

CZU: 637.12:577.112:547.96

<https://doi.org/10.53082/1857-3142.26.95.11>

Această lucrare poartă licența: CC BY-NC-ND 4.0

The casein–chitosan system: obtaining the ingredient for food matrices

Sistemul cazeină–chitosan: obținerea ingredientului pentru matrici alimentare

Anatoli CARTAȘEV^{1,2},

doctor în științe biologice

<https://orcid.org/0000-0002-3592-3919>;e-mail: anatolicartasev@gmail.com**Maria-Marcela BARBAROȘ¹,**

cercetător științific

<https://orcid.org/0000-0003-4670-9472>;e-mail: barbarosmarcela@gmail.com**Liudmila NECRÎLOVA¹,**

cercetător științific

<https://orcid.org/0000-0002-3206-9251>;e-mail: necc_liudmila@yahoo.com¹ IP Institutul Național de Cercetări Aplicative în Agricultură
și Medicină Veterinară² Universitatea de Stat din Comrat

Abstract. The paper reports a simple, membrane-free approach to obtain a protein-rich fraction from skim milk by casein–chitosan complexation under mild conditions (20–25 °C, 60 min.), followed by centrifugation (9 000 rpm, 10 min.). Two chitosan doses (0.3% and 0.6% m/v) were evaluated through pH evolution, wet pellet yield, and residual protein in the supernatant quantified by the Biuret method (540 nm) for protein mass balance. Clear phase separation and a compact pellet were obtained in both variants, with pH after 60 min. of 5.67 ± 0.06 and 5.53 ± 0.06 , respectively. The results support the feasibility of producing a functional protein–polysaccharide ingredient for food matrices.

Keywords: skim milk, casein, chitosan, complexation, protein recovery, Biuret assay.

Rezumat. În lucrare sunt prezentate rezultatele cercetărilor privind obținerea unei fracții bogate în proteine din lapte degresat prin complexarea cazeinei cu chitosan, în condiții blânde (20–25 °C, 60 min.), urmată de separarea prin centrifugare (9 000 rpm, 10 min.). Au fost evaluate două doze de chitosan (0,3% și 0,6% m/v) prin monitorizarea pH-ului, masa sedimentului umed și proteina reziduală în supernatant determinată prin metoda Biuret (540 nm), utilizată pentru bilanțul proteic. În ambele variante s-au obținut separarea clară a fazelor și un sediment compact; pH-ul după 60 min. a fost $5,67 \pm 0,06$ și $5,53 \pm 0,06$. Rezultatele confirmă fezabilitatea obținerii unui ingredient proteic–polizaharid cu potențial de utilizare în matrici alimentare.

Cuvinte-cheie: lapte degresat, cazeină, chitosan, complexare, recuperare proteică, metoda Biuret.

Introducere

Cazeina ($\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, β - și κ -cazeina) este organizată în miceli a căror stabilitate este asigurată de stratul de κ -cazeină și de echilibrul mineral coloidal, în special fosfatul de calciu, ceea ce conferă laptelui proprietăți coloidale decisive pentru procesare (fig. 1). În domeniul ingredientelor proteice, două familii tehnologice rămân dominante: (i) cazeina obținută prin coagulare/precipitare (acidă sau enzimatică), urmată de spălări și eventual neutralizare, și (ii) ingredientele de tip concentrat/izolat de cazeină micelară

(CCM/ICM), produse prin microfiltrarea laptelui degresat, care păstrează micelii într-o formă apropiată de starea nativă și, în consecință, pot manifesta funcționalități diferite față de cazeina acidă (de exemplu, dispersabilitate, comportament de gelificare și capacitate de legare a apei). Progresul recent în CCM/ICM este documentat atât prin sinteze critice ale metodelor de fabricație și aplicațiilor, cât și prin studii care arată că temperatura de microfiltrare și pH-ul modulează compoziția minerală, calciul ionic și stabilitatea termică/ionică a rețentatelor, cu impact direct asupra proprietăților reologice și a performanței în produse alimentare [1].

