

LABORATOR NR. 1.

Conservarea produselor alimentare prin acidificare

1. Considerații generale privind conservarea produselor alimentare prin acidificare

Conservarea produselor alimentare prin acidificare se poate realiza prin trei metode: prin acidificare *naturală*, prin acidificare *artificială* și prin acidificare *mixtă*.

1.1. Conservarea produselor alimentare prin acidificare naturală

Conservarea prin acidificare naturală, denumită și *conservare biochimică* se bazează, în principal, pe acțiunea antiseptică a *acidului lactic* rezultat prin fermentație lactică. Conservarea este ajutată și de producerea de *bacteriocine* în mediul de fermentare (proteine produse de unele specii de bacterii care distrug alte specii de bacterii prin blocarea sintezei de proteine), de producerea de H_2O_2 (de către unele bacterii lactice) și de competiția pentru nutrienți între bacteriile lactice și cele de alterare. Fermentația lactică se utilizează la obținerea unei game diverse de produse alimentare cum sunt: *produsele lactate* (iaurt, lapte bătut, chefir, smântână), *produsele vegetale murate* (varză, castraveți, gogonele, măslin, pepeni verzi), borș, bragă. Microorganismele care produc fermentația lactică sunt denumite *fermenți lactici* și sunt constituite din *bacterii lactice* care pot fi: *homofermentative* (transformă glucidele numai în acid lactic) și *heterofermentative* (care, în afară de acid lactic, formează diverși produși secundari).

1.1.1. Conservarea produselor vegetale prin fermentație lactică

Substratul fermentativ îl formează zaharurile simple (hexoze și pentoze). Procesul de fermentație se produce sub acțiunea microflorei epifite de pe produsele supuse fermentării și reprezintă un fenomen complex, însumând în afară de fermentația principală lactică și fermentații secundare: alcoolică, acetică, propionică, butirică. Fermentația lactică este considerată terminată atunci când aciditatea titrabilă nu mai crește într-un interval de 10 zile.

1.1.2. Conservarea produselor lactate acide

Conservarea produselor lactate acide are la bază acțiunea acidului lactic produs prin fermentație lactică, într-o cantitate suficient de mare astfel încât

pH-ul să scadă la o valoare care să prevină dezvoltarea microorganismelor dăunătoare. Substratul fermentativ îl formează lactoza. Procesul de fermentație se petrece sub acțiunea *microflorei spontane a laptelui* sau a unei *culturi de bacterii selecționate* care aparțin următoarelor grupe: streptococi lactici, lactobacili, leuconostoci.

1.2. Conservarea prin acidificare artificială

Conservarea prin acidificare artificială are la bază *principiul acidoanabiozei* și se realizează cu ajutorul *acidului acetic* sub formă de oțet, la care se adaugă NaCl, zahăr și diferite condimente cu acțiune bacteriostatică și bactericidă. Prin acoperirea produselor alimentare cu soluția acidă se evită dezvoltarea bacteriilor și contaminarea alimentelor cu germenii existenți în mediul exterior. La concentrații cuprinse între 0,6% și 4% acidul acetic exercită o acțiune bacteriostatică; la concentrații peste 4% acțiunea sa poate fi bactericidă (între 4 ÷ 6% sunt distruse formele nesporogene, iar la concentrații de acid acetic mai mari de 6% sunt distruși și sporii). Acidul acetic este utilizat ca agent de conservare la: fabricarea semiconservelor de pește denumite “marinate” (concentrația de acid acetic necesară este de 4%), obținerea unor conserve vegetale (castraveți în oțet, gogoșari în oțet, varză roșie în oțet, ardei capia în oțet, ardei iuți în oțet, conopidă în oțet, hrean în oțet etc.). Pentru că la anumite produse oțetul nu asigură protecție față de drojdii și mucegaiuri, conservarea prin marinare se dublează cu conservarea prin pasteurizare / sterilizare termică.

1.3. Conservarea prin acidificare mixtă

În practică se utilizează adesea o *acidificare mixtă*, în sensul că se face o *fermentație lactică incompletă* (până la 0,8% acid lactic), urmată de o *acidificare artificială acetică* până când aciditatea totală a produsului finit exprimată în acid acetic este de 3%.

2. Parte experimentală

2.1. Determinarea acidității produselor fermentate lactic

Principiul metodei: neutralizarea acidității probei de analizat prin titrare cu o soluție de NaOH 0,1 N, în prezența fenolftaleinei ca indicator.

Reactivi: NaOH 0,1N; soluție alcoolică de fenolftaleină (1%) ca indicator acido-bazic; apă distilată.

2.1.1. Determinarea acidității produselor vegetale fermentate lactic

Mod de lucru

Într-un pahar Erlenmeyer se introduc 10 ml de probă și se diluează cu 10 ml apă distilată. Se titrează cu soluția de NaOH în prezența a 2 sau 3 picături de fenolftaleină, până la apariția culorii roz care persistă minim 30 secunde.

2.1.2. Determinarea acidității produselor lactate acide

Se supun analizei următoarele produse lactate:

Lapte bătut, care funcție de conținutul minim în grăsime (%) poate fi: extra (4% grăsime), Tip I (3,6% grăsime), Tip II (2,0% grăsime), Tip III (0,1% grăsime). Aciditatea (°T) acestor produse variază de la 120 la livrare până la maxim 130 la desfacere.

Iaurt, care funcție de conținutul minim în grăsime (%) poate fi: extra (4% grăsime), tip gras (2,8% grăsime), dietetic (0,1% grăsime). Aciditatea (°T) a acestor produse variază de la 75-145 la livrare până la 160 la desfacere.

Chefir: conține grăsime 3,3%, alcool: 0,2-0,6%, aciditatea (°T): 90-120

Mod de lucru

Determinarea acidității pentru iaurt: într-un pahar Erlenmeyer se introduc 10 ml iaurt, 20 ml apă distilată și câteva picături fenolftaleină. Probele astfel pregătite se omogenizează și se titrează cu soluție NaOH 0,1N, până la apariția colorației roz-pal care persistentă minim 30 de secunde.

Determinarea acidității pentru smântână: într-un pahar Erlenmeyer se introduc 5 ml smântână, 20 ml apă distilată caldă (40-45°C) și câteva picături de soluție de fenolftaleină. Conținutul paharului se omogenizează. Se titrează

cu soluție NaOH 0,1N, până la apariția colorației roz-pal care persistență minim 30 de secunde.

În cazul produselor lactate aciditatea se exprimă în:

- *grade Thorner* – care reprezintă volumul de soluție NaOH 0,1N (exprimat în ml) necesar pentru neutralizarea acidității din 100 ml lapte.

- *grade Soxhlet-Henkel* – care reprezintă volumul de NaOH 0,25N (exprimat în ml) necesar pentru neutralizarea acidității din 100 ml lapte.

Cel mai frecvent aciditatea produselor lactate se exprimă în °T (*grade Thorner*). Aciditatea produselor analizate, exprimată în grade Thorner (°T), se calculează cu formula:

$$\text{aciditate} = \frac{V \cdot 100}{v} \quad (\text{II.1})$$

în care: V = ml NaOH 0,1N folosiți la titrare;

v = ml probă (iaurt, smântână, lapte bătut) folosiți la analiză.

2.2. Determinarea conținutului de acid acetic din produsele conservate prin acidificare artificială

Principiul metodei și reactivii sunt aceiași ca la punctul 2.1.

Mod de lucru

20 ml de probă se introduc într-un balon cotat de 200 ml și se aduc la semn cu apă distilată. Se iau din balon 20 ml de soluție și se titrează cu o soluție de NaOH 0,1N în prezența fenolftaleinei.

Bibliografie

1. Croitor N., Lenco G., (2009), *Tehnologie si control în industria conservelor vegetale – îndrumar de lucrări practice*, Ed. Fundatiei Universitare Dunărea de Jos, Galați

2. Lupea A.X., Botiș M., (1995), *Tehnologii în industria alimentară – îndrumar de laborator*, Rotaprint, Timișoara

3. Ardelean A.G., (2009), *Tehnologii de conservare a legumelor și fructelor – îndrumător de lucrări practice*, Ed. Treira, Oradea

LABORATOR NR. 2.

Conservarea produselor alimentare cu ajutorul substanțelor antiseptice. Determinarea dioxidului de sulf

1. Considerații generale

Substanțele antiseptice (conservanții chimici) au rolul de a:

- *inhiba dezvoltarea bacteriilor patogene* (clostridii, salmonele, stafilococi) și *a mucegaiurilor* (efect bacteriostatic și fungistatic) sau de a le *distruge* (efect bactericid și fungicid) în funcție de concentrația folosită;
- *inactiva anumite sisteme enzimatic*e implicate în metabolismul microorganismelor;
- *stopa producerea toxinelor* de către microorganisme.

Ele pot acționa asupra peretelui celular, membranei citoplasmatică, enzimelor metabolice, sintezei proteinelor sau asupra sistemelor genetice.

Pentru a putea fi folosite substanțele antiseptice trebuie să îndeplinească o serie de condiții:

- să nu fie toxice pentru organismul uman;
- să nu producă forme de rezistență la microorganisme;
- să asigure conservarea în doze cât mai mici;
- să nu modifice calitatea produselor conservate.

În majoritatea cazurilor, utilizarea substanțelor antiseptice este însoțită de aplicarea altor procedee de conservare cum ar fi refrigerarea sau tratamentele termice.

Activitatea substanțelor antiseptice este influențată de:

- *factori proprii substanțelor antiseptice*: natura substanțelor antiseptice, concentrația substanțelor antiseptice;
- *factori proprii microorganismelor*: specia și numărul de microorganisme din substrat, stadiul de dezvoltare a microorganismelor;
- *factori specifici produselor supuse conservării*: compoziția chimică a produselor alimentare și pH-ul acestora, starea fizică și gradul de divizare.
- *alți factori*: durata de contact, temperatura.

Fiecare substanță antiseptică se caracterizează printr-o anumită *putere de inactivare* sau *de distrugere a microorganismelor* denumită doză letală. Rezistența microorganismelor față de substanța antiseptică diferă în funcție de individ, specie și de tulpină și este consecința permeabilităților diferite ale celulelor microorganismelor ca urmare a particularităților structurale și compoziționale. În cazul microflorei epifite normale, eficacitatea antisepticelor este maximă în *faza de lag a dezvoltării microorganismelor*, ceea ce ne conduce la concluzia că sporii nu sunt afectați.

Alimentele care au un conținut ridicat de zaharuri reducătoare (fructe, musturi) micșorează acțiunea antiseptică a SO₂ datorită adăugării acestuia la grupările aldehidice ale zaharurilor.

Majoritatea antisepticelor sunt *acizi slabi* (sau săruri ale acestora) a căror *acțiune inhibitoare se datorează în special moleculei nedisociate*. Prin urmare, cu cât pH-ul mediului este mai mic cu atât substanța antiseptică este mai puțin disociată, iar eficacitatea sa este mai mare (deoarece forma nedisociată pătrunde mai ușor prin membrana citoplasmatică a microorganismelor).

Principalele *clase de substanțe antiseptice* sunt: dioxidul de sulf și derivații săi; azotiții; acizii organici și sărurile lor (acidul benzoic și benzoații, acidul sorbic și sorbații, acidul acetic și acetații, acidul propanoic și propanoații, acidul citric și citații, acidul fumaric și fumaraiții); esteri ai acidului parahidroxibenzoic; esteri ai acizilor grași.

Dioxidul de sulf (SO₂) și *acidul sulfuros* (H₂SO₃) au un spectru larg de acțiune asupra bacteriilor, mucegaiurilor și drojdiilor. Eficiența antimicrobiană crește pe măsură ce mediul este mai acid. Substanțele generatoare de SO₂ sunt: *sulfitul de sodiu* (Na₂SO₃), *sulfitul de potasiu* (K₂SO₃), *bisulfitul de sodiu* (NaHSO₃), *bisulfitul de potasiu* (KHSO₃), *metabisulfitul de sodiu* (Na₂S₂O₅), *metabisulfitul de potasiu* (K₂S₂O₅) etc. Ele se prezintă sub formă de pulbere, care prin dizolvare în apă formează acidul sulfuros (H₂SO₃), ion sulfitic (SO₃²⁻) și ion bisulfitic (HSO₃⁻).

Disulfii (*metabisulfii* sau *pirosulfii* ⁻O₂S - SO₃⁻) trec în soluție în *bisulfii*:



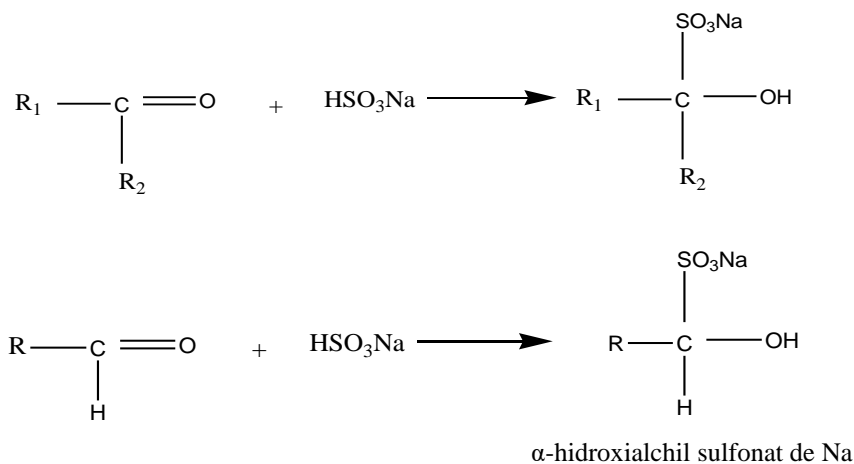
SO₂ este foarte utilizat pentru conservarea fructelor, marcurilor, pastelor, sucurilor și siropurilor de fructe, dulcețurilor, marmeladelor, în vinificație și în tratarea unor legume și fructe înainte de a fi supuse operației de uscare. Dozele active depind de natura produsului și de durata păstrării. Astfel, în cazul sucurilor de fructe, pentru o păstrare de 3 luni, este suficientă o doză de 0,09 – 0,1%, pentru 6 luni 0,15% iar pentru 12 luni 0,2 – 0,24%. În vinificație doza este mult mai redusă (0,005 – 0,04%) datorită efectului conservant al alcoolului etilic.

Concomitent cu *efectul antiseptic*, SO₂ exercită și o *acțiune de blocare a activității enzimelor oxidante* (polifenol oxidaze, peroxidaze și ascorbat oxidaze), permițând păstrarea culorii naturale și a conținutului de vitamine ușor oxidabile.

Prin *dioxid de sulf liber* se înțelege dioxidul de sulf ca atare (dizolvat fizic) sau sub formă de *acid sulfuros* (H₂SO₃), *sulfizi acizi* (HSO₃⁻), *sulfizi neutri* (SO₃²⁻) sau *metabisulfizi* (S₂O₅²⁻).

Prin *dioxid de sulf total* se înțelege *dioxidul de sulf liber* și *cel combinat cu aldehide, cetone, aldoze, cetoze etc.*

În soluție apoasă concentrată, bisulfitul de sodiu (NaHSO₃) formează cu aldehidele și cetonele alifaticе (excepție fac doar cetonele care conțin grupa carbonil lângă un inel aromatic), produși de adiție „combinații bisulfitice”, care sunt sărurile unor acizi sulfonici cu o grupă HO în poziția α. Ele nu sunt stabile și în mediu bazic se descompun în aldehydă sau cetonă, bioxid de sulf și apă.



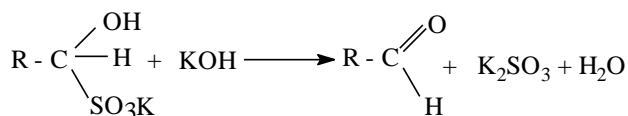
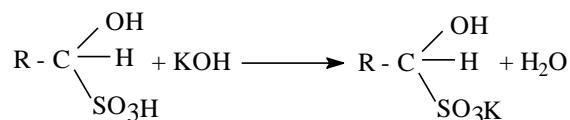
2. Parte experimentală

2.1. Determinarea dioxidului de sulf total

Dioxidul de sulf legat este pus în libertate cu hidroxid de sodiu și împreună cu dioxidul de sulf liber se titrează, în mediu acid, cu soluție de iod, în prezența amidonului ca indicator.

SO₂ legat, trebuie mai întâi eliberat din combinația bisulfitică. În acest scop proba de analizat se tratează cu o soluție de NaOH sau KOH.

