
TEZA DE DOCTORAT

Calitatea și tipicitatea brânzei Feta

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Doctorand **Nikolaou Filippos Georgios**

Conducător de doctorat **Prof. univ. dr. Marian Mihaiu**



INTRODUCERE

În contextul globalizării pieței alimentare, asigurarea calității, autenticității și siguranței microbiologice a produselor lactate este esențială pentru consumatori, producători și autorități. Brânzeturile tradiționale, precum Feta și tipurile sale derivate, au o valoare culturală și economică importantă în Europa, fiind protejate de reglementări precum Denumirea de Origine Protejată (DOP). Cu toate acestea, există riscuri de contrafacere și adulterare, mai ales prin utilizarea altor tipuri de lapte decât cel permis, ceea ce necesită metode moderne de autentificare.

Laptele de bivoliță, cu valoare nutrițională ridicată, este analizat ca o alternativă pentru diversificarea brânzeturilor tip Feta românești. În paralel, siguranța microbiologică a produselor lactate, mai ales împotriva contaminării cu *Listeria monocytogenes*, rămâne o prioritate, în condițiile creșterii rezistenței bacteriene la tratamente antimicrobiene.

Teza propune o abordare integrată a calității, autenticității și siguranței alimentare în sectorul lactatelor, având trei obiective principale:

1. Evaluarea calității laptelui crud de bivoliță pentru producția de brânzeturi tip Feta.
2. Autentificarea brânzei Feta și tip Feta din România și Grecia prin metode multi-analitice avansate.
3. Determinarea prevalenței și rezistenței antimicrobiene a tulpinilor de *Listeria monocytogenes* din produse lactate românești.

Prin combinarea metodelor clasice și moderne, teza oferă soluții practice pentru îmbunătățirea standardelor de calitate și siguranță a produselor lactate în spațiul european.

STRUCTURA TEZEI

Teza de doctorat intitulată " **Calitatea și tipicitatea brânzei Feta** " este alcătuită din 112 de pagini și prezintă o iconografie ce însumează un număr de 16 figuri și 7 tabele. Aceasta este structurată în două părți și este realizată în conformitate cu normele de redactare ale IOSUD USAMV-Cluj-Napoca.

Prima parte a tezei cuprinde 24 de pagini și este structurată în 3 capitole.

Capitolul 1, intitulat „**Brânza Feta și tip Feta: definiție, caracteristici și reglementări**”, oferă informații despre originea, caracteristicile și statutul de Denumire de Origine Protejată (DOP) al brânzei Feta, precum și despre diferențele dintre brânza Feta autentică și brânzeturile tip Feta produse în afara Greciei. **Capitolul 2**

– „**Producția, compoziția și calitatea brânzei Feta și tip Feta**” – tratează aspecte privind metodele tradiționale și industriale de producție, compoziția chimică și factorii care influențează calitatea brânzei Feta și tip Feta. **Capitolul 3 – „Evaluarea autenticității produselor alimentare”** – descrie metodele moderne de autentificare, inclusiv spectrometria de masă cu raport izotopic (IRMS), analiza elementală (ICP-MS) și detecția moleculară PCR.

Partea a doua a tezei este structurată în 6 capitole, întinzându-se pe 51 de pagini și cuprinde date despre ipoteza de lucru și obiectivele urmărite, materialele și metodele folosite, precum și rezultatele, discuțiile și concluziile aferente fiecărui din cele 3 studii prezentate. Teza de doctorat se încheie cu capitolele referitoare la concluziile generale și aspectele de originalitate și contribuții inovative.

