0	114,0	88,0	110,0	125,0
III	93,0	103,0	106,0	96,0	114,0	87,0	107,0	125,0
IV	94,0	104,0	107,0	102,0	114,0	89,0	125,0	125,0

4.4. Efectul proteinei de pește asupra calității pâinii

Controlul probelor de pâine sunt prezentate în figura.4.7. și figura. 4.8. și s-a observat o diminuare a volumului pâinii în ordinea: C (I), CPMCL (IV), CPMC1 (III), CPMC1+ O (II).



Figura 4.1. Caracteristicile externe ale probelor de pâine făină de grâu

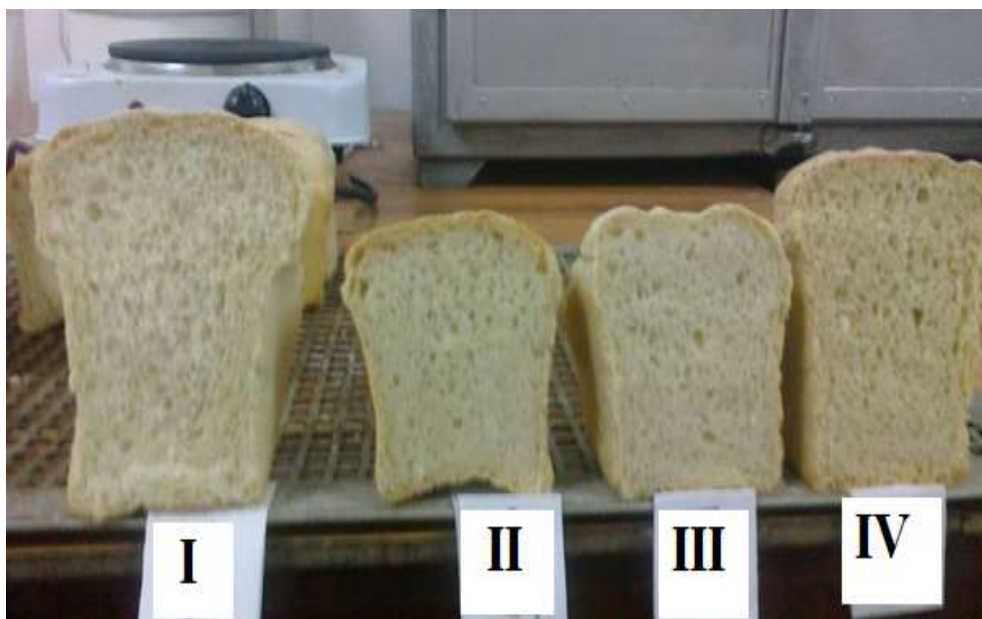


Figura 4.2. Caracteristicile interne ale probelor de pâine făină de grâu

Indicii fizici ai probelor de pâine sunt prezentați în Tabelul 4.7.

Tabelul 4.7. Indicii fizici ai probelor de pâine

Proba	Volumul specific g / cm ³	Porozitate %	Elasticitate %
I	3,9	76	97
II	2,5	75	98
III	3,1	74	97
IV	3,2	75	97

Volumul specific a scăzut în ordinea: C (I), CPMCL (IV), CPMC1 (III) și CMPC1 + O (II); Porozitatea a scăzut în ordinea: C (I), CPMCL (IV), CMPC1 + O (II) și CMPC1 (III); Elasticitatea a scăzut în ordinea: CMPC1 + O (II), C (I), CMPC1 (III) și CPMCL (IV). Evaluarea senzorială a probelor de pâine sunt prezentate în tabelul 4.8.

Tabelul 4.8.. Evaluarea senzorială a probelor de pâine

Proba	Volum pâine	Culoarea crustei	Textura	Porozitate	Aromă	Gust	Total puncte
I	4	3	5	6	3	4	25
II	2	4	6	5	4	5	26
III	3	3	5	4	4	5	24
IV	3	4	5	5	2	3	22

La evaluarea senzorială, probele de pâine s-au situat în următoarea ordine: CMPC1 + O (II), C (I), CMPC1 (III), CPMCL (IV).

4.5. CONCLUZII PARȚIALE

Adăugarea de concentrat proteic de pește și concentrat proteic liofilizat de pește în aluat au îmbunătățit valoarea nutritivă a pâinii.

Conținutul de lizină, aminoacid esențial deficitar în pâine, a fost adus la nivelul proteinei etalon FAO în probele de pâine cu concentrate proteice umede sau liofilizate de pește.

Concomitant s-a îmbunătățit și conținutul de treonină dar nu în totalitate (avem un deficit de 10%)

Aceste produse au volumul specific, textura și porozitatea bune și o structură a miezului care au fost acceptate bine de către consumatori.

Cea mai importantă concluzie este că deficitul mic din evaluarea senzorială este compensat de echilibrarea spectaculoasă a pâinii în aminoacizi esențiali.

Această utilizare are cerere de brevet din august 2016.

Capitolul 5. Filme comestibile

5.1. Compoziția soluției formatoare de film

În cadrul experimentului nostru, filmele comestibile/biodegradabile au fost realizate folosind proteine miofibrilare de Novac, specie de pește puțin apreciată în consum datorită prezenței a numeroase oase mici, în deosebi la exemplarele de dimensiuni reduse. Proteinele miofibrilare de Novac au fost obținute prin procedeul convențional de spălare repetată a cărnii tocate cu apă rece, urmată de centrifugare și rafinare pentru îndepărtarea apei, substanțelor solubile în apă, proteinelor sarcoplasmice, lipidelor, resturilor de piele și a eventualelor oase (procedeul surimi).

Tabelul 5.1 Compozițiile soluțiilor formatoare de filme

Filme	pH soluție	Proteine, g%	Glicerină, % proteine	Gelatină, g%	Ciclodextrină, g%
a	2,7	1,0	50	-	-
b	2,7	1,5	50	-	-
c	2,7	2,0	50	-	-
d	2,7	2,5	50	-	-
e	2,7	2,0	30	-	-
f	2,7	2,0	70	-	-
g	2,7	1,0	30	2,0	-
h	2,7	1,5	40	-	1,0
i	10,8	2,0	30	-	-
j	10,8	2,0	50	-	-
k	10,8	2,0	70	-	-
l	10,8	1,0	30	2,0	-
m	10,8	1,5	40	-	1,0
n	10,8	1,0	50	-	-
o	10,8	1,5	50	-	-
p	10,8	2,5	50	-	-

Au fost realizate mai multe tipuri de filme prin folosirea unor procente diferite de proteine miofibrilare de pește, niveluri diferite de glicerină în mediu puternic acid sau alcalin. De asemenea, am fost obținute și filme compozite la care alături de constituenții de bază, proteine, glicerină, apă a fost adăugată gelatină sau ciclodextrine. Compozițiile soluțiilor formatoare de filme (SFF) sunt indicate în tabelul 5.1. Tipurile de filme au fost desemnate cu litere.

5.2. Compoziția aproximativă a proteinelor miofibrilare de Novac

Compoziția chimică aproximativă a proteinelor miofibrilare de pește este arătată în tabelul 5.2. Izolatul proteic umed a avut un conținut de apă de , proteinele în procent de (greutate umedă) au fost constituentul solid dominant, cenușa și lipidele având conținuturi relativ mici. Conform lui Sikorski (1981), izolatul proteic obținut prin procedeul convențional conține ca proteină principală miozina, care reprezintă 50-60% din proteinele miofibrilare. Alături de miozină se găsesc cantități însemnate de actină asociată cu miozina sub formă de actomiozină, cu rol important în procesul de contracție-relaxare (Trinick, 1991) și în procesul de rigiditate musculară. Miozina și actomiozina, datorită naturii lor filamentose, pot forma rețele proteice puternice de film.

Tabelul 5.2 Compoziția aproximativă a proteinelor miofibrilare de Novac

Constituent	Cantitate	
	Greutate umedă, g%	Substanța uscată, g/100 g s.u.
Conținut de apă	83,82829	
Proteine totale	14,68942	90,83406
Lipide	0,1951	1,206428
Cenușă	0,1698	1,049982

5.3. Efectul compoziției și pH-ului soluției formatoare de film asupra proprietăților fizice ale filmelor bazate pe proteine miofibrilare de Novac

Procesele de solubilizare acidă (pH 2,7) și alcalină (pH 10,8) ale proteinelor miofibrilare de pește au fost necesare pentru prepararea filmelor proteice, ele având impact asupra proprietăților filmelor respective. În timpul uscării, proteinele miofibrilare solubilizate interacționează între ele pe calea diferitelor legături, care includ legături de hidrogen, interacțiuni hidrofobe și ionice, precum legăturile covalente disulfite.

5.3.1. Aspectul filmelor

Toate filmele obținute de noi au fost transparente, flexibile și uniforme. Filmele au prezentat suprafețe netede, fără pori sau fisuri vizibile cu ochiul liber. În cazul utilizării gelatinei și a ciclodextrinei la formulările de filme, aceste au prezentat o culoare ușor mai gălbuie în comparație cu filmele numai pe bază de proteine de pește.

Aspectul celor două părți ale filmului a fost ușor diferit pentru toate filmele realizate. Partea inferioară a filmului care a venit în contact cu placa de turnare a fost mai strălucitoare, în timp ce partea superioară a fost lipsită de strălucire, posibil datorită unei separări a fazelor ce are loc în soluție în timpul procesului de uscare. Toate tipurile de filme, obținute de noi, au fost desprinse manual cu ușurință de plăcile de turnare, excepție făcând filmele cu un adaos mai mare de glicerină (70 g la 100 g proteine), acestea fiind ceva mai lipicioase. În figura sunt prezentate fotografiile unor probe de film realizate din soluții de compoziții diferite cu pH acid și alcalin.



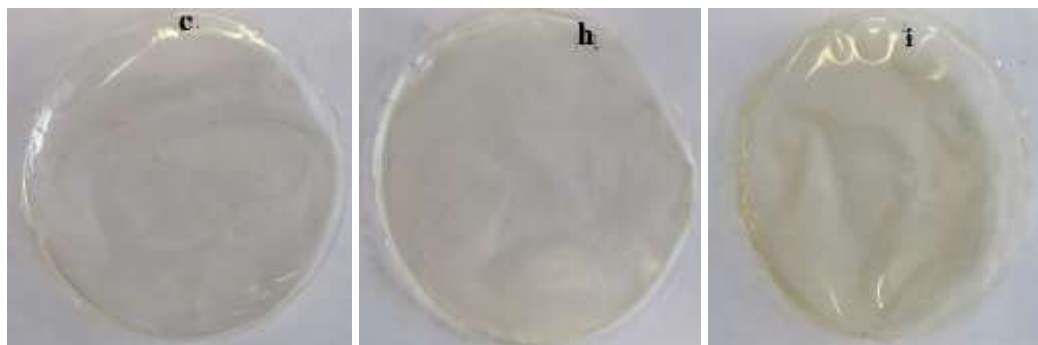


Figura.5.1. Filme realizate din soluții de compoziții diferite cu pH acid și alcalin

5.3.2. Grosimea filmelor

Grosimea filmului a fost măsurată prin utilizarea micrometrului în 10 zone alese la întâmplare. Precizia de măsurare a grosimii filmului a fost de $\pm 5\%$. Pentru fiecare tip de film au fost efectuate câte 8 filme, cărora li s-a măsurat grosimea după uscare și condiționare. Grosimile medii și erorile standard ale filmelor realizate în cadrul lucrării sunt indicate în tabelul 5.3. În cazul soluțiilor formatoare de film cu pH 2,7, în figurile 5.2-5.5 sunt prezentate variațiile grosimilor medii în funcție de tipul filmului, de regiunea de măsurare, de concentrația în proteină a soluției formatoare de film, de nivelul de glicerină adăugat și de adaosul de gelatină sau ciclodextrină. După cum se poate vedea, filmele au prezentat o oarecare neuniformitate a grosimii, în funcție de zonele unde s-au efectuat măsurătorile, diferențele de grosime nefiind statistic semnificative ($p < 0,05$) (figura 5,2). Grosimea medie a filmelor a crescut de la $0,030 \pm 0,001$ mm la $0,067 \pm 0,002$ mm odată cu creșterea nivelului de proteină miofibrilară de pește de la 1% la 2,5%, în prezența a 50% glicerină, raportată la 100 g proteine (figura 5.3). Grosimea medie a filmelor s-a corelat puternic pozitiv cu nivelurile de proteine miofibrilare de pește din soluțiile formatoare de film, coeficientul de corelație Pearson fiind de 0,94.

Tabelul 5.3 Grosimea filmelor bazate pe proteine miofibrilare de Novac

Filme	Grosime film, mm	Filme	Grosime film, mm
a	$0,030 \pm 0,001$	i	$0,066 \pm 0,03$
b	$0,052 \pm 0,001$	j	$0,098 \pm 0,09$
c	$0,066 \pm 0,002$	k	$0,100 \pm 0,04$
d	$0,067 \pm 0,002$	l	$0,061 \pm 0,03$
e	$0,066 \pm 0,002$	m	$0,088 \pm 0,04$
f	$0,075 \pm 0,002$	n	$0,041 \pm 0,04$
g	$0,055 \pm 0,001$	o	$0,082 \pm 0,04$
h	$0,061 \pm 0,003$	p	$0,105 \pm 0,05$

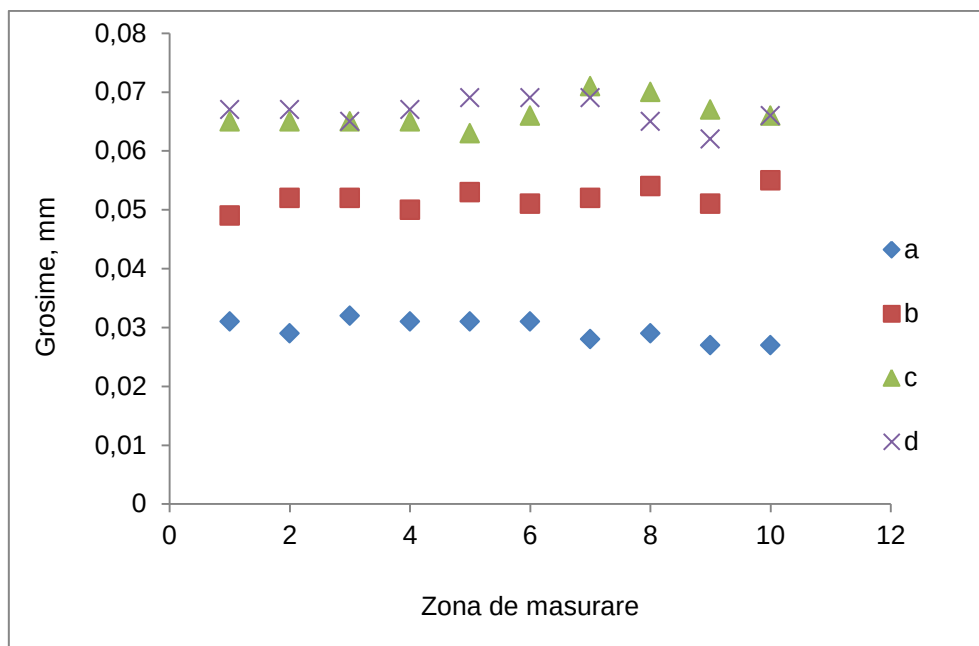


Figura 5.2. Variația grosimii filmului pe baza de proteine de Novac în funcție de locația de măsurare (pH 2,7).

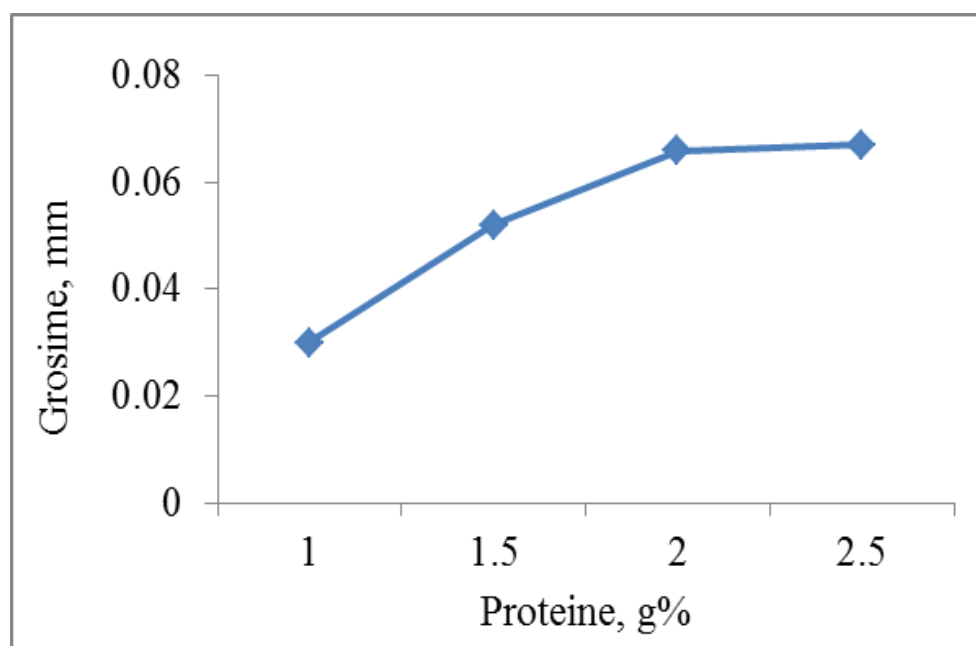


Figura 5.3. Influența concentrației de proteine asupra grosimii filmului (pH 2,7)

În cazul folosirii nivelurilor diferite de glicerol, grosimea medie a celor 8 filme în funcție de zonele de măsurare a variat în limitele 0,061-0,078 mm (figura 5.4). Grosimea medie cea mai mare a fost găsită la filmele preparate cu un adaos de 70 g glicerină/100 g proteine ($0,075 \pm 0,002$) mm. La un nivel de 2% proteină nu au existat diferențe în grosime în funcție de nivelul de glicerol, atunci când acesta s-a situat în limitele 30-50% în raport cu proteina (figura 5.5).

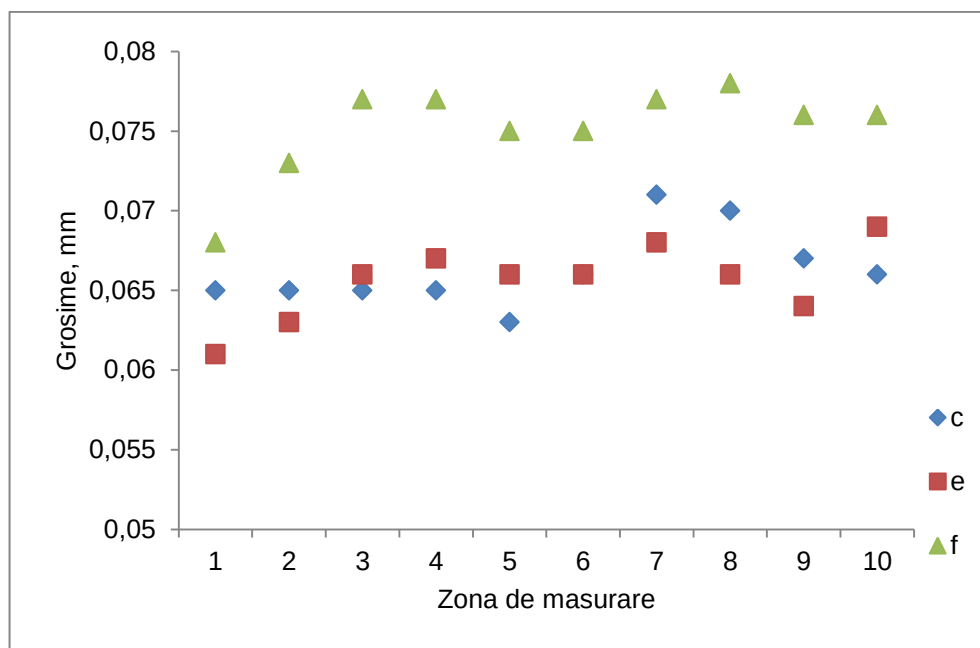


Figura 5.4. Grosimea filmelor în funcție de adaosul de glicerină și de zona de masurare (pH 2,7)

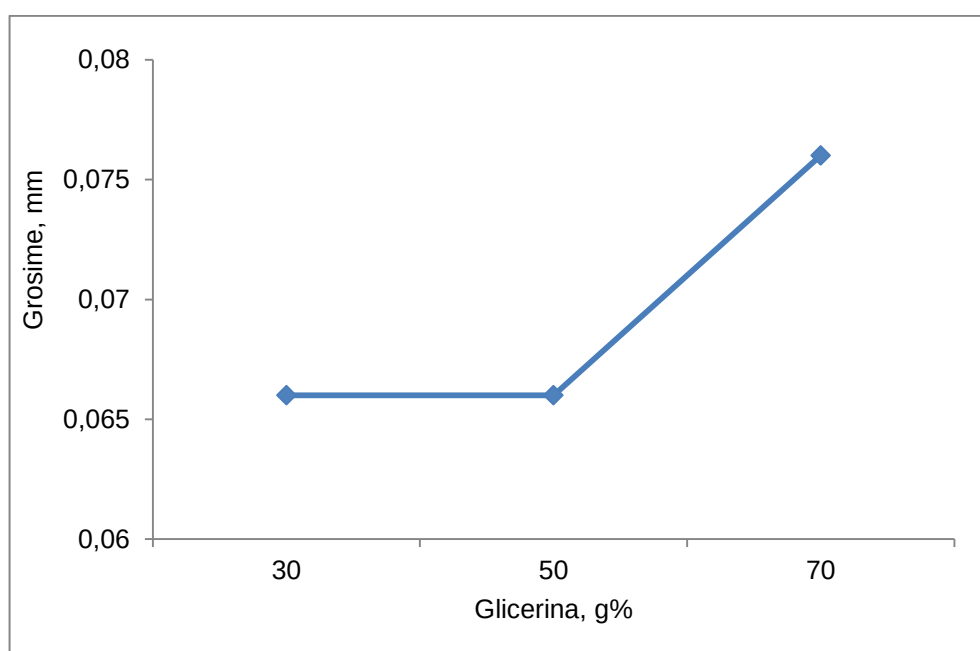


Figura 5.5. Variația grosimii filmului în funcție de nivelul de glicerină (pH 2,7)

În cazul soluțiilor formatoare de film cu pH 10,8 au fost obținute filme cu grosimi relativ mai mari în comparație cu filmele rezultate din soluții peliculogene de aceeași compoziție dar cu pH 2,7 (tabelul 5.3). Diferențele de grosime le punem pe seama creșterii capacităților de reținere a apei și de umflare ale proteinelor miofibrilare solubilizate în mediul puternic alcalin. Grosimile medii au variat cu zona de măsurare (figura 5.6 și 5.8), procentul de proteine (figura 5.7) și cu nivelul de glicerină (figura 5.9). Grosimea medie a filmelor de pH 10,8 s-au corelat puternic pozitiv cu concentrația proteinelor miofibrilare din SFF, coeficientul liniar de corelație fiind de

0,937. O corelație ușor mai redusă a fost constatată între grosimea medie a filmelor și nivelul de glicerină ($r = 0,891$).