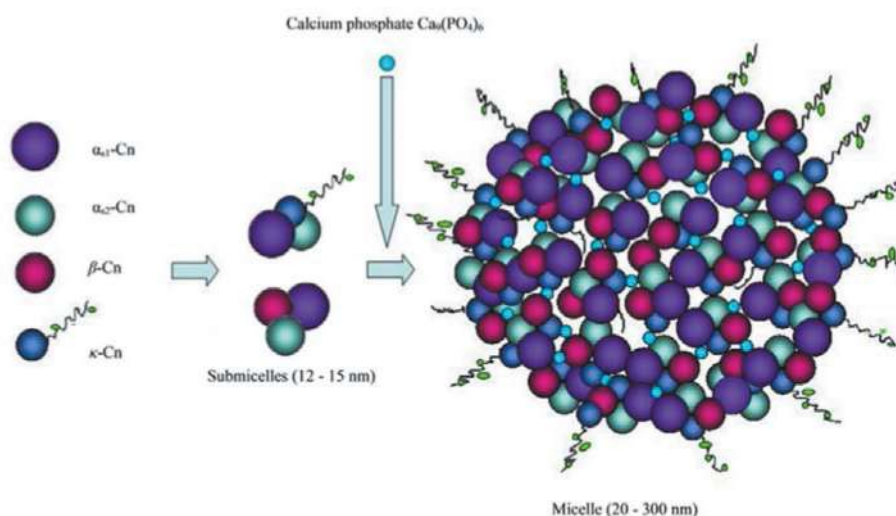


Figura 1. Reprezentarea schematică a miceliului de cazeină [2]

În paralel, creșterea cererii pentru produse cu densitate proteică ridicată (inclusiv fermentate) a accentuat nevoia de ingrediente obținute prin rute tehnologice mai flexibile și, uneori, mai puțin dependente de infrastructura membranară [3]. În iaurt, fortificarea proteică poate îmbunătăți fermitatea și viscozitatea prin densificarea rețelei de gel, însă poate amplifica fenomene nedorite precum sinereza și defectele de microstructură dacă nu sunt optimizate simultan tratamentul termic, omogenizarea, compoziția bazei și cinetica fermentației. Aceste relații sunt tratate extensiv în literatura de sinteză privind sinereza și reologia iaurtului, precum și în lucrări care discută factorii de calitate și profilul senzorial în raport cu ingredientele și condițiile de procesare [4].

În acest context, chitosanul se conturează ca metodă de „separare blândă” și de structurare funcțională prin complexarea electrostatică proteină-polizaharid. Protonarea grupărilor amino ale chitosanului este controlată de pH, forța ionică guvernează ecranarea interacțiilor electrostatice, iar masa moleculară și gradul de deacetilare determină densitatea de sarcină și flexibilitatea lanțului – parametri care, împreună, definesc domeniul de coacervare/complexare și proprietățile fazei dense [5].

Scopul acestei cercetări este de a obține un ingredient proteic pe bază de cazeină prin complexarea electrostatică cu chitosan, printr-o abordare de „separare blândă”, și de a evalua aplicabilitatea acestuia în matrici alimentare. În acest sens, studiul urmărește: (i) identificarea domeniului optim de complexare/coacervare prin controlul parametrilor-cheie (pH, forța ionică, raportul proteină:chitosan, masa moleculară și gradul de deacetilare a chitosanului); (ii) caracterizarea proprietăților fizico-chimice și funcționale ale ingredientului obținut (compoziție proteică, mineralizare, dispersabilitate/solubilitate, comportament reologic) și (iii) verificarea transferabilității funcționale în sisteme alimentare reprezentative, prin cuantificarea impactului asupra stabilității, texturii și microstructurii produselor formulate.

Materiale și metode de cercetare

Materiale. Laptele degresat praf reconstituit (Inlac, Cupcini, Republica Moldova). Chitosan: pulbere obținută din capsule comerciale „Chitosan” 250 mg/capsulă (etichetat ca supliment alimentar) (HaYa

Labs LLC, Washington DC, SUA). Acid acetic: acid acetic glacial (CH_3COOH) (UkrChemGroup, Ucraina). Hidroxid de sodiu: NaOH – reactiv, pentru ajustarea pH-ului (Intex, Ucraina). Acid clorhidric: HCl soluție apoasă 0.5M, acid lactic 0,9% (UkrChemGroup, Ucraina).

Echipamente. Centrifugare: centrifugă ROTINA 35R (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Germania).

Prepararea soluției de chitosan. Chitosanul (HaYa Labs, SUA; pulbere obținută prin deschiderea capsulelor) a fost dizolvat în soluție apoasă de acid acetic 1% (v/v) la 20–25 °C, sub agitare continuă (agitator magnetic, 300 rpm), până la obținerea unei soluții omogene. După solubilizare, soluția a fost filtrată prin hârtie de filtru pentru îndepărtarea particulelor nedizolvate, iar filtratul a fost utilizat imediat în etapa de complexare/coacervare [6].