OBIECTIVELE LUCRĂRII

Prezenta teză de doctorat a avut ca și obiectiv general evaluarea complexă a calității, autenticității și siguranței brânzei Feta și tip Feta, prin metode moderne de analiză. În acest scop, au fost formulate trei obiective specifice, prezentate mai jos:

- **Obiectiv specific 1. Evaluarea dinamică a parametrilor de calitate ai laptelui crud de bivoliță utilizând echipamente de înaltă performanță;**
- **Obiectiv specific 2. Evaluarea autenticității unor probe de brânză Feta și tip Feta provenite din România și Grecia prin integrarea spectrometriei de masă cu raport izotopic, a analizei elementale și a tehnicii PCR;**
- **Obiectiv specific 3. Evaluarea prevalenței și a profilului de rezistență la antimicrobiene a tulpinilor de *Listeria monocytogenes* izolate din produse lactate comercializate în România.**

Studiul 1 – Evaluarea dinamică a parametrilor de calitate ai laptelui crud de bivoliță

Introducere

Laptele de bivoliță ocupă un loc important în peisajul producției lactate mondiale, fiind al doilea cel mai consumat tip de lapte după cel de vacă. Acest lapte are un conținut mai ridicat de grăsimi, proteine și substanțe minerale comparativ cu laptele de vacă, făcându-l extrem de valoros pentru obținerea de produse lactate premium, cum ar fi brânzeturile tip Feta. În ciuda potențialului său nutritiv și economic, laptele de bivoliță este mai puțin exploatat comercial. Calitatea laptelui este influențată de o serie

de factori, inclusiv sezonul, igiena mulsului, sănătatea animalelor și tehnologia utilizată pentru colectarea și procesarea sa.

Monitorizarea parametrilor fizico-chimici și microbiologici ai laptelui crud este crucială pentru evaluarea potențialului tehnologic al acestuia și pentru prevenirea contaminării microbiologice. Tehnologiile moderne, precum analizatoarele CombiFoss™, permit o evaluare rapidă și precisă a calității laptelui, fiind instrumente valoroase în controlul calității în fermele comerciale.

Scopul studiului

Scopul acestui studiu a fost determinarea compoziției fizico-chimice și microbiologice a laptelui crud de bivoliță într-o fermă comercială pe durata unui an și evaluarea influenței sezonality, igienei și performanței echipamentului CombiFoss™ 7.

Materiale și metode

S-au recoltat și analizat probe de lapte crud de bivoliță pe parcursul unui an calendaristic. În cadrul studiului au fost colectate 24 de probe de lapte crud de bivoliță, prelevate bilunar între martie 2020 și februarie 2021, dintr-o fermă autorizată, cu 500 de bivoli, dintre care 190 în lactație. Animalele au fost pășunate vara și adăpostite iarna, fiind hrănite cu fân, concentrate și siloz. Mulsul a fost mecanizat, iar probele au fost recoltate din tancul de răcire, în recipiente sterile, transportate refrigerat și analizate în laboratorul Facultății de Medicină Veterinară din Cluj-Napoca. Determinările fizico-chimice și microbiologice au fost efectuate cu echipamentul automatizat CombiFoss™ 7, conform standardelor internaționale în vigoare.

Rezultate și discuții

În perioada martie 2020 – februarie 2021, analiza compozițională a laptelui de bivoliță a evidențiat o valoare medie a conținutului de grăsime de 8,821 g/100 g, situată ușor peste valorile obișnuite raportate pentru laptele de bivoliță (7–8 g/100 g). Comparativ cu datele literaturii de specialitate, aceste valori sunt apropiate de cele raportate în studii din Italia, dar mai ridicate față de cele obținute în Brazilia, unde grăsimea medie a fost de 5,5 g/100 g.

De asemenea, conținutul mediu de proteină a fost de 4,400 g/100 g, cu variații sezoniere reduse, similare rezultatelor altor cercetări internaționale. Valorile medii ale lactozei au fost de 4,291 g/100 g, încadrându-se în limitele descrise în literatura de specialitate.

Substanța uscată totală a prezentat o variabilitate limitată, cu scăderi semnificative în lunile de vară, mai ales în iulie, corelate cu schimbările de alimentație sezonieră. Analiza valorilor pH-ului a arătat o stabilitate relativă (6,61–6,9), fără semne

de infecție mamară, în concordanță cu datele anterioare care indică o ușoară creștere a pH-ului în funcție de pierderea de CO₂ din lapte.