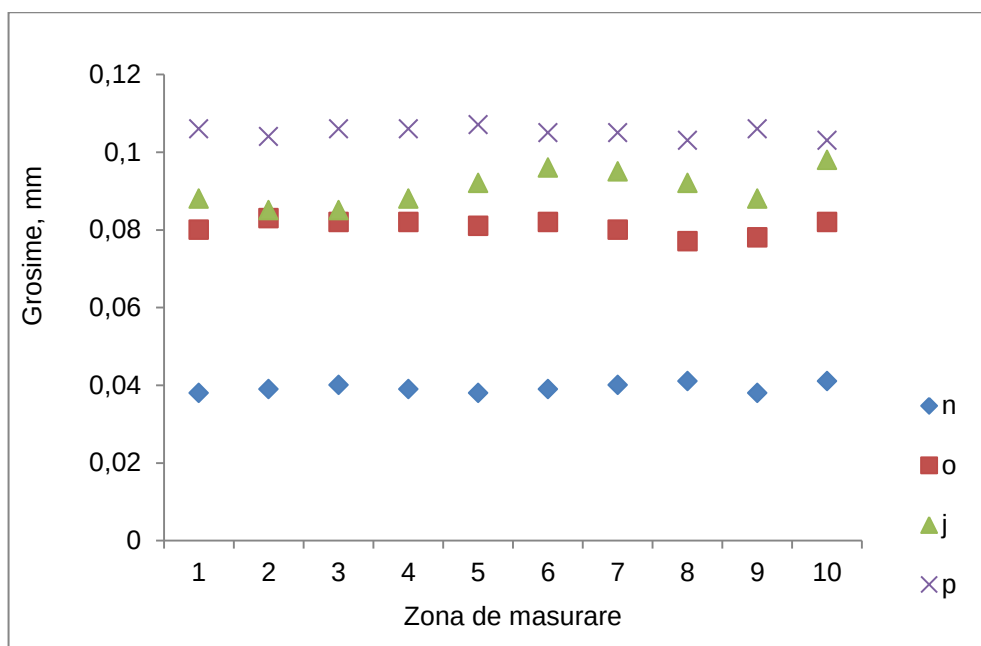


Figura 5.6. Variația grosimii filmului pe baza de proteine din novac în funcție de locația de măsurare și de concentrația de proteine (pH 10.8)

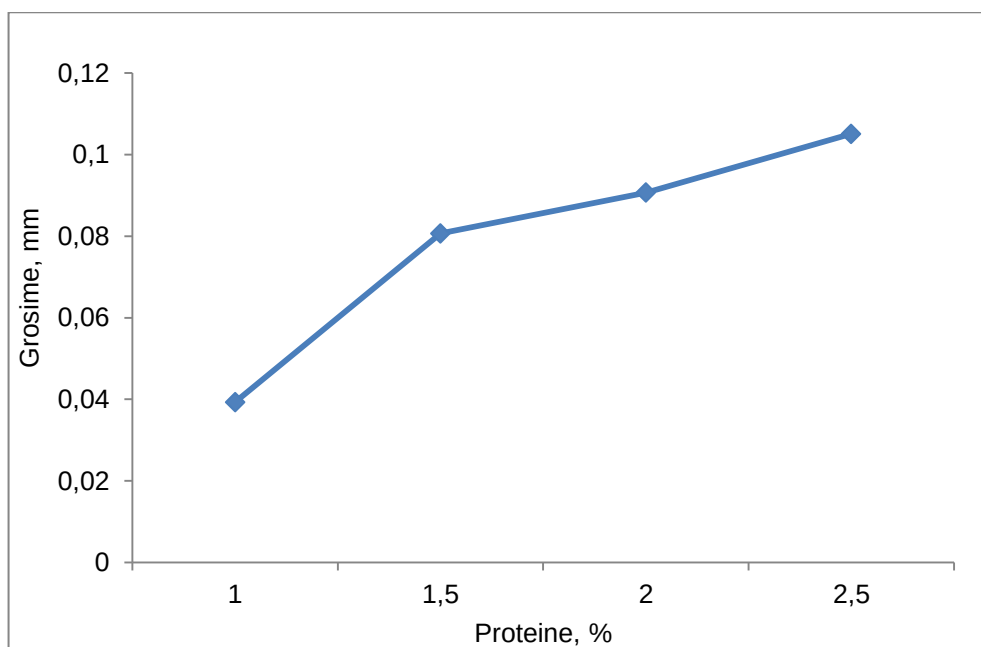


Figura 5.7. Influența concentrației de proteine asupra grosimii filmului (pH 10.8)

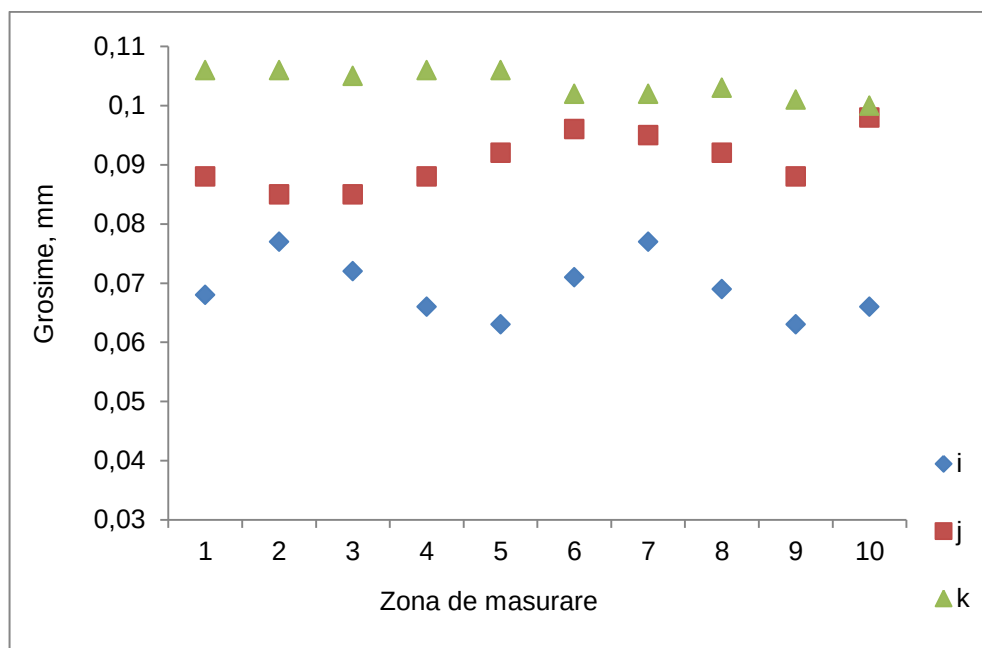


Figura 5.8. Grosimea filmelor în funcție de adaosul de glicerină și de zona de masurare (pH 10.8)

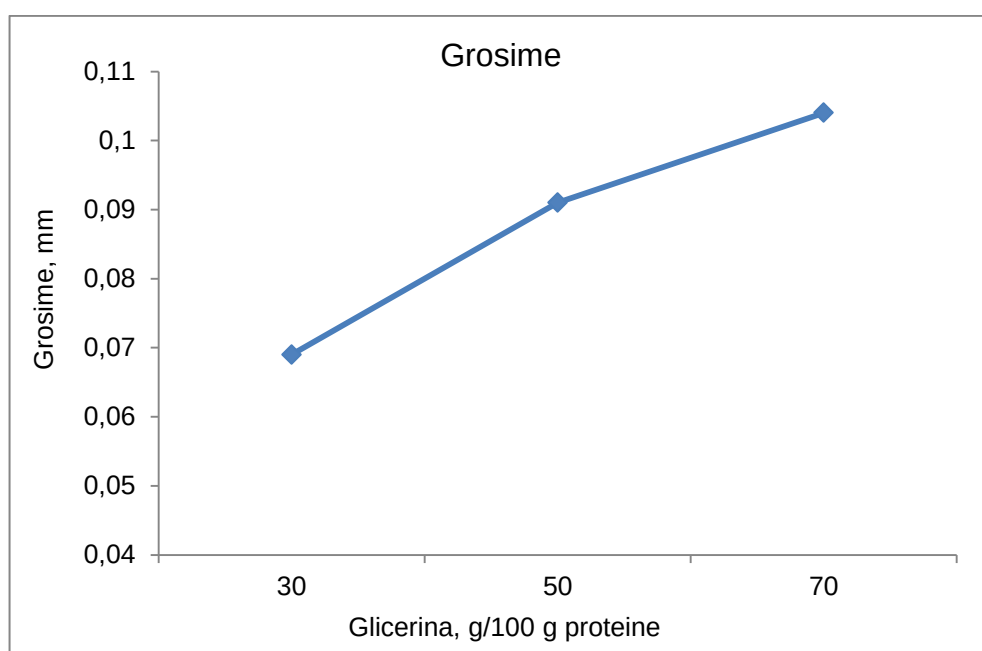


Figura 5.9. Variația grosimii filmului în funcție de nivelul de glicerină (pH 10.8)

În cazul filmelor compozite, valorile medii ale grosimilor filmelor au fost condiționate de zona de măsurare, compoziția soluțiilor formatoare de film și de pH-ul mediului. Filmele cu adaos de ciclodextrine au prezentat grosimi mai mari, îndeosebi cele obținute în mediul alcalin, în comparație cu filmele cu gelatină (figura 5.10).

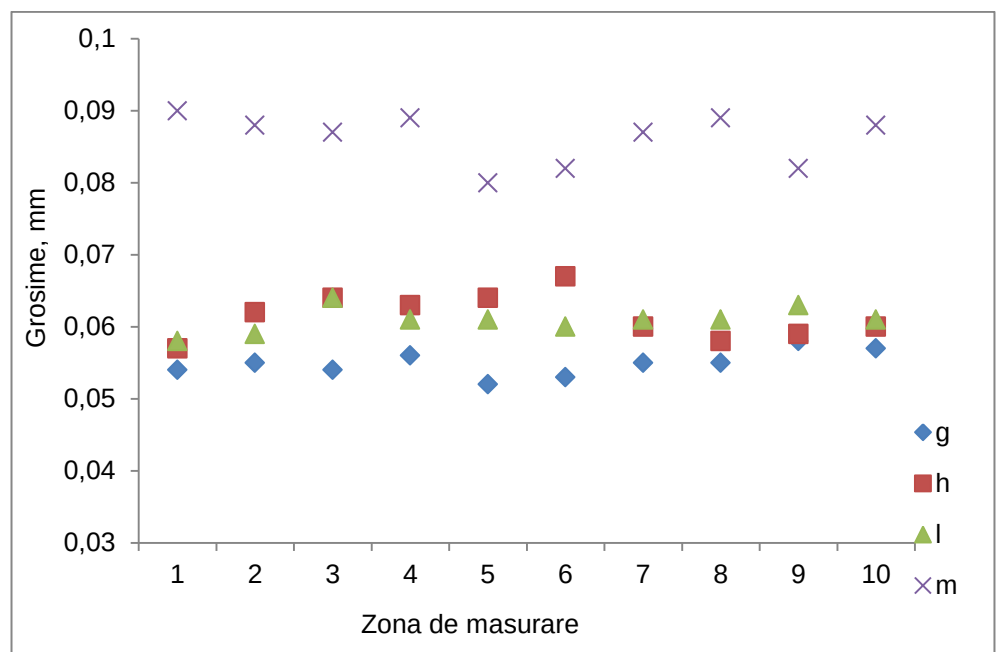


Figura 5.10. Grosimea filmelor pe bază de gelatină și cic odextrină în funcție de punctul de măsurare (pH 2,7 și 10,8)

Rezultate noastre privind grosimea filmelor cu 1% proteină au fost similare cu celor raportate de Tongnuanchan și colab., (2011) pentru filme bazate pe izolat proteic din mușchii roșii de Tilapia, care au găsit grosimi variind între 0,034-0,036 mm. Potrivit lui Garcia și colab., (2005) și lui Sobral și colab., (2005), concentrațiile mai mari de proteine și glicerină utilizate în formulările de filme, induc o creștere a solidului în matricea polimerică formată după uscarea soluției peliculogene și prin urmare, crește grosimea filmelor. Da Rocha și colab., (2013) au obținut filme bazate pe izolat proteic de anșoa de Argentină (*Engraulis anchoita*) cu grosimi mult mai mari ca ale noastre la nivelul cel mai ridicat de proteine (2,5%; $0,067 \pm 0,015$ mm) de 0,113-0,176 mm la concentrații de proteine cuprinse între 3-4%, pH soluții peliculogene 11,5. Rostamzad ș.a. (2015) au obținut filme comestibile din proteine miofibrilare de crap argintiu (*Hypophthalmichthys molitrix*) cu grosime medie similară cu cea constatată de noi ($0,06 \pm 0,01$ mm, față de $0,066 \pm 0,002$ mm la 2% conținut proteic, 50 g glicerină/100 g proteine și pH 3,0, respectiv 2,7). Sobral și colab., (2005) au obținut filme din proteine musculare de Thai Tilapia (2%) puțin mai groase ($0,078 \pm 0,004$ mm), dar la un adaos de 65 g glicerină la 100 g proteine). Nuthong și colab., (2009) au obținut filme pe bază de proteine din plasma porcine (2% protein, 50 g glicerină/100 g proteine) cu grosimea mai mică ($0,046 \pm 0,005$ mm) decât am obținut noi la același conținut proteic și de plastifiant ($0,066 \pm 0,002$ mm). Ca și noi, Nothong și colab., (2009) consideră că grosimea filmului a fost determinată atât de conținutul de glicerină, cât și de cel de proteine.

5.4. Conținutul de apă, solubilitatea în apă și permeabilitatea la vaporii de apă ale filmelor

5.4.1. Conținutul de apă și solubilitatea în apă

Conținuturile de apă și solubilitățile în apă ale filmelor bazate pe proteine miofibrilare de pește (PMP) indicate în tabelul 5.4. au variat în funcție de tipul filmului, în limitele $19,94 \pm 0,09$ și $30,80 \pm 0,09\%$ și respectiv $12,65 \pm 0,08$ și $24,58 \pm 0,06\%$. Cel mai mic conținut de apă a fost găsit

la filmul cu adaos de 1% ciclodextrină (filmul *h*), iar cel mai mare la filmul cu 2,5% proteine miofibrilare de pește (filmul *n*). Solubilitatea în apă cea mai mică a fost constatată în cazul filmului *d*, iar solubilitatea cea mai mare a corespuns filmului cu 2% proteine, pH 2,7 și 30% glicerină/100 g proteine (filmul *e*). Conținutul de apă și solubilitatea filmelor au depins de compozițiile soluțiilor formatoare de filme (SFF) și de pH-ul acestora (figurile 5.11-5.14). Atât în cazul soluțiilor cu pH 2,7, cât și al celor cu pH 10,8 apa reținută de filme și solubilitatea în apă ale filmelor au fost dependente de conținutul de proteine miofibrilare de pește (figurile 5.11.și 5.12.).

Corelațiile dintre acești parametri și nivelurile de proteine au fost diferite în funcție de pH, coeficienții de corelație liniară Pearson înregistrând valori mai bune în cazul filmelor cu pH 10,8. În cazul soluțiilor de pH 2,7 conținutul de apă s-a corelat slab pozitiv cu nivelul de proteine ($r = 0,199$) și negativ cu solubilitatea ($r = -0,465$). Noi am constatat o corelație puternic negativă între solubilitate în apă și conținutul de umiditate ale filmelor ($r = -0,959$). Prin creșterea conținutului de proteine se formează rețele polimerice mai dense și mai rezistente la apă. Este posibil ca la pH puternic acid proteinele miofibrilare de pește să sufere unele modificări structurale care să influențeze parametri fizici ai filmelor.

Tabelul 5.4. Conținutul de apă, solubilitatea și permeabilitatea la vaporii de apă ale filmelor

Tipul filmului	Conținut de apă, g%	Solubilitate, g%	Permeabilitate X $10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$
a	29,31±0,08	19,35±0,03	0,41±0,007
b	26,11±0,08	18,23±0,1	0,71±0,050
c	25,81±0,07	16,55±0,05	0,81±0,003
d	30,63±0,09	12,65±0,08	0,89±0,020
e	27,72±0,05	17,21±0,06	0,72±0,003
f	28,76±0,06	17,88±0,06	0,96±0,003
g	29,09±0,1	21,32±0,03	0,43±0,013
h	19,94±0,09	22,51±0,05	0,46±0,003
i	27,49±0,08	17,89±0,05	4,60±0,010
j	28,37±0,03	17,58±0,05	1,04±0,003
k	28,79±0,05	18,75±0,06	1,26±0,003
l	23,26±0,04	24,58±0,06	0,86±0,013
m	22,71±0,07	23,49±0,03	0,96±0,003
n	30,8±0,09	21,6±0,08	0,65±0,006
o	27,83±0,07	19,08±0,03	0,75±0,003
p	28,89±0,06	14,62±0,03	1,51±0,003

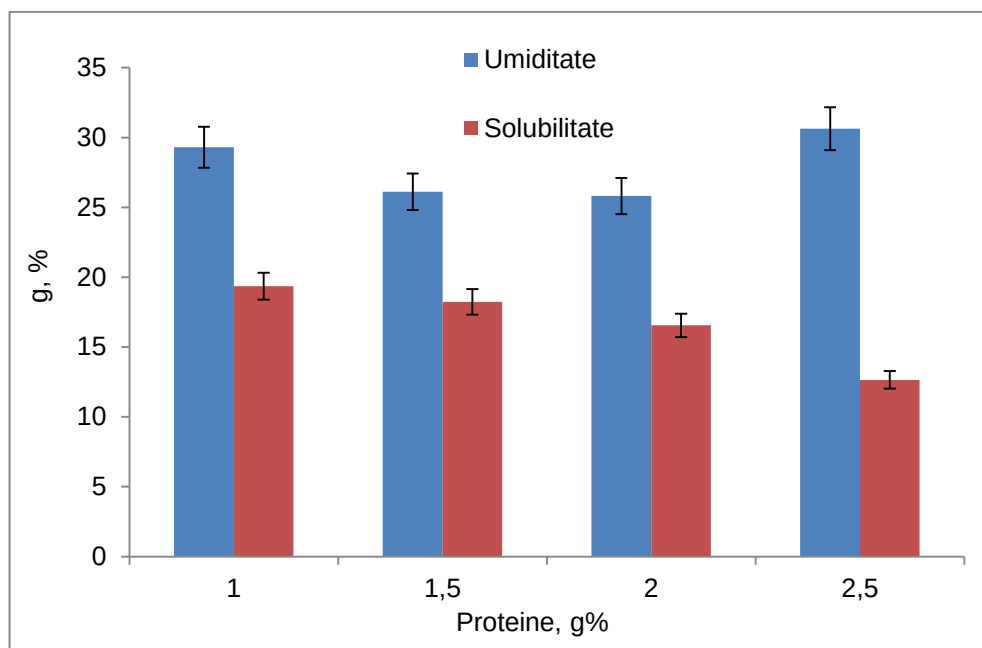


Figura 5.11. Variația conținutului de apă și a solubilității în funcție de conținutul de proteine al soluției formatoare de film cu pH 2,7

În cazul mediului alcalin (pH 10,8) conținutul de apă al filmelor s-a corelat negativ cu nivelul de proteine miofibrilare de pește ($r = -0,518$) și pozitiv cu solubilitatea în apă a filmelor ($r = 0,519$), existând o puternică corelație negativă între solubilitate și umiditatea filmelor ($r = -0,993$).