Complexarea/coacervarea proteinelor din lapte degresat. Pentru fiecare variantă s-au utilizat 250 ml lapte degresat (Inlac, Cupcini, Republica Moldova), adus la 20–25 °C și omogenizat ușor. Soluția de chitosan a fost adăugată treptat sub agitare moderată (300 rpm) până la atingerea concentrației finale planificate (0,3 și 0,6% m/v, în funcție de variantă). Amestecul a fost menținut sub agitare timp de 60 min. pentru formarea fracției coacervate [5]. Volumul supernatantului a fost măsurat direct în cilindrul gradat.

Separarea fracției coacervate. După incubare, suspensia a fost centrifugată 10 min. la 9 000 rpm (centrifuga Rotina 35R; Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Germania). Sedimentul compact a fost colectat ca fracție coacervată, iar supernatantul a fost păstrat pentru determinarea proteinelor reziduale și calculul randamentului de recuperare.

Spălarea sedimentului compact. Sedimentul compact a fost spălat o singură dată cu apă distilată, resuspendat scurt sub agitare manuală până la omogenizare și recentrifugat în aceleași condiții (9 000 rpm, 10 min.). Supernatantul de spălare a fost îndepărtat, iar sedimentul spălat a fost utilizat pentru etapele ulterioare [7].

Randamentul de recuperare a proteinelor (RR, %) a fost calculat pe baza bilanțului de proteină, conform relației 1:

$$RR (\%) = \frac{P_{\text{inițial}} - P_{\text{supernatant}}}{P_{\text{inițial}}} \times 100 \quad (1),$$

unde $P_{\text{inițial}}$ este masa de proteină din volumul inițial de lapte (250 ml/variantă), iar $P_{\text{supernatant}}$ este masa de proteină rămasă în supernatant, determinată prin metoda Biuret (540 nm) și corectată cu factorul de diluție (DF).

Determinări asupra laptelui degresat (analiză ultrasonică). Compoziția laptelui degresat reconstituit a fost determinată prin analiza ultrasonică utilizând analizorul de lapte EkoMilk (Eon Trading LLC, Bulgaria). Au fost măsurăți următorii parametri: substanță uscată fără grăsime (SNF, %), grăsime (%), proteină (%), lactoză (%), densitate (conform scalei afișate de instrument). Determinările au fost efectuate pe probe omogenizate, în minimum trei repetări, iar rezultatele au fost exprimate ca medie $\pm$ abatere standard. pH-ul și aciditatea titrabilă au fost determinate separat prin metodele potențiometrică și titrimetrică, pentru a evita interpretarea indicatorilor de pH afișați de analizor ca valori de referință.

Determinarea proteinelor prin metoda Biuret (aplicată supernatantului). Concentrația de proteină din supernatant a fost determinată prin metoda Biuret (complex Cu^{2+} – legături peptidice), cu măsurarea absorbției la 540 nm pe fotolorimetru (KFK-3). Curba de calibrare a fost construită utilizând un standard proteic pe bază de proteină din zer, Whey Protein Concentrate 80 (WPC 80; Balkan Pharmaceuticals, Bulgaria; conținut proteic declarat pe etichetă: 80 g/100 g), în intervalul 0–6 mg/ml (echivalenți proteină din zer). Din soluția stoc (10 mg/ml echivalent proteină) s-au preparat punctele curbei, iar probele de supernatant au fost analizate după diluție 1:5 (DF=5). Pentru reacție s-au amestecat 0,5 ml probă/standard cu 2,0 ml reactiv Biuret (raport 1:4, v/v), s-a incubat 30 min. la temperatura camerei și s-a citit la 540 nm față de martor (blank) [8].

Liofilizarea

Fracția coacervată a fost congelată la –20 °C până la solidificare completă, apoi a fost liofilizată în sistem Labconco Freeze Dry System (Labconco, SUA) sub vid. Uscarea a fost continuată până la o

masă constantă (diferența <0,1% la două cântăriri consecutive), de regulă 24–48 h, în funcție de cantitatea probei [9].

Determinarea umidității reziduale

Umiditatea reziduală a coacervatului și a pulberii liofilizate a fost determinată gravimetric prin uscare până la o masă constantă [10].