Conținutul de uree din lapte a variat semnificativ, înregistrând valori mai scăzute în lunile de vară și începutul toamnei (iunie, iulie, septembrie), perioade în care dieta bazată pe pășunat poate explica scăderea concentrației de uree. În restul anului, valorile de uree s-au situat în intervale apropiate celor raportate anterior pentru laptele de bivoliță.

Din punct de vedere igienic, numărul de celule somatice (SCC) a avut o valoare medie anuală de 304,85 x 1000 celule/ml, în conformitate cu standardele europene, dar a depășit pragul maxim admis de 400.000 celule/ml în lunile aprilie și februarie. Evoluția sezonieră a SCC a indicat o tendință de creștere în perioada de stabulație, fiind asociată, cel mai probabil, cu condițiile de adăpostire și igienă deficitară.

Numărul total de germeni viabili (TVC) a înregistrat o medie anuală ridicată de 2059,65 x 1000 UFC/ml, depășind standardele europene în peste jumătate dintre probe. Valorile TVC au fost cele mai scăzute în lunile martie, aprilie, iulie și septembrie, când condițiile de igienă au fost relativ mai bune. Cea mai ridicată valoare a fost observată în luna mai, sugerând o corelație directă între încărcătura microbiană și igiena deficitară în timpul mulsului și manipulării laptelui.

În general, atât creșterea SCC, cât și a TVC în lunile de toamnă și iarnă indică impactul negativ al adăpostirii animalelor în condiții mai puțin favorabile din punct de vedere igienic. Diferențele sezoniere observate în acest studiu sunt în concordanță cu datele din literatura de specialitate, care subliniază rolul managementului, hrănirii și condițiilor de mediu asupra calității laptelui de bivoliță.

Concluzii

Laptele de bivoliță analizat a avut un conținut mediu de grăsime de 8,821 g/100 g, mai ridicat decât valorile obișnuite raportate în literatura de specialitate. Valorile medii pentru proteină, lactoză, substanță uscată și uree au indicat o compoziție stabilă și de bună calitate pe durata studiului.

Din punct de vedere igienic, s-a observat o corelație între sezon și parametrii microbiologici, cu valori mai bune în perioada de pășunat. Deși numărul total de germeni viabili a depășit frecvent limitele admise, nu au fost semne de infecție a glandei mamare, sugerând că igiena procesului de muls și transport necesită îmbunătățiri.

Se recomandă optimizarea condițiilor de igienă pe parcursul întregului lanț de producție pentru a asigura o calitate microbiologică superioară a laptelui.

Studiul 2 – Evaluarea autenticității unor probe de brânză Feta și tip Feta provenite din România și Grecia prin integrarea spectrometriei de masă cu raport izotopic, a analizei elementale și a tehnicii PCR

Introducere

Autenticitatea și originea geografică a produselor lactate, în special a brânzeturilor tradiționale, au devenit priorități importante în contextul protecției calității și prevenirii fraudelor alimentare. Brânza Feta, certificată DOP în 2002, reprezintă un exemplu emblematic, fiind protejată prin reguli stricte de producție în anumite regiuni din Grecia. Pentru verificarea autenticității acestor produse, s-au dezvoltat metode analitice precum spectrometria de masă a raportului izotopic (IRMS), analiza elementală (ICP-MS) și reacția în lanț a polimerazei (PCR), toate având rolul de a detecta eventualele substituiri sau falsificări ale compoziției și originii lactatelor.

Scopul studiului

Scopul principal al studiului a fost dezvoltarea și aplicarea unei metode integrate, combinând IRMS, analiza profilului elemental și tehnica PCR, pentru a evalua autenticitatea unor produse lactate – în special brânză Feta și tip Feta – provenite din Grecia și România. Obiectivul a fost detectarea eventualelor falsificări legate de specie și origine geografică și validarea conformității cu etichetarea declarată.

Materiale și metode

În studiu au fost analizate treisprezece probe de lapte crud și brânză, colectate de pe piețele din Grecia și România între 2021 și 2023. Identificarea speciilor de lapte a fost realizată prin extracția ADN și amplificarea PCR a genei citocromului B, urmată de electroforeză pe gel de agaroză. Compoziția izotopică a carbonului a fost determinată cu spectrometrul IRMS Delta V Advantage, iar profilul elementelor a fost obținut prin ICP-MS după digestie acidă cu microunde. Analizele statistice au inclus PCA pentru explorarea variațiilor naturale și PLS-DA pentru clasificarea precisă a probelor în funcție de origine și tipul de produs.