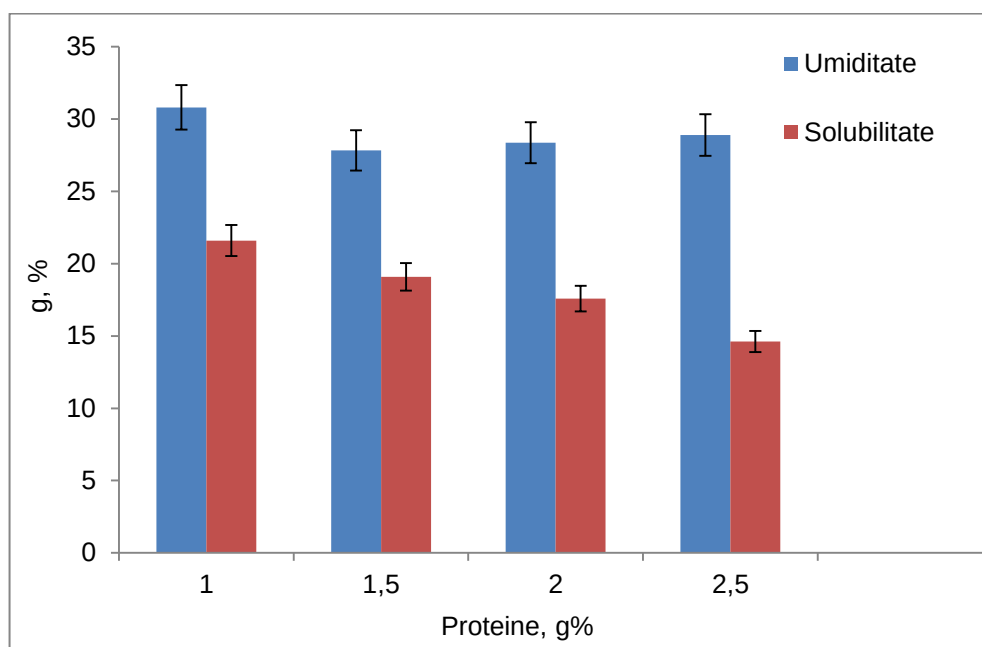


Figura 5.12. Variația conținutului de apă și a solubilității în funcție de conținutul de proteine al soluției formatoare de film cu pH 10,8

Valorile obținute pentru conținutul de umiditate (CA) și solubilitatea în apă (SA), în funcție de nivelul de glicerină și de pH sunt prezentate grafic în figurile 5.13. și 5.14.. Pentru ambele valori

de pH o creștere a conținutului de glicerină de la 30 la 70% (g/100 g proteine) a determinat o creștere semnificativă a conținutului de umiditate și a cantității de substanță uscată solubilizată, îndeosebi la adaosuri de glicerină >50%. Creșterea observată poate fi atribuită naturii higroscopice a glicerinei care atrage și reține moleculele de apă. Toate filmele studiate și-au menținut integritatea după 24 de ore de imersie în apă. Insolubilitatea parțială a acestor filme poate fi atribuită legăturilor puternice între moleculele proteice în matricea de filme (legături disulfurice formate la tratamentul termic aplicat soluției formatoare de film), doar moleculele cu masă moleculară mică, peptide, monomeri și substanțe nonproteice fiind solubile în apă (Yoshida și Antunes, 2004).

În mediu puternic acid (pH 2,7) adaosul de glicerină s-a corelat puternic pozitiv cu conținutul de umiditate al filmelor ($r = 0,979$) și cu solubilitatea filmelor în apă ($r = 0,709$), în comparație cu mediul puternic alcalin unde au fost înregistrate corelații mai slabe ($r = 0,347$ și respectiv 0,504) între nivelul de glicerină, conținutul de umiditate și solubilitatea în apă.

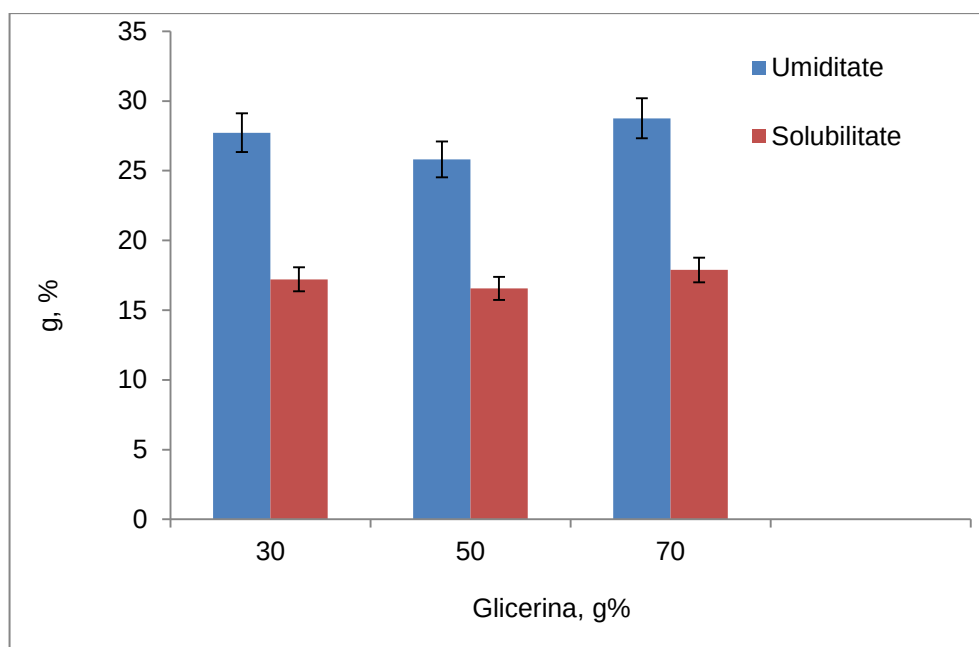


Figura 5.13.. Variația conținutului de apă și a solubilității în funcție de nivelul de glicerină (pH 2,7)

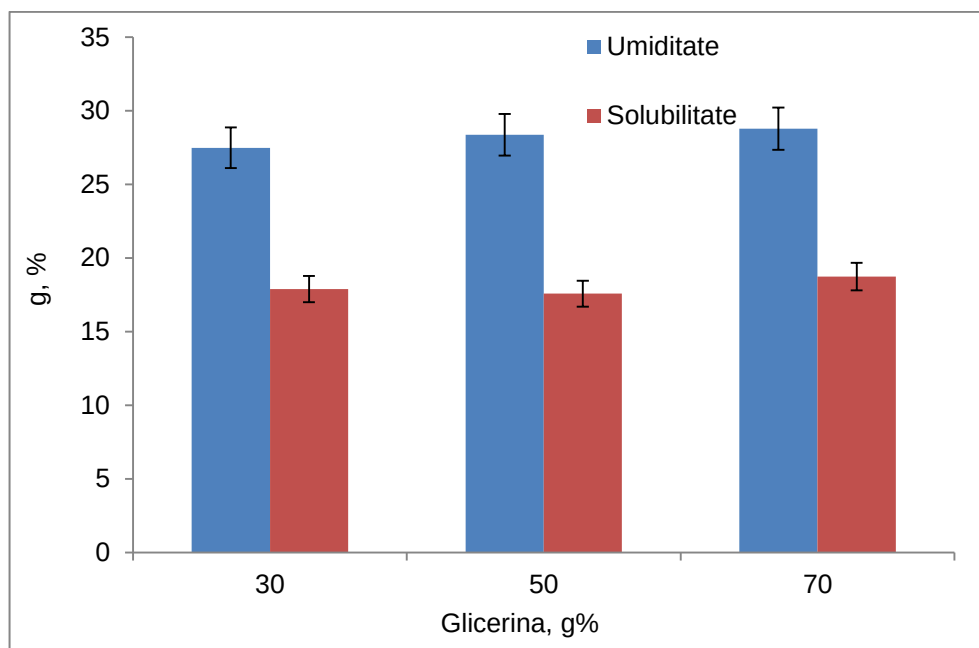


Figura 5.14. Variația conținutului de apă și a solubilității în funcție de nivelul de glicerină (pH 10,8)

În literatura de specialitate există puține date privind conținutul de apă al filmelor comestibile/biodegradabile bazate pe proteine, ele se referă îndeosebi la filmele constituite din proteine vegetale. Astfel, Kowalczyk și Baraniak (2011) au raportat conținuturi de apă de 18% pentru filmele bazate pe proteine de mazăre; Zahedi și colab., (2011) de 34,0-37,0% pentru filmele obținute din globuline *pistachio* și Montalvo-Paquini și colab., (2013) de 29,65-30,45% pentru filmele din proteine de *faba bean*. Conținuturile de apă ale filmelor realizate de noi pe bază de proteine miofibrilare de pește au fost similare sau mai mici decât cele raportate de alți cercetători.

Solubilitate în apă (SA) este considerată ca fiind un indicator al rezistenței filmelor comestibile/biodegradabile la apă, care este un factor important pentru preambalarea produselor alimentare din cauza activității apei mari și posibilității de contaminare a acestora în prezență de apă (Bourtoom și Chinnan, 2005). În general, o solubilitate mai mare indică o rezistență mai scăzută la apă. Solubilitatea în apă a filmelor, realizate de noi, a fost similară raportărilor altor cercetători sau mai mică. Astfel, Wengo și colab., (2007) au raportat pentru filmele pe bază de surimi de pollack de Alaska o solubilitate în apă de 21%; Rostamzad și colab., (2015) de 19,1% pentru filmele realizate din proteine miofibrilare de crap argintiu (*Hypophthalmichthys molitrix*); Tao și colab., (2015) pentru filmele constituite din surimi de crap argintiu au constatat o valoare a solubilității de $31,42 \pm 0,89\%$. Valori mai mari ale solubilității filmelor în apă ($> 40\%$) au fost găsite de Artharn și colab., (2007) pentru filmele din proteine musculare de round scad (*Decapterus maruadsi*), posibil datorită îndepărtării necorespunzătoare a proteinelor sarcoplasmice, proteinele miofibrilare solubile în soluții saline fiind în cantitate mai mică au încastrat în rețeaua proteică formată mai slab apa și glicerolul. Noi considerăm ca și Orliac și colab., (2002) și Artharn și colab., (2007) că proteinele din film legate *cross* au fost insolubile, pe când cea mai mare parte din glicerol a fost eliberată în apă. Filmele bazate pe proteine miofibrilare din pește au fost stabilizate prin diferite legături,

care includ în principal legături covalente disulfitice intermoleculare care determină o solubilitate mai scăzută (Chinabark și colab., 2007).

Solubilitatea în apă mai scăzută în cazul filmelor realizate în mediu puternic acid poate fi justificată prin faptul că la $\text{pH} < 3,0$ degradarea proteinelor este mai accentuată și reacțiile Maillard sunt favorizate, ceea ce ar conduce la formarea unor legături cross puternice, stabilizate de legături covalente. Referitor la influența nivelului de glicerol adăugat în soluțiile formatoare de film (SFF) noi am constatat că indiferent de pH -ul mediului creșterea nivelului de glicerol crește solubilitatea în apă a filmelor. Rezultatele noastre sunt în concordanță cu cele raportate de Cuq și colab., (1997) care au studiat efectul concentrației de plasticizant asupra proprietăților filmelor din proteine miofibrilare de pește. Ei au constatat o relație liniară între conținutul de substanță uscată solubilă în apă și nivelul de plasticizant hidrofil. Rezultate similare au fost obținute de alți cercetători pentru filmele bogate în glutenină (HernandezMunoz, și colab., 2004; Artharn și colab., 2007; Cao și colab., 2008; Limpan și colab., 2010). Nemet și colab., (2010) au raportat valori pentru solubilitatea filmelor, bazate pe proteine miofibrilare din mușchii pieptului de pui (2% proteine), mult mai mici decât cele obținute de noi și de alți cercetători care au variat în limitele 3,41-9,99% pentru un nivel de glicerol cuprins între 35-65% ($\text{pH} 3$) și 5,79-12,89% pentru același adaos de glicerol, dar la $\text{pH} 11$. Da Rocha ș.a. (2013) au obținut filme din proteine de anșoa (*Eugraulis anchois*) de Argentina cu solubilități în apă variind de la 27,3% la 50,1% în cazul filmelor cu 3% izolat proteic de anșoa (IPA), 30 g glicerol/100 g proteine, tratate termic la 74°C și 4% IPA, 40 g glicerol/100 g proteine, tratate termic la 90°C . Rezultate similare au fost găsite pentru filmele bazate pe izolat proteic muscular de Tilapia de Tengnuanachan și colab., (2011), care au obținut solubilități care au variat de la 21,4% la 56,0%. De remarcat este faptul că izolatul proteic de pește folosit a fost obținut prin procedeul alcalin ($\text{pH} 11,0$), care presupune recuperarea alături de proteinele miofibrilare a unei cantități de proteine sarcoplasmice solubile în apă.

În concluzie, putem aprecia că proteinele miofibrilare de Novac, obținute prin procedeu surimi, au condus la formarea unor rețele stabile și că numai substanțele cu masă moleculară mică hidrofile au fost solubile în apă. La același conținut de glicerol, majoritatea filmelor preparate la $\text{pH} 2,7$ a avut o valoare mai mică a solubilității în apă în comparație cu cele preparate la $\text{pH} 10,8$ ($p < 0,05$). Acest rezultat sugerează că filmele obținute prin solubilizarea alcalină a proteinelor miofibrilare au avut un nivel mai scăzut de reticulare, legăturile proteină-proteină fiind mai slabe, posibil asociate cu scurtarea lungimii lanțului proteic, ceea ce a dus la o solubilitate în apă mai mare.

5.4.2. Permeabilitatea la vapori de apă

Permeabilitate la vapori de apă (PVA) este o altă proprietate importantă și larg studiată a filmelor flexibile biodegradabile/comestibile. Această proprietate a filmelor de protecție se referă la capacitatea lor de a păstra, după caz, un produs uscat (chips-uri, covrigi, bomboane) sau umed (brânză, briose, gumă de mestecat). Fără ambalaje de protecție corespunzătoare produsele pot pierde sau câștiga umezeală până la realizarea echilibrului relativ cu umiditatea mediului, cu modificarea consistenței și stabilității produselor.

Valorile permeabilității la vapori de apă pentru filmele bazate pe proteine musculare din pește înscrise în tabelul 5.1. arată dependența acestor valori de diverși factori, precum, compoziția soluțiilor formatoare de film, concentrația proteinelor miofibrilare de pește, nivelul de glicerol adăugat și de pH -ul soluției formatoare de film. Valorile medii ale permeabilității au variat în limitele 0,41 și $1,51 \cdot 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$. Permeabilitatea cea mai mică ($0,41 \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1}$

Pa^{-1}) a fost găsită la filmul cu 1% proteine, 30 g glicerină/100 g proteine și pH 2,7 (*filmul a*), iar permeabilitatea cea mai mare ($1,51 \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) la filmul cu concentrație de 2,5% proteine, cu adaos de 50 g glicerină/100 g proteine și pH 10,8 (*filmul p*). Variațiile permeabilității filmelor testate de noi în timp sunt reprezentate grafic în figurile 5.15 și 5.16. Valorile relativ ridicate ale PVA indică faptul că filmele bazate pe proteine musculare de pește (Novac) sunt bariere slabe pentru vaporii de apă, datorită naturii hidrofilă/hidrofobă a polimerului din matricea filmului. Așa după cum se poate observa din figura 5.16., valorile permeabilității filmelor au variat cu concentrația de proteină, cele mai mari valori ale PVA corespund nivelului de 2,5% proteine, atât pentru mediul acid (pH 2,7), cât și bazic (pH 10,8). Această constatare poate fi explicată prin faptul că proteinele miofibrilare de pește conțin niveluri importante de aminoacizi cu caracter polar, precum acidul aspartic, acidul glutamic, arginina și lizina (Shahidi, 1994; Paschoalick și colab., 2003; Tongnuanchan și colab., 2011).

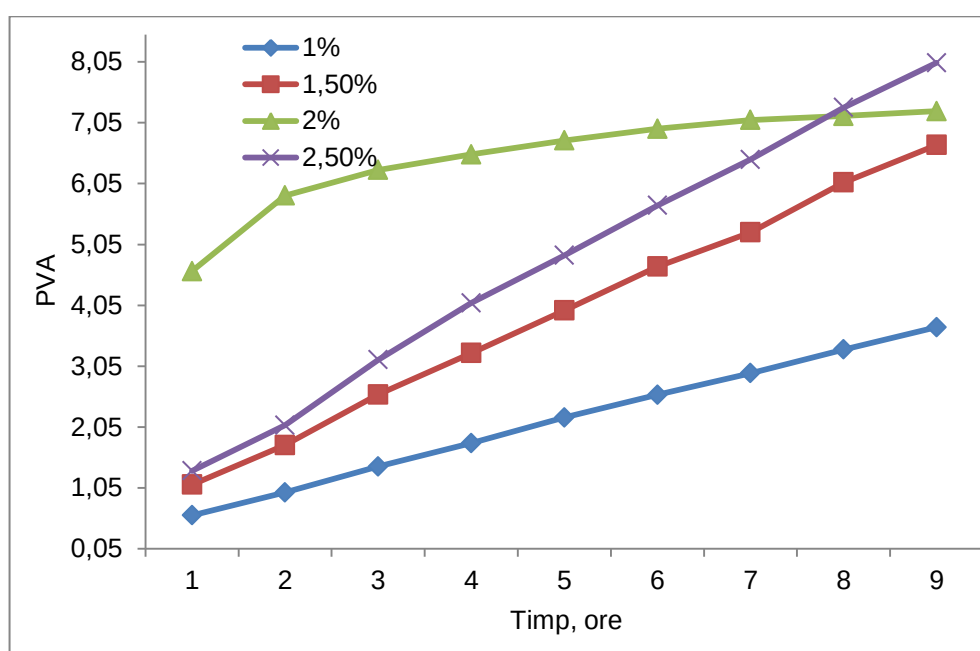


Figura 5.15. Variația permeabilității la vaporii de apă a filmelor
în funcție de timp și nivel de proteine (pH 2,8)

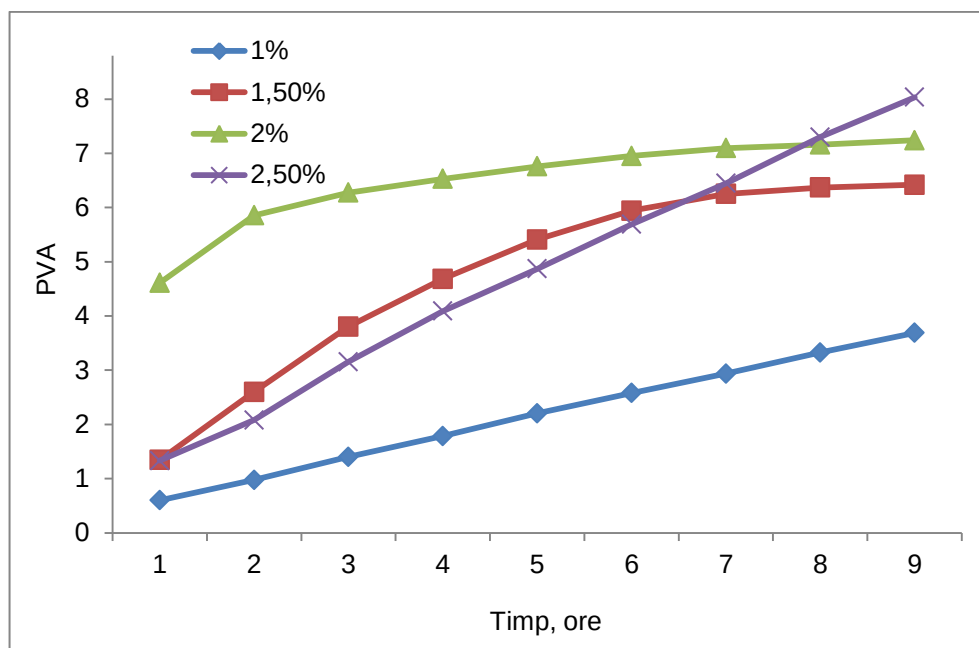


Figura 5.16. Variația permeabilității la vapori de apă a filmelor în funcție de timp și nivel de proteine (pH 10,8)

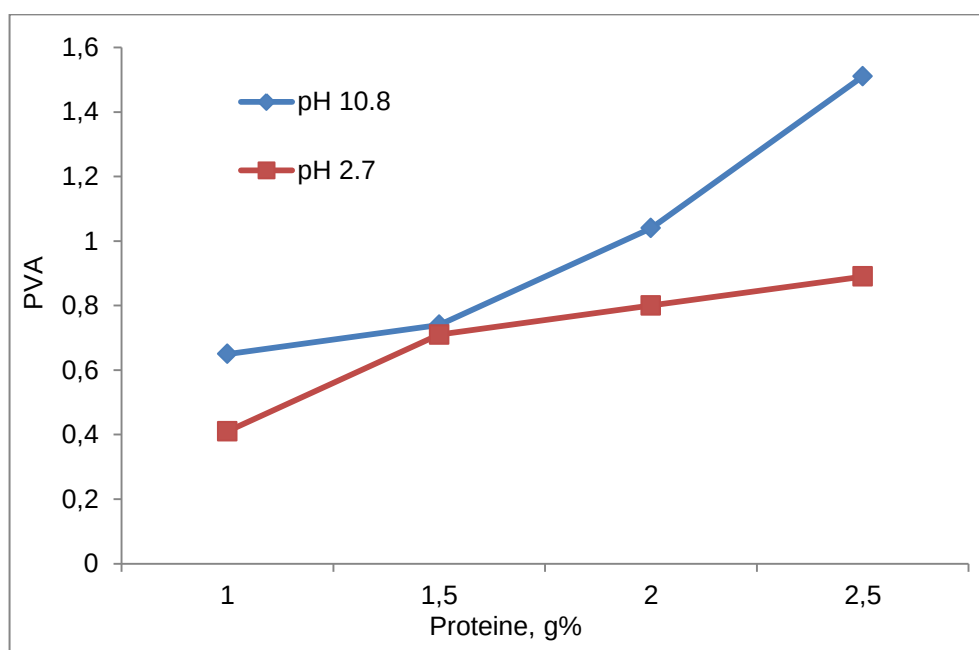


Figura 5.17. Permeabilitatea la vapori de apă a filmelor în funcție de nivelul de proteine miofibrilare din soluțiile formatoare de filme cu pH 2,7 și 10,8

De remarcat este faptul că filmele obținute în mediul puternic alcalin au proprietățile de barieră la vaporii de apă mai slabe decât filmele realizate în mediul puternic acid.