Prelucrarea statistică a datelor. Toate determinările au fost efectuate în minimum trei repetiții independente ($n \geq 3$). Rezultatele au fost exprimate ca medie $\pm$ abatere standard (SD). Normalitatea distribuției a fost verificată prin testul Shapiro–Wilk, iar omogenitatea varianțelor prin testul Levene. Pentru compararea mediilor între mai multe grupuri, s-a utilizat analiza varianței unifactoriale (ANOVA), urmată de testul post-hoc Tukey (HSD) pentru identificarea diferențelor perechi. În cazul comparării a două grupuri, s-a aplicat testul t-Student (două cozi). Nivelul de semnificație statistică a fost stabilit la $p < 0,05$ [11].

Rezultate și discuții

Caracterizarea laptelui degresat înainte de tratament. Înainte de aplicarea tratamentelor, laptele degresat (reconstituit) a fost caracterizat pentru a confirma omogenitatea lotului și comparabilitatea între repetiții. Conținutul de substanță uscată totală a fost stabil (8,288–8,295%), iar proteina totală s-a încadrat în intervalul 3,38–3,41%, indicând o variabilitate redusă a compoziției inițiale. Conținutul de grăsime a fost constant (0,05%), confirmând utilizarea unui lapte practic degresat și minimizând influența lipidelor asupra fenomenelor coloidale evaluate. Aciditatea titrabilă (18–19 °T) și pH-ul (6,5–6,6) au avut valori tipice pentru lapte reconstituit/pasteurizat, cu fluctuații minore între repetiții.

Coacervarea/complexarea indusă de chitosan: pH, aspect și separarea fazelor. Adăugarea soluției de chitosan (pH $\approx$ 5,19–5,23) în laptele degresat (pH-ul inițial 6,5) a determinat scăderea imediată a pH-ului și apariția agregatelor vizibile (fig. 2a), urmate de separarea fazelor după 60 min (fig. 2b).

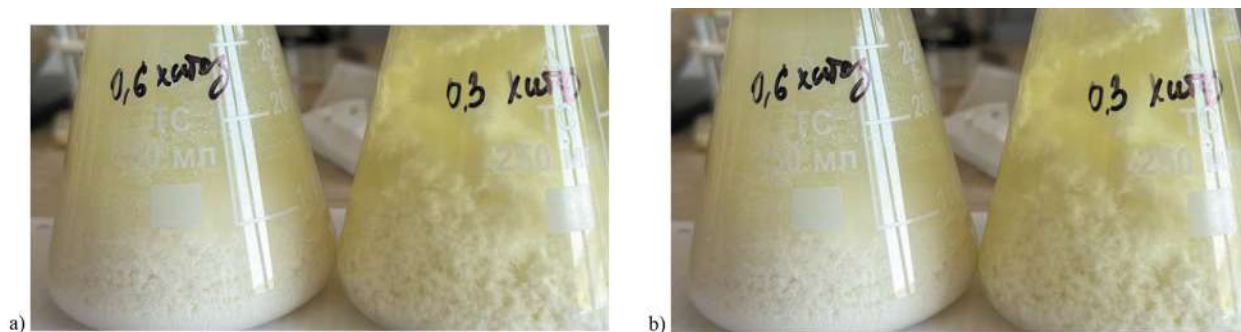


Figura 2. Formarea agregatelor imediat după adaosul chitosanului în lapte degresat (a) și aspectul sistemelor după 60 min. de incubare la 0,3% și 0,6% m/v (b)

Pentru 0,3% chitosan, pH-ul imediat după adaos a fost $5,8 \pm 0,1$, iar după 60 min. $5,67 \pm 0,06$. Pentru 0,6% chitosan, pH-ul imediat după adaos a fost $5,57 \pm 0,06$, iar după 60 min. $5,53 \pm 0,06$. Diferența mică, dar consistentă, indică o acidificare mai pronunțată la doza mai mare, ceea ce poate favoriza asocierea electrostatică și formarea fazei dense. Rezultatele sunt prezentate în *tabelul 1*. Aceste observații sunt în acord cu literatura privind complexe proteină–chitosan/coacervate: pH-ul, raportul proteină:polizaharid și caracteristicile chitosanului (masa moleculară, gradul de deacetilare) controlează domeniul de complexare și proprietățile fazei dense (microstructură, reologie, stabilitate) [13].