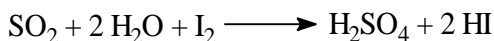
Reacțiile de punere în libertate a bioxidului de sulf sunt:



Pentru a elibera bioxidul de sulf din sulfitul de potasiu (sau din bisulfitul de potasiu), se tratează mai departe proba cu o soluție de acid sulfuric:



Bioxidul de sulf eliberat se titrează cu o soluție de iod în prezență de amidon ca indicator, până la o colorație albastră persistentă care trebuie să se mențină cel puțin 30 de secunde:



2.1.1. Reactivi

- acid sulfuric d = 1,84, diluat 1 : 3;
- hidroxid de sodiu, soluție 1N;
- soluție de iod 0,02 N: 12,7 g iod se dizolvă într-o soluție obținută din 25 g iodură de potasiu și 50 ml apă; soluția obținută se introduce într-un balon

cotat de 1000 ml și se aduce la semn cu apă distilată; din această soluție se iau 200 ml și se aduc cu apă la 1000 ml într-un balon cotate.

- soluție de amidon 1%: 1 g amidon se dizolvă împreună cu 40 g clorură de sodiu, în apă (se completează la 100 ml cu apă distilată); se fierbe 10 minute, apoi se răcește (clorura de sodiu are ca scop asigurarea conservării soluției de amidon).

2.1.2. Modul de lucru

Într-un vas Erlenmeyer de 200 ... 300 ml se introduc 10 ml soluție de hidroxid de sodiu și 50 ml vin. Se închide vasul cu dopul, se agită și se lasă în repaus 5 minute, după care se adaugă 5 ml acid sulfuric și 3 ml soluție de amidon. Se titrează imediat cu soluție de iod, până la o colorație albastră persistentă, care trebuie să se mențină cel puțin 30 secunde.

Se execută în paralel două determinări din aceeași probă.

2.1.3. Calculul și exprimarea rezultatelor

Conținutul de dioxid de sulf total se exprimă în mg/l și se calculează cu formula:

$$\text{Dioxid de sulf total} = \frac{V \cdot 0,64 \cdot 100}{50} = 12,8 \cdot V \text{ [mg/l]}$$

în care:

0,64 – cantitatea de dioxid de sulf, în mg, care corespunde la 1 ml soluție de iod 0,02 N;

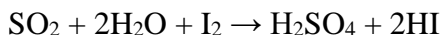
V – volumul soluției de iod 0,02 N folosit la titrare, ml.

2.2. Determinarea dioxidului de sulf liber

SO₂ liber se găsește în cantitate mică sub formă de gaz dizolvat (activ din punct de vedere antiseptic și chimic) în funcție de pH-ul mediului (la un pH de 2,8 SO₂ gazos reprezintă 10 % din SO₂ liber, iar la un pH de 3,8 numai 1%).

2.2.1. Principiul metodei

Dioxidul de sulf liber din produs se titrează cu soluție de iod în mediu acid, în prezența amidonului ca indicator. Are loc oxidarea bioxidului de sulf liber conform reacției:



2.2.2. Reactivi necesari

- acid sulfuric $d = 1,84$ diluat 1 : 3;
- soluție de iod 0,02 N (preparată conform punctului 2.1.1)
- soluție de amidon 1% (preparată conform punctului 2.1.1)

2.2.3. Mod de lucru

Într-un vas Erlenmeyer de 200 ... 300 ml se introduc 10 ml vin. Se adaugă 3 ml acid sulfuric și 2 ml soluție de amidon. Se titrează imediat cu soluție de iod, până la colorație albastră persistentă, care trebuie să se mențină cel puțin 30 secunde.

Se execută în paralel două determinări din aceeași probă de laborator.

2.2.4. Calculul și exprimarea rezultatelor

Conținutul de dioxid de sulf liber se calculează cu formulele de la punctul 2.1.3.

Bibliografie

1. International organisation of vine and wine, (2016), *Compendium of international methods of wine and must analysis*, vol. 1, Paris, 18, Rue d'Aguesseau, 75008

<http://www.oiv.int/public/medias/7372/oiv-compendium-volume-1-2020.pdf>

2. International organisation of vine and wine, (2016), *Compendium of international methods of wine and must analysis*, vol. 2, Paris, 18, OIV - 35 Rue de Monceau, 75008, France

<http://www.oiv.int/public/medias/7414/oiv-compendium-volume-2-2020.pdf>

3. Croitor N., Lenco G., (2009), *Tehnologie si control în industria conservelor vegetale – îndrumar de lucrări practice*, Ed. Fundației Universitare Dunărea de Jos, Galați

4. Radu I.F., *Industrializarea fructelor prin tratare cu bioxid de sulf si uscarea*, Tipografia Vremea, Bucuresti, 1939

5. Lupea A.X., Botiș M., (1995), *Tehnologii în industria alimentară*, Rotaprint, Timișoara

6. Pop F., *Îndrumător de laborator pentru analiza și controlul fizico-chimic al produselor alimentare*, Editura Risoprint, Cluj-Napoca, 2008

7. Danilevici C., Nită M., (2006), *Controlul conservelor vegetale prin analize senzoriale si fizico-chimice – îndrumar de laborator*, Ed. Valahia University Press, Târgoviște

8. Roberts A.C., McWeeny D.J., *The uses of sulphur dioxide in the food industry: A review*, International Journal of Food Science & Technology, (2007), 7(3): 221 – 238

9. Alvaro R., Garcia-Fuentes, Sabrina Wirtz, Ellen Vos and Hans Verhagen, *Short Review of Sulphites as Food Additives*, European Journal of Nutrition & Food Safety, (2015), 5(2): 113-120

LABORATOR NR. 3.

Determinarea conținutului de benzoat de sodiu din produsele alimentare

1. Considerații generale privind acțiunea conservantă a acidului benzoic și a sărurilor sale

Acidul benzoic și sărurile sale (benzoatul de sodiu, benzoatul de potasiu, benzoatul de calciu) se utilizează la conservarea unei game largi de produse alimentare cum ar fi: suc de roșii, sucuri de fructe, gemuri, jeleuri, siropuri, brânzeturi, icre, produse de patiserie, cidru etc. Activitatea antimicrobiană cea mai ridicată se obține la valori scăzute ale pH-ului când predomină forma nedisociată a acidului benzoic, care pătrunde mai ușor prin membrana celulară a microorganismelor.

2. Scopul lucrării

Determinarea concentrației de acid benzoic din diverse produse alimentare în care este folosit ca și conservant prin metoda spectrofotometrică (pentru a verifica dacă s-au respectat limitele de concentrație admise de legislația în vigoare).

3. Reactivi și aparatură

- acid tartric cristalizat;
- acid sulfuric $d = 1,84$, diluat cu apă distilată (2 : 1 v/v);
- soluție apoasă de bicromat de potasiu (33-34 g/l);
- bicarbonat de sodiu;
- eter etilic;
- soluție de hidroxid de sodiu 1N;
- spectrofotometru prevăzut cu cuve de cuarț cu capac.

4. Mod de lucru

4.1. Trasarea curbei de etalonare

Pentru trasarea curbei de etalonare s-au folosit 6 soluții de acid benzoic în eter etilic având următoarele concentrații: 8, 16, 24, 32, 40, 48 mg/ℓ. În soluție eterică acidul benzoic prezintă o absorbantă maximă la lungimea de undă de 272 nm. Se trasează curba etalon trecând pe abscisă concentrațiile de acid benzoic (mg/ℓ), iar pe ordonată valorile corespunzătoare ale absorbantei, pentru lungimea de undă de 272 nm.

4.2. Extracția acidului benzoic din proba analizată

Se cântăresc 10 g de probă și se trec cantitativ cu 30 - 40 ml apă, într-un balon cu dop șlefuit. Se adaugă 30 - 40 mg bicarbonat de sodiu. Se agită și se menține pe baie de apă la temperatura 70 - 80°C, timp de 15 - 30 minute.

Se filtrează conținutul balonului printr-o hârtie de filtru de porozitate medie și se spală de două ori cu câte 15 - 20 ml apă. Filtratul și apele de spălare se colectează într-o pâlnie de separare de 250 ml, care se lasă în repaus până când se ajunge la temperatura camerei.

În pâlnia de separare se introduc 1 g acid tartric și 60 ml de eter etilic. Se agită ușor și se separă stratul eteric. Faza apoasă se spală de 2 ori cu eter etilic (prima dată cu 60 ml de eter etilic și a doua oară cu 30 ml eter etilic).

Extractele eterice rezultate după fiecare spălare se reunesc în altă pâlnie de separare și peste ele se adaugă 10 ml soluție de hidroxid de sodiu și 10 ml apă distilată. Se agită amestecul și se transvazează într-o capsulă. Se repetă operația de spălare/extracție cu 5 cm³ soluție de hidroxid de sodiu și 10 cm³ apă distilată, se agită și se colectează soluția alcalină în aceeași capsulă. Circa jumătate din conținutul capsulei se evaporă prin încălzire pe o baie de apă la 70-80°C, pentru eliminarea completă a urmelor de eter etilic.

4.3. Purificarea acidului benzoic

După răcire, conținutul capsulei se trece într-o pâlnie de separare în care s-au introdus în prealabil 20 ml soluție de acid sulfuric și 20 ml soluție de bicromat de potasiu (pentru oxidarea completă a acizilor 3 hidroxibenzoici

prezenți; acidul benzoic nu este influențat). Se închide pâlnia, se agită și se lasă în repaus 120 minute.

4.4. Extracția acidului benzoic purificat

Soluția obținută se tratează de două ori cu 20 ml eter etilic și se agită. Soluțiile eterice reunite într-o altă pâlnie de separare se spală de două ori cu câte 25 ml de apă. După separare se îndepărtează faza eterică, se filtrează printr-o hârtie de filtru cu porozitate medie și se aduce într-un flacon cotat de 50 cm³. Se spală hârtia de filtru cu eter etilic, până se aduce la semn în balonul cotat. Se efectuează în paralel două extracții din aceeași probă.

4.5. Determinarea spectrofotometrică a concentrației de acid benzoic

Pentru soluția eterică obținută la punctul 4.4. se măsoară absorbanta la lungimea de undă de 272 nm și din curba etalon se determină concentrația de acid benzoic care corespunde acestei valori a absorbanței.

5. Calcularea și exprimarea rezultatelor

Cantitatea de acid benzoic, în mg/kg produs, se calculează cu relația:

$$\text{acid benzoic} = \frac{C \cdot V_1}{m}$$

în care:

c - reprezintă cantitatea de acid benzoic determinată folosind curba etalon, în mg/l;

V₁ – reprezintă volumul total al soluției din balonul cotat, în ml, obținută conform punctului 4.4;

m – masa probei analizate, în g.

Conținutul de benzoat de sodiu se calculează înmulțind conținutul de acid benzoic, exprimat în mg/kg cu factorul de transformare 1,18.

Ca rezultat se ia media aritmetică a două determinări efectuate în paralel (diferența dintre rezultatele acestor două determinări nu trebuie să depășească 10 mg acid benzoic, la 1kg produs).

Bibliografie

1. Iordan M., Stoica A., Mosoiu C.E., (2009), *Conservarea produselor alimentare – Principii și metode clasice și moderne*, Ed. Printech, București
2. Hura C., (2006), *Metode de analiză pentru produse alimentare - Ghid de laborator*, Ed.Cermi, Iași
3. Bejan D., (2003), *Tehnici de analiză și calitatea produselor naturale și alimentare*, Tipografia Universității „Gheorghe Asachi”, Iași
4. Pop F., *Îndrumător de laborator pentru analiza și controlul fizico-chimic al produselor alimentare*, Editura Risoprint, Cluj-Napoca, 2008
5. Danilevici C., Nită M., (2006), *Controlul conservelor vegetale prin analize senzoriale și fizico-chimice – îndrumar de laborator*, Ed. Valahia University Press, Târgoviste

LABORATOR NR. 4.

Conservarea produselor alimentare prin sărare. Determinarea conținutului de sare din produsele alimentare

1. Considerații generale privind conservarea produselor alimentare cu sare

Sărarea se utilizează ca o metodă de conservare de sine stătătoare sau ca metodă de ameliorare a capacității de conservare a produselor alimentare și de îmbunătățire a proprietăților senzoriale (gust, miros, textură) atunci când se combină cu o altă metodă de conservare (refrigerare sau afumare – pentru carne, pește și brânzeturi sau cu pasteurizarea - la produsele vegetale).

Principalele produse alimentare care se conservă prin sărare sunt: carnea și produsele din carne (șuncă, salamuri, slănină etc.); peștele și icrele; brânzeturile maturate; legumele (ardeii; conopida; fasolea verde; mărarul; frunzele de pătrunjel, tarhon, țelină sau viță de vie); ciupercile; măslinile (sunt singurele fructe care se consumă conservate prin sărare).

Produsele alimentare conservate prin sărare suferă în timpul acestui proces o serie de modificări de natură histologică, chimică, biochimică, microbiologică cum ar fi: creșterea consistenței țesuturilor; reducerea conținutului de apă; pierderea de substanțe proteice, substanțe minerale și vitamine; activarea lipazelor; creșterea puterii de reținere a apei în cazul fierberii ulterioare a produselor.

Conservarea prin sărare are la bază următoarele principii biologice:

- principiul *fizioanabiozei* (respectiv al *haloosmoanabiozei*) care constă în creșterea presiunii osmotice a soluțiilor datorită acumulării de NaCl;

- principiul *cenoanabiozei* (respectiv al *halocenoanabiozei*) care presupune înlocuirea *biocenozei naturale* cu o altă *biocenoză indusă* (se modifică starea substraturilor, activitatea enzimatică a acestora și este afectată activitatea metabolică a microorganismelor care contaminatează alimentele).

Sarea dizolvată în sucular creează o presiune osmotică ridicată, care exercită următoarele efecte asupra alimentelor și microorganismelor:

(1) deshidratează celulele microbiene și provoacă dereglarea metabolismului ca urmare a reducerii vitezei reacțiilor enzimatic; (2) creează condiții

improprie pentru dezvoltarea microorganismelor prin micșorarea conținutului de apă liberă din produsele alimentare; (3) dereglează schimbul ionic prin pereții celulelor bacteriene datorită permeabilității reduse a ionilor de sodiu; (4) micșorează solubilitatea oxigenului în saramură (în cazul sărării prin imersie), inhibând parțial dezvoltarea microorganismelor de alterare aerobe; (5) inhibă acțiunea enzimelor proteolitice eliberate de microorganismele de alterare.

Inhibarea activității vitale a microorganismelor care degradează alimentele (bacterii de putrefacție) se produce nu numai datorită acțiunii clorurii de sodiu, ci și datorită acțiunii antagoniste a unor germeni care se dezvoltă în mediul salin (principiul biologic al *halocenoanabiozei*).

Majoritatea bacteriilor nu se pot înmulți în mediile în care concentrația sării este mai mare de 10% (în general între 10÷15%). Excepție fac *bacteriile halofile* („iubitoare de sare”) și *mucegaiurile*. Acestea din urmă pot rezista chiar și la concentrații mai mari de sare.

Sărarea produselor alimentare se poate face prin mai multe metode:

- *sărarea uscată* - constă în tratarea produselor alimentare cu sare uscată sau cu amestec de sărare uscat (care conține sare, silitră, nitrit, zahăr și alți aditivi).

- *sărarea umedă* - se realizează prin introducerea produsului de sărat într-o soluție de sare cu o anumită concentrație, în care se menține un timp variabil, în funcție de tipul produsului și de durabilitatea lui.

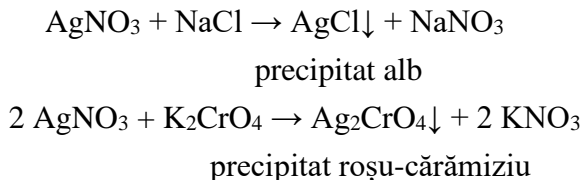
- *sărarea mixtă* - este metoda de sărare cea mai folosită, întrucât asigură o sărare mai uniformă.

2. Metoda Mohr de determinare a conținutului în NaCl din produsele alimentare

2.1. Principiul metodei

În extractul apos neutru sau slab alcalin, obținut din produsul supus analizei, *se titrează ionii de clor* cu o soluție de *azotat de argint* de concentrație cunoscută, în prezența *cromatului de potasiu* ca indicator. În momentul în care toți ionii de clor au trecut sub formă de *clorură de argint* (precipitat de culoare albă), prima picătură în exces de azotat de argint, în

contact cu cromatul de potasiu, formează *cromatul de argint*, un precipitat de culoare roșie cărămizie. Virajul culorii de la *galben* la *roșu cărămiziu* indică sfârșitul titrării.



Reactivi

- soluție de azotat de argint 0,1N;
- soluție de cromat de potasiu 10%;
- soluție de hidroxid de sodiu 0,1 N;
- fenolftaleină (0,1 g în 100 ml alcool etilic 95% vol).

2.2. Determinarea conținutului în NaCl din produse lichide

2.2.1. Pregătirea probelor

În cazul *produselor lichide* (suc de roșii, suc de legume, saramuri etc) proba recoltată (de masă m) se omogenizează și apoi se filtrează prin hârtie de filtru cu porozitate mare (se obține volumul V_0). Din proba astfel pregătită se măsoară cu pipeta un volum bine determinat (V_1) care se introduce într-un pahar Erlenmayer și se diluează cu apă distilată. Se titrează cu o soluție de AgNO_3 0,1 N.