De asemenea, proprietățile de barieră la vaporii de apă ale filmelor testate au fost influențate de nivelul plastifiantului încorporat. Agentul plastifiant utilizat de noi a fost glicerolul, un poliol hidrofili. Acțiunea glicerolului este atribuită ușurinței cu care se inseră între lanțurile polipeptidice datorită masei moleculare mici (92 g). Nivelurile cuprinse între 30-70 g

glicerină/100 g proteine a influențat în mai mică măsură valorile PVA ale filmelor obținute din soluții cu pH 2,7, decât cele obținute în mediul puternic alcalin (pH 10,8) (figura 5,17.). Adaosurile de 30 sau 50 g glicerină/100 g proteine au determinat creșteri nesemnificative pentru valorile PVA ale filmelor realizate în mediu puternic acid; creșterile fiind mai mari la un adaos de 70 g glicerina/100g proteine pentru ambele valori de pH. Glicerina reduce interacțiunile proteină-proteină și formează legături de hidrogen cu grupările amino libere ale proteinelor, ceea ce conduce la structuri proteice mai puțin dense. Cuq și colab., (1997) au raportat că prin creșterea nivelului de plastifiant se formează rețele proteice mai puțin dense ca urmare a modificării organizării moleculare tridimensionale, reducerii forțelor de atracție dintre moleculele de proteine, creșterii volumului liber și mobilității lanțurilor proteice, cu consecințe asupra permeabilității la vaporii de apă. De aceea, adăugarea glicerolului trebuie să se facă la nivel optim. Cuq și colab., (1997) au sugerat că PVA și conținutul de apă ale filmului cresc cu creșterea nivelului de glicerol adăugat, datorită numărului mai mare de grupări polare ale glicerolului.

Filmele proteice fără plasticizant sunt adesea fragile și rigide, datorită interacțiunilor extensive dintre moleculele de polimer (Krochta, 2002). Adăugarea plasticizantului afectează nu numai flexibilitatea și alte proprietăți ale filmelor, dar și rezistența filmului la permeabilitatea vaporilor de apă și gazelor (Sothornvit și Krochta, 2000 și 2001).

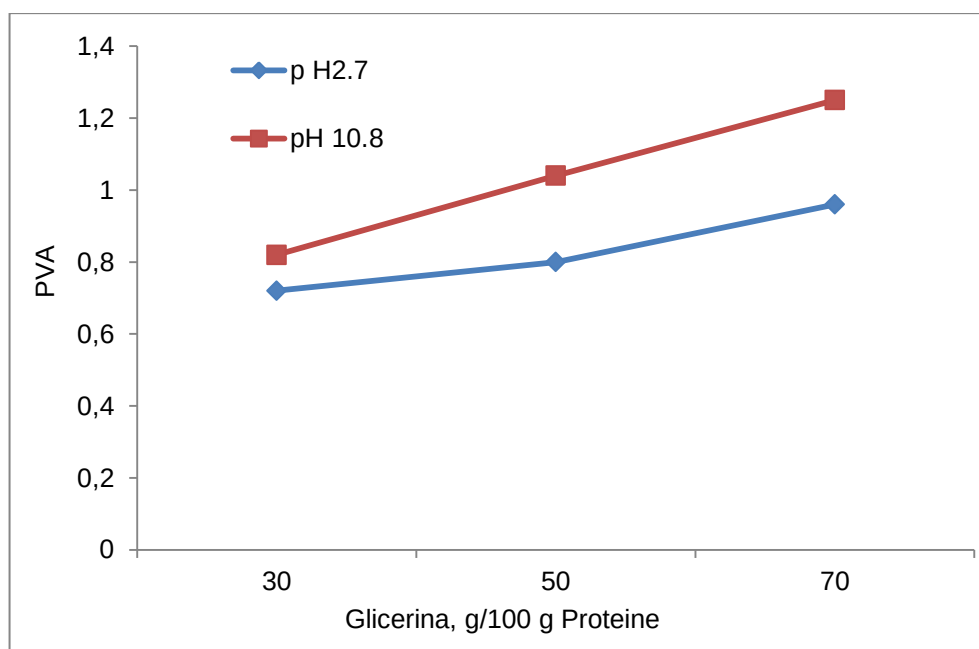


Figura 5.18. Permeabilitatea la vaporii de apă a filmelor în funcție de adaosul de glicerina din soluțiile formatoare de filme cu pH 2,7 și 10,8

Variația în timp a transferului de vaporii de apă prin filmele compozite este prezentată în figura 5.19, de unde se poate observa rezistența mai mare la vaporii de apă a filmelor cu adaos de gelatină indiferent de pH-ul soluției formatoare de film (*filmele g și h*) în comparație cu filmele cu adaos de ciclodextrină (*filmele l și m*). Valorile medii ale permeabilității filmelor pe bază de proteine miofibrilare de pește și gelatină au fost de 0,43 (pH 2,7) și $0,46 \cdot 10^{-10} \text{ m}^{-1}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ (pH 10,8) și aproape duble în cazul filmelor cu adaos de ciclodextrină ($0,86 \cdot 10^{-10}$ și respectiv $0,96 \cdot 10^{-10} \cdot \text{m}^{-1}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$).

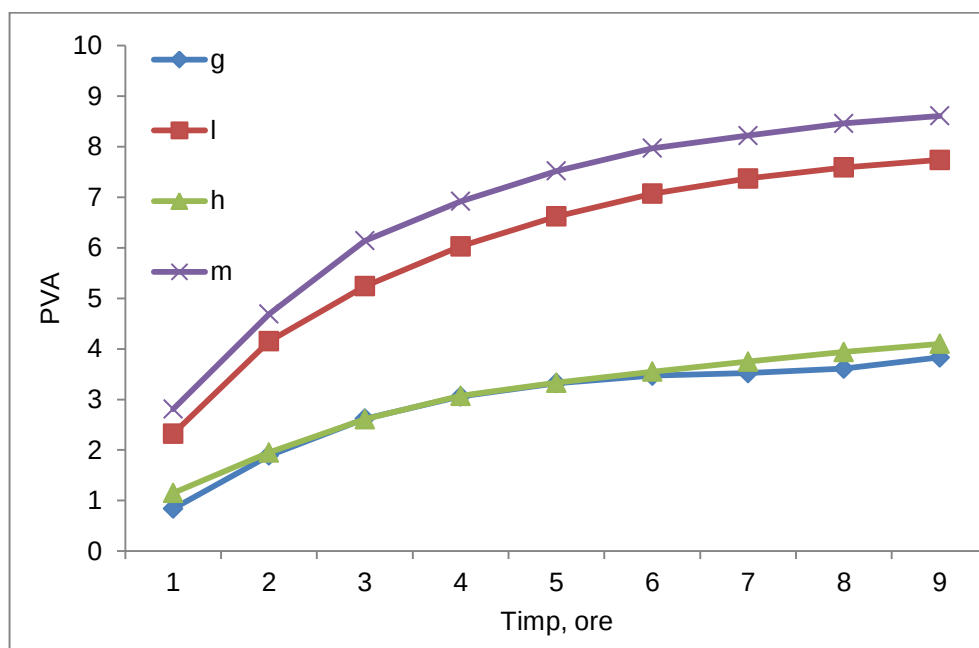


Figura 5.19. Permeabilitatea filmelor compozite în funcție de timp și pH.

Creșteri ale permeabilității filmelor în funcție de nivelul de glicerol au fost constatate și de Nuthong ș.a. (2009) pentru filmele bazate pe plasmă porcină (3%), de McHugh, ș.a. (1994) în cazul filmelor realizate din izolat proteic de zer, Nemet ș.a. (2010) pentru filmele obținute din proteine miofibrilare din piept de pasăre, care au găsit valori ale permeabilității filmelor cu mult mai reduse decât cele obținute de noi ($0,21-0,29 \cdot 10^{-6} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$; concentrație proteine miofibrilare 2%, pH 3,0, glicerină 25-65 g/100 g proteine). Vanin ș.a. (2005) nu au găsit diferențe privind valorile PVA la filmele bazate pe gelatină atunci când nivelurile de glicerină adăugate la soluțiile peliculogene au variat între 10-30 g/100 g proteine.

Valorile permeabilității la vapori de apă ale filmelor bazate pe proteine miofibrilare izolate din mușchii de *bigeye snapper* și *blue marlin* obținute în mediul acid și alcalin au fost similare (Chinnabark și colab., 2007; Hamaguchi și colab., 2007), spre deosebire Shiku și colab., (2003) și de Lipman și colab., (2010) care au găsit valori ale PVA ușor mai crescute la pH 11. Noi am constatat ca și autorii menționați anterior că pH-ul SFF are un anumit impact asupra valorilor permeabilității filmelor bazate pe proteine miofibrilare de pește, acest fapt sugerând că proteinele miofibrilare în mediul puternic alcalin sunt mai încărcate electric, în comparație cu mediul puternic acid.

În condițiile noastre experimentale, grosimea filmelor a fost relevantă pentru PVA, în sensul creșterii PVA pentru filmele cu grosime mai mare. Creșterea permeabilității cu creșterea grosimii a fost raportată și de Sobral (1999). Coeficientul liniar de corelație Pearson între grosimea filmelor și permeabilitatea la vapori de apă constatat de noi a fost de 0,827 ceea ce confirmă precizările lui Park și Chinnam (1995), potrivit cărora filmele proteice hidrofiele manifestă relații pozitive între grosime și permeabilitate, datorită interacțiunii apei cu matricea polimerică care apare ca urmare a schimbărilor structurale cauzate de expansiunea matricei hidrofiele care determină tensiuni interne care influențează permeabilitatea. Soluțiile formatoare de film ajustate la diferite valori de pH afectează semnificativ grosimea și conținutul de apă ale filmului și deci și permeabilitatea.

Rezultatele, înscrise în tabelul 5.4., indică faptul că PVA a filmelor proteice comestibile obținute de noi sunt cu mult mai mari decât valorile PVA ale filmelor din material plastic [LDPE (polietilenă de joasă densitate) $0,002 \cdot 10^{-10}$; polietilenă de înaltă densitate $0,008 \cdot 10^{-10}$; polipropilenă orientată $0,038 \cdot 10^{-10}$; poliester $0,198 \cdot 10^{-10}$; clorură de poliviniliden $0,002 \cdot 10^{-10} \text{ g}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$] (Krochta, ș.a., 1997; Fairley ș.a., 1997; Shiku, ș.a., 2003; Garcíá și Sobral, 2005).

Valorile medii ale PVA bazate pe proteine miofibrilare de Novac au fost similare sau relativ mai mici în comparație cele obținute de Lipman și colab., 2010 ($0,995 \cdot 10^{-10}$ pentru filme obținute din proteine miofibrilare specia biegaeye sanpper (*Priacanthus tayenus*); Kaewpracho și colab., (2016) ($2,81 \cdot 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$, soluții formatoare de filme cu 1% proteine miofibrilare de pește), Cuq, ș.a. (1995) de $0,63 \cdot 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ (proteine miofibrilare de pește), Tanaka și colab., (2001) $1,187 \cdot 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ în cazul filmelor bazate pe proteine de pește solubile în apă (*marlin blue*, *Makaira mazara*) în concentrație de 3%, pH 10 și un nivel de glicerină de 50 g/100 g proteine și Rostamzad (2015) de $2,95 \cdot 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ pentru proteine musculare din crap argintiu. Permeabilitatea filmelor pe bază de proteine miofibrilare de pește (Novac) a fost mult mai mică în comparație cu filmele obținute din proteine de soia ($1,7 \cdot 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$; Ghorpade și colab., 1995), gluten de grâu ($4,3 \cdot 10^{-9} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$; Gontard și colab., 1994), zeină de porumb ($1,0 \cdot 10^{-7} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$; Lai și colab., 1998).

5.5. Culoarea filmelor

Culoarea este o caracteristică importantă a filmelor comestibile/biodegradabile datorită faptului ca ea afectează acceptabilitatea consumatorului în potențialele aplicații alimentare. Culoarea filmelor în cadrul studiului nostru a fost apreciată prin determinarea parametrilor de culoare L^* [(strălucirea, luminozitatea, alb/negru; 100/0)], a^* [roșiatică (+60)/verde (-60)], b^* [galben (+60)/albastru (-60) și ΔE] ai filmelor alimentare care au fost preparate atât în condiții acide, cât și alcaline.

Parametri de culoare sunt înscrși în tabelul 1. Valorile negative ale lui a^* indică pentru filmele realizate de noi o nuanță ușor verde, care se accentuează cu creșterea conținutului de proteine din soluția formatoare de film. Pentru parametrul respectiv au fost constatate ușoare diferențe între condițiile acide și alcaline create. Valorile pozitive ale parametrul b^* indică nuanțe galbene pentru filme, intensitatea culorii crescând cu creșterea nivelului de proteină de la 1% la 2,5%, creșterea fiind de 39,4%, în cazul soluțiilor formatoare de film cu pH 2,7. La aceleași concentrații de proteine miofibrilare de Novac și adaos de glicerină, valorile parametrului b^* au fost relativ mai reduse în cazul pH-ului 10,8, în comparație cu soluțiile de pH 2,7 (tabelul 5.5.). Această constatare se explică prin faptul că în condiții acide se poate induce formarea pigmentilor galbeni, în special pe calea reacțiilor Maillard. Condițiile acide induc degradarea proteinelor miofibrilare care conduce la disponibilizarea grupărilor amino pentru reacțiile de înbrunare în timpul tratamentului termic și în procesul de uscare (Prodpan și Benjakul, 2005, Chinabark și colab., 2007). În ambele condiții de mediu au fost obținute valori ale parametrului L^* apropiate, cea mai mică valoare fiind de $89,95 \pm 0,47$ și cea mai ridicată $93,93 \pm 0,43$. Valorile parametrului L^* au variat cu nivelul de proteină și cu adaosul de glicerină. Filmele au devenit mai puțin strălucitoare prin creșterea concentrației de proteine din soluțiile formatoare de film.

Tabelul 5.5. Parametri de culoare ai filmelor comestibile

Film	L	a*	b*	ΔE
a	93,13 $\pm$ 0,32	-1,22 $\pm$ 0,05	10,19 $\pm$ 0,46	93,69
b	92,95 $\pm$ 0,39	-1,50 $\pm$ 0,10	13,24 $\pm$ 1,54	93,90
c	92,34 $\pm$ 0,34	-1,73 $\pm$ 0,03	15,97 $\pm$ 0,33	93,73
d	89,95 $\pm$ 0,47	-2,05 $\pm$ 0,04	21,85 $\pm$ 1,69	92,49
e	94,01 $\pm$ 0,24	-0,94 $\pm$ 0,05	7,47 $\pm$ 0,39	94,30
f	93,57 $\pm$ 0,29	-1,08 $\pm$ 0,09	8,83 $\pm$ 0,91	93,81
g	93,93 $\pm$ 0,29	-1,03 $\pm$ 0,08	8,59 $\pm$ 0,53	94,33
h	93,66 $\pm$ 0,21	-1,07 $\pm$ 0,06	8,77 $\pm$ 0,49	94,34
i	92,39 $\pm$ 0,56	-1,58 $\pm$ 0,17	11,11 $\pm$ 1,24	93,06
j	92,64 $\pm$ 0,92	-1,61 $\pm$ 0,17	11,83 $\pm$ 1,58	93,4
k	92,26 $\pm$ 0,35	-1,79 $\pm$ 0,07	11,29 $\pm$ 0,54	92,97 $\pm$
l	93,17 $\pm$ 0,31	-1,68 $\pm$ 0,08	9,98 $\pm$ 1,70	93,92
m	92,45 $\pm$ 0,33	-1,87 $\pm$ 0,13	13,78 $\pm$ 0,86	93,47
n	93,32 $\pm$ 0,43	-1,44 $\pm$ 0,24	8,65 $\pm$ 1,16	93,73
o	92,76 $\pm$ 0,20	1,83 $\pm$ 0,09	12,09 $\pm$ 0,17	93,47
p	91,67 $\pm$ 0,83	-1,91 $\pm$ 0,21	13,77 $\pm$ 2,01	92,72

Conform datelor din tabelul 5.5. parametrul L^* și b^* s-au corelat pozitiv cu nivelul de proteine din soluțiile formatoare de film, pe când parametri a^* și diferența de culoare s-au corelat negativ, în toate cazurile coeficienții de regresie liniari au fost mai mari de 0,975. Corelații relativ mai slabe au fost înregistrate între parametri L^* și a^* și între ΔE și a^* .

Tabelul 5.6. Coeficienții de corelație Pearson dintre concentrația de proteine și parametri de culoare și între acestia

Proteine, %	Parametri de culoare			ΔE
	L^*	a^*	b^*	
1,0	92,95	-1,50	13,24	93,90
1,5	92,34	-1,73	15,97	93,73
2,5	89,95	-2,05	21,85	92,49
Coeficient r	0,990	-0,995	0,999	-0,975
		0,972	-0,993	0,997
			-0,993	0,950
				-0,979

Creșterea concentrației de glicerină cauzează reducerea diferenței totale de culoare (ΔE) a filmelor, posibil datorită efectului de diluare, practic într-o manieră independentă de concentrația proteinelor miofibrilare de pește (Sobral și colab.); glicerina fiind o substanță fără culoare.

Valorile parametrului de culoare ΔE au fost similare pentru toate filmele realizate, indiferent de compoziția soluțiilor formatoare de film și de condițiile de mediu. Astfel, valorile lui ΔE au variat în limite restrânse de la 92,49 (2% proteină, 50 g glicerină/100 g proteine, pH 2,7) până la 93,92 (1% proteină, 2% gelatină și 30 g glicerină/100 g proteine, pH 10,8). Acest comportament este în concordanță cu rezultatele lui Paschoalick și colab., (2003) care au observat o reducere

a culorii cu creșterea nivelului de glicerină. Concentrația proteinelor nu afectează decât în mică măsură diferența totală de culoare a filmelor, posibil datorită menținerii constante a concentrației în substanță uscată a soluției de la suprafața filmelor (Sobral și colab., 2005).

Filmele obținute în prezenta lucrare au prezentat, în general, culori comparabile cu filmele produse din proteine musculare de Tilapia de Nile (Paschoalick și colab., 2003), dar au fost mai colorate decât filmele bazate pe proteine miofibrilare de Tilapia de Nile (Sobral și colab., 2000), de albuș de ou (Gennadios și colab., 1996) și de gelatină din piele de porc (Sobral și colab., 1999). Prodpran și colab., (2005) au obținut filme cu următorii parametri de culoare: $L = 86,1 \pm 3$; $a^* = 0,4 \pm 0,1$; $b^* = 39 \pm 0,3$ și $\Delta E = 86,18 \pm 0,98$. Nuthong și colab., (2009) au găsit pentru filmele bazate pe plasmă porcine valori: $L^* = 87,12 \pm 0,33$; $a^* = -2,37 \pm 0,04$; $b^* = 7,47 \pm 0,13$.

5.6. Transmisia luminii și transparența filmelor

Lumina influențează direct gradul de oxidare al lipidelor (Papachriston și colab., 2006). Numeroase studii au arătat că transmiterea luminii prin filmele alimentare determină procese de foto-oxidare mai pronunțate la produsele formulate (Fang și colab., 2002, Shiku și colab., 2002).

Transmisia luminii prin filmele pe bază de proteine miofibrilare de Novac a fost mică la lungimile de undă cuprinse între 200-280 nm și aceste rezultate sugerează ca filmele pot preveni oxidarea lipidelor indusă de lumina ultravioletă într-un sistem alimentar.

Transmisia luminii la lungimi de undă selectate prin diferite filme este arătată în tabelul 3. Toate filmele au exercitat transmisia luminii neglijabilă în lumină ultravioletă (200-280 nm). Aceste rezultate sunt în concordanță cu rezultatele raportate de Shiku și colab., (2003) și Hamaguchi și colab., (2007) care au constatat că filmele proteice sunt considerate a avea proprietăți de barieră pentru lumina ultravioletă foarte bune, datorită concentrației lor ridicate în aminoacizi aromatici care absorb lumina ultravioletă. Filmele bazate pe surimi (Shiku și colab., 2004), filmele din proteine miofibrilare de merlin blue (Shiku și colab., 2003, Hamaguchi și colab., 2007) și filmele din izolat proteic de zer (Gounga și colab., 2008) au excelente proprietăți de barieră pentru lumina ultravioletă. În domeniul vizibil (350-800 nm), transmiterea luminii prin filmele preparate de noi a variat cu lungimea de undă, pH-ul și compoziția soluțiilor formatoare de filme, dar valori mult mai scăzute au fost găsite la filmele preparate la pH 10,8 și la filmele compozite (Tabelul 5.7.). Transparența ca proprietate relevantă a filmelor cu impact direct asupra aspectului produsului preambalat, a prezentat variații dependente de compoziția soluției formatoare de film, dar pH-ul mediului a avut o influență mai pronunțată.