Tabelul 1

Evoluția pH-ului în sistemele lapte–chitosan (n=3)

Varianta	pH-ul inițial lapte	pH-ul imediat după adaos	pH-ul după 60 min.
0,3% chitosan	6,5	5,8 ± 0,1	5,67 ± 0,06
0,6% chitosan	6,5	5,57 ± 0,06	5,53 ± 0,06
Control acid (30 ml, 1% CH ₃ COOH)	6,5	6,03 ± 0,06	5,48 ± 0,06
Control acid (60 ml, 1% CH ₃ COOH)	6,5	6,03 ± 0,06	5,50 ± 0,06

Notă: Controalele acide (soluție de acid acetic 1%, fără chitosan) au avut pH-ul mai ridicat imediat după adaos ($\approx 6,0$ – $6,1$), comparativ cu probele cu chitosan, însă după 60 min. de incubare pH-ul lor a scăzut la $\approx 5,48$ – $5,50$, intrând într-o zonă apropiată de pH-ul probelor tratate cu chitosan. Prin urmare, interpretarea efectului chitosanului se bazează pe diferențele de agregare/separare (sediment compact și proteina reziduală în supernatant), nu doar pe pH.

Pentru a separa efectul acidificării de cel al chitosanului, au fost incluse controale acide (soluție de acid acetic 1%, fără chitosan). Imediat după adaos, controalele acide au avut pH-ul mai ridicat ($\approx 6,0$), comparativ cu probele cu chitosan ($\approx 5,7$ – $5,9$ la 0,3% și $\approx 5,5$ – $5,6$ la 0,6%). După 60 min., pH-ul controalelor acide a scăzut până la $\approx 5,48$ – $5,50$, intrând într-o zonă apropiată de pH-ul probelor tratate cu chitosan. După 60 min. de incubare, separarea fazelor a devenit evidentă, cu formarea unui supernatant galben-verzui și a unei faze dense (coagul), mai compactă la doza de 0,6% (fig. 2b).

Cu toate acestea, controalele nu au generat același grad de agregare și fracție sedimentabilă ca probele cu chitosan (conform observărilor vizuale și indicatorilor de separare), ceea ce susține rolul interacțiunilor electrostatice proteină–chitosan în formarea fazei dense, dincolo de simpla acidificare.

Separarea prin centrifugare: volumul supernatantului, masa sedimentului umed și interpretarea

După centrifugare (9 000 rpm, 10 min.), s-a obținut în mod reproductibil un supernatant galben-verzui și o fracție sedimentată. Pentru 0,3% chitosan, volumul supernatantului a fost 218 ± 5 ml, iar masa sedimentului umed $27,2 \pm 0,8$ g; pentru 0,6% chitosan, volumul supernatantului a fost 240 ± 4 ml, iar masa sedimentului umed $29,5 \pm 0,6$ g. Creșterea masei umede a sedimentului la varianta 0,6% sugerează o formare mai pronunțată a fazei dense, însă trebuie subliniat că masa umedă include apă legată, chitosan și minerale, nu doar proteină. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 2.

Tabelul 2

Indicatori de separare după centrifugare (lapte 250 ml)

Varianta	V supernatantului (ml)	Masa sedimentului umed (g)
0,3% chitosan	218±5	27,2±0,8
0,6% chitosan	240±4	29,5±0,6
Acid lactic 1:10 (pH ~4,6)	243±6	19,4±1,4
HCl 0,5 M (pH ~4,6)	241±6	18,9±1,6

Notă: V supernatantului a fost măsurat direct în cilindrul gradat.

Cu toate acestea, controalele nu au prezentat același grad de agregare/sedimentare ca probele cu chitosan (conform observărilor vizuale și indicatorilor de separare), ceea ce sugerează că efectul chitosanului nu se reduce la simpla acidificare, ci implică și interacțiuni electrostatice proteină–polizaharid care favorizează formarea fazei dense.

Trebuie subliniat că masa umedă a sedimentului în sistemele cu chitosan nu reflectă exclusiv „masa de proteină recuperată”, deoarece fracția sedimentată reprezintă un complex proteină–polizaharid care reține apa legată și poate încorpora minerale coloidale (Ca–fosfat) și, în funcție de condiții, o parte din

componentele solubile. Prin urmare, interpretarea diferențelor de masă umedă între variantele 0,3 și 0,6% trebuie realizată împreună cu indicatorii cantitativi ai proteinei reziduale din supernatant și/sau cu parametrii de compoziție ai fracției solide (substanță uscată, conținut proteic).