2.2.2. Calcularea conținutului în NaCl

Rezultatul se exprimă în % NaCl raportat la proba lichidă inițială folosind expresia:

$$\% \text{ Clorură de sodiu} = \frac{T_{\text{AgNO}_3} \cdot V_{\text{AgNO}_3} \cdot E_{\text{NaCl}} \cdot V_0}{E_{\text{AgNO}_3} \cdot V_1} \cdot \frac{100}{m}$$

în care:

V_{AgNO_3} = volumul de soluție de azotat de argint 0,1 N folosit la titrare, ml.

E_{AgNO_3} = echivalentul gram al azotatului de argint, g.

T_{AgNO_3} = titrul soluției de azotat de argint, g/ml

E_{NaCl} = echivalentul gram al clorurii de sodiu, g

V_1 = volumul de probă lichidă extrasă (pentru o determinare), titrată cu soluția de AgNO_3 0,1 N, ml.

V_0 = volumul inițial de probă, ml.

m = masa de probă lichidă inițială, g

2.3. Determinarea conținutului în NaCl din produsele consistente cu sau fără lichid

2.3.1. Pregătirea probelor

În cazul probelor prelevate din conserve de legume în bulion, conserve de legume în ulei, conserve de legume în oțet, conserve de legume cu carne, legume murate, se omogenizează proba recoltată într-un omogenizator mecanic sau într-un mojar, până la obținerea unei paste.

Într-un pahar Berzelius, de 250 ml se cântărește proba (de masă m) cu o precizie de 0,01 g și se adaugă peste aceasta 100 ml de apă distilată. Se lasă vasul la temperatura camerei, timp de 30 de minute, agitând din timp în timp conținutul cu o baghetă din sticlă. După epuizarea timpului de extragere a NaCl, se filtrează amestecul printr-o hârtie de filtru uscată. Din volumul V_0 de filtrat se extrage cu pipeta un volum V_1 ($10 \div 20$ ml) și se introduce într-un vas Erlenmayer de 250 ml. Se diluează cu apă distilată (circa 50 ml). Se adaugă apoi 1 mL soluție de *cromat de potasiu* 10% și se titrează cu o soluție de *azotat de argint* 0,1N sub agitare energetică, *până când culoarea soluției trece de la galben-pai, la roșu cărămiziu persistent.*

2.3.2. Calcularea conținutului în NaCl

Conținutul de NaCl (%) din proba analizată se determină cu formula:

$$\% \text{ Clorură de sodiu} = \frac{T_{\text{AgNO}_3} \cdot V_{\text{AgNO}_3} \cdot E_{\text{NaCl}}}{E_{\text{AgNO}_3}} \cdot \frac{V_0}{V_1} \cdot \frac{100}{m}$$

în care:

V_{AgNO_3} – volumul soluției de azotat de argint 0,1 N folosit la titrare, ml;

T_{AgNO_3} - titrul soluției de AgNO_3 , g/ml;

V_1 – volumul de filtrat măsurat pentru o determinare (titrare), ml.

V_0 – volumul inițial de filtrat, ml.

E_{NaCl} – echivalentul gram al NaCl;

E_{AgNO_3} = echivalentul gram al azotatului de argint, g.

m = masa de probă inițială, g

2.4. Determinarea conținutului de NaCl din produsele alimentare solide

2.4.1. Pregătirea probelor

Într-un pahar Erlenmeyer de 250 mL se cântărește proba mărunțită cu o precizie de 0,01 g peste care se adaugă apă distilată și se încălzește la o temperatură de circa 60°C pe o baie de apă timp de 30 minute, apoi se răcește și se filtrează. Din filtrat se măsoară cu pipeta un volum de 10÷20 ml și se diluează cu apă distilată (până la circa 50 ml). Se adaugă apoi 1 ml soluție de cromat de potasiu 10% și se titrează cu o soluție de azotat de argint 0,1N sub agitare energetică, până când culoarea soluției virează de la galben-pai, la roșu cărămiziu persistent.

2.4.2. Calcularea conținutului în NaCl

Conținutul de sare din proba analizată se calculează cu relația prezentată la punctul 2.3.2.

Notă: În toate cazurile se efectuează două determinări din aceeași probă de analizat. Ca rezultat se ia media aritmetică a celor două determinări. Diferența dintre două determinări efectuate în paralel nu trebuie să depășească 0,2 g NaCl la 100 g probă.

Bibliografie

1. Bejan D., (2003), *Tehnici de analiză și calitatea produselor naturale și alimentare*, Tipografia Universității „Gheorghe Asachi”, Iași
2. Croitor N., Lenco G., (2009), *Tehnologie și control în industria conservelor vegetale – îndrumar de lucrări practice*, Ed. Fundatiei Universitare Dunărea de Jos, Galați
3. Lupea A.X., Botiș M., (1995), *Tehnologii în industria alimentară*, Rotaprint, Timișoara
4. Radu S., (2010) *Tehnici de conservare a alimentelor – lucrări practice*, Ed. Pim, Iasi

5. Pop F., (2008) *Îndrumător de laborator pentru analiza și controlul fizico-chimic al produselor alimentare*, Editura Risoprint, Cluj-Napoca
6. Danilevici C., Nită M., (2006), *Controlul conservelor vegetale prin analize senzoriale și fizico-chimice – îndrumar de laborator*, Ed. Valahia University Press, Târgoviste
7. Hura C., (2006), *Metode de analiză pentru produse alimentare - ghid de laborator*, Ed.Cermi, Iași
8. Ardelean A.G., (2009), *Tehnologii de conservare a legumelor și fructelor – îndrumător de lucrări practice*, Ed. Treira, Oradea
9. Aycan Yigit, Mihriban Korukluoglu, The effect of potassium sorbate, NaCl and pH on the growth of food spoilage fungi, *Annals of Microbiology*, (2007), 57: 209–215
10. E Lück, Food applications of sorbic acid and its salts, *Food Additives & Contaminants*, 1990; 7(5):711-715

LABORATOR NR. 5

Acțiunea conservantă a zahărului. Determinarea zaharurilor reducătoare.

1. Considerații generale

Conservarea cu ajutorul zahărului are la bază principiul biologic al *saccharosmoanabiozei* și se realizează prin adăugarea de zahăr (peste 60% zahăr în produsul finit), astfel încât presiunea osmotică a fazei lichide a produselor alimentare să crească împiedicând dezvoltarea microorganismelor.

Creșterea presiunii osmotice prin adaos de zahăr determină:

- *plasmoliza celulelor microbiene*, proces în care se elimină apa liberă și o parte din apa legată fizico-chimic (apa coloidală – apă osmotică + apă de adsorbție) din celulele microbiene. Prin eliminarea apei celulele se contractă, pereții celulari care joacă rolul unor membrane semipermeabile se detașează, iar celulele mor.

- *reducerea umidității produsului*, deci reducerea activității apei sub limitele de dezvoltare a microorganismelor.

Procesul de conservare cu ajutorul zahărului este influențat de:

- *conținutul inițial de zaharuri din fructe*, care influențează pozitiv acțiunea de conservare (cu cât gradul de maturitate al fructelor este mai avansat cu atât este mai mare concentrația de zahăr din fructe);

- *conținutul final de apă al produsului*: cu cât acesta va fi mai mic cu atât acțiunea conservantă va fi mai mare;

- *cantitatea de zaharoză adăugată și gradul de invertire realizat*; cu cât raportul zahăr invertit / zaharoză este mai mare cu atât acțiunea inhibitoare a zahărului total este mai mare (deoarece zahărul invertit difuzează mai ușor în celulele vegetale);

- *cantitatea și calitatea pectinei din fructe* care mărește vâscozitatea fazei lichide ceea ce îngreunează accesul substanțelor nutritive și al apei la celulele microbiene;

- *valoarea mai redusă a pH-ului*, care conservă direct, dar acționează și indirect prin favorizarea celorlalți factori ai conservării (invertirea zaharozei, formarea gelului pectină – zahăr – acid etc.).

La conservarea cu ajutorul zahărului, activitatea apei se situează la valori ($a_w < 0,845$) care permit dezvoltarea mucegaiurilor și a drojdiilor osmofile, însă împiedică dezvoltarea bacteriilor și a drojdiilor neosmofile. Pentru a împiedica dezvoltarea mucegaiurilor și a drojdiilor osmofile, care pot suporta concentrații de zahăr de până la 80%, produsele conservate cu zahăr sunt supuse unor tratamente suplimentare:

- pasteurizarea produselor finite (gemuri, jeleurii, dulcețuri);
- aseptizarea suprafeței produselor cu substanțe conservante antifungice.

Produsele conservate cu ajutorul zahărului sunt:

- *produsele gelificate*: jeleurile de fructe, marmeladele, gemurile de fructe.

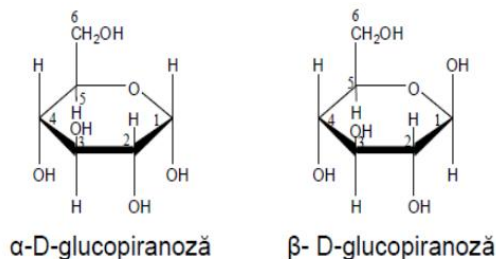
Consistența solid elastică a acestor produse se datorează formării gelului pectic (un sistem coloidal alcătuit din pectină, zahăr și acid) ca urmare a deshidratării particulelor de pectină de către zahărul adăugat în soluție precum și punerii în libertate a grupelor carboxilice din molecula pectinei datorită acizilor (pentru o gelificare optimă este necesar un $\text{pH} = 3,1 \div 3,4$).

- *produsele negelificate*: dulcețurile de fructe, magiunurile, pastele de fructe, siropurile de fructe, fructele confiate (fructele opărite, răcite și trecute prin băi de sirop cu concentrație descrescătoare de zahăr); fructele uscate impregnate (fructe fierte în sirop de zahăr și apoi uscate);

- *ciocolata*;

- *laptele concentrat cu zahăr* (adaos de minimum 62% zahăr).

Sucurile concentrate din fructe, siropurile precum și băuturile răcoritoare din sucuri de fructe, conțin diferite zaharuri solubile, cel mai adesea glucoză, fructoză și zaharoză, a căror pondere totală și compoziție procentuală variază de la produs la produs. Glucoza este cea mai răspândită monozaharidă și se găsește în fructele dulci, mierea de albine etc.



Fructoza este cea mai dulce monozaharidă, se găsește liberă în fructele dulci, în mierea de albine și în unele legume (morcovi, tomate) etc.



Determinarea conținutului în zaharuri solubile se poate face:

- prin metode chimice (determinare directă);
- prin metode fizice (determinare indirectă).

2. Determinarea zaharurilor prin metode chimice. Metoda Schoorl

În funcție de modul în care se formează legătura eterică *zaharurile* pot fi: *reducătoare* dacă legătura eterică se formează între o grupă hidroxil glicozidică a unei aldoze și o grupă hidroxil alcoolică a altei aldoze (*legătură monocarbonilică*) și *nereducătoare* (zaharoza, trehaloza, rafinoza etc.), dacă legătura eterică se stabilește între grupele hidroxil glicozidice ale celor două molecule de monozaharidă (*legătură dicarbonilică*).

Zaharurile reducătoare sunt zaharurile care conțin o grupare funcțională aldehydică liberă (glucoză, manoză, galactoză, lactoză, maltoză, celobioză) și sunt capabile să dea reacțiile specifice grupei aldehydice: reducerea soluției Fehling și respectiv reducerea soluției amoniacale de azotat de argint (reactiv Tollens).

Zaharurile nereducătoare (zaharurile cu toate grupările funcționale aldehydice blocate prin legături dicarbonilice) nu dau reacțiile specifice ale

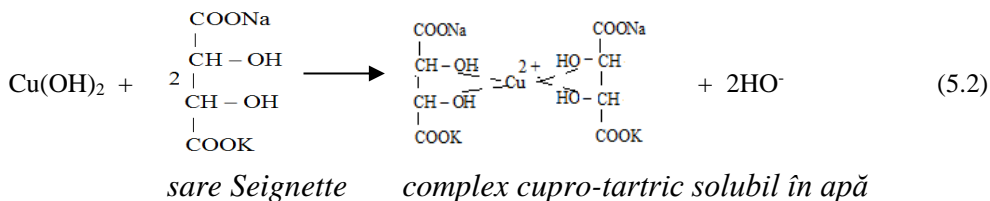
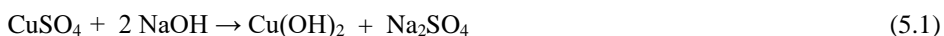
aldozelor: reducerea soluției Fehling și a soluției amoniacale de azotat de argint.

1.1. Partea experimentală

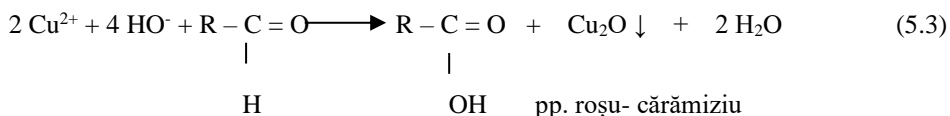
1.1.1. Principiul metodei

La baza determinării zaharurilor reducătoare stă reacția de oxidare a grupării aldehydice cu oxidanți slabi. În practică se folosesc combinațiile cuprului bivalent. În mediu alcalin și la cald, zaharurile reducătoare reduc reactivul Fehling la oxid cupros (Cu_2O - un precipitat de culoare roșie cărămizie). Deoarece hidroxidul cupric $\text{Cu}(\text{OH})_2$ este insolubil se întrebunțează soluția Fehling, care este un amestec (în volume egale) de soluție de sulfat de cupru (soluție Fehling I) și de soluție alcalină de tartrat dublu de sodiu și potasiu (soluție Fehling II).

În acest caz au loc reacțiile:



Introducerea tartratului dublu de sodiu și potasiu (*sare Seignette*) în soluția Fehling I are rolul de a menține în soluție hidroxidul cupric rezultat (atunci când se adaugă soluția Fehling II peste soluția Fehling I se formează un complex solubil în apă prin complexarea ionilor de Cu^{2+} de către sarea Seignette). Prin formarea complexului cupro-tartric, tot cuprul se găsește în soluție și este capabil să oxideze zahărul reducător, conform reacției:



Zaharurile reducătoare reduc la cald soluția alcalină cupro-tartrică la oxid cupros. Cantitatea de zahăr direct reducător care se oxidează este echivalentă cu cantitatea de oxid cupros formată și deci, prin dozarea acestuia, se poate determina cantitatea de zahăr reducător din proba analizată.

Excesul de cupru divalent care nu a fost implicat în reacția cu zahărul reducător (care nu s-a redus la oxid cupros) oxidează, în mediu acid, iodura de potasiu (I⁻) la iod elementar:



Iodul pus în libertate se titrează cu o soluție de tiosulfat de sodiu de concentrație cunoscută în prezența amidonului, ca indicator:



În funcție de cantitatea de tiosulfat de sodiu consumată se determină cantitatea de zahăr reducător.

Cantitatea totală de Cu²⁺ se stabilește pe o probă martor, în care soluția de glucid este înlocuită cu apă distilată. Diferența dintre volumul de soluție de tiosulfat de sodiu folosit la titrarea probei martor și volumul de soluție de tiosulfat de sodiu folosit la titrarea probei de analizat permite evaluarea cantitativă a glucidelor reducătoare, prin folosirea tabelului corespunzător metodei Schoorl.

Sistemul oxidant este:



iar sistemul reducător este:



deoarece potențialul de reducere al iodului este mai mare.

2.1.2. Pregătirea probei

Masa probei pentru care trebuie să se determine conținutul de zahăr reducător depinde de conținutul de zahăr din produsul analizat. Cu cât

conținutul de zahăr din produsul analizat (gem, dulceață, sucuri concentrate etc) este mai mare cu atât masa probei este mai mică și invers, cu cât conținutul de zahăr din produsul analizat (sucuri, compoturi, materii prime etc) este mai mic cu atât masa probei va fi mai mare.