Tabelul 5.7. Transmisia luminii și transparența filmelor

Film	Lungimea de undă, nm													Valorile transparenței*
	200	280	300	350	400	450	500	550	600	650	700	750	800	
a	0	0,24	0,64	50,3	56,0	59,7	66,0	68,8	76,0	78,7	80,4	82,6	83,5	3,88±0,065
b	0	0,33	0,73	57,9	62,1	68,7	73,9	75,1	77,3	79,5	81,9	82,0	82,7	2,71±0,07
c	0	0,42	4,13	55,9	65,0	70,9	72,3	74,2	78,1	78,7	79,2	81,0	82,3	2,54±0,08
d	0	0,43	4,39	50,0	58,0	64,6	71,6	76,1	77,7	78,1	79,4	79,7	80,8	2,11±0,05
e	0	0,39	3,82	5,32	60,9	69,1	72,0	74,9	77,6	79,1	80,1	82,1	84,3	2,68±0,02
f	0	0,50	4,49	58,8	69,7	74,3	75,0	77,4	78,7	79,9	81,5	82,6	83,1	2,87±0,01
g	0	0,30	1,36	63,6	70,2	72,3	73,9	74,3	75,0	75,2	75,6	77,5	77,6	2,59±0,01
h	0	0,45	0,65	46,3	49,1	51,9	54,6	55,2	55,8	56,4	58,4	58,6	59,4	4,41±0,18
i	0	0,45	1,28	49,9	52,3	55,9	58,7	60,5	60,8	61,7	61,9	63,3	65,6	5,41±0,02
j	0	0,63	1,35	46,1	57,2	63,6	66,7	67,5	68,2	69,6	70,7	72,0	72,5	3,31±0,02
k	0	0,47	1,17	55,8	50,8	64,9	65,7	66,3	67,7	70,3	73,0	74,0	74,4	3,50±0,05
l	0	0,62	4,36	40,0	66,8	75,1	78,6	79,5	79,4	81,3	82,1	83,1	84,0	2,19±0,04
m	0	0,40	0,60	46,7	48,6	50,0	52,6	60,7	67,4	70,3	72,3	74,9	75,7	3,13±0,08
n	0	0,36	0,58	44,4	49,9	51,9	53,2	56,4	56,3	56,1	57,0	58,8	69,7	7,56±0,05
o	0	0,56	1,24	38,0	41,9	48,8	62,1	66,9	69,0	68,9	69,3	69,8	71,2	3,57±0,07
p	0	0,85	1,66	52,6	69,1	73,9	79,1	81,0	81,4	82,0	82,6	82,8	83,0	2,91±0,03

5.7. Proprietățile mecanice ale filmelor bazate pe proteine miofibrilare de Novac

Testele privind proprietățile mecanice care sunt frecvent folosite pentru a caracteriza filmele comestibile/biodegradabile sunt rezistența la tracțiune (RT) și elongația la rupere (ER, %). Rezistența la tracțiune este forța maximă per aria secțiunii transversale pe care o opune un film fără să se rupă împotriva unei forțe de întindere aplicate. Elongația la rupere este definită ca gradul în care un film poate fi întins până la rupere (Park și colab., 2004).

Valorile medii ale filmelor pe bază de proteine miofibrilare de pește (Novac) referitoare la RT și procentul de elongație sunt indicate în tabelul 5.8. Aceste valori au variat în funcție de compoziția soluțiilor formatoare de filme (SFF) în limitele (3,39-12,22) MPa. Filmele cu conținut mai mare de proteine miofibrilare de pește (1,5 și 2,0%) au fost mai rezistente la tracțiune decât filmele cu un nivel de proteine de 1%. Noi apreciem că la concentrație mai mare de proteine, acestea se pot agrega intermolecular într-un grad mai extins, fapt care conduce la rețele proteice mai puternice, deci la filme cu RT mai mari. Conform lui Choi și Han (2002) și lui Perez-Gago și Krochta (2001) un nivel mai ridicat de proteine are efect asupra cineticii reacțiilor grupărilor -SH ale cisteinei prezente în proteine, favorizând formarea punților disulfidice între lanțurile proteice în timpul tratamentului termic. În contrast cu această constatare, creșterea concentrație proteinelor sarcoplasmice de la 2 la 4% în SFF cauzează o descreștere semnificativă a RT filmelor (Iwata și colab., 2000). Rezultatele noastre au fost conforme cu Sobral și colab., (2005) care au raportat că filmele produse din SFF cu 2% proteine au fost mai rezistente decât cele cu 1% proteine musculare de pește. Nuthong și colab., (2009) au găsit că filmele obținute din plasmă porcină cu concentrația de 2% au RT relativ mai reduse (1,44 MPa) în comparație cu filmele cu 3% plasmă (2,11 MPa). Valorile medii ale rezistenței la tracțiune constatate de noi au fost mai mari decât cele raportate de Prodpran și colab., (2005) care au realizat filme din surimi de *bigeye snapper* (2% și 50 g glicerină/100 g proteine) la care RT a fost de $3,55 \pm 0,77$ MPa și de Da Rocha și colab., (2013) [1,1-3,9 MPa, în funcție de concentrația proteinelor musculare de anșoa (3-4%) și de nivelul de glicerină (30-40 g/100 g proteine)]. Izolatul proteic de anșoa a fost obținut prin solubilizarea alcalină a proteinelor musculare (pH 11,5) și precipitare la punctul izoelectric (pH 5,0). Izolatul proteic de anșoa obținut prin acest procedeu conține și proteine sarcoplasmice alături de proteinele miofibrilare, cea ce justifică valorile mai reduse ale RT, deoarece filmele care conțin proteine cu masă moleculară mică au o mobilitate mai mare a lanțurilor polipeptidice în matrice. Proteinele miofibrilare (indeosebi merozozina grea și actomiozina) joacă un rol esențial în formarea rețelelor de filme proteice (Artharn și colab., 2007). De asemenea, valorile RT ale filmelor obținute în cadrul acestei lucrări au fost relativ mai mari sau similare valorilor raportate pentru filmele obținute din proteine de hec (Pires și colab., 2013), proteine de pollack de Alaska (Shiku și colab., 2004), proteine musculare de Tilapia de Nil (García și Sobral, 2005), proteine sarcoplasmice de pește ($5,15 \pm 0,57$ MPa; Tanaka și colab., 2001), proteine miofibrilare de piept de pui (1,5-4,3 MPa în funcție de adaosul de glicerină; Nemet, și colab., 2010), proteine din zer [Wang și colab., 2009; (7,45 MPa la pH 3,46 și 9,20 MPa la pH 10,54), Sothorrvif și colab., 2009, Fang și colab., 2002], Limpan (2010; 5,6 MPa), proteine din gluten de grâu (2,7 MPa; Gontard și colab., 1994), zeină de porumb (0,4 MPa; Lai și colab., 1998), proteine de soia (5,9 MPa; Ghorpede, 1995). Parte din rezultatele noastre (pH 2,7) au fost relativ mai scăzute decât valoarea raportată de Rastamzad și colab., (2015) de $9,16 \pm 0,58$ MPa în următoarele condiții de lucru: SFF cu 2% proteine miofibrilare de crap argintiu, 50 g glicerină/100 g proteine și pH 3,0 și de Cuq și colab., (1995) de 17,1 MPa pentru filmele din proteine miofibrilare de pește.

Tabelul 5.8. Proprietățile mecanice ale filmelor biodegradabile bazate pe proteine miofibrilare de Novac

Filme	Valoare pH	Proteine, %	Glicerină/ 100 g SFF	Rezistența la tracțiune, MPa	Elongația, %
1	2,7	1,0	1,0	7,78±1,60	21,45±4,15
2	2,7	1,5	1,0	7,84±0,97	22,28±2,08
3	2,7	2,0	1,0	8,02±2,72	20,19±2,16
4	2,7	1,0	1,5	6,45±0,45	29,0±4,03
5	2,7	1,5	1,5	9,09±1,49	34,23±9,06
6	2,7	2,0	1,5	12,22±1,07	28,78±0,76
7	10,8	1,0	1,5	3,39±0,73	52,27±8,28
8	10,8	1,5	1,5	4,46±1,21	32,27±2,53
9	10,8	2,0	1,5	4,58±1,34	20,44±0,50

Conform datelor indicate în tabelul 5.8. soluțiile formatoare de film alcaline (pH = 10,8) au condus la filme cu rezistență la tracțiune de aproximativ 2 ori mai mică decât SFF acide (pH = 2,7).

Valorile medii ale rezistenței la tracțiune, constatate de noi, se corelează pozitiv cu nivelul de proteine din soluțiile formatoare de film în ambele condiții de mediu, coeficienții liniari de corelație fiind de 0,961 la pH acid și 0,902 la pH alcalin.

Rezistența la întindere a scăzut semnificativ cu creșterea conținutului de glicerină. Agentul plastifiant reduce densitatea interacțiunilor proteine-proteine, crește mobilitatea lanțurilor proteice care face filmul mai puțin rezistent. Cele mai mici valori ale rezistenței la tracțiune ale filmelor au fost găsite în cazul SFF cu raportul proteine: glicerină de 1:1,5, pH alcalin. Sobral și colab., (2005) au remarcat, de asemenea, că la filmele bazate pe proteine din mușchii de Thai Tilapia rezistența la întindere s-a redus cu creșterea conținutului de glicerină, dar se îmbunătățește flexibilitatea (Iwata și colab., 2000).

Ca și în cazul rezistenței la tracțiune, procentele de elongație au fost dependente de compoziția SFF și de condițiile de mediu. Elongația la rupere a variat în limitele 20,19-52,27%, valoarea maximă a fost constatată la filmul cu rezistența cea mai mică, 3,39 MPa (tabelul 1). În ambele condiții de mediu, valorile procentuale ale elongației s-au corelat negativ cu nivelurile de proteine din SFF, coeficienții liniari de corelație având valorile -0,599 pentru SFF de pH 2,7 și -0,987 în cazul SFF cu pH 10,8. De asemenea, noi am găsit corelații negative între rezistența la tracțiune și elongație ($r = -0,797$ la pH 2,7 și respectiv $-0,959$ la pH 10,8). Extensibilitatea filmelor bazate pe proteine miofibrilare de Novac s-a modificat odată cu valoarea pH-ului SFF, filmele având o capacitate mai mare de extensie în mediul alcalin întrucât la concentrații mai mari de glicerină. Această constatare este în dezacord cu alți cercetători care au raportat că elongația filmelor pe bază de proteine mixte nu se modifică cu valoarea de pH a SFF (posibil datorită nivelului mult mai mare de glicerină folosit de noi). Această tendință a fost găsită și la filmele de gluten și izolat de soia. Proteinele de soia devin mai puțin flexibile în condiții extreme de pH acid și alcalin. În literatură sunt menționate valori ale procentului de elongație mult mai mari pentru filmele bazate pe proteine din soia (Ghorpede, 1995; 107%); gluten de grâu (Gontard și colab., 1994; 195%), de zer (Wang și colab., 2009: 265% la pH 3,46 și 351% la pH 10,54). Da Rocha și colab., (2013) au găsit valori ale procentului de elongație cuprinse între 9,1 și 25,8% în cazul filmelor pe bază de proteine musculare de anșoa în concentrații variind de

la 3 la 4% și la niveuri de glicerină cuprinse între (30-40) g/100 g proteine, pH 11,5, temperatura la tratament termic 74°C. (Cuq și colab., 1995) au raportat pentru filmele obținute din proteine miofibrilare de pește *Tilapia* o elongație de 22,7% (2 % proteine, pH 3,0), valoare similară cu cele găsite pentru o parte din filmele realizate de noi (tabelul 5.8.) și o valoare de 67,8% în cazul filmelor din proteine sarcoplasmatiche de pește. Această valoare depășește toate elongațiile procentuale constatate în cadrul experimentului nostru. O valoare a elongației de 25% a fost găsită de Limpan (2010) în cazul filmelor din proteine miofibrilare de pește, de 39,86% de Rostamzad și colab., (2015) pentru filmele din proteine miofibrilare de crap argintiu și de 83,56±9,07% în cazul filmelor din surimi de crap argintiu și gelatină (SFF de pH 3,0; Tao, ș.a, 2015). Garcíá și Sobral (2005) au dezvoltat filme pe bază de proteine miofibrilare de *Tilapia* și au găsit că valorile EG (%) cresc cu creșterea nivelului de glicerol de la 15 la 45%.

În contrast cu filmele biodegradabile bazate pe proteine, unele filme sintetice manifestă proprietăți mecanice superioare filmelor proteice. Astfel, polietilena de înaltă densitate posedă o rezistență la tracțiune de 25,9 MPa și o elongație la rupere de 300% (Gnanasambandam și colab., 1997, Krochta și colab., 1997) și polietilena de joasă densitate 12,9 MPa și respectiv 500% (Fairley și colab., 1997 și Krochta și colab., 1997, Pol și colab., 2002). Filmul convențional de poliolefin posedă rezistență la tracțiune în același domeniu de variație cu filmele bazate pe proteine miofibrilare de pui (3-10 MPa) (Briston, 1988, Nemet și colab., 2010).

5.8. Concluzii parțiale

Au fost realizate 16 tipuri de filme bazate pe proteine miofibrilare de pește (Novac) prin procedeul solvent prin încorporarea în soluțiile formatoare de film a nivelurilor diferite de proteine, de plastifiant și alte adaosuri, precum gelatina și ciclodextrina.

Proteinele miofibrilare de pește extrase prin procedeul *surimi* și solubilizate în mediul puternic acid (pH 2,7) sau puternic alcalin (pH 10,8) în prezența glicerinei, ca palstifiant, au manifestat proprietăți adecvate de gelificare atunci când au fost supuse tratamentului termic la 90°C, timp de 30 minute și uscării în strat subțire la temperatura camerei, timp de 24 ore.

Peliculele obținute de noi au fost transparente, flexibile și uniforme, au prezentat suprafețe netede, fără pori sau fisuri vizibile cu ochiul liber. Toate tipurile de filme au fost desprinse manual cu ușurință de plăcile de turnare.

Grosimea filmelor a variat în funcție de zona de măsurare, de compoziția soluțiilor peliculogene și de caracteristicile mediului. Creșterea concentrației proteinelor și a nivelului de glicerină adăugat a determinat o creștere aproape liniară a valorilor medii ale grosimii filmelor. La pH alcalin, filmele au fost relativ mai groase decât cele obținute la pH acid, atunci când au fost realizate în aceleași condiții.

Filmele cu adaos de ciclodextrine au prezentat grosimi mai mari, îndeosebi cele obținute în mediul alcalin, în comparație cu filmele cu gelatină.

Culoarea, o caracteristică importantă a filmelor comestibile/ biodegradabile deoarece ea afectează acceptabilitatea consumatorului în potențialele aplicații alimentare a fost apreciată prin determinarea parametrilor de culoare L*, a*, b* și ΔE, care au depins de variabilele desingului experimental (pH, nivel de proteine și glicerină și de natura adaosurilor).

Creșterea nivelului de glicerină cauzează reducerea diferenței de culoare a filmelor datorită efectului de diluare al glicerinei, independent de concentrația proteinei. Transparența filmelor cu

concentrație mai mare de proteine a fost mai mică în domeniul mai redus al concentrației de glicerină, care devine mult mai redusă pentru concentrații mari de plastifiant.

Rezultatele arată că filmele realizate în cadrul acestei lucrări posedă proprietăți excelente de barieră la lumina ultraviolet (200-280 nm), ele pot întârzia fotooxidarea produselor alimentare ambalate datorită inhibării difuziei luminii.

Toate filmele studiate și-au menținut integritatea după 24 de ore de imersie în apă, ceea ce denotă că proteinele miofibrilare de Novac au condus la formarea unor rețele stabile și că numai substanțele cu masă moleculară mică hidrofile au fost solubilizate în apă.

Filmele realizate în mediul acid au fost mai rezistente la apă, decât filmele obținute în mediul alcalin fapt ce sugerează că filmele obținute prin solubilizarea alcalină a proteinelor miofibrilare au avut un nivel mai scăzut de reticulizare, legăturile proteină-proteină au fost mai slabe, posibil asociate cu scurtarea lungimii lanțului proteic, ceea ce a condus la o solubilizarea în apă a unei proporții mai mari din materia uscată a filmului.

Permeabilitate la vaporii de apă (PVA) este o proprietate importantă a filmelor flexibile biodegradabile/comestibile. Valorile relativ ridicate ale PVA găsite de noi indică faptul că filmele bazate pe proteine musculare de pește (Novac) sunt bariere slabe pentru vaporii de apă, datorită naturii hidrofilă/hidrofobă a polimerului din matricea filmului (proteinele miofibrilare conțin niveluri importante de aminoacizi cu caracter polar, precum acidul aspartic, acidul glutamic, arginina și lizina).

Proprietățile de barieră la vaporii de apă ale filmelor au fost dependente de nivelurile de proteine, de glicerină și de adaosul de gelatină sau ciclodextrină; valorile PVA și ale conținutului de apă ale filmelor au crescut cu creșterea nivelurilor de proteine.

Prin creșterea nivelului de plastifiant, care se inseră între moleculele proteice, se formează rețele proteice mai puțin dense ca urmare a modificării organizării moleculare tridimensionale, reducerii forțelor de atracție dintre moleculele de proteine, creșterii volumului liber și mobilității lanțurilor proteice, cu consecințe asupra permeabilității la vaporii de apă.

În cazul filmelor compozite, filmele cu adaos de gelatină au fost mai rezistente la vaporii de apă decât filmele cu adaos de ciclodextrine.

În condițiile noastre experimentale, grosimea filmelor a fost relevantă pentru valorile permeabilității la vaporii de apă, în sensul creșterii PVA pentru filmele cu grosimi mai mari.

În cazul utilizării gelatinei și a ciclodextrinei la formulările de filme, aceste au prezentat o culoare ușor mai gălbuie în comparație cu filmele numai pe bază de proteine de pește.

Filmele bazate pe proteine miofibrilare de Novac posedă proprietăți mecanice similare filmelor preparate din proteinele miofibrilare extrase din mușchii altor specii de pește.

Valori rezistenței la tracțiune și procente de elongație au fost dependente de compoziția soluțiilor formatoare de filme și de valoarea de pH. Rezistența la tracțiune s-a corelat pozitiv cu nivelul de proteine al SFF și negativ cu conținutul de glicerină.

Nivelurile mari de proteine au determinat reducerea flexibilității filmelor, pe când conținuturile mari de glicerină au condus la filme cu procente de elongație mai ridicate.

Soluțiile formatoare de filme puternic alcaline (pH 10,8) au condus la filme cu rezistență la tracțiune substanțial mai reduse în comparație cu soluțiile puternic acide, situația fiind inversă în cazul elongație, filmele alcaline posedând cea mai mare flexibilitate.

Filmele comestibile proteice cu rezistență la tracțiune ridicată pot fi aplicate pentru preambalare produselor alimentare oferind acestora protecție în timpul manipulării, transportului și depozitării în vederea comercializării.

Concluzii finale

Conținutul de proteine al derivatelor proteice a fost condiționat de proveniența mușchiului și de tehnica de extracție aplicată. Mușchii de piept de pasăre și vită au condus la obținerea unor derivate proteice cu conținuturi de proteine mai mari de 90% s.u.

Solubilizarea proteinelor musculare, în mediu puternic alcalin, urmată de precipitarea acestora din soluție la pH-ul punctului izoelectric (pI) asigură și recuperarea proteinelor sarcoplasmatiche care precipită la pH 5,5.

Tehnologia clasică de obținere a produsului surimi de spălare repetată cu apă răcită și centrifugare/presare a cărnurilor de pește fin mărunțite nu este adecvată în cazul cărnii de porc, ea nu asigură separarea corespunzătoare a grăsimii și pigmentilor și conduce la un concentrat proteic cu conținut redus de proteine structurale și proprietăți funcționale inferioare.

Proprietățile funcționale ale derivatelor proteice au fost dependente de sursa de proteine, tehnica de separare și de forma de prezentare: concentrate umede sau liofilizate. Tehnica de conservare prin liofilizare în lipsa crioprotectorilor a influențat negativ funcționalitatea concentratelor.

Solubilitatea proteinelor musculare, componente ale derivatelor proteice, este o proprietate critică, ea controlează celelalte caracteristici funcționale ale proteinelor (capacitatea de emulsionare, de spumare și de formare a gelurilor).

Profilul de solubilitate al concentratelor/izolatelor de proteine musculare a variat în funcție de natura produsului și de pH-ul soluției proteice. Toate derivatele proteice au prezentat un minim de solubilitate la pH 5,5 și două domenii de solubilitate maximă la pH puternic alcalin (11) și puternic acid (3).

Concentratele/izolatele proteice obținute prin solubilizare alcalină sau acidă și precipitare la pI sunt caracterizate printr-o solubilitate mai bună în domeniu izoelectric 5,5-6,5, valori de pH frecvent întâlnite în diferite formulări de salamuri sau în produsele restructurate, unde ar putea fi utilizate ca ingrediente funcționale.

Proprietățile de suprafață ale derivatelor proteice (spumare și emulsionare) au depins de sursa de proveniență a cărnii, de tehnica de extracție și tratamentul la care a fost supusă carnea înainte de extracție.

Capacitatea de spumare și stabilitatea spumei pentru toate derivatele proteice au fost minime la pH 5,5. Creșterea/scăderea valorii de pH față de pI îmbunătățește proprietățile de suprafață ale proteinelor structurale, creșterea de volum a spumei fiind mai mare la pH 10, decât la pH 3,0.

Solubilitatea proteinelor și capacitatea de spumare se corelează pozitiv, coeficienții de corelație au depins mai mult de sursa de proteine musculare, decât de tehnica de extracție. Solubilizarea alcalină a condus la derivate proteice cu proprietăți de spumare ușor îmbunătățite față de solubilizarea acidă, ca și extracția în soluții de tărie ionică mai mare.

Capacitatea de emulsionare a concentratelor de proteine musculare a fost dependentă de valoarea de pH a soluției proteice. Capacitatea de emulsionare minimă a fost înregistrată în regiunea izoelectrică în domeniul de pH 5,5 - 6,0 caracterizată prin cea mai mică solubilitate a

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

proteinelor. Pentru unele aplicații alimentare proprietățile de emulsionare pot fi îmbunătățite prin modificarea valorii pH-ului mediului de dispersie al derivatelor proteice.