Rezultate și discuții

Analiza PCR a confirmat compoziția de specie pentru brânza Feta autentică din Grecia, identificând ADN de oaie și capră, conform etichetării. În schimb, pentru mai multe probe de brânză de tip Feta din România au fost detectate discrepanțe, precum prezența nedeclarată de lapte de vacă, ceea ce indică posibile practici de falsificare. De

asemenea, una dintre probele de lapte etichetate ca fiind de bivoliță a fost identificată ca lapte de vacă.

Analiza datelor izotopice și elementale a evidențiat o separare clară între probele de brânză Feta din Grecia și cele de tip Feta din România, diferențele fiind susținute de variații ale elementelor precum Sn, Li, Mn, K, dar și ale valorilor $\delta^{13}\text{C}$. În cazul laptelui, separarea între speciile de origine a fost de asemenea evidentă, fiecare specie fiind caracterizată de un profil elemental distinct.

Aplicarea analizei PLS-DA a permis clasificarea cu acuratețe de 100% a brânzei în funcție de originea geografică și tipul produsului, markerii principali fiind $\delta^{13}\text{C}$ și elementele Sn, Tl, Cd, Cu, Ni și Li. Acești indicatori au demonstrat relevanța metodei multi-analitice pentru autentificarea alimentelor, chiar și în condițiile unui număr relativ redus de probe.

Concluzii

Studiul a demonstrat că integrarea IRMS, a analizei elementale și a tehnicii PCR este extrem de eficientă în autentificarea produselor lactate. Analiza a evidențiat diferențe compoziționale semnificative între brânza Feta autentică din Grecia și brânza de tip Feta produsă în România și a identificat cazuri de fraudă prin substituirea laptelui.

Aceste practici afectează atât sănătatea consumatorilor, cât și integritatea pieței, subliniind necesitatea intensificării controalelor de autentificare. Metoda propusă are aplicabilitate practică pentru autoritățile de reglementare și industria alimentară, oferind un instrument valoros pentru îmbunătățirea trasabilității și protecția consumatorilor. Deși studiul a fost limitat de numărul redus de probe, rezultatele încurajează aplicarea pe scară mai largă în cercetări viitoare.

Studiul 3. Evaluarea prevalenței și a profilului de rezistență la antimicrobiene a tulpinilor de *Listeria monocytogenes* izolate din produse lactate comercializate în România

Introducere

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*) este o bacterie patogenă importantă, frecvent asociată cu infecții alimentare severe transmise prin consumul de produse lactate contaminate. Rezistentă la condiții dificile de mediu, această bacterie poate contamina materiile prime și produsele procesate, în special cele ready-to-eat (RTE), cum ar fi brânzeturile și înghețata. Deși rata de contaminare a produselor lactate este relativ scăzută, listerioza rămâne una dintre cele mai grave boli zoonotice din

Europa. În România, datele privind prevalența și rezistența antimicrobiană a *L. monocytogenes* în produse lactate sunt limitate, fapt care justifică necesitatea studiului de față.

Scopul studiului

Studiul a urmărit evaluarea prevalenței *L. monocytogenes* în produse lactate comercializate în România pe o perioadă de trei ani (2021–2023), precum și analiza profilului de rezistență la antimicrobiene și caracterizarea serotipurilor izolate, utilizând metode clasice și moleculare.

Materiale și metode

În cadrul studiului au fost analizate 10.306 probe de produse lactate, provenite din diverse categorii precum lapte, brânzeturi, iaurturi, smântână și înghețată. Izolarea *L. monocytogenes* a fost realizată conform standardelor internaționale, urmată de identificare biochimică și serotipizare moleculară prin PCR multiplex. Sensibilitatea la antimicrobiene a fost testată prin metoda difuzimetrică, conform standardelor EUCAST și CLSI, iar datele au fost analizate statistic utilizând limbajul Python și vizualizate prin grafice și diagrame.