Se cântărește o cantitate de produs cu o precizie de 0,01 g, astfel încât să conțină $0,1 \div 0,2\%$ zahăr reducător final, după cum urmează:

- băutură răcoritoare – 50 g
- sirop de fructe – 20 g.
- gem de fructe – $1 \div 1,50$ g

2.1.3. Reactivi

- soluție de sulfat de cupru: 69,2 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ se aduc cantitativ la 1000 mL cu apă distilată (*soluție Fehling I*);

- soluție alcalină de *sare Seignette*: 346 g tartrat dublu de sodiu și potasiu (*sare Seignette*) și 100 g NaOH se aduc cantitativ la 1000 mL cu apă distilată (*soluție Fehling II*);

- soluție de KI 10%;

- soluție de tiosulfat de sodiu 0,1 N; la prepararea soluției de tiosulfat de sodiu se folosește sarea cristalizată $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ cu masa molară

$M = 248.2$ g/ mol

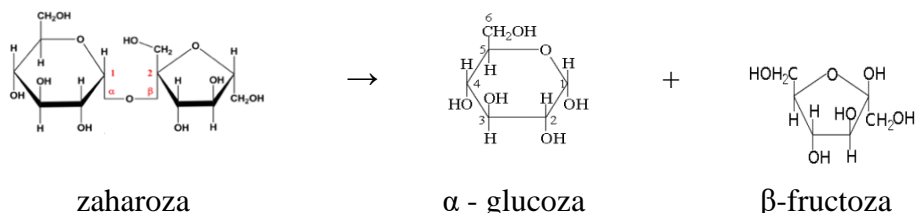
- soluție de amidon 1%;

- soluție de H_2SO_4 $\rho = 1,11$ g/cm³ (16% sau 1,8 mol/L);

2.1.4. Obținerea filtratului A (pentru proba în care se realizează invertirea zaharozei)

Proba preparată conform punctului 2.1.2 se introduce într-un balon cotate de 200 cm³ care conține 50 cm³ apă distilată și 5 cm³ soluție de acid clorhidric concentrat ($d = 1,19$). Se realizează *invertirea zaharozei* pe baie de apă la $65 \div 70^\circ\text{C}$, timp de 5 minute, agitând din când în când. Se răcește repede balonul la 20°C într-un curent de apă rece și se neutralizează acidul clorhidric cu soluție de hidroxid de sodiu 33%, folosind ca indicator fenolftaleina și evitând alcalinizarea soluției. Se aduce la semn cu apă distilată și se filtrează obținându-se *filtratul A*.

Zaharoza (denumită și *sucroză*) este o *dizaharidă dextrogiră* formată dintr-un rest de α -D-glucopiranoză și un rest de β -D-fructofuranoză unite între ele printr-o legătură 1,2-glicozidică. Prin fierbere cu acid clorhidric, molecula de zaharoză se scindează într-o moleculă de glucoză și o moleculă de fructoză. Amestecul echimolecular rezultat în urma hidrolizei are *acțiune levogiră* deoarece valoarea puterii rotatorii a fructozei (levogiră) este mai mare decât cea a glucozei (dextrogiră). Descompunerea zaharozei în ozele componente se numește *invertire* deoarece prin hidroliză se produce o *inversiune a activității optice*.



2.1.5. Obținerea filtratului B (proba pentru care nu se realizează invertirea zaharozei)

Pentru *determinarea zaharurilor direct reducătoare* se execută o probă duplicat conform procedurii descrise la punctul 2.1.2, pentru care nu se face invertirea zaharozei. Prin filtrare se obține *filtratul B*.

1.1.6. Determinarea cantității de iod eliberată din proba martor

Într-un vas conic de 250 cm³, se introduc exact 10 cm³ soluție de sulfat de cupru (*soluție Fehling I*) și 10 cm³ soluție alcalină de sare Seignette (*soluție Fehling II*). Se adaugă 20 cm³ apă distilată și se încălzește amestecul până la fierbere pe o sită de azbest, după care se menține fierberea exact 2 minute (au loc *reacțiile VIII.1 și VIII.2*). Se răcește repede într-un curent de apă, se adaugă 10 cm³ soluție de iodură de potasiu 10% și 15 cm³ soluție de acid sulfuric ($\rho = 1,11 \text{ g/cm}^3$, 16% sau 1,8 mol/L) (*reacția VIII.4*). Iodul pus în libertate se titreză cu soluția de tiosulfat de sodiu în prezența a 1 cm³ soluție de amidon 1%, până ce colorația albastru – murdar devine alb – gălbuie și această nuanță persistă minim 1 minut (*reacția VIII.5*). Se notează cu V volumul de soluție de tiosulfat de sodiu consumată.

1.1.7. Determinarea concentrației de zahăr direct reducător

Se iau 20 cm³ din *filtratul B* și se introduc într-un balon Erlenmayer; se adaugă 10 cm³ soluție Fehling I, 10 cm³ soluție Fehling II și 20 cm³ de apă distilată. Conținutul balonului se fierbe timp de 2 minute (au loc *reacțiile VIII.1, VIII.2 și VIII.3*), apoi se răcește într-un curent de apă rece. Se adaugă 10 mL soluție de iodură de potasiu și 15 mL soluție de acid sulfuric $d = 1,11$ (*reacția VIII.4*) și se titrează imediat iodul eliberat cu o soluție tiosulfat de sodiu 0,1 N folosind amidonul ca indicator (*reacția VIII.5*). Se notează cu V_2 cantitatea de tiosulfat consumată. Volumul de soluție de tiosulfat de sodiu 0,1 N folosit la titrarea probei de analizat (V_2) corespunde cantității de sulfat de cupru în exces.

2.1.8. Determinarea concentrației de zahăr total exprimat sub formă de zahăr reducător

Din *filtratul A* se iau 20 ml și se introduc într-un balon Erlenmayer; se adaugă 10 ml soluție de sulfat de cupru (*soluție Fehling I*), 10 ml soluție alcalină de sare Seignette (*soluție Fehling II*) și 20 ml apă distilată. Se încălzește amestecul până la fierbere pe o sită de azbest, după care se menține fierberea exact 2 minute (au loc *reacțiile VIII.1, VIII.2 și VIII.3*). Se răcește repede într-un curent de apă, se adaugă 10 ml soluție de KI 10% și 15 ml acid sulfuric ($\rho = 1,11$ g/ml, 16% sau 1,8 mol/l) (*reacția VIII.4*). Iodul pus în libertate se titrează cu soluție de tiosulfat de sodiu 0,1 N în prezența a 1 cm³ soluție de amidon (1%), până când colorația albastră – murdară devine albă – gălbuie și persistă minim 1 minut (*reacția VIII.5*). Se notează cu V_1 volumul de soluție de tiosulfat de sodiu 0,1 N consumată la titrare.

2.1.9. Calculul și exprimarea rezultatelor

2.1.9.1. Determinarea zahărului total sub formă de zahăr reducător.

Diferența $V - V_1$ reprezintă volumul de soluție de Na₂S₂O₃ 0,1 n, care corespunde cuprului redus de zahărul reducător din produs. Din *tabelul VIII.1* se află cantitatea corespunzătoare de zahăr total, exprimat sub formă de zahăr reducător (în mg).

2.1.9.2. Determinarea zahărului direct reducător.

Pentru diferența $V - V_2$ ml soluție de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 n (care corespunde cuprului redus de zahărul direct reducător existent în probă), se află din *tabelul VIII.1* cantitatea de zahăr direct reducător **b**, în mg.

2.1.9.3. Determinarea zaharozei

Diferența dintre *zahărul total a*, exprimat sub formă de zahăr reducător și *zahărul direct reducător b*, reprezintă cantitatea de *zahăr nereducător* (zaharoză) exprimată sub formă de zahăr reducător. Prin împărțirea la 0,95 a diferenței dintre rezultatele obținute la punctele 1 și 2 ($(a - b)/0.95$) se obține cantitatea de zaharoză existentă în produs (randamentul reacției de invertire este de 95%). Ținând cont de diluțiile efectuate, se calculează cantitatea de glucide din 100 ml de soluție sau din 100 g de produs analizat.

Tabelul VIII.1. Determinarea zahărului reducător după metoda Schoorl

Soluție de tiosulfat de sodiu 0,1 n în ml	Cupru, mg	Zahăr reducător, mg
1	6,4	3,2
2	12,7	6,4
3	19,1	9,7
4	25,4	13,0
5	31,8	16,4
6	38,2	19,8
7	44,5	23,2
8	50,9	26,5
9	57,3	29,9
10	63,6	33,4
11	70,0	36,8
12	76,3	40,3
13	82,7	43,8
14	89,1	47,3
15	95,4	50,8
16	101,8	54,3
17	108,1	58,0
18	114,4	61,8

Bibliografie

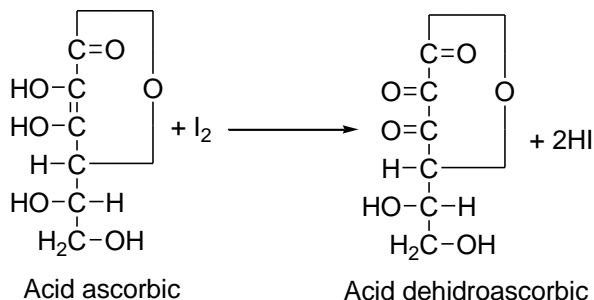
1. ***, (1990), *Colecție de standarde pentru industria conservelor de legume și fructe*, București
2. Bejan D., *Tehnici de analiză și calitatea produselor naturale și alimentare*, Tipografia Universității „Gheorghe Asachi”, Iași
3. Pop F., *Îndrumător de laborator pentru analiza și controlul fizico-chimic al produselor alimentare*, Editura Risoprint, Cluj-Napoca, 2008
4. Lupea A.X., Botiș M., (1995), *Tehnologii în industria alimentară*, Rotaprint, Timișoara
5. Brad S.C., *Curs de tehnologia conservării fructelor și legumelor*, Ed. Didactica și Pedagogica București, 1964

LABORATOR NR. 6**Determinarea conținutului de acid ascorbic din produsele alimentare****1. Considerații generale**

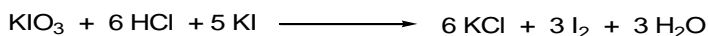
Acidul ascorbic sau vitamina C este un acid organic cu proprietăți antioxidante, implicat într-o serie de procese care se desfășoară în celulele vii.

Acidul ascorbic se transformă în acid dehidroascorbic sub acțiunea diverșilor agenți oxidanți. În dozarea vitaminei C pot apărea erori datorită faptului că în produsele vegetale se găsesc și alte substanțe oxidabile (agenți reducători). Deoarece oxidarea vitaminei C poate surveni chiar în decursul pregătirii materialului pentru analiză, dozarea trebuie să se facă într-un timp cât mai scurt.

Metodele chimice de dozare a vitaminei C se bazează pe proprietățile sale reducătoare. În metoda iodometrică oxidarea acidului ascorbic se realizează cu iod (folosit în exces), conform reacției:



Iodul utilizat ca agent oxidant poate fi generat *in situ* prin reacția dintre iodatul de potasiu și iodura de potasiu conform reacției:

**2. Partea experimentală****2.1. Reactivi:**

- soluție apoasă de acid clorhidric 2 %: într-un balon cotat de 500 ml se introduc 22,7 ml soluție concentrată de HCl (aprox. 37%) și se completează cu apă distilată până la semn.

- soluție apoasă de iodat de potasiu 0,0008 M: se dizolvă 4,277 g iodat de potasiu în 20-30 ml apă distilată într-un balon cotat de 100 ml. După dizolvarea completă se aduce la semn cu apă distilată.

- soluție apoasă de iodură de potasiu 1 %: se dizolvă 1 g de KI în 20-30 ml apă distilată într-un balon cotat de 100 ml. După dizolvare se aduce la semn cu apă distilată.

- soluție apoasă de amidon 0,2 % folosit ca indicator

2.2. Determinarea vitaminei C din fructe și legume

2.2.1. Mod de lucru

Se cântăresc 15 g de material de analizat (de exemplu măcieșe, ardei iute, cătină, ceapă, ardei gras, măr, portocală, lămâie, kiwi etc.) cu o precizie de 0,01 g. Materialul de analizat cântărit în prealabil se mojarează energetic cu circa 10 ml soluție de HCl 2% și cu 2,5 g nisip de cuarț sau praf de sticlă, timp de 10 minute. Se trece cantitativ amestecul obținut într-un balon cotat de 50 ml și se aduce la semn cu soluție de HCl 2 %.

Se filtrează sau se centrifughează suspensia.

Se pipetează 10 ml filtrat într-un balon Erlenmeyer de 100 ml, se adaugă 30 ml apă distilată, 5 ml soluție de KI 1%, 5 ml soluție de HCl 2% și 1,5 ml soluție de amidon 0,2 %.

Se titrează cu o soluție de KIO_3 0,0008 M până la culoarea albastră. La adăugarea iodatului de potasiu peste amestecul care conține și iodură de potasiu, se generează iod care oxidează vitamina C prezentă în probă. După ce vitamina C a fost complet oxidată, iodul generat va forma cu amidonul folosit ca indicator un complex de incluziune colorat albastru intens. Culoarea trebuie să persiste 30 secunde.

Analiza se repetă de 2 ori, se calculează valoarea medie a titrărilor (V în ml).

2.2.2. Calculul rezultatelor

Din stoechiometria ecuațiilor reacțiilor chimice, se observă că un mol de iodat de potasiu generează 3 moli de iod, care oxidează 3 moli de vitamina C.

Numărul de moli de iodat de potasiu din volumul V (ml) de soluție este:

$$\frac{V \cdot 0,0008}{1000}$$

Numărul de moli de acid ascorbic din proba analizată oxidată prin titrare este:

$$\frac{3 \cdot V \cdot 0,0008}{1000}$$

Deoarece la titrare au fost introduși doar 10 ml (din cei 50 ml suspensie din balonul cotat), rezultatul obținut trebuie înmulțit cu 5.

Ținând cont de masa moleculară a vitaminei C (176), se calculează cantitatea de vitamina C (exprimată în g) conținută de materialul (G g) folosit la extracția vitaminei C:

$$\frac{V \cdot 0,0008}{1000} \cdot 5 \cdot 176$$

Conținutul în vitamina C se exprimă sub forma mg vitamina C/100 g material:

$$\frac{V \cdot 0,0008}{1000} \cdot 5 \cdot \frac{176}{G} \cdot 100 \cdot 1000$$

unde:

V = volumul de soluție de KIO₃ 0,0008 M folosit la titrare (ml);

G = masa materialului analizat (g).

2.3. Determinarea vitaminei C din sucuri de fructe

2.3.1. Mod de lucru

Se diluează 5-10 ml suc de fructe la 100 ml cu o soluție de amidon-HCl (0,3 g amidon se fierbe 5 minute cu 200 ml apă distilată; se răcește, se adaugă 12 ml HCl concentrat și se aduce la semn cu apă distilată). Din soluția de suc de fructe diluată se extrag 10 ml, se introduc într-un flacon Erlenmeyer și se titrează cu soluție de iod 0.01 N până la apariția unei colorații albastre persistente. Analiza se repetă de 2 ori, se calculează valoarea medie a titrărilor (V in ml).

2.3.2. Calculul rezultatelor

Conținutul în vitamina C al sucului se calculează ținând cont de diluțiile efectuate.

Bibliografie

1. ***, *Colecție STAS pentru industrie alimentară*, Editura Tehnică, București
2. Croitor N., Lenco G., (2009), *Tehnologie și control în industria conservelor vegetale – îndrumar de lucrări practice*, Ed. Fundatiei Universitare Dunărea de Jos, Galați
3. Bejan D., (2003), *Tehnici de analiză și calitatea produselor naturale și alimentare*, Tipografia Universității „Gheorghe Asachi”, Iași
3. Danilevici C., Nită M., (2006), *Controlul conservelor vegetale prin analize senzoriale si fizico-chimice – îndrumar de laborator*, Ed. Valahia University Press, Târgoviste
4. Iordan M., Stoica A., Mosoiu C.E., (2009), *Conservarea produselor alimentare*, Ed. Printech

LABORATOR NR. 7

Conservarea produselor alimentare prin tratament termic

1. Considerații generale

Principalele variante de conservare a produselor alimentare prin tratament termic sunt: pasteurizarea, tindalizarea și sterilizarea.

Pasteurizarea reprezintă tratamentul termic care are drept scop:

- distrugerea formelor vegetative ale microorganismelor (în special a bacteriilor patogene nesporulate prezente în produs);
- inactivarea enzimelor (responsabile de modificări biochimice nedorite);
- stoparea trecerii sporilor în forme vegetative.

Tindalizarea (pasteurizarea multiplă) se realizează prin încălziri succesive (fără a se depăși temperatura de 100°C), separate de pauze de termostatare (menținere la temperaturi de 25 ÷ 37°C timp de aproximativ 24 ore). Durata de încălzire variază în funcție de natura mediului fiind cuprinsă în general între 10 ÷ 30 minute. Prin tindalizare se distrug atât formele vegetative cât și sporiile microorganismelor care au germinat între două încălziri și au trecut în forme vegetative.

Sterilizarea este tratamentul termic care are ca scop:

- distrugerea tuturor microorganismelor, atât a formelor vegetative, cât și a formelor sporulate;
- distrugerea unor toxine microbiene;
- inactivarea enzimelor endogene și exogene dintr-un produs alimentar care pot provoca înrăutățirea calității sau chiar alterarea acestuia în timpul păstrării.

2. Noțiuni teoretice privind cinetica distrugerii termice a microorganismelor

Fiecare tip de microorganism are o *temperatură optimă de dezvoltare*. Prin expunerea la temperaturi superioare temperaturii optime de dezvoltare pot fi distruse după un anumit interval de timp atât formele vegetative cât și formele sporulate ale microorganismelor.