Capacitatea de absorbție a proteinelor la interfața apă-ulei, stabilizarea filmelor proteice formate în jurul picăturilor de ulei și reducerea tensiunii interfaciale a fost condiționată puternic de sursa de proteine, metoda de extracție și de compoziția concentratelor proteice (numai proteine miofibrilare sau proteine miofibrilare + proteine sarcoplasmice).

Variația modului elastic (G') și a unghiului de fază (δ) în timpul tratamentului termic al suspensiilor proteice reflectă modificări profunde la nivelul sistemului proteic (denaturare, disociere și reasociere) în funcție de temperatură.

Toate tipurile de concentrate/izolate de proteine musculare s-au comportat din punct de vedere reologic ca sisteme vâscoelastice cu componenta elastică mare, dar variabilă în funcție de temperatură, sursă de proteine, metodă de extracție și de procesul de uscare prin liofilizare.

Valorile modului elastic au fost direct proporționale cu concentrația proteinei din suspensia proteică (concentrat proteic liofilizat de macrou). Coeficienții de corelație dintre concentrația proteinei și modulul elastic în timpul încălzirii (30-71,9°C) au înregistrat valori peste 0,930, valori ușor mai crescute la concentrații proteice mai mici.

Concentratele/izolatele proteice analizate posedă capacități funcționale adecvate pentru utilizare în diverse sisteme pe bază de carne aducând produselor un plus de valoare nutritivă prin componenta lor proteică, dar se justifică obținerea lor din punct de vedere economic în cazul speciilor de pești neutilizabile, cărnurilor de calitate inferioară și al unor organe.

Concentratele/izolatele proteice studiate prin proprietățile lor funcționale, solubilitate și caracteristici de gelificare, pot reprezenta materii prime adecvate pentru generarea de filme și învelișuri proteice biodegradabile.

Adăugarea de concentrat proteic de pește și concentrat proteic liofilizat de pește în aluat au îmbunătățit valoarea nutritivă a pâinii.

Conținutul de lizină, aminoacid esențial deficitar în pâine, a fost adus la nivelul proteinei etalon FAO în probele de pâine cu concentrat proteic umed sau liofilizat de pește.

Concomitant s-a îmbunătățit și conținutul de treonină.

Aceste produse au volumul specific, textura și porozitatea bune și o structură a miezului care au fost acceptate bine de către consumatori.

Cea mai importantă concluzie este că deficitul mic din evaluarea senzorială este compensat de echilibrarea spectaculoasă a pâinii în aminoacizi esențiali.

Această utilizare are cerere de brevet din august 2016.

Au fost realizate 16 tipuri de filme bazate pe proteine miofibrilare de pește (Novac) prin procedeul solvent prin încorporarea în soluțiile formatoare de film a nivelurilor diferite de proteine, de plastifiant și alte adaosuri, precum gelatina și ciclodextrina.

Proteinele miofibrilare de pește extrase prin procedeul *surimi* și solubilizate în mediul puternic acid (pH 2,7) sau puternic alcalin (pH 10,8) în prezența glicerinei, ca plastifiant, au

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

manifestat proprietăți adecvate de gelificare atunci când au fost supuse tratamentului termic la 90°C, timp de 30 minute și uscării în strat subțire la temperatura camerei, timp de 24 ore.

Peliculele obținute de noi au fost transparente, flexibile și uniforme, au prezentat suprafețe netede, fără pori sau fisuri vizibile cu ochiul liber. Toate tipurile de filme au fost desprinse manual cu ușurință de plăcile de turnare.

Grosimea filmelor a variat în funcție de zona de măsurare, de compoziția soluțiilor peliculogene și de caracteristicile mediului. Creșterea concentrației proteinelor și a nivelului de glicerină adăugat a determinat o creștere aproape liniară a valorilor medii ale grosimii filmelor. La pH alcalin, filmele au fost relativ mai groase decât cele obținute la pH acid, atunci când au fost realizate în aceleași condiții.

Filmele cu adaos de ciclodextrine au prezentat grosimi mai mari, îndeosebi cele obținute în mediul alcalin, în comparație cu filmele cu gelatină.

Culoarea, o caracteristică importantă a filmelor comestibile/ biodegradabile deoarece ea afectează acceptabilitatea consumatorului în potențialele aplicații alimentare a fost apreciată prin determinarea parametrilor de culoare L^* , a^* , b^* și ΔE , care au depins de variabilele desingului experimental (pH, nivel de proteine și glicerină și de natura adaosurilor).

Creșterea nivelului de glicerină cauzează reducerea diferenței de culoare a filmelor datorită efectului de diluare al glicerinei, independent de concentrația proteinei. Transparența filmelor cu concentrație mai mare de proteine a fost mai mică în domeniul mai redus al concentrației de glicerină, care devine mult mai redusă pentru concentrații mari de plastifiant.

Rezultatele arată că filmele realizate în cadrul acestei lucrări posedă proprietăți excelente de barieră la lumina ultraviolet (200-280 nm), ele pot întârzia fotooxidarea produselor alimentare ambalate datorită inhibării difuziei luminii.

Toate filmele studiate și-au menținut integritatea după 24 de ore de imersie în apă, ceea ce denotă că proteinele miofibrilare de Novac au condus la formarea unor rețele stabile și că numai substanțele cu masă moleculară mică hidrofile au fost solubilizate în apă.

Filmele realizate în mediul acid au fost mai rezistente la apă, decât filmele obținute în mediul alcalin fapt ce sugerează că filmele obținute prin solubilizarea alcalină a proteinelor miofibrilare au avut un nivel mai scăzut de reticulizare, legăturile proteină-proteină au fost mai slabe, posibil asociate cu scurtarea lungimii lanțului proteic, ceea ce a condus la o solubilizarea în apă a unei proporții mai mari din materia uscată a filmului.

Permeabilitate la vaporii de apă (PVA) este o proprietate importantă a filmelor flexibile biodegradabile/comestibile. Valorile relativ ridicate ale PVA găsite de noi indică faptul că filmele bazate pe proteine musculare de pește (Novac) sunt bariere slabe pentru vaporii de apă, datorită naturii hidrofilă/hidrofobă a polimerului din matricea filmului (proteinele miofibrilare conțin niveluri importante de aminoacizi cu caracter polar, precum acidul aspartic, acidul glutamic, arginina și lizina).

Proprietățile de barieră la vaporii de apă ale filmelor au fost dependente de nivelurile de proteine, de glicerină și de adaosul de gelatină sau ciclodextrină; valorile PVA și ale conținutului de apă ale filmelor au crescut cu creșterea nivelurilor de proteine.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

Prin creșterea nivelului de plastifiant, care se inseră între moleculele proteice, se formează rețele proteice mai puțin dense ca urmare a modificării organizării moleculare tridimensionale, reducerii forțelor de atracție dintre moleculele de proteine, creșterii volumului liber și mobilității lanțurilor proteice, cu consecințe asupra permeabilității la vapori de apă.

În cazul filmelor compozite, filmele cu adaos de gelatină au fost mai rezistente la vaporii de apă decât filmele cu adaos de ciclodextrine.

În condițiile noastre experimentale, grosimea filmelor a fost relevantă pentru valorile permeabilității la vapori de apă, în sensul creșterii PVA pentru filmele cu grosimi mai mari.

În cazul utilizării gelatinei și a ciclodextrinei la formulările de filme, aceste au prezentat o culoare ușor mai gălbuie în comparație cu filmele numai pe bază de proteine de pește.

Filmele bazate pe proteine miofibrilare de Novac posedă proprietăți mecanice similare filmelor preparate din proteinele miofibrilare extrase din mușchii altor specii de pești.

Valorie rezistenței la tracțiune și procente de elongație au fost dependente de compoziția soluțiilor formatoare de filme și de valoarea de pH. Rezistența la tracțiune s-a corelat pozitiv cu nivelul de proteine al SFF și negativ cu conținutul de glicerină.

Nivelurile mari de proteine au determinat reducerea flexibilității filmelor, pe când conținuturile mari de glicerină au condus la filme cu procente de elongație mai ridicate.

Soluțiile formatoare de filme puternic alcaline (pH 10,8) au condus la filme cu rezistență la tracțiune substanțial mai reduse în comparație cu soluțiile puternic acide, situația fiind inversă în cazul elongației, filmele alcaline posedând cea mai mare flexibilitate.

Filmele comestibile proteice cu rezistență la tracțiune ridicată pot fi aplicate pentru preambalare produselor alimentare oferind acestora protecție în timpul manipulării, transportului și depozitării în vederea comercializării.

Elemente de originalitate ale tezei de doctorat

1. Optimizarea tehnologiilor de extracție a proteinelor miofibrilare.

- ✓ Pe parcursul tezei de doctorat, tehnologiile de extracție au fost optimizate în sensul obținerii unor bune randamente de extracție.
- ✓ Au fost operate modificări ale extracției cu EDTA și KCl 0,15 M, la numărul și intensitatea spălărilor efectuate și la stabilirea unor timpi de extracție reproductibili.
- ✓ Rezultatele acestor optimizări au făcut obiectul unor comunicări științifice.

2. Utilizarea proteinelor miofibrilare ca echilibrant nutrițional în tehnologia de fabricație a pâinii.

- ✓ Această utilizare constituie noutate absolută și face obiectul unei cereri de brevet de invenție depus în august 2016 la OSIM.
- ✓ Elementul principal de originalitate îl constituie echilibrarea nutrițională a pâinii prin intermediul proteinelor miofibrilare adăugate.
- ✓ În fapt se realizează încadrarea în normele FAO a unei pâini realizate cu adaos de proteine miofibrilare. În tehnologia clasică se obținea o pâine care avea compoziție dezechilibrată în lizină și treonină.

3. Optimizarea tehnologiilor de obținere a filmelor comestibile/biodegradabile.

- ✓ Primul element de originalitate îl constituie utilizarea proteinelor miofibrilare sub forma unui concentrat umed sau sub formă liofilizată.
- ✓ În obținerea filmelor comestibile s-au utilizat tehnologii care au necesitat modificări, adaptări sau încercări:
 - Concentrația proteinelor miofibrilare utilizate;
 - Nivelul de glicerină adăugată;
 - Nivelul de gelatină adăugată;
 - Nivelul de ciclodextrină adăugată;

Putem sublinia și demararea unor investigații imagistice ale structurii filmelor comestibile la Universitatea Politehnică București și la Universitatea "Dunărea de Jos" Galați.

Diseminarea rezultatelor cercetărilor

A. Articole publicate în reviste cotate ISI

1. **Cercel, F.**, Stroiu, M., Alexe, P., 2015 Characterization of myofibrillar chicken breast proteins for obtain protein films and biodegradable coatings generation. *Journal of Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 6, 197-205;
2. **Cercel, F.**, Burluc, R.M., Alexe, P., 2016. Nutritional effects of added fish proteins in wheat flour bread. Manuscris în pregătire, 2016.

B. Cerere de brevet de invenție:

1. **Floricele Cercel**, Petru Alexe, Romulus Marian Burluc, 2016, Obținerea pâinii echilibrată nutrițional în proteine, Cerere de brevet de invenție nr. A/00602 din 31.08.2016, România.

C. Articole publicate în reviste cotate BDI

1. **Cercel, F.**, Stroiu, M., Ianițchi, D., Alexe, P., 2016, Rheological properties description of myofibrillar protein homogenates and concentrates obtained by different methods and from different species. *International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture"* 9 - 11 iunie 2016, Book of Abstracts Section 3 Animal Science University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest Faculty of Animal Science, ISSN 2501-7160 (CD-ROM), ISSN-L 2457-3221;
2. **Cercel, F.**, Stroiu, M., Alexe, P. 2015 Characterization of myofibrillar proteins obtained from fresh abramis brama (common bream) meat. *International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture"*, 4-6 of June, 2015 at University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, Romania series D. animal science volume LVIII, 2015;
3. Tudose, C., Iordachescu, G., Stan, F., **Cercel, F.**, Alexe, P., 2014, Influence of animal fat replacement with vegetable oils on the sensorial perception of meat emulsified products, *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI – Food Technology*, 38(2);
4. Dima, C., Neagu, C., **Cercel, F.**, Alexe, P. 2014, Sensory, physico-chemical and microbiological properties of cooked ham with β -cyclodextrin loaded with coriander and pimento essential oils. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 2014, 20(4), 319-329;
5. Cercel, F., Stoica, M., Popescu, A., Stroiu, M., Alexe P., 2010. The extraction and characterization of myofibrillar fish proteins. *International Conference "Agricultural And Food Sciences, Processes And Technologies"* Sibiu, December 9 - 12, 2010;

6. **Cercel,F.**, Stroiu, M., Alexe, P., 2010. Characterization of myofibrillar pork proteins for obtain the comestibles films. The 39th international session of scientific communications of the Faculty of Animal Science, Series D, vol III, ISSN 1843-6048, Bucharest 2010;
7. **Cercel,F.**, Stroiu, M., Alexe, P.,2010. Characterization of myofibrillar fish and beef proteins for obtain the comestibles films. The 39th international session of scientific communications of the Faculty of Animal Science, Series D, vol III, ISSN 1843-6048, Bucharest 2010;
8. **Cercel,F.**, Pătrașcu, L., Alexe, P., Stroiu, M., 2009. Preliminary characteristics of myofibrillar proteins obtained for edible byofilms realization. Proceedings of the 2nd international symposium "New Researches in Biotechnology" Series F, ISSN 1224-7774, Bucharest 2009.
9. **Cercel,F.**, Stroiu, M., Alexe, P., 2009. Preliminary study concerning the production of biofilms from myofibrillar proteins. Food Science and Food Industry in the Recession Era, Paper of the International Symposium, ISSN 1843-5114, Galati, October 9-10, 2009.
10. Patrascu,L., **Cercel,F.**, Alexe, P., 2009. Influence of extraction method on rheogical properties of myofibrillar proteins from different sources. Challenges for Food Science and Food Industry in the Recession Era, Paper of the International Symposium, ISSN 1843-5114, Galati, October 9-10, 2009;
11. **Cercel,F.**, Pătrașcu, L., Alexe, P., 2009. Myofibrillar proteins; optimization of extraction method and characterization of different myofibrillar proteins obtained. Challenges for Food Science and Food Industry in the Recession Era, Paper of the International Symposium, ISSN 1843-5114, Galati, October 9-10, 2009;
12. Patrascu,L., **Cercel,F.**, Alexe, P., 2009. Influence of extraction method on rheogical properties of myofibrillar proteins from different sources – The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI Food Technology, New Series Year III (XXXII), ISSN 1843-5157, Galati University Press 2009;

D. Participări conferințe internaționale

1. **Cercel, F.**, Stroiu, M., Ianițchi, D., Alexe, P., 2016, Rheological properties description of myofibrillar protein homogenates and concentrates obtained by different methods and from different species. International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture" 9 - 11 iunie 2016, București, România, (prezentare orală);
2. **Floricele Cercel**, Romulus Marian Burluc, Petru Alexe 2016. Nutritional effects of added fish proteins in wheat flour bread. International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture" 9 - 11 iunie 2016, București, România, (prezentare orală);
3. **Floricele Cercel**, Mariana Stroiu, Petru Alexe 2015 Characterization of myofibrillar chicken breast proteins for obtain protein films and biodegradable coatings generation. International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture", 4-6 of June, 2015 at

University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, 2015
(prezentare orală) ;

4. **Florice! Cerce!l**, Mariana Stroi!u, Petru Alexe , 2015. Characterization of myofibrillar proteins obtained from fresh abramis brama (common bream) meat. International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture", 4-6 of June, 2015 at University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, 2015;
5. **Florice! Cerce!l**, Mariana Stroi!u, Petru Alexe. 2014. Carp miofibrilar protein concentrate dry by using spray dryer technology and elemental mapping of microstructures by scanning electron microscopy. The 8th International Conference on WATER IN FOOD Politehnica "University of Timi!oara, Romania, 25-27 Mai, 2014, Timi!oara, Romania;
6. **Florice! Cerce!l**, Maricica Stoica, Anca Popescu, Mariana Stroi!u, Petru Alexe 2010. The extraction and characterization of myofibrillar fish proteins, International Conference "Agricultural And Food Sciences, Processes And Technologies" Sibiu, December 9 - 12, 2010. (prezentare orală)
7. Florice! Cerce!l, Maricica Stoica, Mariana Stroi!u, Petru Alexe, 2010. The extraction and characterization of myofibrillar fish proteins – International Workshop on " Fishery and Aquaculture – a view point upon the sustainable management of the water resources in the Balkan Area", Galati, May 26-28, 2010, – ROMANIA (poster);
8. **Florice! Cerce!l**, Mariana Stroi!u, Petru Alexe., 2010. Characterization of myofibrillar pork proteins for obtain the comestibles films - Department of Biochemistry and Technologies, Faculty of Food Science and Engineering "Dunarea de Jos" University of Galati of the 39th international session of scientific communications of the Faculty of Animal Science, Bucharest 2010; (prezentare orală)
9. **Florice! Cerce!l**, Mariana Stroi!u, Petru Alexe 2010. Characterization of myofibrillar fish and beef proteins for obtain the comestibles films - Department of Biochemistry and Technologies, Faculty of Food Science and Engineering "Dunarea de Jos" University of Galati of the 39th international session of scientific communications of the Faculty of Animal Science, Bucharest 2010 (poster);

E. Participari conferin!e na!ionale

1. **Florice! Cerce!l**, Mariana Stroi!u, Petru Alexe 2014, Characterization of edible films made from myofibrillar proteins obtained from fresh Abramis brama (Common bream) meat. Scientific Conference of Doctoral Schools from "Dunărea de Jos" University of Galati Second Edition - Gala!i, 15-16 Mai 2014.

DIRECȚII DE DEZVOLTARE ULTERIOARE A CERCETĂRII PRIVIND PROTEINELE MIOFIBRILARE

Proteinele, în general, proteinele miofibrilare, în special, deschid un univers în industria alimentară și nu numai în industria alimentară.

De la fascinația structurii și ultrastructurii, pâna la proprietățile fizico-chimice și funcționale excepționale, proteinele miofibrilare reprezintă o țintă permanentă a cunoașterii.

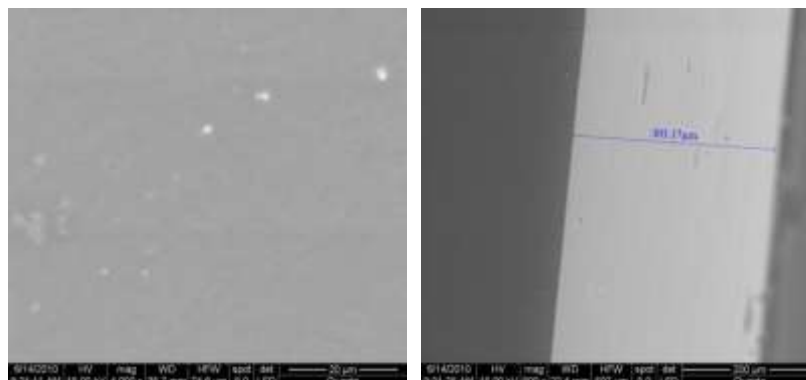
Noi am identificat câteva zone în care aplicabilitatea tezei de doctorat este certă:

- ✓ industria produselor din carne;
- ✓ industria panificației;
- ✓ formarea filmelor comestibile ca varianta de bioprotecție a alimentelor;
- ✓ formarea filmelor comestibile compozite;
- ✓ microîncapsulare;
- ✓ uscare prin liofilizare;
- ✓ uscare prin pulverizare (prin spray dryer);
- ✓ utilizarea în piscicultură (și acvacultura, în general);
- ✓ alte echilibrări nutriționale ale alimentelor.

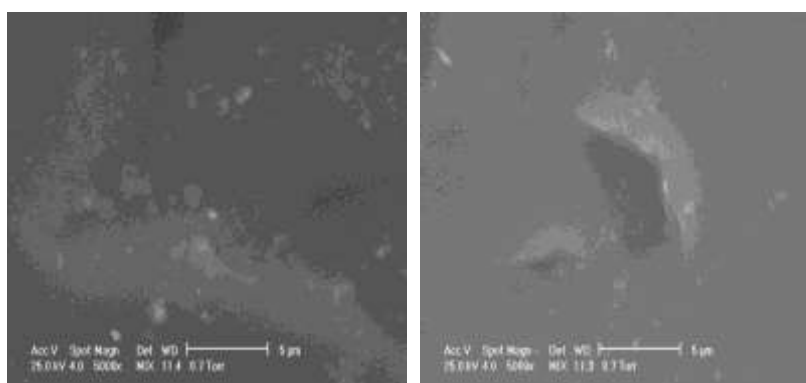
Am obținut rezultate bune în fiecare din zonele enumerate și viitorul va oferi, cu siguranță, o mare diversificare a aplicațiilor.