Rezultate și discuții

Din cele 10.306 probe de produse lactate analizate, au fost identificate 43 de izolate de *L. monocytogenes*, rezultând o prevalență generală de 0,41%. Cele mai multe cazuri de contaminare au fost detectate în înghețată și brânzeturi proaspete din lapte de vacă. Distribuția în funcție de tratamentul termic aplicat laptelui a arătat o frecvență mai mare a contaminării în produsele cu tratament nespecificat sau minim.

Serotipizarea moleculară a evidențiat predominanța serogrupului IVb, responsabil pentru majoritatea probelor pozitive, urmat de serogrupurile IIa și IIb. Rezultatele reflectă tendințele internaționale, unde serogrupurile aparținând Liniei I sunt asociate cu cazuri clinice și focare de listerioză.

În ceea ce privește rezistența la antimicrobiene, cele mai ridicate niveluri de rezistență au fost observate față de oxacilină și trimetoprim-sulfametoxazol, urmate de tetraciclină și ampicilină. Nu a fost detectată rezistență față de fluorochinolone, ceea ce confirmă menținerea eficacității acestor antibiotice împotriva *L. monocytogenes*.

Concluzii

Acest studiu reprezintă prima evaluare extinsă a prevalenței și rezistenței antimicrobiene a *L. monocytogenes* în produse lactate din România, indicând o contaminare redusă comparativ cu alte regiuni. Datele obținute subliniază necesitatea monitorizării continue și a aplicării stricte a măsurilor de control în procesarea lactatelor, în special pentru produsele cu tratament termic minim sau nespecificat. Deși prevalența este scăzută, prezența tulpinilor rezistente la antimicrobiene și a serogrupurilor asociate cu focare clinice justifică implementarea unor măsuri suplimentare de siguranță alimentară. Studii viitoare sunt necesare pentru o caracterizare genetică mai detaliată și pentru validarea tendințelor observate.

CONCLUZII GENERALE

Teza a evaluat calitatea, autenticitatea și siguranța microbiologică a produselor lactate, cu accent pe brânza Feta și tip Feta, utilizând metode avansate integrate.

Studiul 1:

- Laptele de bivoliță analizat a prezentat o compoziție de calitate superioară, cu un conținut ridicat de grăsime.
- S-a observat o corelație semnificativă între igienă, sezonabilitate și parametrii microbiologici, subliniind necesitatea îmbunătățirii practicilor de muls și transport.

Studiul 2:

- Metodele IRMS, ICP-MS și PCR au permis diferențierea clară între brânza Feta autentică din Grecia și cea de tip Feta din România.
- S-au identificat cazuri de fraudă alimentară prin substituirea speciei de lapte, demonstrând aplicabilitatea metodei multi-analitice în controlul autenticității.

Studiul 3:

- Prevalența *Listeria monocytogenes* a fost scăzută (0,41%), însă preocupantă prin prezența serogrupului IVb, asociat cazurilor clinice.
- S-au detectat niveluri semnificative de rezistență antimicrobiană la oxacilină, ampicilină, tetraciclină și trimetoprim-sulfametoxazol.

În ansamblu, rezultatele sprijină aplicarea unor metode moderne de autentificare și control microbiologic, susținând necesitatea unor politici riguroase privind igiena, siguranța și protecția produselor lactate autentice.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

Originalitatea tezei constă în integrarea metodelor izotopice, elementale și moleculare pentru autentificarea brânzeturilor Feta și tip Feta, fiind pentru prima dată aplicată o astfel de abordare complexă în România. Studiul laptelui de bivoliță a adus date noi prin utilizarea echipamentului CombiFoss™, iar analiza *L. monocytogenes* a oferit o imagine detaliată a prevalenței și rezistenței antimicrobiene în lactate ready-to-eat. Prin metodele propuse și rezultatele obținute, lucrarea contribuie la dezvoltarea unei platforme moderne de monitorizare a calității și siguranței alimentelor, sprijinind protecția produselor tradiționale și lupta împotriva fraudei alimentare.