În cazul precipitării acide (acid lactic 1:10 și HCl 0,5 M, pH ~4,6), masa sedimentului umed a fost mai mică (19,36 g, respectiv 18,91 g), ceea ce este de așteptat pentru coagularea izoelectrică a cazeinei: la pH ~4,6 se sedimentează predominant fracția cazeinică, în timp ce proteinele serice rămân în mare parte în faza lichidă. Astfel, comparația „chitosan vs acizi” trebuie formulată ca o comparație între două tipuri de fracții sedimentabile: (i) complex cazeină–chitosan (potențial mai hidratat), respectiv (ii) cazeină acidă (mai selectivă pentru cazeină) [12].

Proteina reziduală în supernatant (Biuret 540 nm) și Randamentul de recuperare (RR) (%)

Proteina reziduală în supernatant a fost cuantificată prin metoda Biuret (540 nm) și utilizată pentru calculul RR prin bilanț proteic. Metoda Biuret este un test colorimetric robust pentru proteina totală, adecvat pentru supernatante relativ limpezi; în sisteme proteină–polizaharid este importantă standardizarea curbei de calibrare și a blancurilor pentru reducerea variabilității.

Pentru probele cu chitosan (conform calculelor stabilite anterior), concentrația proteinei reziduale în supernatant a fost 1,12 g/l (0,3%) și 1,527 g/l (0,6%), corespunzând unor mase de proteină în supernatant de 0,244 g (V=0,218 l) și 0,367 g (V=0,240 l). Considerând proteina inițială 3,2% (~32 g/l) și volumul de lapte 0,25 l, rezultă un RR de 96,95±0,1% (0,3%) și 95,42±0,1% (0,6%).

În cazul precipitării acide (pH ~4,6), interpretarea RR pe baza proteinei totale din supernatant trebuie făcută cu atenție: la pH-ul izoelectric al cazeinei, proteinele serice rămân în mare parte în faza lichidă; prin urmare, proteina totală reziduală în supernatant este în mod inerent mai mare decât în cazul complexării cu chitosan, care poate co-sedimenta și o parte din proteinele serice, în funcție de pH-ul și raportul polielectrolitic. Rezultatele sunt prezentate în *tabelul 3*.

Tabelul 3

Proteina reziduală în supernatant și RR (lapte 250 ml)

Indicatorii	0,3% chito-san	0,6% chito-san	Acid lactic	HCl 0,5 M
Concentrația proteinei în supernatant, g/l	1,12±0,2	1,52±0,2	9,07±0,1	26,07±1,1
Volumul supernatantului, l	0,22±0,2	0,24±0,1	0,23±0,1	0,23±0,1
Masa proteinei din supernatant, g	0,24±0,1	0,37±0,1	2,09±0,1	6,02±0,2
Randamentul de recuperare, %	96,95±0,1	95,42±0,1	73,85±0,2	24,73±0,1

Centrifugarea (9 000 rpm, 10 min.) a condus la obținerea reproductibilă a unui supernatant și a unui sediment complet, vizibile în partea inferioară a tuburilor (*fig. 3*).



Figura 3. Aspectul probelor după centrifugare în sistemul lapte–chitosan

Rezultatele randamentului de recuperare obținute în acest studiu reprezintă un indicator operațional al eficienței de îndepărtare a proteinei totale din faza lichidă (supernatant). Astfel, valori mai mari ale randamentului indică faptul că o cantitate mai mică de proteină a rămas în supernatant și, implicit, o fracție mai mare a fost transferată în sediment complet sub formă de coagul/complex.

În variantele cu chitosan (0,3–0,6%), randamentul ridicat (≈ 95 – 97%) sugerează că tratamentul a condus la o separare eficientă, cu reducerea marcată a proteinei reziduale din supernatant, ceea ce este compatibil cu formarea unei faze dense de tip complex proteină–polizaharid și cu sedimentarea acestuia la centrifugare. În schimb, în cazul precipitării acide la pH $\sim 4,6$, randamentul calculat pe proteina totală din supernatant este în mod inerent mai mic, deoarece la pH-ul izoelectric al cazeinei se sedimentează predominant fracția cazeinică, iar proteinele serice rămân în proporție mare în faza lichidă și sunt cuantificate de metoda Biuret. Prin urmare, valorile RR pentru acizi nu trebuie interpretate ca „randament de cazeină”, ci ca măsură a proteinei totale rămase în supernatant [13].