STUDII ÎNCEPUTE DAR NEFINALIZATE

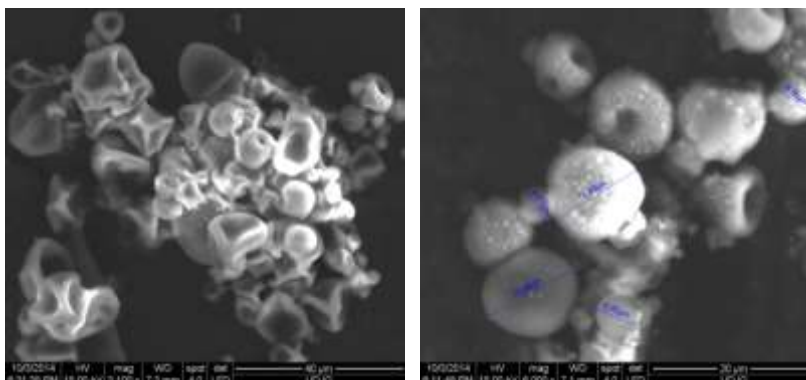
- vizualizare la SEM a filmelor comestibile:



- vizualizare la Atomic Force Microscope (ATM) a filmelor comestibile



- uscare prin pulverizare (prin spray dryer) și vizualizare la SEM a proteinei;



BIBLIOGRAFIE

1. Anandaraman, S. , Reineccius, G.A. Stability of encapsulated orange peel oil. Food Technol., 1986, 40: 88-93.
2. Arshady, R., (Ed). 1999. Microspheres, microcapsules and liposomes, Citrus Books, London, United Kingdom
3. AOAC, (1990. Moisture in Meat. Official Methods of Analysis 950.46, 11, 931.
4. AOAC, 1990. Crude protein in Meat. Official Methods of Analysis 981.10, 11, 937.
5. Arntfield, S.D., Murray, E.D., Ismond, M.A.H., 1990. Dependence of thermal properties as well as network microstructure and rheology on protein concentration for ovalbumin and vicilin. J. Text. Stud., 21, 191-212.
6. Artharn, A., Benjakul, S., Prodpran, T. and Tanaka, M. 2007. Properties of a protein-based film from round scad (*Decapterus maruadsi*) as affected by muscle types and washing. Food Chemistry 103: 867–874
7. Asghar, A., Morita, J.I., Samejima, K., Yasui, T., 1984. Biochemical and functional characteristics of myosin from red and white muscles of chicken as influenced by nutritional stress. Agric. Biol. Chem., 48, 2217–2224.
8. Asghar, A., Samejima, K., Yasui, T., 1985. Functionality of muscle proteins in gelation mechanisms of structured meat products. CRC Crit. Rev. Food Sci., Nutr., 22, 27-106.
9. Avena-Bustillos, R.J., Olson, D.A., Chiou, B., Yee, E., Bechtel, P.J. & McHugh, T.H. 2006. Water vapor permeability of mammalian and fish gelatin films. Journal of Food Science 71, E202-E207.
10. Badii, F., & Howell, N.K. (2006). Fish gelatin: structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. Food Hydrocolloids, 20, 630-640.
11. Balian G, Bowes JH. 1977. The structure and properties of collagen. In: Ward AG, Courts A, editors. The science and technology of gelatin. London: Academic Press. P 1–31.
12. Banu, C., Alexe, P., Vizireanu, C., Procesarea industrială a cărnii, 1997, Editura Tehnică, București, 643 pg., ISBN 973- 31-2177-0
13. Banu, ș.a, 2009. Tratat de industrie alimentară Tehnologii alimentare. Ed. ASAB, București, p 1147, (224).
14. Barbut, S., 1997. Microstructure of white and dark turkey meat batters as affected by pH. Br. PoulSci., 38, 175-182.
15. Barzana, E. & Garibay, M.G., 1994. Production of protein concentrates. In: Fisheries Processing: biotechnological applications (edited by A.M. Martin), London: Chapman & Hall, 206-222.

16. Benjakul, S., Visessanguan, W., Riebroy, S., Ishizaki, S. and Tanaka, M. 2002. Gel-forming properties of surimi produced from bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *P. macracanthus*, stored in ice. *J. Sci. Food Agric.* 82: 1442-1451.
17. Bordei, D., Burluc, R.M., 2003, Technology and Quality Control in Bakery Industry.Guidelines, Publishing House of University Foundation Dunarea de Jos of Galati, 58, 71-82;
18. Bourtoom, T. and Chinnan, M.S., 2008. Preparation and properties of rice starch - chitosan blend biodegradable film. *Lebensm-Wiss. U-Technol.*, 2008, 41:1633-1641
19. Boyer, C., Joandel, S., Ouali, A., Culioli, J., 1996b. Ionic strength effects on heat-induced gelation of myofibrils and myosin from fast- and slow-twitch rabbit muscles. *J. Food Sci.*, 61, 1143-1148
20. Boyer, C., Joandel, S., Roussilhes, V., Culioli, J., Ouali, A., 1996a. Heat-induced gelation of myofibrillar proteins and myosin from fast- and slow-twitch rabbit muscles. *J. Food Sci.*, 61, 138-143.
21. Brewer, M.S., Peterson, W.J., Carr, T.C., McCusker, R., Novakofski, J., 2005. Thermal gelation properties of myofibrillar protein and gelatin combinations. *J. Muscle Foods*, 16, 126-140.
22. Briston, J.H.: Plastic films, (3rd ed) Wiley, New York (1988).
23. Cao, X., Chen, Y., Chang, P.R., Stumborg, M. and Huneault, M. A. 2008. Green composites reinforced with hemp nanocrystals in plasticized starch. *Journal of Applied Polymer Science* 109: 3804-3810.
24. Camou, J.P., Sebranek, J.G., 1991. Gelation characteristics of muscle proteins from pale, soft, exudative PSE pork. *Meat Sci.*, 30, 207-220
25. Campos, J.E., El-Dash, A.A., 1978, Effect of Addition of Full Fat Sweet Lupine Flour on Rheological Properties of Dough and Baking Quality of Bread, *Cereal Chemistry* 55(5) 619-627;
26. Cisneros-Zevallos, L. and J. M. Krochta. 2003. Dependence of coating thickness on viscosity of coating solution applied to fruits and vegetables by dipping method. *J. Food Science.* 68(2): 503-510
27. Chan, J.K., Gill, T.A., Paulson, A.T., 1992. Cross-linking of myosin heavy chains from cod, herring and silver hake during thermal setting. *J. Food Sci.*, 57, 906-912.
28. Chang, H.S., Feng, Y., Hultin, H.O., 2001a. Role of pH in gel formation of washed chicken breast muscle at low ionic strength. *J. Food Biochem.*, 25, 439-457.
29. Chien, Y.W., Corbo, D.C. and Liv, J.C. 1991. Mucosal delivery of progestational Steroids from a Controlled release device: in vitro/in vivo relationship. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 1991, 17:2269-2290.

30. Chen, L., Remondetto, G.E. & Subirade, M. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems, *Trends Food Sci. Technol.*, 2006, 272-283.
31. Chinabark, K., Benjakul, S., Prodpran, T. Effect of pH on the properties of protein-based film from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) surimi. *Bioresour.Technol.*, 2007, 98(1):221-225.
32. Choi WS, Han JH. Film-forming mechanism and heat denaturation effects on the physical and chemical properties of pea-protein-isolate edible films. *J. Food Sci.* 2002; 67: 1399–1406.
33. Choi, Y.J., Park, J.W., 2002. Acid-Aided Protein Recovery from Enzyme-Rich Pacific Whiting. *Journal of Food Science*, 67, 2962-2967.
34. Choi, M.J., Ruktanonchoi, U., Soottotantawat, A., and Min, S.G. Morphological characterisation of encapsulated fish oil with β -cyclodextrin and polycaprolactone. *Food Research International*, 2009, 42:987-997
35. Clark, K.A., McElhinny, A.S., Beckerle, M.C., Gregorio, C.C., 2002. Striated cell cytoarchitecture, an intricate web of form and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 18, 637-706.
36. Cofrades, S., Careche, M., Carballo, J., Jimnez Colmenero, F., 1997. Thermal gelation of chicken, pork and hake (*Merluccius merluccius*) L actomyosin. *Meat Sci.*, 47, 157-166.
- Cryan, R. 2001. Whey: ready for take off? *U.S. Dairy*, 7, 1-4.
37. Cuq, B., Aymard, C., Cuq, J.L., and Guilbert, S., 1995. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. *Journal of Food Science*, 60, 1369-1374.
38. Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J.L. and Guilbert, S. 1997. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based film as affected by hydrophilic plasticizers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45: 622–626
39. Dagher, S.M.; Hultin, H.O.; Liang, Y., 2000. Solubility of Cod Muscle Myofibrillar Proteins at Alkaline PH. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 9, 49-59.
40. Damodaran, S., 1989. Interrelationship of molecular and functional properties of food proteins. In: Kinsella JE, Soucie WG, editors. *Food proteins*. Champaign, Ill.: The American Oil Chemists' Society., 21-51.
41. Damodaran, S., 1996. Amino Acids, Peptides and Proteins. In *Food Chemistry*; O. R.
42. Dawkins, N.L., Gager, J.V., Cornillon, P., Phelps, O., HowardA, and Kim,Y., 2000. Hydration behavior of cardiac muscle surimi in meat patties. *Human Nutrition and Food*, Southern University and A&M College, 109 Fisher Hall, Robert E. Smith Street, Baton Rouge, LA 70813.
43. Desai, K.G.H. & Park, H.J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technol.*, 2005, 23:1361-1394.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

44. Desmond, E.M., and Kenny, T.A., 1997. Characteristics of surimi-like material from beef and beef by-products (Abstract). *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 36, 282.
45. Desmond, E.M., and Kenny, T.A., 1998. Preparation of surimi-like extract from beef hearts and its utilisation in frankfurters. *Meat Science*, 50(1), 81-89.
46. Egelanddal, B., Fretheim, K., Samejima, K., 1986. Dynamic rheological measurements on heat-induced myosin gels, effect of ionic strength, protein concentration and addition of adenosine triphosphate or pyrophosphate. *J. Sci. Food Agric.*, 37, 915-926.
47. El-Dash, A.A., Sgarbieri, V.C., Campos, J.E., 1980, Sweet Lupine-Fortified Bread: Nutritional Value and Amino Acid Content, *Cereal Chemistry* 57(1) 9-11;
48. Fairley, P., Krochta, J.M., and German, J.B. Interfacial interactions in edible emulsion films from whey protein isolate. *Food hydrocolloids*, 1997, 11:245-252.
49. Fang, Y., Tung, M.A., Britt, I.J., Yada, S. and Dalgleish, D.G. 2002. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. *Journal of Food Science*, 2002, 67:188-193.
50. Ferry, J.D., 1948. Protein gels. *Adv. Protein Chem.*, 4, 1-78.
51. Forrest, J.C., Aberle, E.D., Hedrick, H.B., Judge, M.D., Merkel, R.A. 1975. *Principles of meat Sciences*, W.H. Freeman and Co., San Francisco, 320.
52. Fretheim, K., Samejima, K., & Egelanddal, B., 1986. Myosins from red and white bovine muscles: Part 1 – Gel strength (elasticity) and water-holding capacity of heat-induced gels. *Food Chemistry*, 22, 107-121.
53. García, F.T., Sobral, P.J.A. Effect of the thermal treatment of the film-forming solution on the mechanical properties, color and opacity of films based on muscle proteins of two varieties of tilapia. *LWT – Food Science and Technology*, 2005, 38:289-296.
54. Gennadios, A., Weller, C.L., Hanna, M.A. and Froning, G.W. Mechanical and barrier properties of edible wheat gluten-based films. *J. Food Sci.*, 1996, 61:585-589
55. Gennadios, A., Weller, C.L., 1990 Edible films and coatings from wheat and corn proteins, *Food Technology*, 44(10);63-69.
56. Gennadios, A., Weller, C.L., Testin, R.F., 1993b. Temperature effect on oxygen permeability of edible protein-based films. *J. Food Sci.*, 58;212-214,219.
57. Ghorpade, V.M., Gennadios, A., Hanna, M.A. and Weller, C.L. Soy protein isolate/poly(ethylene oxide) films. *Cereal Chemistry*, 1995, 72:559-563.
58. Gontard, N., C. Duchez, C., Cuq, J.L., and Guilbert, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: Water vapor permeability and other physical properties. *Int. J. Food Sci. & Technol.*, 1994, 29:39-50.
59. Gontard, N., Guilbert, S, Cuq, J.L., 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science* 58;206-2011.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

60. Goto, Y., Fink, A.L., 1994., Acid Induced Folding of Heme Proteins. In *Methods in Enzymology*; Academic Press, Inc.: New York, 3-15.
61. Gounga, M.E., Xu, S.Y. and Wang, Z., Whey protein isolate-based edible films as effected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. *Journal of Food Engineering*, 2007, 83:521-530.
62. Gouin, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci. Technol.*, 2004, 15:330-47.
63. Gnanasambandam, R, Hettiarachchy, N.S. and Colema, M., Mechanical and barrier properties of rice bran films. *J. Food Sci.*, 1997, 62:395-398.
64. Guterres, S.S., BeckII, R.C.R., Pohlmann, A.R., (2009). Spray drying technique to prepare innovative nanoparticulated formulations for drug administration: a brief overview. *Braz. J. Phy.*, 2009, 39(1):205-209.
65. Gutcho M.M.(Ed). *Microcapsules and microencapsulation Techniques*. Noyes Data Co., New Jersey, USA, 1976.
66. Hamaguchi, P.Y., Weng, W.Y. and Tanaka, M., 2007. Effect of pH on the formation of edible films made from the muscle proteins blue marlin (*Makaira macara*). *Food Chem.*, 914-920.
67. Han, J., Guenie,r A.S., Salmieri, S., Lacroix, M. Alginate and Chitosan Functionalization for Micronutrient Encapsulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008 56(7):2528-2535.
68. Hennigar, C.J., Buck, E.M., HultIn: H.O., Peleg, M., Vareltsis, K., 1989. Mechanical properties of fish and beef gels prepared with and without washing and sodium chloride. *J. Food Qual.*, 12, 155-156.
69. Hermansson, A.M., Harbitz, O., Langton, M., 1986. Formation of two types of gels from bovine myosin. *J. Sci. Food Agric.*, 37, 69-84.
70. Hernandez-Munoz, P., Villalobos, R. and Chiralt, A. 2004. Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. *Food Hydrocolloids* 18: 403– 411.
71. Hess, S.Y., Zimmermann, M.B., Adou, P., Torresani, T., Hurrell, R.F., Treatment of iron deficiency in goitrous children improves the efficacy of iodized salt in Cote d'Ivoire. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002a, 75(4):743-748.
72. Hess, S.Y., Zimmermann, M.B., Arnold, M., Langhans, W., Hurrell, R.F., Iron deficiency anemia reduces thyroid peroxidase activity in rats. *J. Nutr.*, 2002b, 132(7):1951-1955.
73. Hrynets, Y., Omana, D.A., Xu, Y., Betti, M., 2010. Effect of Acid- and Alkaline-Aided Extractions on Functional and Rheological Properties of Proteins Recovered from Mechanically Separated Turkey Meat (MSTM). *Journal of Food Science*, [75\(7\)](#), E477-E486.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

74. Hultin, H.O., Kelleher, S.D., 1999. Process for Isolating a Protein Composition from a Muscle Source and Protein Composition. U.S. Patent 6,005,073.
75. Hun, J. H. and Gennadios, A. (2005). Edible films and coatings: a review. *Innovations in Food Packaging*. ISBN: 0-12-3 11632-5.
76. Hurrell, R.F., Fortification: overcoming technical and practical barriers. *J. Nutr.*, 2002, 132(4 Suppl):806S-812S.
77. Hultin, H.O.; Kelleher, S.D., 2002. Surimi Processing from Dark Muscle Fish. In *Surimi and Surimi Seafood*; J. W. Park, Ed.; Marcel Dekker: New York, 59-77.
78. Ingadottir, B., 2004. The use of acid and alkali-aided protein solubilization and precipitation methods to produce functional protein ingredients from Tilapia. A Thesis presented to the graduate school of the University of Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science, 105 p.
79. Ionescu, A., Berza, M., Banu, C., 1992. Metode și tehnici pentru controlul peștelui și produselor din pește. Editura Universității din Galați, 238p.
80. Ionescu, A., Zara, M., Miron, I., Vasile, A., 2002. The factors that have an influence upon the surimi batters rheological behavior. *Acta Universitatis Cibiniensis, seria F, Chemia*, 5: 75-81.
81. Ionescu, A., Aprodu I., Zara, M., Vasile, A., Gurău, G., 2003. The obtaining and characterization of mechanically deboned chicken meat myofibrillar protein concentrate. *The Annals of University "Dunarea de Jos" of Galati, Romania, Fascicle IV-Food Technology*, 44-53.
82. Ionescu, A., Aprodu, I., Alexe, P., 2009. Tehnologii generale – Tehnologie și control în industria cărnii, Galați University Press, 123 p.
83. Ionescu, A., Aprodu, I., Daraba, A., Mendoca, A., Gurau, G., Mitrofan, D., 2010. The effects of transglutaminase upon the functional and rheological properties of poultry protein myofibrillar concentrate. *Journal of environmental protection and ecology*, 11 (Ref. No. 1465/24.0209).
84. Ionescu, A., Aprodu, I., Daraba, A., Porneala, L., 2008. The effects of transglutaminase on the functional properties of the myofibrillar protein concentrate obtained from beef heart. *Meat Science*, 79(2), 278-284.
85. Ionescu, A., Aprodu, I., Zara, M., Porneală, L., 2007, Estimation of some functional properties of the myofibrillar protein concentrate from beef heart. *Scientific study & research – Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, Vol VII, 155-170.
86. Ionescu, A., Zara M., Gurău, G., Aprodu, I., Vasile, A., Paltânea, E., 2006. Procesarea industrială a peștelui. Editura Fundației Universitare "Dunărea de Jos", Galați, 334p.
87. Ishioroshi, M, Samejima, K, Yasui, T., 1979. Heat-induced gelation of myosin: factors of pH and salt concentrations. *J. Food Sci.*, 44, 1280-1284.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

88. Iwabuchi, S., Yamauchi, F., 1987a. Determination of glycinin and β -conglycinin in soybean proteins by immunological methods. *J. Agric. Food Chem.*, 35, 200-205.
89. Iwabuchi, S., Yamauchi, F., 1987b. Electrophoretic analysis of whey proteins present in soybean globulin fractions. *J. Agric. Food Chem.*, 35, 205-209.
90. Iwata, K., Ishizaki, S., Handa, A., & Tanaka, M., 2000. Preparation and characterization of edible films from fish-water soluble proteins. *Fisheries Science*, 66, 372-378.
91. Kaewprachu, P., Osako, K., Benjakul, S., Rawdkuen, S., Effect of protein concentrations on the properties of fish myofibrillar protein based film compared with PVC film. *Journal of Food Science and Technology*, 2016, 53(4):2083-2091 (Abstract).
92. Ke, S., Hultin: H.O., 2005. Role of reduced ionic strength and low pH in gelation of chicken breast muscle protein. *J. Food Sci.*, 70, E1-6.
93. Kenny, T.A., and Ward, P., 1997. Use of meat by-product emulsions in reformed meat products. Presentation at Workshop at the National Food Centre.
94. Kim, K.I., Yoon, Y.H. & Baek, Y.J., Effects of rehydration media and immobilization in Ca-alginate on the survival of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum*. *Korean J Dairy Sci.*, 1996, 18:193-198.
95. Klaypradit, W. and Huang, Y.W., Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. *LWT*, 2008, 41:1133-1139.
96. Kolanowski, W., Laufenberg, G., and Kunz, B., Fish oil stabilisation by microencapsulation with modified cellulose. *Inter. J. Food Sci. Nutrition*, 2004, 55:333-343.
97. Kowalczyk, D. , Baraniak, B., Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films, *Journal of Food Engineering*, Vol.105, No.2, 2011, pp. 295-305.
98. Kristinsson, H.G., and Hultin, H.O., 2003 . Effect of Low and High pH Treatment on the Functional Properties of Cod Muscle Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5103-5110.
99. Krochta, M. and Johnston, C.D: Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technol.*, 1997, 51:61-74.
100. Krochta, J. M. Films, edible. 1997. In *The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology*, 2nd Edition. A.L. Brody and K.S. Marsh (Eds.) John Wiley & Sons, Inc. New York.
101. Krochta, J.M., Proteins as raw materials for films and coatings: Definitions, current status and opportunities. In: "Protein-based films and coatings". A. Gennadios (Ed.), p.1, CRC Press Inc. Publishing Co., New York, CT, 2002, 1-39.
102. Lai, H.M. and Padua, G.W. Water vapor barrier properties of zein films plasticized with oleic acid. *Cereal Chem.*, 1998, 75, 194-1998.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

103. Lan, Y.H., Novakofski, J., McCusker, R.H., Brewer, M.S., Carr, T.R., McKeith, F.K., 1995a. Thermal gelation of pork, beef, fish, chicken, and turkey muscles as affected by heating rate and pH. *J. Food Sci.*, 60, 936-940, 945.
104. Lan, Y.H., Novakofski, J., McCusker, R.H., Brewer, M.S., Carr, T.R., McKeith, F.K., 1995b. Thermal gelation properties of protein fractions from pork and chicken breast muscles. *J. Food Sci.*, 60, 742-747.
105. Lanier, T.C., 1986 Functional properties of surimi. *J. Food Technol.* 3, 107–114&124.
106. Lanier, T.C., Lee, C.M., 1992. *Surimi tehnology*. Marcel Dekker, Inc., New York, 528p (pag. 223).
107. Lee, C.M., 1984. Surimi process technology: *Food Technol.*, 38, 11, 69.
108. Lee, C.M., 1986a. Surimi manufacturing and fabrication of surimi - based products. *Food Technol.*, 40, 3, 115.
109. Lefèvre, F., Fauconneau, B., Ouali, A., Culioli, J., 1998. Thermal gelation of brown trout myofibrils, effect of muscle type, heating rate and protein concentration. *J. Food Sci.*, 63, 299-304.
110. Lesiów, T., Xiong, Y.L., 2001a. Gelation properties of poultry myofibrillar proteins and comminuted poultry meat: effect of protein concentration, pH and muscle type: a review. *Fleischwirtschaft*, 4, 39-44.
111. Lesiów, T., Xiong, Y.L., 2003. Chicken muscle homogenate gelation properties, effect of pH and muscle fiber type. *Meat Sci.*, 64, 399-403.
112. Limpan, N., Prodpran, T., Benjakul, S. and Prasarpran, S. 2010. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. *Journal of Food Engineering* 100: 85–92.
113. Lin, M.J.Y., Humbert, E.S., and Soulski, F.W., 1974. Certain functional properties of sunflower meal products. *J. Food Sci.*, 39, 368-374.
114. Limpan, N., Prodpran, T., Benjakul, S., Prasarpran, S., Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly(vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films. *Food Hydrocolloids*, 2012, 29:226-233.
115. Liu, G., Xiong, Y.L., 1996. Contribution of lipid and protein oxidation to rheological differences between chicken white and red muscle myofibrillar proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 779-784..
116. Liu, R., Zhao, S.M., Xiong, S.B., Xie, B.J., Qin: L.H., 2008. Role of secondary structures in the gelation of porcine myosin at different pH values. *Meat Sci.*, 80, 632-639.
117. Mackie, I.M., 1993. The effects of freezing on flesh proteins. *Food Reviews International*, 9(4), 575-610.
118. Mackie, I.M., 1994. Fish Protein. In: *New and Developing Sources of Food Proteins*; B. J. F. Hudson, Ed.; Chapman and Hall, New York, 95-143.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