Numărul celulelor vegetative (în cazul pasteurizării) sau al celulelor vegetative și al sporilor (în cazul sterilizării) se reduce exponențial cu timpul conform unei cinetici de ordinul I:

$$-\frac{dN}{d\tau} = K \cdot N \quad (7.1)$$

în care:

N – este numărul de microorganisme viabile prezente la timpul τ ;

K – constanta vitezei de distrugere a microorganismelor;

τ – timpul de sterilizare (sau de pasteurizare);

$-dN/d\tau$ - viteza cu care scade numărul de microorganisme.

Prin separarea variabilelor

$$-\frac{dN}{N} = K \cdot d\tau \quad (7.2)$$

și integrare

$$-\int_{N_0}^N \frac{dN}{N} = K \cdot \int_0^\tau d\tau \quad (7.3)$$

se obține:

$$-(\ln N - \ln N_0) = K \cdot (\tau - 0) \Leftrightarrow \ln \frac{N_0}{N} = K \cdot \tau$$

Dacă se trece la logaritmi zecimali rezultă:

$$\ln \left(10^{\log \frac{N_0}{N}} \right) = K \cdot \tau \Leftrightarrow \ln 10 \cdot \log \frac{N_0}{N} = k \cdot \tau \Leftrightarrow 2,3 \cdot \log \frac{N_0}{N} = k \cdot \tau$$

Introducând notația

$$\frac{2,303}{k} = D_T \quad (7.4)$$

ecuația care descrie cinetica procesului de distrugere termică a microorganismelor devine:

$$\log \frac{N_0}{N} = \frac{\tau}{D_T} \quad (7.5)$$

Curba de supraviețuire

Reprezentarea grafică în coordonate semilogaritmice a numărului de microorganisme (forme vegetative sau spori) care au supraviețuit tratamentului termic în funcție de durata de încălzire la temperatura constantă T se numește *curbă de supraviețuire* (figura I.1). Reducerea numărului de microorganisme poate fi descrisă matematic prin relația:

$$\log\left(\frac{N_0}{N}\right) = \frac{\tau}{D_T} \quad (7.6)$$

în care:

N_0 – număr inițial de microorganisme;

N – număr de microorganisme viabile prezente la timpul τ .

τ - durata tratamentului termic;

D_T – *timpul de reducere decimală a populației microbiene* la temperatura T sau timpul necesar pentru a distruge 90% din populația bacteriană când aceasta este expusă la temperatura constantă T .

Timpul de reducere decimală este un indicator pentru rezistența termică a unei anumite specii de microorganisme. Determinarea acestui indicator permite stabilirea timpului necesar efectuării tratamentului termic la o anumită temperatură T . Timpul de reducere decimală a populației microbiene poate fi determinat grafic din panta curbei de supraviețuire ($\text{tg}\alpha = 1/D$).

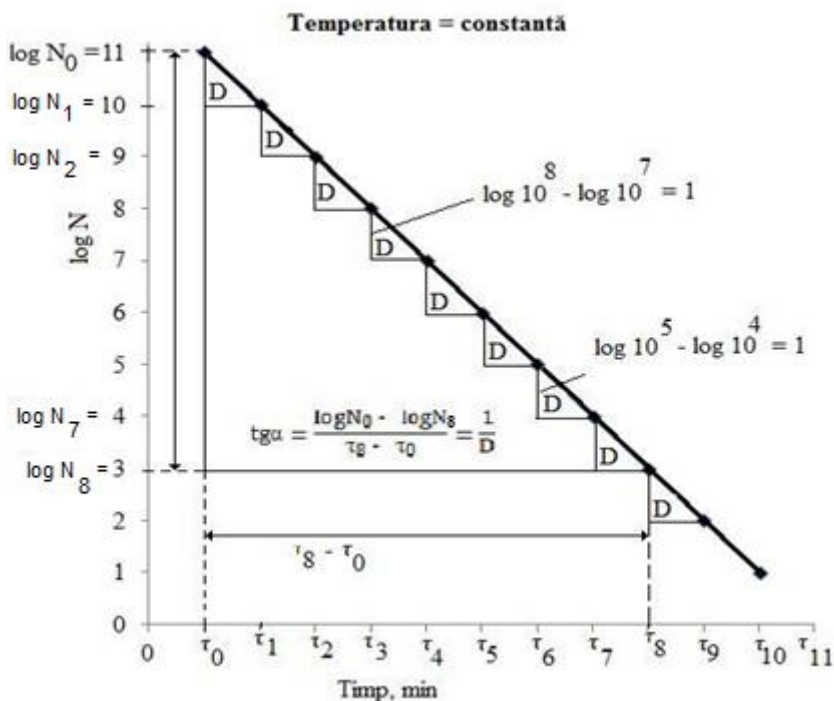


Figura 1.1. Curba de supraviețuire

$$\begin{array}{l}
 \tau_1 - \tau_0 = D \\
 \tau_2 - \tau_1 = 2 \cdot D ; \tau_2 - \tau_0 = D \\
 \tau_3 - \tau_0 = 3 \cdot D ; \tau_2 - \tau_1 = 2 \cdot D ; \tau_2 - \tau_0 = D \\
 \dots\dots\dots \\
 ..
 \end{array}
 \qquad
 \begin{array}{l}
 N_1 = \frac{1}{10} \cdot N_0 \\
 N_2 = \frac{1}{10} \cdot N_1 = \frac{1}{100} \cdot N_0 \\
 N_3 = \frac{1}{10} \cdot N_2 = \frac{1}{1000} \cdot N_1 = \frac{1}{10000} \cdot N_0 \\
 \dots\dots\dots \\
 .
 \end{array}$$

Curba de distrugere termică

Reprezentarea grafică în coordonate semilogaritmice a timpului de reducere decimală în funcție de temperatura aplicată se numește *curbă de distrugere termică* (figura I.2).

Timpul de distrugere termică („Thermal death time TDT”) reprezintă timpul necesar pentru a distruge un anumit număr de microorganisme la o temperatură specificată. Timpul de distrugere termică se notează cu litera F și se poate calcula cu relația:

$$F = D_T \cdot (\log N_0 - \log N_N) \tag{7.7}$$

Temperatura de distrugere termică este temperatura necesară pentru a distruge un anumit număr de microorganisme într-un interval de timp prestabilit, de obicei 10 minute.

Influența temperaturii (T) asupra vitezei de inactivare a microbiotei (forme vegetative și forme sporulate) se exprimă prin ecuația:

$$\log \left(\frac{D_R}{D_T} \right) = \frac{(T - T_R)}{Z} \tag{7.8}$$

în care:

$D_R = D_{T_R}$ – este timpul de reducere decimală a populației microbiene la temperatura de referință T_R (de obicei $T_R = 121,1^\circ\text{C}$).

$Z(^\circ\text{C})$ este *coeficientul activității de sterilizare / pasteurizare* sau *constanta rezistenței termice* sau *constanta rezistenței la temperatură*. Coeficientul activității de sterilizare / pasteurizare Z reprezintă numărul de grade Celsius cu care trebuie să crească / să scadă temperatura pentru a reduce / a crește de 10 ori valoarea timpului de reducere decimală a populației microbiene. Coeficientul activității de sterilizare / pasteurizare Z furnizează informații referitoare la rezistența relativă a unui microorganism la diferite temperaturi

de distrugere și permite stabilirea unor tratamente termice echivalente pentru diferite temperaturi. Coeficientul activității de sterilizare / pasteurizare Z se determină din panta curbei de distrugere termică ($\text{tg } \alpha = 1/Z$) și are valori cuprinse între $5 \div 8^\circ\text{C}$ pentru formele vegetative și respectiv între $6 \div 16^\circ\text{C}$ pentru sporiile bacteriilor.

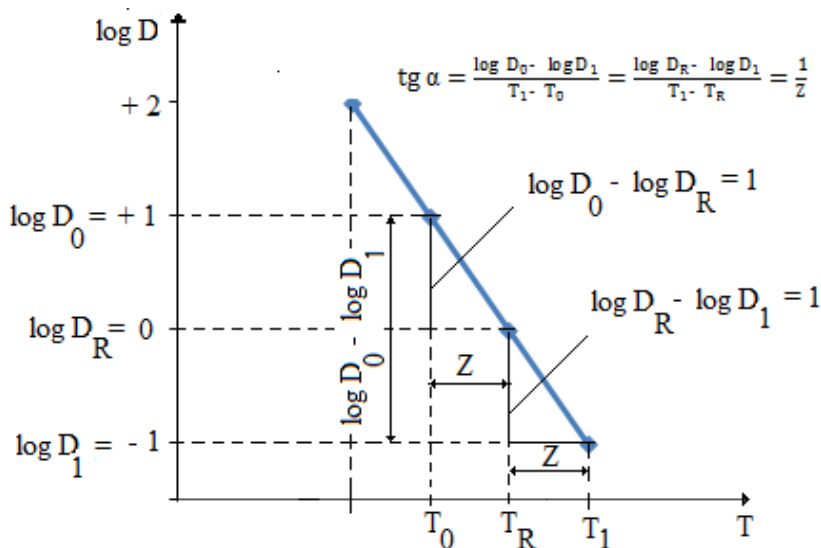


Figura 1.2. Curba de distrugere termică

O conservă se consideră bine sterilizată dacă tratamentul termic aplicat este capabil să reducă de la 10^{12} la 1 numărul de spori de *Clostridium botulinum*, respectiv de la 10^5 la 1 numărul de spori de *Clostridium sporogenes*. Timpii de reducere decimală la temperatura de referință $T_R = 121,1^\circ\text{C}$ pentru aceste microorganisme sunt: 0,21 minute (pentru *Clostridium botulinum*) și 1 minut (pentru *Clostridium sporogenes*).

3. Aplicații numerice referitoare la cinetica distrugerii termice a microorganismelor

2.1. a) Să se calculeze valoarea *timpului de reducere decimală* pentru o anumită specie de microorganisme dacă se dau următoarele date privind rezistența termică a unei suspensii de spori (tabelul 1.1):

Tabelul I.1. Variația numărul de microorganisme în funcție de timp la temperatura constantă T

Timp (min)		Număr de germeni viabili, N		log N	
0	τ_0	10^6	N_0	6	$\log N_0$
15	τ_1	$2,9 \cdot 10^5$	N_1	5,46	$\log N_1$
30	τ_2	$8,4 \cdot 10^4$	N_2	4,92	$\log N_2$
45	τ_3	$2,4 \cdot 10^4$	N_3	4,38	$\log N_3$
60	τ_4	$6,9 \cdot 10^3$	N_4	3,83	$\log N_4$

b) Să se construiască *curba de supraviețuire*.

Rezolvare:

a) ecuația care descrie cinetica procesului de distrugere termică a microorganismelor este:

$$-\frac{dN}{d\tau} = K \cdot N \quad \text{respectiv} \quad -\frac{dN}{N} = K \cdot d\tau$$

Prin integrare între limitele arbitrare τ_x și τ_y cărora le corespund valorile N_x și N_y se obține:

$$-\int_{N_x}^{N_y} \frac{dN}{N} = K \cdot \int_{\tau_x}^{\tau_y} d\tau \Leftrightarrow -(\ln N_y - \ln N_x) = K \cdot (\tau_y - \tau_x)$$

Trecând de la logaritmi naturali la logaritmi zecimali se obține:

$$-[\ln(10^{\log N_y}) - \ln(10^{\log N_x})] = K \cdot (\tau_y - \tau_x) \Leftrightarrow \ln 10 \cdot \log \frac{N_x}{N_y} = K \cdot (\tau_y - \tau_x)$$

Introducând notația

$$\frac{\ln 10}{k} = \frac{2,303}{k} = D_T$$

ecuația care descrie cinetica procesului de distrugere termică a microorganismelor devine:

$$\log \frac{N_x}{N_y} = \frac{\tau_y - \tau_x}{D_T}$$

Se aleg două perechi oarecare de valori τ și N din *tabelul I.1*. De exemplu:

$\tau_x = \tau_1 = 15$ minute pentru care numărul de microorganisme viabile este

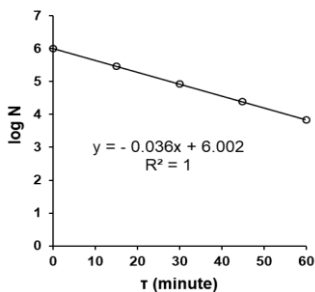
$N_x = N_1 = 2,9 \cdot 10^5$ și

$\tau_y = \tau_2 = 30$ minute pentru care numărul de microorganisme viabile este

$N_y = N_2 = 8,4 \cdot 10^4$

$$\log \frac{N_x}{N_y} = \frac{\tau_y - \tau_x}{D_T} \Leftrightarrow \log \frac{2,9 \cdot 10^5}{8,4 \cdot 10^4} = \frac{30 - 15}{D_T} \Leftrightarrow D_T = 27,87 \text{ minute}$$

b) Se reprezintă grafic $\log N$ în funcție de τ (curba de supraviețuire).



Ecuția curbei de supraviețuire $\log N = f(\tau)$ este:

$$y = -0,036 \cdot x + 6,002$$

$$\operatorname{tg}(180 - \alpha) = -\operatorname{tg}\alpha = -0,036$$

$$\operatorname{tg}\alpha = \frac{1}{D} = \frac{1}{0,036}$$

$$D = 27,77 \text{ minute}$$

$$\operatorname{tg}\alpha = \frac{\log N_0 - \log N_4}{\tau_4 - \tau_0} = \frac{\log N_0 - \log N_3}{\tau_3 - \tau_0} = \frac{\log N_0 - \log N_2}{\tau_2 - \tau_0} = \frac{\log N_0 - \log N_1}{\tau_1 - \tau_0} = \frac{1}{D}$$

$$\operatorname{tg}\alpha = \frac{1}{D} = 0,036 \text{ min}^{-1} \Rightarrow D = 1/0,036 = 27,77 \text{ minute}$$

2.2. Din rezultatele privind rezistența termică a unei specii de microorganisme s-a obținut o valoare a timpului de reducere decimală D_{110} de 7,50 minute la temperatura de 110°C . Cunoscând că după 10 minute există $4,9 \cdot 10^4$ supraviețuitori să se calculeze numărul inițial de microorganisme N_0 și raportul N/N_0 după 5, 15 și respectiv 20 de minute de expunere la temperatura de 110°C .

Rezolvare:

$$D_{110} = 7,50 \text{ minute}$$

$$\tau_1 = 10 \text{ minute}$$

$$\log\left(\frac{N_0}{N}\right) = \frac{\tau}{D_T} \quad \log\left(\frac{N_0}{N_1}\right) = \frac{\tau_1}{D_{110}} \quad \log\left(\frac{N_0}{4,9 \cdot 10^4}\right) = \frac{10}{7,5} = 1,33$$

$$\Rightarrow N_1 = 4,9 \cdot 10^4 \text{ microorganisme care au supraviețuit tratamentului termic}$$

$\tau_2 = 15 \text{ minute} \Rightarrow N_2 = ?$ microorganisme care au supraviețuit tratamentului termic

$$\log\left(\frac{N_0}{N_2}\right) = \frac{\tau_2}{D_{110}} \quad \log\left(\frac{1,0556 \cdot 10^6}{N_2}\right) = \frac{15}{7,5} = 2 \quad N_2 = 1,0556 \cdot 10^4$$

$\tau_3 = 20 \text{ minute} \Rightarrow N_3 = ?$ microorganisme care au supraviețuit tratamentului termic

$$\log\left(\frac{N_0}{N_3}\right) = \frac{\tau_3}{D_{110}} \Rightarrow \log\left(\frac{1,0556 \cdot 10^6}{N_3}\right) = \frac{20}{7,5} = 2,66 \quad N_3 = 2309$$

$\tau_4 = 5$ minute $\Rightarrow N_4 = ?$ microorganisme care au supraviețuit tratamentului termic

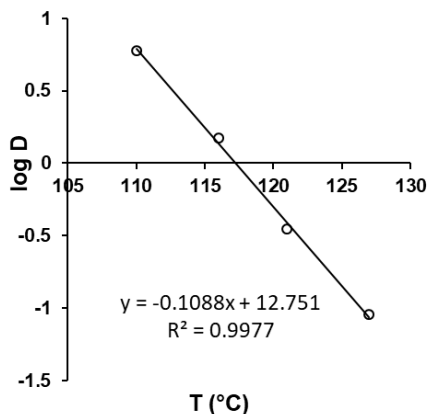
$$\log\left(\frac{N_0}{N_4}\right) = \frac{\tau_4}{D_{110}} \quad \log\left(\frac{1,0556 \cdot 10^6}{N_4}\right) = \frac{5}{7,5} = 0,66 \quad N_4 = 2,309 \cdot 10^5$$

2.3. Să se calculeze valoarea coeficientului activității de sterilizare Z (constanta rezistenței termice) pentru o specie de microorganisme care are următorii timpi de reducere decimală: $D_{110} = 6$ minute, $D_{116} = 1,5$ minute, $D_{121} = 0,35$ minute și $D_{127} = 0,09$ minute.