Compoziția fracției sedimentate (umiditate, SU, proteină în SU). Sedimentul compact obținut după centrifugare și spălare a fost supus liofilizării pentru obținerea unei forme uscate și standardizate, adecvate determinărilor ulterioare. Pentru a descrie fracția sedimentată ca ingredient, au fost determinate umiditatea și conținutul de proteină raportat la substanța uscată (SU). Sedimentul compact de cazeină–chitosan au prezentat umiditate ridicată ($65,4 \pm 1,8\%$ la 0,3% și $68,2 \pm 1,6\%$ la 0,6%), confirmând caracterul hidratat al fazei dense (tab. 4).

Tabelul 4

**Caracterizarea sedimentului compact (ingredient) după complexarea
cazeină–chitosan (lapte 250 ml)**

Varianta	Masa sedimentului umed (g)	Umiditatea (%)	SU (%)	Masa SU (g)	Proteina în SU (%)	Masa proteinei în sediment (g)
0,3% chitosan	$27,2 \pm 1,1$	$65,4 \pm 1,8$	$35,0 \pm 0,2$	$9,52 \pm 0,09$	$90,1 \pm 0,5$	$8,57 \pm 0,12$
0,6% chitosan	$29,5 \pm 0,8$	$68,2 \pm 1,6$	$32,2 \pm 0,3$	$9,44 \pm 0,13$	$87,4 \pm 0,6$	$8,21 \pm 0,11$

Acest rezultat poate fi explicat prin faptul că chitosanul, ca polizaharid cationic, are capacitate de hidratare și poate reține apa în structura complexului proteină–polizaharid, contribuind la creșterea masei umede a sedimentului compact. În consecință, masa umedă nu reflectă direct masa de proteină, iar interpretarea randamentului trebuie completată cu parametrii de compoziție (SU și proteină în SU). Conținutul de proteină în SU a fost înalt ($90,1 \pm 0,5\%$ la 0,3% și $87,4 \pm 0,6\%$ la 0,6%), indicând o fracție proteică concentrată, adecvată pentru utilizare ca ingredient.

Concluzii

1. Laptele degresat utilizat ca materie primă a prezentat o compoziție inițială stabilă între repetiții (substanță uscată totală, proteină, grăsime, pH și aciditate titrabilă), asigurând comparabilitatea experimentelor de separare.

2. Complexarea proteinelor din lapte cu chitosan a condus la agregare rapidă și separare de faze, confirmată prin formarea unei fracții sedimentabile după centrifugare (9 000 rpm, 10 min.). La varianta 0,6% chitosan s-a observat un pH final ușor mai scăzut decât la 0,3% ($\approx 5,53$ vs $\approx 5,67$), asociat cu un sediment umed mai mare (29,5 g vs 27,2 g/250 ml), sugerând o fază densă mai pronunțată la doza mai mare.

3. Determinarea proteinei reziduale în supernatant prin metoda Biuret (540 nm) a permis estimarea randamentului de recuperare (RR, %) prin bilanțul proteic. În condițiile testate, variantele cu chitosan au prezentat un RR ridicat (≈ 95 – 97%), indicând o reducere accentuată a proteinei totale rămase în faza lichidă.

4. Precipitarea acidă la pH $\sim 4,6$ (HCl 0,5 M și acid lactic 1:10) a generat un coagul compact (sediment

umed $\approx 18,9\text{--}19,4$ g/250 ml). Totuși, RR calculat pe proteina totală din supernatant a fost mai mic decât în cazul chitosanului, ceea ce este explicabil prin caracterul selectiv al precipitării izoelectrice (sedimentarea predominantă a cazeinei, cu menținerea proteinelor serice în supernatant). Prin urmare, comparația între „chitosan” și „precipitare acidă” trebuie interpretată ca diferența dintre mecanisme și tipurile de fracții recuperate (complex proteină–polizaharid vs cazeină acidă).

5. În ansamblu, complexarea cazeinei cu chitosan reprezintă o rută tehnologică simplă și reproducibilă pentru obținerea unei fracții sedimentabile cu potențial de utilizare ca ingredient funcțional (îmboșgățire proteică și structurare), în timp ce precipitarea acidă rămâne un reper tehnologic pentru obținerea cazeinei acide/cazeinatului.

6. Pentru consolidarea interpretării cantitative și a comparabilității între rute, sunt recomandate determinări suplimentare asupra fracției solide (substanță uscată și conținut proteic al sedimentului, după uscare/liofilizare) și evaluări funcționale în matrici alimentare (de exemplu, testarea în produs fermentat: sinereză, viscozitate și stabilitate).