119. Des Marchais, L-P., Foisy, M., Mercier, S., Villeneuve, S., Mondor M., 2011, Bread-Making Potential of Pea Protein Isolate Produced by a Novel Ultrafiltration/Diafiltration Process, *Procedia Food Science*, 1, 1425-1430;
120. McClements, J., 1999. Rheological Properties of Emulsions. In *Food Emulsions. Principles, Practice and Techniques*; CRC Press: Boca Raton, 1999; pp 254-264.
121. McClements, D. & Lesmes, U., Structure-function relationships to guide rational design and fabrication of particulate food delivery systems. *Trends Food Sci. Technol.*, 2009. 20:448-457.
122. McHugh, T.H. and Krochta, J.M. 1994. Dispersed phase particle size effects on water vapor permeability of whey protein-beeswax edible emulsion films. *J. Food Process. Preserv.*, 1994, 18(3):173-188.
123. McKeith, F.K., Bechetel, P.J., Novakofski, J., Park, S., and Arnold, J.S., 1988. Characteristics of surimi-like material from beef, pork meat, and beef byproducts. *Proc. Intl. Congr. Meat Sci. Technol.*, 34: 325-326.
124. Montalvo-Paquini, C., Rangel-Marrón, M., Palou, E. and López-Malo, A., Effect of pH on physical properties of edible films from faba bean protein. *Recent advances in Chemical Engineering, Biochemistry and Computational Chemistry*, ISBN: 978-960-474-342-1, 2013, 29-34
125. Mutilangi, W. A. M., Panyam, D., & Kilara, A. (1996). Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. *Journal of Food Science*, 61, 270–274, 303.
126. Na Hye-Sook, Kim Ji-Na, Kim Jin-Man, Lee Ki-Young. Encapsulation of fish oil using cyclodextrin and whey protein concentrate. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2011, 16(6):1077-1082.
127. Nemet, N.T., Šošo, V.M. and Lazić, V.L., Effect of glycerol content and pH value of film-forming solution on the functional properties of protein-based edible films. *APTEFF*, 2010, 41, 57-67.
128. Nuthong, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Effect of some factors and pretreatment on the properties of porcine plasma protein-based films. *Food Science and Technology*, 2009, 42:1545-1552.
129. Orliac, O., Rouilly, A., Silvestre, F. and Rigal, L., 2002. Effects of additives on the mechanical properties, hydrophobicity and water uptake of thermo-moulded films produced from sunflower protein isolate. *Polymer* 43: 5417–5425.
130. Papachristou, C., Badeka, A., Chouliara, I., Kondyli, E., Kpurtios, L., Kontominas, M.G., 2006. Evaluation of polyethylene terephthalate as a packing material for premium quality whole pasteurized milk in Greece. Part. II. Storage under fluorescence light. *European Food and Technology*, 224, 237-247

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

131. Paredi, M.E., Davidovich, L.A., Crupkin, M., 1999. Thermally induced gelation of squid (*Illex argentine*) actomyosin. Influence of sexual maturation. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 3592-3595.
132. Park, J.W., and Morrissey, M.T., 2000. Manufacturing of surimi from light muscle fish. In *Surimi and Surimi Seafood*, ed. J.W. Park, 23-58. New York, NY: Marcel Dekker Publishing Company Inc.
133. Park, H.K., Ito, T., Fukazawa, T., 1975. Comparison between normal and PSE porcine muscle in the extractability of myosin B and in the rheological properties of those sausages. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 46, 360-366.
134. Park, J.W., 1994. Functional protein additives in surimi gels. *J. Food Sci.*, 59, 525-527.
135. Park, H.J. and Chinnan, M.S., Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *J. Food Eng.*, 1995, 25:497-507.
136. Parris, N., Cooke, P.H. & Hicks, K.B., Encapsulation of Essential Oils in Zein Nanospherical Particles. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53:4788-4792.
137. Paschoalick, T. M., Garcia, F. T., Sobral, P. J. A. and Habitante, A. M. Q. B. 2003. Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile tilapia. *Food Hydrocolloids* 17: 419– 427.
138. Pearson, A.M., 1983. Soy proteins. In B. J. F. Hudson (Ed.). *Developments in food proteins-2*. Essex, England: Applied Science Publishers, 67-108.
139. Pellet, P.L and Young, V.R. (1990) Role of meat as a source of protein and essential amino acids in human nutrition. In: Pearson and Dutson, 329-370.
140. Perez-Gago, M.B., & Krochta, J.M., 2001. Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. *Journal of Food Science*, 66(5), 705-710.
141. Petrucci, S, Anon, M.C., 1994. Soy protein isolates components and their interactions. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 1762-1767.
142. Phillips, L. G., Whitehead, D. M., & Kinsella, J. E. (1994). Protein stabilized foams. In L. G. Phillips, D. M. Whitehead, & J. E. Kinsella (Eds.), *Structure-function of food proteins*, New York, USA: Academic Press, 131-152.
143. Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Nunes, M.L. and Marques, A., Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, 2013, 30:224- 231.
144. Pîrvu, C., Manole, C. C., Stoian, A. B., Demetrescu, I., 2011. Understanding of electrochemical and structural changes of polypyrrole/polyethylene glycol composite films in aqueous solution, *Electrochimica Acta*, Volume 56, Issue 27, 30 November 2011, Pages 9893-9903

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

145. Pol, H., Dawson, P., Acton, J. and Ogale, A., Soy protein isolate/corn-zein laminated films: transport and mechanical properties. *J. Food Sci.*, 2002, 67(1):212-217.
146. Porzio, M.A., Flavor delivery and product development. *Food Technol.*, 2007,1(07):22-29.
147. Potter, S.M., 1995. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. *J. Nutr.*, 125, 606S-611S.
148. Prodpran, T. and Benjakul, S., Acid and alkaline solubilization on properties of surimi based film. *Songklanakarin. Journal of Science and Technology*, 2005, 27(3):563-574.
149. Prüsse, U., Bilancetti, L., Bucko, M., Bugarski, B., Bukowski, J., Gemeiner, P., et al., Comparison of different technologies for alginate beads production. *Chem. Pap.*, 2008, 62(4):364-374.
150. Ragenstein, J., and Lanier, T.C., 1986. Surimi: Boon or Boodoggle? *Seafood Leader*, 6, 152.
151. Rhim, J.W., Gennadios, A., Handa A., Weller, C.L., Hanna, M.A., Solubility, tensile, and color properties of modified soy protein isolate films. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48: 4937– 4941.
152. Ringseis, R., Matthes B., Lehmann, V., Becker, K., Schöps R., Ulbrich-Hoffmann, R., and Eder, K., 2005. Peptides and hydrolysates from casein and soy protein modulate the release of vasoactive substances from human aortic endothelial cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1721, 89-97.
153. Robe, G.H., Xiong, Y.L., 1993. Dynamic rheological studies on salt-soluble proteins from three porcine muscles. *Food Hydrocoll.*, 7, 137-146.
154. da Rocha, M., Loiko, M.R., Gautério, G.V., Tondo, E.C., Prentice, C., Influence of heating, protein and glycerol concentrations of film-forming solution on the film properties of Argentine anchovy (*Engraulis anchoita*) protein isolate. *Journal of Food Engineering*, 2013, 116:666-673.
155. Rostamzad, H., Paighambari, S.Y., Shabanpour, B. and Ojagh, S. M. Characteristics of a biodegradable protein based films from Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and their application in Silver carp fillets. *International Food Research Journal* 22(6): 2318-2326 (2015)
156. Samejima, K., Ishioroshi, M., & Yasui, T., 1981. Relative roles of the head and tail portions of the molecule in heat-induced gelation of myosin. *Journal of Food Science*, 46, 1412-1418.
157. SAS INSTITUTE, 1990, SAS User's Guide : Statistic, v.6, 4 ed.The Institute : Cary,NC;
158. Schoenlechner, R., Szatmari, M., Bagdi, A., Tomoskozi, S., 2013, Optimisation of bread quality produced from wheat and proso millet (*Panicum miliaceum* L.) by adding emulsifiers, transglutaminase and xylanase, *Food Science and Technology* 51(1), 361-366;

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

159. Sothornvit, R., Rhim, J. and Hong, S., Effect of nano-clay type on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/clay composite films. *Journal of Food Engineering*, 2009, 91:468–473.
160. Schrooyen, P.M., van der Meer, R., De Kruif, C.G., Microencapsulation: its application in nutrition. *Proc. Nutr. Soc.*, 2001, 60:475-479.
161. Semba, R.D., Bloem, M.W., The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2002, 56(4):271-281.
162. Seligson, F.H., Mackey, L.N., 1984. Variable Predictions of Protein Quality by Chemical Score Due to Amino Acid Analysis and Reference Pattern, *Journal of Nutrition*, 682-691;
163. Sharp, A., Offer, G., 1992. The mechanism of formation of gels from myosin molecules. *J. Sci. Food Agric.*, 58, 63-73.
164. Shiku, Y., Hamaguchi, P. Y., & Tanaka, M., 2003. Effect of pH on the preparation of edible films based on fish myofibrillar proteins. *Fisheries Science*, 69, 1026-1032.
165. Shiku, Y., Hamaguchi, P.Y., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Tanaka, M. Effect of surimi quality on properties of edible films based on Alaska Pollack. *Food Chemistry*, 2004, 86: 493–499.
166. Shiku, Y., Hamaguchi, P.Y., and Munehiko Tanaka. Effect of pH on the preparation of edible films based on fish myofibrillar proteins. * *Fisheries science* 2003; 69: 1026–1032
167. Sikorski, Z.E. and Noczka, M. Modification of technological properties of fish proteins concentrates. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1981, 14:202-230.
168. Sothornvit, R. , Krochta, J.M., Water vapor permeability and solubility of films from hydrolyzed whey protein, *Journal of Food Science*, Vol.65, No.4, 2000, pp. 700–703.
169. Sothornvit, R. and Krochta, J.M. Plasticizer effect on mechanical properties of β -lactoglobulin films. *Journal of Food Engineering*, 2001, 50:149-155.
170. Smith, A.B., O'Neill, E., 1997. Heat-induced gelation properties of surimi from mechanically separated chicken. *J. Food Sci.*, 62, 326-330.
171. Smith, D.M., 2001. Functional properties of muscle proteins in processed poultry products. In: Sams AR, editor. *Poultry meat processing*. Boca Raton, Fla., CRC Press.
172. Smith, D.M., Alvarez, V.B., Morgan, R.G., 1988. A generalized model for predicting heat-induced chicken myofibrillar protein gel strength. *J Food Sci.*, 53, 359-362.
173. Smith, D.M., Alvarez, V.B., Morgan, R.G., 1988. A generalized model for predicting heat-induced chicken myofibrillar protein gel strength. *J. Food Sci.*, 53, 359-362.
174. Sobral, P.J.A., Ocuno, D., Savastano, Jr.H., 1998, Preparo de Proteinas Miofibrilares de Carne E Elaboracao de Biofilmes com Dois Tipos de Acidos Propriedades Mecânicas, Braz., *Journal of Food Technology* 1:(1/2), 44-52;

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

175. Sobral, P.J.A., Propriedades funcionais de biofilmes de gelatin em função da espessura. *Ciência & Engenharia*, 1999, 8(1):60-67.
176. Sobral, P.J.A., Influência da espessura sobre certas propriedades de biofilmes à base de proteínas miofibrilares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2000, 35(6):251-259.
177. Sobral, P.J.A., Santos, J.S.S., García, F.T., Effect of protein and plasticizer concentrations in film forming solutions on physical properties of edible films based on muscle proteins of a Thai Tilapia. *Journal of Food Engineering*, 2005, 70:93-100.
178. Srinivasan, S., Xiong, Y.L., and Decker, E.A., (1996) Inhibition of protein and lipid oxidation in beef heart surimi by antioxidants or a combination of pH, NaCl, and buffer type in washing media. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 119-125.
179. Stabursvik, E., Fretheim, K., Frøystein, T., 1984. Myosin denaturation in pale, soft, and exudative PSE porcine muscle tissue as studied by differential scanning calorimetry. *J. Sci. Food Agric.*, 35, 240-244.
180. Stefansson, G., Hultin, H.O., 1994. On the Solubility of Cod Muscle Proteins in Water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2656-2664.
181. Stone, D.W., Stanley, A.P., 1992. Mechanisms of fish muscle gelation. *Food Res. Int.*, 25, 381-388.
182. Suhrendo, E.L., Waniska, R.D., Rooney, L.W., 1993, Effect of Added Proteins in Wheat Tortillas, *Cereal Chemistry* 70(4), 412-416.
183. Swaisgood, H.E., 1992. Chemistry of the caseins. In *Advanced Dairy Chemistry- Vol 1: Proteins*; Fox, P.F., Ed., Elsevier Science Publishers: Essex, 63-110.
184. Tanaka, M., Shoichiro, Ishizaki, Toru, Suzuki and Rikuo, Takai., Water Vapor Permeability of Edible Films Prepared from Fish Water Soluble Proteins as Affected by Lipid Type 1. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, 2001, 87:31-37.
185. Tao, Z., Weng W.Y., Cao, M.J., Liu, G.M., Su, W.J., Osako & K., Tanaka, M. Effect of blend ratio and pH on the physical properties of edible composite films prepared from silver carp surimi and skin gelatin. *J. Food Sci. Technol.*, 2015, 52(3):1618-1625.
186. Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Songtipya, P., 2011. Characteristics of film based on protein isolate from red tilapia muscle with negligible yellow discoloration. *International Journal of Biological Macromolecules* 48, 758– 767.
187. Trinick, J., Elastic filaments and giant proteins in muscle. *Cur. Opin Cell Biol.*, 1991, 3:112-119.
188. Undeland, I.A., Kelleher, S.D., Hultin, H.O., McClements, J., Thongraung, C., 2003. Consistency and Solubility Changes in Herring (*Clupea harengus*) Light Muscle Homogenates as a Function of pH. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3992-3998.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

189. Utsumi, S., Inaba, H., Mori, T., 1981. Heterogeneity of soybean glycinin. *Phytochemistry*, 20, 585-289.
190. Van Den Berg, H., Faulks, R., Granado, H.F., Hirschberg, J., Olmedilla, B., Southon, S., Stahl, W., The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systemic effects. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, 80:880-912.
191. Vanin, F.M., Sobral, P.J.A., Menegalli, F.C., Carvalho, R.A. and Habitante, A.M.Q.B., Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. *Food Hydrocolloids*, 2005, 19:899-907.
192. Venkateswaran, V., Fleshner, N.E., Sugar, L.M., Klotz, L.H., Antioxidants block prostate cancer in lady transgenic mice. *Cancer Res.*, 2004, 64:5891-5896.
193. Venugopal, V., Kakatkar, A., Bongirwar, D.R., Karthikeyan, M., Mathew, S., Shamasundar, B.A., 2002. Gelation of shark meat under mild acidic conditions, physicochemical and rheological characterization of the gel. *J. Food Sci.*, 67, 2681-2686.
194. Vieira, M.G.A., Silva, M.A., Santos, L.O., Beppu, M.M., 2011. Natural-based plasticizers and biopolymer films: a review. *European Polymer Journal* 47, 254–263.
195. Vos, P., Faas, M.M., Spasojevic, M. & Sikkema, J., Review: Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *Int. Dairy J.*, 2010, 20:292-302
196. Wahyuni, M., Ishizaki, S., & Tanaka, M., 1998. Improvement of thermal stability of fish water soluble proteins with glucose-6-phosphate through the Maillard reaction. *Fisheries Science*, 64(6), 973-978.
197. Wandrey, C., Bartkowiak, A. & Harding, S.E., Materials for Encapsulation In: Zuidam N.J., Nedovic, V.A. (Eds.) *Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing*, Springer: Dordrecht, The Netherlands; 2009, p. 31-100.
198. Wang, S.F., Smith, D.M., Steffe, J.F., 1990. Effect of pH on the dynamic rheological properties of chicken breast salt-soluble proteins during heat-induced gelation. *Poultry Sci.*, 69, 2220-2227.
199. Weng, W.Y., Hamaguchi, P.Y., Osako, K., Tanaka, M., 2007. Properties of Edible Surimi Film as Affected by Heat Treatment of Film-Forming Solution. *Food Sci. Technol. Res.*, 23(4), 391-398.
200. Weng, W.Y., Hamaguchi, P.Y., Shiku, Y. and Tanaka, M., 2006. Preparation and characterization of edible films based on Alaska pollack surimi. *Kaishi Nippon Shokuhin Kagaku Kogak*, 53, 103-108.
201. Westphalen, A.D., Briggs, J.L., & Lonergan, S. M., 2005. Influence of pH on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat induced gelation. *Meat Science*, 70, 293-299.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

202. Westphalen, A.D., Briggs, J.L., Lonergan, S.M., 2006. Influence of muscle type on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat-induced gelation. *Meat Science*, 72, 697-703.
203. Xiong, Y.L., 1993., A comparison of the rheological characteristics of different fractions of chicken myofibrillar proteins. *J. Food Biochem.*, 16, 217-227.
204. Xiong, Y.L., 1992. Thermally induced interactions and gelation of combined myofibrillar proteins from white and red broiler muscles. *J. Food Sci.*, 57, 581-585.
205. Xiong, Y.L., 1994. Myofibrillar protein from different muscle fiber types: Implications of biochemical and functional properties in meat processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34, 293-320.
206. Xiong, Y.L., 1997 Structure-Function Relationship of Muscle Proteins. In *Food Proteins and Their Applications*; S. Damodaran and A. Paraf, Eds.; Marcel Dekker: New York, 341-392.
207. Xiong, Y.L., 2000. Meat Processing. In *Food Proteins, Processing Applications*; S. Nakai and H. W. Modler, Eds.; Wiley-VCH: New York, 89-145.
208. Xiong, Y.L., Blanchard, S.P., 1993. Viscoelastic properties of myofibrillar-polysaccharide composite gels. *J. Food Sci.*, 58, 164-167.
209. Xiong, Y.L., Brekke, C.J., 1991. Protein extractability and thermally induced gelation properties of myofibrils isolated from pre-rigor and post-rigor chicken muscles. *J. Food Sci.*, 56, 210-215.
210. Yasui, T., Ishiroshi, M., and Samejima, K., 1980. Heat-induced gelation of myosin in the presence of actin. *J. Food Biochem.*, 4, 61-78.
211. Yongsawatdigul, J.; Park, J.W., 2004. Effects of Alkali and Acid Solubilization on Gelation Characteristics of Rockfish Muscle Proteins. *Journal of Food Science*, 69, 499-505.
212. Yusufali, R., Appropriate technologies for double fortification of salt. M.A. Sc. Thesis, University of Toronto, 2002.
213. Zadow, J.G., 1992. *Whey and Lactose Processing*. Elsevier Applied Science, London, 449-460.
214. Zahedi, Y., Ghanbarzadeh, B., Sedaghat, N., Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids. *Journal of Food Engineering*, 2010, 100(1):102-108.
215. Zayas, F.J., 1997: *Functionality of proteins in Food*: ed. Springer, 373p.
216. Zimmermann, M.B., Jooste, P.L., Mabapa, N.S., Schoeman, S., Biebinger, R., Mushaphi, L.F., Mbhenyane, X., Vitamin A supplementation in iodine-deficient African children decreases thyrotropin stimulation of the thyroid and reduces the goiter rate. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2007, 86(4):1040-1044.

Cercetări privind obținerea, caracterizarea și utilizarea proteinelor miofibrilare în industria alimentară

217. Zimmermann M.B., Adou P., Torresani T., Zeder C., Hurrell R.F. Persistence of goiter despite oral iodine supplementation in goitrous children with iron deficiency anemia in Cote d'Ivoire. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000a, 71(1):88-93.
218. Zimmermann, M.B., Adou, P., Torresani, T., Zeder, C., Hurrell, R.F., Iron supplementation in goitrous, iron-deficient children improves their response to oral iodized oil. *Eur J Endocrinol.*, 2000b, 142(3):217-223.
219. Zimmermann, M.B. and Windhal, J.E., Chapter 7. Encapsulation micronutrients In: Encapsulation of iron and other micronutrients for food fortification, ed. Zuidam N.J. and Nedovic V., 2009, 187-208.
220. Zuidam, N.J. & Shimon, E., Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: Zuidam, N.J., Nedovic, V.A., (Eds.). Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing, Springer: Dordrecht, The Netherlands; 2009, p. 3-31
221. Zuidam, N.J. & Heinrich, J., Encapsulation of aroma. In: Zuidam N.J., Nedovic V.A., (Eds.). Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing; Springer: Dordrecht, The Netherlands; 2009, 127-60.