Rezolvare:

Tabelul I.2. Valorile timpului de reducere decimală la diverse temperaturi

T (°C)	D (minute)	log (D)
110	6	0,778
116	1,5	0,176
121	0,35	0,4559
127	0,09	-1,045



Ecuția curbei de distrugere termică

$$\log D = f(T) \text{ este: } y = -0,1088 \cdot x + 12,75$$

$$\operatorname{tg}(180 - \alpha) = -\operatorname{tg}\alpha = -0,1088$$

$$\operatorname{tg}\alpha = \frac{1}{Z} = \frac{1}{0,1088}$$

$$Z = 9,19^\circ\text{C}$$

2.4. Să se calculeze valoarea timpului de reducere decimală D_{110} cunoscând că valoarea coeficientului de sterilizare Z (constanta rezistenței termice) este $16,5^\circ\text{C}$, iar valoarea timpului de reducere decimală a populației

microbiene la temperatura de referință 121°C este $D_R = D_{T_R} = D_{121} = 0,35$ minute.

Rezolvare:

$$\begin{aligned} \log D_R - \log D_T &= \frac{T - T_R}{Z} & \Rightarrow & \log D_{121} - \log D_T = \frac{T - 121}{Z} \\ \log 0,35 - \log D_{110} &= \frac{110 - 121}{16,5} & \Rightarrow & -0,4559 - \log D_{110} = -0,6666 \\ \log D_{110} &= 0,2107 & \Rightarrow & D_{110} = 1,6244 \text{ minute} \end{aligned}$$

2.5. Estimați probabilitatea de deteriorare a unei conserve alimentare după un tratament termic de 50 de minute efectuat la 113°C, dacă timpul de reducere decimală a populației microbiene este $D_{113} = 4$ minute și populația microbiană inițială este $N_0 = 10^4$ microorganisme / ml.

Rezolvare:

$$\log\left(\frac{N_0}{N}\right) = \frac{\tau}{D_T} \qquad \log\left(\frac{10^4}{N}\right) = \frac{50}{4} \qquad N \approx 3 \cdot 10^{-9}$$

2.6. Cunoscând valoarea timpului de distrugere termică la temperatura de referință 121°C, $F_{T_R}^Z = F_{121}^{10} = 7$ minute, să se calculeze durata unui tratament termic echivalent efectuat la temperatura de 115°C (valoarea timpului de distrugere termică echivalent pentru temperatura de 115°C, $F_{115}^{10} = ?$).

Rezolvare:

$$\begin{aligned} F_T^Z = D_T \cdot (\log N_0 - \log N) & \Rightarrow & F_{121}^{10} &= D_{121} \cdot (\log N_0 - \log N) \\ & & F_{115}^{10} &= D_{115} \cdot (\log N_0 - \log N) \\ \hline \frac{F_{121}^{10}}{F_{115}^{10}} &= & \frac{D_{121}}{D_{115}} \end{aligned}$$

$$\Rightarrow \frac{7}{F_{115}^{10}} = \frac{D_{121}}{D_{115}} = 0,251 \quad \Rightarrow \quad F_{115}^{10} = 27,88 \text{ minute}$$

Folosind ecuația curbei de distrugere termică $\log D_1 - \log D_2 = \frac{1}{Z} \cdot (T_2 - T_1)$ în care:

$D_1 = D_{T_1}$ este timpul de reducere decimală la temperatura T_1 (timpul necesar pentru a distruge 90% din populația microbiană când aceasta este expusă la temperatura T_1);

$D_2 = D_{T_2}$ este timpul de reducere decimală la temperatura T_2 (timpul necesar pentru a distruge 90% din populația microbiană când aceasta este expusă la temperatura T_2);

Z = numărul de grade cu care trebuie să crească temperatura pentru a reduce de zece ori timpul corespunzător unui ciclu logaritmic (numărul de grade cu care trebuie să crească temperatura pentru ca valoarea timpului de reducere decimală să scadă de zece ori).

Particularizând pentru temperatura $T_1 = 121^\circ\text{C}$ căreia îi corespunde o valoare a timpului de reducere decimală D_{121} și pentru temperatura $T_2 = 115^\circ\text{C}$ căreia îi corespunde o valoare a timpului de reducere decimală D_{115} se obține:

$$\log D_{T_1} - \log D_{T_2} = \frac{T_2 - T_1}{Z} \quad \Rightarrow \quad \log D_{121} - \log D_{115} = \frac{115 - 121}{10} = -0,60$$

$$\frac{D_{121}}{D_{115}} = 10^{-0,60} = 0,251 \quad \Rightarrow \quad \frac{D_{121}}{D_{115}} = 0,251 = \frac{F_{121}}{F_{115}}$$

2.7. Laptele crud care provine de la uzina de procesare are o populație bacteriană de $4 \cdot 10^5$ microorganisme/ml. El se procesează la 79°C timp de 21 secunde. Valoarea medie a timpului de reducere decimală la 65°C , D_{65} este de 7 minute. Constanta rezistenței la temperatură (coeficientul activității de pasteurizare) Z este 7°C . Câte microorganisme vor rămâne după pasteurizare. Care este durata de timp necesară pentru a atinge același grad de letalitate la 65°C (care este timpul de distrugere termică la temperatura de 65°C , $F_{T_R}^Z = F_{65}^7 = ?$).

Rezolvare:

a) La fiecare creștere a temperaturii cu $Z = 7^{\circ}\text{C}$ corespunde o scădere de zece ori a timpului necesar pentru parcurgerea unui ciclu logaritmic. Valoarea timpului de reducere decimală a populației microbiene la temperatura de 79°C (D_{79}) este de 100 de ori mai mică decât valoarea timpului de reducere decimală a populației microbiene la temperatura de 65°C (D_{65}), deoarece s-au parcurs două cicluri logaritmice ($79^{\circ}\text{C} - 65^{\circ}\text{C} = 14^{\circ}\text{C} = 2 \cdot 7^{\circ}\text{C} = 2 \cdot Z$).

$$T = 65^{\circ}\text{C}; \quad Z = 7^{\circ}\text{C}$$

$$\frac{D_{T+Z}}{D_T} = \frac{1}{10} \quad \Rightarrow \quad \frac{D_{65+7}}{D_{65}} = \frac{1}{10}$$

$$\frac{D_{T+2 \cdot Z}}{D_{T+Z}} = \frac{1}{10} \quad \Rightarrow \quad \frac{D_{65+2 \cdot 7}}{D_{65+7}} = \frac{1}{10}$$

$$D_{T+2 \cdot Z} = \frac{1}{10} \cdot D_{T+Z} = \frac{1}{100} \cdot D_T \quad \Rightarrow \quad D_{65+2 \cdot 7} = \frac{1}{10} \cdot D_{65+7} = \frac{1}{100} \cdot D_{65}$$

$$D_{65} = 7 \text{ minute}$$

$$D_{65+7} = D_{72} = 0,7 \text{ minute}$$

$$D_{65+2 \cdot 7} = D_{79} = 0,07 \text{ minute}$$

Laptele este procesat timp de $\tau = \frac{21}{60} = 0,35$ minute.

Cunoscând numărul inițial de microorganisme $N_0 = 4 \cdot 10^5$ microorganisme / ml, durata tratamentului termic $\tau = 0,35$ minute și temperatura $T = 79^{\circ}\text{C}$ la care se efectuează pasteurizarea se poate determina numărul final de supraviețuitori (celule sau spori).

$$\log\left(\frac{N_0}{N}\right) = \frac{\tau}{D_T} \quad \log\left(\frac{4 \cdot 10^5}{N}\right) = \frac{0,35}{0,07} = 5 \quad N = 4 \text{ microorganisme/ml}$$

După pasteurizare (efectuată timp de 0,35 minute la temperatura $T = 79^{\circ}\text{C}$) mai rămân în viață $N = 4$ microorganisme / ml.

b) Timpul necesar pentru a obține un tratament termic echivalent la temperatura de 65°C este de 35 de minute. Se scriu ecuațiile timpilor de distrugere termică la 65°C și respectiv 79°C și se impune condiția ca numărul de supraviețuitori (celule și spori) să fie același la sfârșitul ambelor tratamente termice.

$$F_T^Z = D_T \cdot (\log N_0 - \log N)$$

$$F_{65}^7 = D_{65} \cdot (\log N_0 - \log N)$$

$$F_{79}^7 = D_{79} \cdot (\log N_0 - \log N)$$

$$F_{79}^7 = 0,35 \text{ minute}$$

$$D_{79} = 0,07 \text{ minute}$$

$$D_{65} = 7 \text{ minute}$$

$$\frac{F_{65}^7}{F_{79}^7} = \frac{D_{65}}{D_{79}}$$

$$F_{65}^7 = 35 \text{ minute}$$

$$\frac{F_{65}^7}{0,35} = \frac{7}{0,07} = 100$$

2.8. Laptele crud de la uzina de procesare are o populație bacteriană de $4 \cdot 10^5$ microorganisme / ml. El se procesează la 81°C timp de 25 de secunde. Valorile medii ale timpilor de reducere decimale ai populației microbiene la temperaturile de 121°C , 101° și 91°C sunt egale cu: $D_{121} = 0,0005$ secunde, $D_{101} = 0,05$ secunde și respectiv $D_{91} = 0,5$ secunde.

a) Să se determine numărul de microorganisme care au rămas în viață după efectuarea tratamentului termic (timp de $F_{81} = 25$ de secunde) la temperatura de 81°C .

b) Să se determine durata de timp necesară pentru a atinge același grad de letalitate la temperatura de 71°C (durata unui tratament termic echivalent care să fie efectuat la temperatura de 71°C). $F_{71} = ?$

Rezolvare

• *Determinarea coeficientului activității de sterilizare / pasteurizare (constantă rezistenței termice a microorganismelor) Z*

$$N_0 = 4 \cdot 10^5 \text{ microorganisme / ml}$$

$$D_R = D_{T_R} = D_{121} = 0,0005 \text{ secunde}$$

$$\log D_{T_1} - \log D_{T_2} = \frac{T_2 - T_1}{Z}$$

La temperatura $T_1 = 101^\circ\text{C}$ timpul de reducere decimale a populației microbiene este

$$D_{T_1} = D_{101} = 0,05 \text{ s}$$

La temperatura $T_2 = T_R = 121^\circ\text{C}$ timpul de reducere decimale este $D_R = D_{T_R} =$

$$D_{121} = 0,0005 \text{ secunde}$$

$$\log 0,05 - \log 0,0005 = \frac{121 - 101}{Z} \Rightarrow \log \frac{0,05}{0,0005} = \frac{121 - 101}{Z}$$

$$\log 100 = \frac{121 - 101}{Z} \Rightarrow 2 = \frac{121 - 101}{Z} \Rightarrow Z = 10 \text{ grade}$$

La fiecare scădere a temperaturii cu $Z = 10^\circ\text{C}$ corespunde o creștere de zece ori a valorii timpului de reducere decimală D .

$$D_{T-5 \cdot Z} = 10 \cdot D_{T-4 \cdot Z} = 100 \cdot D_{T-3 \cdot Z} = 1000 \cdot D_{T-2 \cdot Z} = 10000 \cdot D_{T-Z} = 100000 \cdot D_T$$

$$D_{121-5 \cdot 10} = 10 \cdot D_{121-4 \cdot 10} = 100 \cdot D_{121-3 \cdot 10} = 1000 \cdot D_{121-2 \cdot 10} = 10000 \cdot D_{121-10}$$

$$D_{71} = 10 \cdot D_{81} = 100 \cdot D_{91} = 1000 \cdot D_{101} = 10000 \cdot D_{111} = 100000 \cdot D_{121}$$

$$D_R = D_{T_R} = D_{121} = 0,0005 \text{ secunde}$$

$$D_{T_R-Z} = D_{121-10} = D_{111} = 0,0005 \cdot 10 = 0,005 \text{ secunde}$$

$$D_{T_R-2 \cdot Z} = D_{121-2 \cdot 10} = D_{101} = 0,0005 \cdot 100 = 0,05 \text{ secunde}$$

$$D_{T_R-3 \cdot Z} = D_{121-3 \cdot 10} = D_{91} = 0,0005 \cdot 1000 = 0,5 \text{ secunde}$$

$$D_{T_R-4 \cdot Z} = D_{121-4 \cdot 10} = D_{81} = 0,0005 \cdot 10000 = 5 \text{ secunde}$$

$$D_{T_R-5 \cdot Z} = D_{121-5 \cdot 10} = D_{71} = 0,0005 \cdot 100000 = 50 \text{ secunde}$$

$$D_{T_R-6 \cdot Z} = D_{121-6 \cdot 10} = D_{61} = 0,0005 \cdot 1000000 = 500 \text{ secunde}$$

• *Numărul de microorganisme care au rămas în viață după efectuarea tratamentului termic (timp de 25 de secunde) la temperatura de 81°C .*

$$F_T^Z = D_T \cdot (\log N_0 - \log N)$$

$$F_{81}^{10} = D_{81} \cdot (\log N_0 - \log N)$$

$$F_{81}^{10} = D_{81} \cdot \log \frac{N_0}{N} = 5 \cdot \log \frac{4 \cdot 10^5}{N}$$

Timpul de distrugere termică la temperatura de 81°C , este egal cu 25 secunde.

$$F_{81}^{10} = 25 \text{ secunde} = 5 \cdot \log \frac{4 \cdot 10^5}{N}$$

$N = 4$ microorganisme care au supraviețuit tratamentului termic

• *Durata unui tratament termic echivalent care să fie efectuat la temperatura de 71°C*

Timpul de distrugere termică la temperatura de 71°C , F_{71} va fi egal cu

$$F_{71}^{10} = D_{71} \cdot (\log N_0 - \log N)$$

$$F_{71}^{10} = D_{71} \cdot \log \frac{N_0}{N} = 50 \cdot \log \frac{4 \cdot 10^5}{4} = 50 \cdot 5 = 250 \text{ secunde}$$

Bibliografie

1. C. Banu, G. Bahrim, E. Barascu, (2008), *Tratat de industrie alimentară – Probleme generale*, Ed. Asab, București
2. Shafiur Rahman M., (1999), *Handbook of food preservation*, Ed. Marcel Dekker, New York

4. Partea experimentală. Determinarea activității enzimaticе

Scopul tehnicilor de conservare este de a inhiba sau de a distruge enzimele și microorganismele care se găsesc în produsele alimentare.

Inactivarea enzimelor se realizează în general printr-un tratament termic (opărire, pasteurizare, sterilizare) care trebuie să asigure inactivarea tuturor enzimelor prezente în produsul alimentar și în special a enzimelor oxidative, care prezintă cea mai mare rezistență termică. Deoarece dintre enzimele oxidative, peroxidaza este cea mai rezistentă la temperaturi ridicate, controlul tratamentului termic se face prin proba peroxidazei.

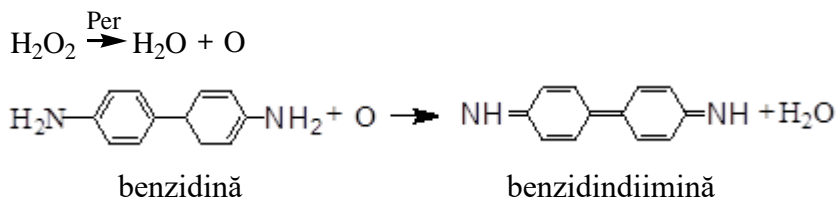
4.1. Identificarea activității peroxidazei

Peroxidaza descompune apa oxigenată, cu eliberare de oxigen atomic activ, capabil să oxideze diferite substanțe (amine aromatice, polifenoli). Producții de oxidare sunt colorați și permit determinarea colorimetrică a activității peroxidazei (intensitatea culorii este direct proporțională cu concentrația enzimei).

4.1.1. Controlul pasteurizării smântâni

Prin testul peroxidazei se verifică dacă s-a efectuat corect operația de pasteurizare. Peroxidaza din lapte sau din alte produse lactate descompune apa oxigenată, cu eliberare de oxigen atomic activ, capabil să oxideze benzidina formând un compus colorat albastru-verzui care trece treptat în brun închis.

Reacția care stă la baza metodei de identificare a enzimei este:



Modul de lucru

Într-o eprubetă se introduc 2-3 ml de smântână, se adaugă 2-3 ml de apă distilată încălzită la 40 - 45°C și se amestecă bine. Peste amestec se adaugă

1 ml soluție alcoolică de benzidină 0,2 % și 2-3 picături de apă oxigenată 1%. Dacă pasteurizarea smântânii a fost bine realizată, compoziția nu își schimbă culoarea. În cazul în care smântâna nu a fost pasteurizată corespunzător, amestecul se colorează în albastru-verzui.