Notă: Studiul a fost efectuat în cadrul Programului Instituțional 200101 „Crearea soiurilor și clonelor pomicole, viticole și legumicole, perfecționarea procedeelelor agrotehnice de cultivare și elaborarea tehnologiilor de producere a vinurilor din soiuri de struguri locale și a produselor alimentare de ultimă generație”, perioada efectuării cercetărilor – ianuarie–aprilie 2026.

Bibliografie

1. Hammam A.R.A., Martinez-Monteagudo S.I., Metzger L.E. *Progress in micellar casein concentrate: Production and applications*. In: *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021. DOI: [10.1111/1541-4337.12795](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12795)
2. Villa C., Costa J., Oliveira MBPP., Mafra I. *Bovine Milk Allergens: A Comprehensive Review*. In: *Compr. Rev. in Food Sci. and Food Saf.*, 2018, 17(1), pp. 137–164. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12318>
3. Reig M., Vecino X., Cortina J.L. *Use of Membrane Technologies in Dairy Industry: An Overview*. In: *Foods*, 2021, vol. 10, nr. 11, art. 2768. DOI: [10.3390/foods10112768](https://doi.org/10.3390/foods10112768)
4. Arab M., Yousefi M., Khanniri E., Azari M., Ghasemzadeh-Mohammadi V., Mollakhalili -Meybodi N. *A comprehensive review on yogurt syneresis: effect of processing conditions and added additives*. In: *Journal of Food Science and Technology*, 2023, vol. 60, nr. 6, pp. 1656–1665. DOI: [10.1007/s13197-022-05403-6](https://doi.org/10.1007/s13197-022-05403-6)
5. Zheng J., Van Der Meeren P., Sun W. *New insights into protein–polysaccharide complex coacervation: Dynamics, molecular parameters, and applications*. In: *Aggregate*, 2024, vol. 5, nr. 1, pp. 1–19. DOI: [10.1002/agt2.449](https://doi.org/10.1002/agt2.449)
6. Sobral P.J. do. A., Russo C., Bergamasco R. et al. *Rheological and Viscoelastic Properties of Chitosan Solutions Prepared with Acetic Acid*. In: *A Review. Foods*, 2022, vol. 11, nr. 17, art. 2692. DOI: [10.3390/foods11172692](https://doi.org/10.3390/foods11172692)
7. Alieva L.R., Evdokimov I.A., Lodygin A.D., Tikhonov B.E., Sushinskaia N.V. *Method of casein obtaining from skim milk using oligochitosans*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020, vol. 613, art. 012004. (În lucrare este descrisă separarea coagulului prin centrifugare (10 min. la 9 000 rpm) și colectarea pelletului/supernatantului.) DOI: [10.1088/1755-1315/613/1/012004](https://doi.org/10.1088/1755-1315/613/1/012004)
8. Hassavand E. & Razavi S.M.A. (2024). *Effect of chitosan molecular weight and protein to polysaccharide ratio on the rheological and physicochemical properties of milk proteins–chitosan complex coacervate*. In: *International Journal of Biological Macromolecules*, 282, 137247. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2024.137247](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137247)
9. LABCONCO. FreeZone® 6, 12 and 18 Liter Freeze Dry Systems. User's Manual. Kansas City, MO (SUA): Labconco Corporation, [f.a.], 80 p.
10. SM EN ISO 5537:2023. Laptele praf și produsele lactate praf – Determinarea conținutului de umiditate (Metoda de referință). Chișinău: Institutul de Standardizare din Moldova (ISM), 2023.
11. Lee S.W. *Methods for testing statistical differences between groups in medical research: statistical standard and guideline of Life Cycle Committee*. Life Cycle, 2022, 2:e1. DOI: [10.54724/lc.2022.e1](https://doi.org/10.54724/lc.2022.e1)
12. Krishna T.C., Najda A., Bains A., Tosif M.M., Paplinski R., Kaplan M., Chawla P. *Influence of Ultra-Heat Treatment on Properties of Milk Proteins*. In: *Polymers* (Basel), 2021, Sep 18;13(18):3164. DOI: [10.3390/polym13183164](https://doi.org/10.3390/polym13183164)
13. Haas J. et al. *Effects of high-temperature, short-time pasteurization on whey protein solubility: native whey proteins remain soluble at pH 4.6 (isoelectric point of caseins)*. In: *Journal of Dairy Science*, 2025. DOI: [10.3168/jds.2024-11846](https://doi.org/10.3168/jds.2024-11846)

Data expedierii manuscrisului: 05.05.2026

Data aprobării spre publicare: 23.07.2026