4.1.2. Controlul activității peroxidazei din produsele vegetale blanșate

Prin testul peroxidazei se verifică dacă s-a efectuat corect operația de opărire. Opărirea (blanșarea) are ca scop: inactivarea oxidazelor și catalazelor care determină brunificarea, micșorarea încărcăturii microbiene și eliminarea aproape totală a aerului din țesuturi (stabilizând pigmentii clorofilici, antocianinici și conținutul în vitamina C), contractarea volumului și înmuierea texturii (datorită hidrolizei protopectinei și dizolvării parțiale a hemicelulozelor), eliminarea unor mirosuri / gusturi nedorite. Timpul de opărire este timpul minim necesar pentru inactivarea tuturor enzimelor.

4.1.1.1. Metoda cu guaiacol (2-metoxifenol)

La proba inactivării peroxidazei se folosesc următorii reactivi: o soluție alcoolică 1 % guaiacol (într-un balon cotat de 100 ml se introduce 1 g guaiacol și se dizolvă în aproximativ 50 ml alcool etilic 96 %, după care se completează până la 100 ml cu alcool 96 %) și 0,3 % apă oxigenată (într-un balon cotat de 100 ml se introduce 1 ml perhidrol și se completează cu apă distilată până la 100 ml). Pentru efectuarea probei se iau din diferite locuri o cantitate oarecare de legume opărite, care se zdrobesc într-un mojar pentru a obține o probă medie. 10 – 20 g din această probă se introduc într-o eprubetă, se adaugă 20

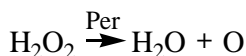
ml apă distilată, 1 ml soluție de guaiacol și 1,70 ml soluție de apă oxigenată, după care se agită energic întreg conținutul.

Orientativ, activitatea peroxidazei poate fi controlată și prin simpla turnare a câtorva picături de soluție de guaiacol 1% și de apă oxigenată 0,30% peste legumele opărite și zdrobite.

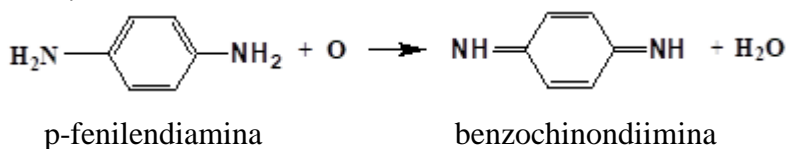
Colorarea rapidă și intensă în brun-roșcat a țesuturilor indică o puternică activitate a peroxidazei (reacție pozitivă). Apariția lentă a unei colorații slab roșcate arată o inactivare incompletă a peroxidazei (reacție slab pozitivă), iar când nu se constată timp de 5 minute nici o modificare de culoare a țesuturilor, reacția este negativă (enzimele fiind complet inactivate).

4.1.1.2. Metoda cu *p*-fenilendiamină

Peroxidaza catalizează reacția dintre apa oxigenată și *p*-fenilendiamină cu formarea unui compus colorat violet, a cărui concentrație poate fi dozată spectrofotometric la 420 nm.



Reacția care stă la baza metodei este:



5 g de produs vegetal, care a fost în prealabil blanșat, se mojarază fin, după care se adaugă 25 ml de apă distilată. Suspensia obținută împreună cu suspensiile rezultate ulterior ca urmare a unor spălări repetate cu apă distilată se colectează într-un pahar Berzelius, se agită pentru omogenizare, se lasă 30 de minute în repaus, după care se filtrează. Filtratul care conține extractul de peroxidază se colectează într-un vas Erlenmeyer uscat. Se lasă 30 minute la temperatura camerei. Apoi, se măsoară la un spectrofotometru absorbanta soluției la lungimea de undă 420 nm, folosind ca etalon apa distilată.

În paralel se execută o probă etalon în care se folosesc 5 g de produs vegetal neblanșat. Se compară activitatea peroxidazei pentru cele două probe.

Activitatea peroxidazei (AP) se calculează cu relația:

$$A.P. = \frac{A \cdot d}{m}$$

în care:

A = absorbanța probei la 420 nm;

m = masa de produs vegetal analizată, în g

d = factor corespunzător diluției realizate în timpul preparării probelor

Modificarea activității peroxidazei este indicată de modificarea valorii absorbantei (corespunzătoare lungimii de undă de 420 nm) pentru proba de produs vegetal neblanșat comparativ cu proba de produs vegetal blanșat.

4.2. Identificarea tirozinazei

La această probă este folosit așa numitul reactiv Rothenfusser (2,60 g guaiacol dizolvat în 135 ml alcool + 1 g clorhidrat de p-fenilendiamină dizolvat în 15 ml apă distilată). Acest reactiv picurat pe material dă în prezența tirozinazei active fie o culoare violetă (atunci când pH-ul materialului este mai mare de 3,50), fie o culoare albastră-verzuie (atunci când pH-ul materialului este mai mic de 3,20). La expuneri prelungite în aer culoarea albastru-verzui trece la violet chiar și în cazul unui pH mai mic decât 3,20.

4.3. Identificarea polifenoloxidazei

Se utilizează ca reactiv pirocatechina sau dihidroxi-fenil-alanina. Soluțiile acestor reactivi dau în prezența polifenoloxidazelor o colorație roșie-brună.

Trebuie menționat că, în controlul curent al producției este utilizată în general reacția peroxidazei, care este cea mai rezistentă dintre enzimele oxidative.

4.4. Identificarea catalazei

În general, pentru identificarea catalazei se folosește o soluție de 0,50% apă oxigenată, care spumează, degajând oxigen în prezența catalazei active, atunci când este picurată peste o legumă sau un fruct.

Bibliografie

1. Bejan D., (2003), *Tehnici de analiză și calitatea produselor naturale și alimentare*, Tipografia Universității „Gheorghe Asachi”, Iași
2. Boyer R., (2006), *Biochemistry laboratory: Modern theory and techniques* (second edition), Pearson Education, Inc. Pearson Prentice Hall
Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, New Jersey 07458
3. Pop F., (2008), *Îndrumător de laborator pentru analiza și controlul fizico-chimic al produselor alimentare*, Editura RISOPRINT, Cluj Napoca
4. Lopes A.M., Toralles R.P., Rombaldi C.V., *Thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in Jubileu clingstone peach and yeast isolated from its spoiled puree*, Food Sci. Technol, 34(1): 150-156, 2014

LABORATOR NR. 8

Conservarea produselor alimentare prin reducerea conținutului de apă

1. Considerații teoretice

1.1. Apa în produsele alimentare

În funcție de modul de legare apa din produsele alimentare poate fi: apă legată fizic, fizico-chimic și chimic.

a). *apa legată fizic* denumită și *apă capilară* este reținută de către materialele poroase prin forțe de capilaritate, în raporturi cantitative nedeterminate. Ea se subîmparte în *apă macrocapilară* și *microcapilară*.

- *apa macrocapilară* este apa care se găsește în capilare cu raza mai mare de 10^{-5} cm. Este numită și *umiditate liberă* sau *superficială* deoarece se îndepărtează foarte ușor prin evaporare. Apa macrocapilară reprezintă circa 70% din totalul umidității produselor alimentare și conține foarte multe substanțe dizolvate cum ar fi: zaharuri, acizi, săruri.

- *apa microcapilară* se găsește în capilarele cu raza mai mică decât 10^{-5} cm, fiind denumită și *apă higroscopică*. Cantitatea de apă microcapilară existentă în produs depinde de prezența substanțelor solubile din apă și de condițiile mediului înconjurător (temperatură, umiditatea relativă și presiunea aerului). Apa poate să umple macrocapilarele libere numai prin contactul direct al produsului cu apa, în timp ce microcapilarele se pot umple cu apă atât prin contact direct cât și prin adsorbție din aerul umed.

b). *apa legată fizico-chimic*, denumită și *apă coloidală*, este o formă mai stabilă de legare a apei, fiind prezentă în majoritatea alimentelor. Poate exista sub două forme:

- *apa de umflare* sau *apa osmotică* care este adsorbită osmotic de către particulele coloidale (de exemplu prin imersie);

- *apa de adsorbție*, denumită și *apă de hidratare*, care este reținută prin forțe moleculare pe suprafața particulelor coloidale. *Apa de adsorbție* nu poate fi solidificată nici la temperaturi foarte scăzute de congelare și se poate îndepărta doar parțial prin liofilizare.

c) *apa legată chimic* prin legături intermoleculare poate fi *apă de cristalizare* sau *apă de constituție*.

- *apa de cristalizare*, formează cristalohidrați, ca în cazul glucozei $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$, acidului citric $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ etc. Apa de cristalizare nu poate fi eliminată prin procedee clasice de deshidratare, ci numai prin distrugerea structurii cristaline sub efectul temperaturilor înalte (calcinare);

- *apa de constituție* este fixată în general prin legături de hidrogen. În funcție de efectele îndepărtării ei poate fi *apă vitală* (îndepărtarea ei are efecte letale) și *apă remanent congelabilă* (care poate fi eliminată doar după moartea celulei).

După modul în care poate fi îndepărtată din produsele alimentare apa poate exista sub una din următoarele forme: *apă liberă și apă legată*.

Apa liberă este *apa din macrocapilare și apa osmotică* (de umflare). Ea se găsește sub formă de suc celular sau sub formă de micropicături. Se poate îndepărta din produs prin presare, centrifugare, uscarea sau poate fi separată prin congelare. Procesele enzimatice, unele reacții neenzimatice și dezvoltarea microorganismelor nu pot avea loc decât în prezența apei libere.

Apa legată (apa imobilizată) este apa care nu poate fi îndepărtată total și poate fi separată doar parțial prin congelare. Apa din alimente poate fi legată prin legături intermoleculare (legături de hidrogen, forțe Van der Waals). Presiunea de vapori a apei legate este mai mică decât cea care este deasupra apei pure.

1.2. Parametrii materialului umed

Masa unui material umed (m_{umed}) este formată din *masa materialului uscat* care nu mai conține apă care poate fi extrasă termic (m_{uscat}) și *masa apei* conținută în materialul umed ($m_{apă}$).

Umiditatea materialului poate fi exprimată în două moduri: prin *umiditatea relativă* (φ_m) și prin *umiditatea absolută* (U_m).

Umiditatea relativă reprezintă raportul dintre masa de apă din corp ($m_{apă}$) și masa totală a corpului umed (masă substanță uscată + masă apă);

$$\varphi_m = \frac{m_{\text{apă}}}{m_{\text{umed}}} \cdot 100 = \frac{m_{\text{apă}}}{m_{\text{uscat}} + m_{\text{apă}}} \cdot 100 \quad (8.1)$$

Umiditatea absolută a materialului (kg apă / kg substanță uscată) denumită și *conținutul de umiditate al corpului* reprezintă raportul dintre masa de apă din material ($m_{\text{apă}}$) și masa substanței uscate (m_{uscat}).

$$U_m = \frac{m_{\text{apă}}}{m_{\text{uscat}}} \cdot 100 \quad (8.2)$$

În tabelele referitoare la compoziția alimentelor se utilizează cel mai des *umiditatea relativă*, în timp ce în calculele pentru procesele de uscare se utilizează în special *umiditatea absolută*.

Cele două tipuri de umidități se pot exprima ușor una în funcție de cealaltă.

$$U_m = \frac{m_{\text{apă}}}{m_{\text{uscat}}} = \frac{m_{\text{apă}}}{m_{\text{umed}} - m_{\text{apă}}} = \frac{\frac{m_{\text{apă}}}{m_{\text{umed}}}}{\frac{m_{\text{umed}}}{m_{\text{umed}}} - \frac{m_{\text{apă}}}{m_{\text{umed}}}} = \frac{\varphi_m}{1 - \varphi_m} \quad (8.3)$$

respectiv

$$\varphi_m = \frac{U_m}{1 + U_m} \quad (8.4)$$

Cantitatea de apă din alimente se determină ușor prin luarea unei probe reprezentative și uscarea acesteia până la masă constantă. Aparatul de laborator utilizat curent este balanța analitică.

Umiditatea de echilibru. Un corp umed care stă un timp îndelungat într-o încălzire cu aer umed (caracterizat prin temperatura T_{aer} și umiditatea relativă φ_{aer}) ajunge la un echilibru dinamic al umidității sale. Umiditatea relativă a unui corp umed în echilibru termodinamic cu aerul de umiditate și temperatură date (T_{aer} , φ_{aer}) se numește *umiditate relativă de echilibru* notată φ_{me} (%), pentru care corespunde *umiditatea absolută de echilibru* U_{me} .

Umiditatea critică reprezintă umiditatea la care viteza de uscare începe să scadă prima dată în condiții de uscare constante.

Prin *umiditate legată* se înțelege apa legată fizic și/sau chimic de materia solidă care are o presiune a vaporilor mai mică decât presiunea de vapori a apei pure la aceeași temperatură.

Umiditatea liberă reprezintă umiditatea materialului care este în exces față de umiditatea de echilibru (deci poate fi îndepărtată). Trecerea umidității libere din material în mediul ambiant are loc atunci când presiunea parțială a vaporilor de apă de deasupra materialului umed este mai mare decât presiunea parțială a vaporilor de apă din mediul înconjurător. Procesul de uscare va decurge până în momentul în care presiunea parțială a vaporilor de apă de deasupra materialului și presiunea parțială a vaporilor de apă din aer devin egale. Umiditatea materialului corespunzătoare momentului când se stabilește echilibrul între cele două presiuni parțiale se numește *umiditate de echilibru* (figura XIII.1).

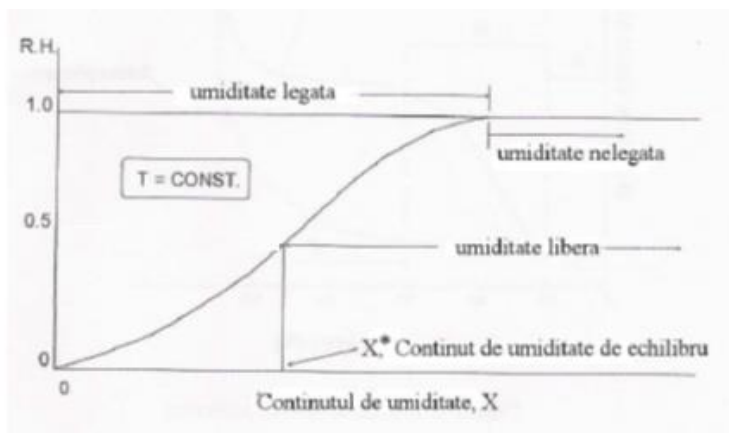


Figura XIII.1. Diferite tipuri de umiditate a corpului

1.3. Parametrii aerului umed

Aerul umed este un amestec de *aer uscat* (fără vapori de apă) și *vapori de apă*. El poate fi asimilat cu un amestec de gaze ideale, care respectă legea lui Dalton.

Aerul umed este caracterizat prin trei variabile independente de stare: presiune barometrică (p), temperatură (T) și conținut de umiditate (x).

1. *Umiditatea absolută* a aerului reprezintă masa vaporilor de apă dintr-un metru cub de aer umed. Deoarece volumul vaporilor este egal cu volumul

aerului umed umiditatea absolută este egală cu densitatea vaporilor de apă din amestec, ρ_v în kg/m^3 .

2. *Umiditatea relativă* a aerului reprezintă raportul dintre masa vaporilor de apă conținuți într-un metru cub de aer umed, ρ_v , și masa lor maximă (la saturație) care poate fi conținută în același volum, la aceeași presiune totală și temperatură, ρ_s . Umiditatea relativă a aerului se notează cu φ și se exprimă în procente, folosind relația:

$$\varphi = \frac{\rho_v}{\rho_s} \cdot 100 \quad (8.5)$$

Dacă se aplică ecuația de stare a gazelor ideale ($p_v = \frac{\rho_v}{M_v} \cdot R \cdot T$) și se exprimă densitatea în funcție de presiunea parțială se obține pentru umiditatea relativă expresia:

$$\varphi = \frac{p_v}{p_s} \cdot 100 \quad (8.6)$$

în care: p_v reprezintă presiunea parțială a vaporilor de apă conținuți în aerul umed, iar p_s presiunea de saturație a vaporilor de apă.

3. *Conținutul de umiditate* al aerului reprezintă masa vaporilor de apă raportată la masa aerului uscat.

$$x = \frac{m_v \text{ (kg apă)}}{m_a \text{ (kg aer uscat)}} \quad (8.7)$$

Dacă se ține cont de ecuația de stare a gazului ideal ($p_v \cdot V = \frac{m_v}{M_v} \cdot R \cdot T$);

$p_a \cdot V = \frac{m_a}{M_a} \cdot R \cdot T$ și se exprimă masa vaporilor de apă în funcție de presiunea parțială a vaporilor se obține:

$$x = 0.622 \cdot \frac{\varphi \cdot p_s}{p - \varphi \cdot p_s} \quad (8.8)$$

Pentru aerul saturat $\varphi = 1$ deci *conținutul de umiditate al aerului saturat* va fi:

$$x_s = 0.622 \cdot \frac{p_s}{p - p_s} \quad (8.9)$$

Cantitatea de vapori de apă necesară saturării unei mase date de aer uscat crește cu creșterea temperaturii.

4. *Gradul de saturație* este definit ca raport între conținutul de umiditate al aerului x și cantitatea maximă de apă care ar putea să existe în aerul umed

la saturație x_s la aceeași presiune și temperatură. Se notează de obicei cu ψ și se calculează cu relația:

$$\Psi = \frac{x}{x_s} = \varphi \cdot \frac{p - p_s}{p - p_v} \quad (8.10)$$

La temperaturi mici deoarece $p_v \ll p$ și $p_s \ll p$, gradul de saturație ψ devine egal cu umiditatea relativă a aerului φ . Acest lucru este valabil și atunci când aerul este aproape de saturație deoarece presiunea parțială a vaporilor de apă conținuți în aerul umed este aproximativ egală cu presiunea barometrică $p_v \approx p$.

5. *Entalpia aerului umed* este egală cu suma dintre entalpia aerului uscat și entalpia vaporilor de apă care se găsesc în acesta. Entalpia amestecului format dintr-un kilogram de aer uscat și x kg vaporii de apă va fi:

$$i = i_a + x \cdot i_v = C_{pa} \cdot T + x \cdot (r_v + C_{pv} \cdot T) \quad (8.11)$$

unde: i_a – entalpia unui kilogram de aer uscat, iar i_v – entalpia unui kilogram de vaporii de apă (supraîncălziți la temperatura T), r_v – căldura latentă de vaporizare a apei la temperatura T .

6. *Punctul de rouă (temperatura de saturație, temperatura de rouă)* reprezintă temperatura la care un gaz cu un conținut de umiditate constant devine saturat prin răcire. Temperatura de rouă se citește din tabelele termodinamice în funcție de presiunea de saturație. Presiunea de saturație se poate calcula ușor dacă se cunosc presiunea barometrică și conținutul de umiditate al aerului, folosind ecuația:

$$p_s = \frac{x \cdot p}{0.622 + x} \quad (8.12)$$

Pentru valoarea presiunii de saturație calculată cu ecuația de mai sus de citește din tabele *temperatura de rouă*.

7. *Temperatura termometrului umed (temperatura limitei de răcire a corpurilor umede)* este temperatura la care un gaz aflat în contact cu un lichid devine saturat ($\varphi = 1$) prin răcire în condiții adiabactice (la entalpie constantă). Temperatura termometrului umed poate fi determinată cu ușurință pe cale grafică cu ajutorul diagramei $i - x$.

1.4. Activitatea apei și izotermele de sorbție

În funcție de relația care există între presiunea de vapori a fazei apoase dintr-un produs alimentar și presiunea vaporilor de apă din atmosferă se disting următoarele situații:

- presiunea parțială a vaporilor de apă de la suprafața produsului este mai mică decât presiunea parțială a vaporilor de apă din atmosferă (în acest caz produsul este *higroscopic*);
- presiunea parțială a vaporilor de apă de la suprafața produsului este mai mare decât presiunea parțială a vaporilor de apă din atmosferă (în acest caz produsul este *higroemisiv*);
- presiunea parțială a vaporilor de apă de la suprafața produsului este egală cu presiunea parțială a vaporilor de apă din atmosferă (în acest caz nu are loc nici adsorbție, nici cedare de apă).

Pentru a caracteriza gradul de legare a apei și disponibilitatea ei de a participa la transformări fizice, chimice și microbiologice s-a introdus un parametru, numit activitatea apei. Activitatea apei este definită ca un raport între presiunea parțială a vaporilor de apă de la suprafața produsului alimentar (p) și presiunea de vapori ($p_0 = p_s$) a apei pure la aceeași temperatură:

$$a_w = \frac{p}{p_s} \cdot 100 \quad (8.13)$$

Umiditatea relativă a aerului (φ) reprezintă raportul dintre masa vaporilor de apă conținuți într-un anumit volum de aer umed la o anumită temperatură și cantitatea maximă de vapori de apă care poate fi conținută în același volum de aer la aceeași temperatură (la saturație):

$$\varphi = \frac{m_v}{m_s} \cdot 100 = \frac{p_v}{p_s} \cdot 100 \quad (8.14)$$

La echilibru $p = p_v$ și prin urmare între activitatea apei și umiditatea de echilibru există următoarea relație:

$$a_{we} = \frac{\varphi_e}{100} \quad (8.15)$$

Valorile numerice ale activității apei variază între 0 (la produsele complet anhidre) și 1 (la apa pură). Noțiunile de umiditate relativă de echilibru și de activitate a apei sunt mai complete decât noțiunea de umiditate a produsului, deoarece în felul acesta se explică influența substanțelor dizolvate asupra

microorganismelor. Cu cât concentrația de substanțe dizolvate dintr-o soluție apoasă este mai mare cu atât acestea leagă fizico-chimic un număr mai mare de molecule de apă și deci cu atât mai puține molecule de apă sunt în stare liberă, adică activitatea apei are valoare mai mică. Cu cât activitatea apei este mai mică, cu atât conservabilitatea produsului alimentar este mai mare. În general, dezvoltarea microorganismelor are loc pentru valori ale activității apei cuprinse în intervalul $0.62 \div 1$. Bacteriile prezintă cele mai mari cerințe de umiditate fiind inhibate la o activitate a apei mai mică de 0.85; drojdiile sunt inhibate la o activitate a apei mai mică de 0.78, iar mucegaiurile la sunt inhibate la o activitate a apei mai mică decât 0.65. În cadrul fiecărei grupe există specii de microorganisme numite xerofile, care rezistă la activități mici ale apei, respectiv la umiditate redusă. Dacă activitatea apei a_w este redusă sub aceste valori prin deshidratare sau prin adăugarea agenților de legare a apei cum ar fi zaharuri, glicerină sau sare, dezvoltarea microbiană este inhibată. Activitatea apei este influențată de temperatură, presiunea osmotică și pH.

Izotermele de sorbție. Corelația dintre conținutul în apă al unui produs alimentar (kg apă/ kg substanță uscată) și umiditatea relativă a aerului înconjurător la o temperatură dată poate fi reprezentată grafic prin izotermele de sorbție. Aceste curbe experimentale indică la ce conținut de apă al produsului se poate stabili un echilibru cu umiditatea relativă a aerului.

Izotermele sunt, în general, sigmoide dar zonele de inflexiune sunt foarte diferite (*figura XIII.2.*).

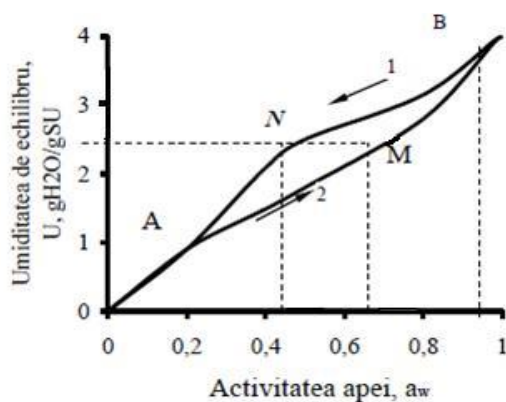


Figura XIII.2. Izoterme de adsorbție (2) și de desorbție a apei (1)

După modul de legare a apei în produs, pe izoterma de sorbție *se pot diferenția în principal trei zone:*

- prima zonă ($a_w = 0 \div 0,2$) corespunde apei de adsorbție;
- a doua zonă ($a_w = 0,2 \div 0,6$) se referă la *apa din micro și macrocapilare* care poate participa la reacțiile chimice și biochimice care necesită ca solvent apa.
- a treia zonă ($a_w > 0,6$) corespunde apei libere care se găsește preponderent *în macrocapilare*. Aceasta poate să dizolve substanțele solubile și este utilizată în reacțiile enzimatiche și de către microorganisme.

1.5. Fazele procesului de uscare

Apa conținută în produs trebuie să ajungă la suprafața acestuia pentru a fi antrenată de aerul cald și uscat. Procesul de uscare este controlat de proprietățile aerului umed care înconjoară produsul și de proprietățile produsului. Transferul de căldură și transferul de masă au loc cu viteze diferite, cel de căldură fiind mult mai intens decât cel de umiditate.

În timpul uscării în produsul alimentar au loc următoarele fenomene:

- *difuziunea externă* – caracterizată prin evaporarea apei de la suprafața produsului;
- *difuziunea internă* – constă în migrarea apei din straturile interioare spre exterior ca urmare a diferenței de presiune osmotică provocată de concentrațiile diferite ale substanțelor solubile în lichidul din interiorul produsului alimentar și în lichidul de la periferia particulei de produs;
- *termodifuziunea apei* – reprezintă procesul de deplasare a apei sub formă de vapori ca urmare a diferenței de temperatură dintre straturile periferice și cele interioare ale produsului. Termodifuzia este procesul invers difuziei interne, adică provoacă deplasarea apei din exteriorul produsului spre interiorul acestuia, deoarece temperatura exterioară este superioară. Efectul termodifuziunii poate fi redus prin opărirea produselor alimentare deoarece prin acest tratament termic se creează o temperatură ridicată în interiorul alimentului care nu diferă prea mult de temperatura de la suprafața alimentului.

Procesul de deshidratare se poate subdivide în principiu în trei faze caracteristice:

I *Faza de încălzire a produsului*: în care căldura este consumată aproape integral pentru încălzirea alimentului și numai o cantitate mică de căldură este folosită pentru evaporarea apei. Temperatura produsului crește de la valoarea inițială până la valoarea termometrului umed a aerului de uscare.

II *Faza deshidratării cu viteză constantă*: Apa liberă este evaporată treptat cu o viteză de deshidratare constantă (se elimină cca 70% din umiditatea totală). În această etapă temperatura aerului este egală cu temperatura termometrului umed și durează până la atingerea *umidității critice a produsului* (umiditatea alimentului devine egală cu umiditatea aerului umed și poartă denumirea de *umiditate critică*). Umiditatea critică (x_c) pentru numeroase produse alimentare este situată în limitele 0,4...0,8 kg apă/kg substanță uscată. Difuzia internă devine tot mai importantă și în final viteza de uscare poate scădea. Evaporarea nu se mai produce la suprafața produsului, ci la o anumită adâncime.

III *Faza deshidratării cu viteză descrescătoare* – După evaporarea apei libere, procesul de uscare continuă cu evaporarea unei părți din apa legată (se elimină o parte din apa coloidală și parțial cea de adsorbție). În această fază viteza de deshidratare scade foarte mult, proporțional cu reducerea umidității produsului. Rezistențele la transferul de căldură și de masă guvernează procesul, viteza de uscare depinzând numai de viteza de difuzie a umidității din interiorul la suprafața produsului. Temperatura produsului începe să crească, atingând temperatura termometrului uscat (atât umiditatea cât și temperatura se apropie tot mai mult de constantele agentului de uscare). În final se atinge *umiditatea de echilibru* când produsul nici nu mai cedează, nici nu mai preia umiditate din exterior.

Între vitezele fenomenelor de difuziune trebuie să existe o anumită corelație. În cazul în care difuziunea externă decurge mult mai rapid decât difuziunea internă, apa care există la suprafața produsului se elimină rapid și ca urmare pe suprafața produsului se forma o crustă (fenomenul de scorjire) ce va îngreuna procesul ulterior de uscare.

2. Parte experimentală. Determinarea conținutului de apă din produsele alimentare

Legumele și fructele deshidratate se obțin prin reducerea conținutului de apă din materii prime vegetale proaspete până la un nivel care să împiedice activitatea microorganismelor și care să asigure păstrarea produselor alimentare în timp (fără a le fi distruse țesuturile sau fără a li se deprecia valoarea alimentară).

Produsele destinate deshidratării pot fi:

- legume: varză; frunze de pătrunjel, păstârnac, țelină; conopidă; ardei; rădăcini de morcov, pătrunjel, păstârnac, țelină, sfeclă; tuberculi de cartofi; bulbi de ceapă, usturoi;

- fructe: mere; pere, gutui; caise; prune.

Sunt indicate legumele și fructele cu un conținut ridicat de substanță uscată solubilă pentru a reduce cantitatea de apă ce trebuie eliminată în timpul procesului de deshidratare. Conținutul ridicat de zaharuri și acizi organici din fructe permite realizarea de produse deshidratate cu umiditatea mai ridicată (de până la 20%), deoarece prin creșterea cantității de zahăr se împiedică dezvoltarea microorganismelor (drojdii, mucegaiuri, bacterii). În cazul legumelor deshidratarea trebuie realizată până la o umiditate de maxim 8÷9% pentru a inhiba dezvoltarea microorganismelor. În stare proaspătă fructele conțin 15 ÷ 21% substanță uscată din care zahărul reprezintă 6 ÷ 17%, iar aciditatea 0,6 ÷ 1,8%, în timp ce legumele conțin numai 2÷7% zahăr și 0,01 ÷ 0,07% acizi organici.

În afară de zaharuri și acizi se găsesc și alți componenți cum ar fi: substanțele pectice, vitaminele, enzimele, substanțele minerale etc. Calitatea tehnologică a legumelor și fructelor este dată și de stadiul de maturitate.

Uscarea fructelor și legumelor se realizează de obicei în două etape. La produsele care au o structură poroasă (mere, pere, majoritatea legumelor) și a căror umiditate se poate îndepărta ușor, uscarea se face în prima etapă la temperaturi ridicate ale aerului (70÷90°C), iar în etapa a doua la temperaturi mai scăzute (50÷60°C). Fructele cu un conținut ridicat de zahăr (prune, struguri, caise, cireșe vișine), cele cu aromă specifică pronunțată și legumele care au o cantitate mare de uleiuri volatile sunt uscate în prima etapă la

temperaturi scăzute (45÷55°C), iar în etapa a doua la temperaturi mai ridicate (60÷70°C).

2.1. Principiul metodei

Proba de analizat se usucă în etuvă până la masă constantă în anumite condiții de temperatură și presiune.

2.1. Aparatură și materiale

- etuvă electrică termoreglabilă;
- fiole de cântărire metalice sau din sticlă;
- exicator.

2.2. Pregătirea probelor

Din proba de laborator se iau 50 ... 100 g, se mărunțesc în particule de 2 ... 3 mm și se introduc într-un vas cu închidere etanșă. Analiza se execută în maximum 30 minute de la pregătirea probei.

2.3. Mod de lucru

În două fiole de sticlă sau de metal, aduse în prealabil la masă constantă la temperatura de 100°C, se cântăresc, cu precizie de 0,001 g, câte 5 g probă.

Fiolele se țin în etuvă timp de 4 ore la următoarele temperaturi:

- la 85 ... 90°C varza, ceapa și frunzele legumelor;
- la 95 ... 100°C celelalte fructe și legume

După scoaterea din etuvă, fiolele se răcesc în exicator și se cântăresc cu o precizie de 0,001 g. Uscarea în etuvă, răcirea și cântărirea se repetă până când diferența dintre două cântăriri consecutive este mai mică de 0,001 g.

1.2. Calcul

Umiditatea se exprimă în procente și se calculează cu formula:

$$umiditate = \frac{m_1 - m_2}{m} \cdot 100$$

în care:

m_1 – este masa fiolei cu probă înainte de uscare, în grame;

m_2 – este masa fiolei cu probă, după uscare, în grame;

m – este masa probei luată pentru analiză, în grame.

Ca rezultat se ia media aritmetică a celor două determinări efectuate în paralel, dacă sunt îndeplinite condițiile de repetabilitate de la punctul următor.

Bibliografie

1. ***, Colecție de standarde pentru industria conservelor de legume și fructe, București
2. Bejan D., (2003), *Tehnici de analiză și calitatea produselor naturale și alimentare*, Tipografia Universității „Gheorghe Asachi”, Iași
3. Croitor N., Lenco G., (2009), *Tehnologie si control în industria conservelor vegetale – îndrumar de lucrări practice*, Ed. Fundatiei Universitare Dunărea de Jos, Galați
4. Mănescu S., *Deshidratarea legumelor si fructelor in uscatoare tunel*, Ed. Agro-silvica, Bucuresti, 1968
5. Radu I.F., (1939), *Industrializarea fructelor prin tratare cu bioxid de sulf si uscare*, Tipografia Vreamea, Bucuresti
6. Radu I.F., (1972), *Tehnologia deshidratării fructelor și legumelor și folosirea lor*, Ed. Didactică și Pedagogică
7. Lupea A.X., Botiș M., (1995), *Tehnologii în industria alimentară*, Rotaprint, Timișoara
8. Danilevici C., Nită M., (2006), *Controlul conservelor vegetale prin analize senzoriale si fizico-chimice – îndrumar de laborator*, Ed. Valahia University Press, Târgoviste
9. Segal B., Ionescu E., Ionescu R., *Utilajul si tehnologia prelucrării legumelor si fructelor*, Ed. Didactica si Pedagogica, Bucuresti, 1988
10. Satinover N., Marinescu I., (1962), *Conservarea industrială a alimentelor*, Ed. Tehnică, București
11. Segal B., Balint C., (1982), *Procedee de îmbunătățire a calității și stabilității produselor alimentare*, Ed. Tehnică, București