



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 00209**

(22) Data de depozit: **10.03.2011**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28.12.2012** BOPI nr. **12/2012**

(41) Data publicării cererii:  
**30.09.2011** BOPI nr. **9/2011**

(73) Titular:  
• **UNIVERSITATEA "DUNĂREA DE JOS"  
DIN GALAȚI, STR.DOMNEASCĂ NR.47,  
GALAȚI, GL, RO**

(72) Inventatori:  
• **BANU IULIANA, BD.DUNĂREA NR. 88,  
BL.E 13, SC.1, ET.5, AP.43, GALAȚI, GL,  
RO;**

• **APRODU IULIANA, STR.FRUNZEI  
NR.101, BL.4 E, AP. 26, GALAȚI, GL, RO;**  
• **VASILEAN INA, STR.IONEL FERNIC  
NR.4, BL.N 15, SC.4, ET.2, AP.90, GALAȚI,  
GL, RO;**  
• **BARBU VASILICA, STR.NICOPOLE  
NR.185 A, BRĂILA, BR, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**US 4243687; US 4950489;  
US 2008/0131556 (A1)**

(54) **PROCEDEU BIOTEHNOLOGIC DE OBȚINERE A UNUI  
ALUAT ACID USCAT DIN FĂINĂ INTEGRALĂ DE SECARĂ**



# RO 126627

1 Invenția se referă la un procedeu biotehnologic de obținere a unui aluat acid uscat,  
din făină integrală de secară.

3 Tehnologia prelucrării făinii de secară este costisitoare, fiind necesare investiții destul  
de mari, iar procesul tehnologic de preparare a aluatului de secară cuprinde două cicluri:  
5 unul de cultivare, în mai multe trepte, și unul de producție, care cuprinde prospătură, maia,  
aluat. Lipsa scheletului glutenic face ca aluatul de secară să aibă capacitate mică de  
7 menținere a formei, motiv pentru care acesta se coace în forme. Realizarea acestor cicluri  
necesită un spațiu mare de producție, un număr mare de cuve, un număr mare de forme. Nu  
9 lipsită de importanță este și durata mare a procesului de producție.

11 O soluție pentru aceste neajunsuri tehnologice și economice este dezvoltarea unei  
tehnologii de prelucrare a făinii de secară cu aluat acid.

13 Deși nu există o definiție oficială a aluatului acid, astăzi este unanim acceptat, de  
către specialiștii din domeniul biotehnologiei și tehnologiei panificației, că aluatul acid este  
un amestec de făină și apă, fermentat cu bacterii lactice, în care nivelul bacteriilor lactice  
15 este mai mare de  $5 \times 10^8$  ufc/g, iar cel al drojdiilor de  $10^6 \dots 10^7$  ufc/g, are un pH mai mic de 4,5  
și exclude acidifierea artificială, cu acid lactic și acid acetic (Hansen A., 2006, *Sourdough  
Bread*, 183-1/183-21. In. Hui Y. H. and Sherka F., *Handbook of Food Science, Technology  
17 and Engineering*, 4, Taylor and Francis Group, LLC).

19 Utilizarea aluatului acid este esențială pentru panificarea făinii de secară, folosirea  
acestuia rezolvând o problemă importantă a tehnologiei de panificație a searei, și anume,  
21 inactivarea *alfa*-amilazei.

Există mai multe documente care descriu tehnologii de obținere a aluatului acid.

23 Cu toate că, așa cum am menționat mai sus, aluatul acid exclude acidifierea  
artificială, există documente, cum ar fi **US 4034125** sau **US 414998**, care au în titlu cuvântul  
„sourdough”, dar care folosesc pentru acidifiere acid lactic și acid acetic, respectiv, acid  
25 acetic și/sau acid fumaric, acid citric.

27 În **US 4243687**, este descrisă o tehnologie de obținere a aluatului acid, uscat, prin  
liofilizare din făină de grâu cu conținut ridicat de gluten și fermentat cu tulpini comerciale de  
29 *Lactobacillus safranscisco* și tulpini de *Torula holmii*. Aluatul acid proaspăt a fost obținut  
după 8 h de fermentare, la 28°C, a amestecului făină : apă (în raporturi de 1 : 1,5 și 1 : 2,5),  
31 inoculat cu *Lactobacillus safranscisco* și tulpini de *Torula holmii*, când pH-ul a fost mai mic  
de 4, iar viabilitatea bacteriilor lactice de  $2 \times 10^9$ . După răcire la 23°C, au fost adăugați  
33 stabilizatori compatibili cu sistemul de făină, care să protejeze celulele bacteriene în timpul  
liofilizării. Cele mai bune rezultate au fost obținute în cazul folosirii de diglucide și zer praf  
35 dulce.

În **US 4950489**, este descrisă tehnologia de obținere a aluatului acid, uscat cu aer  
37 cald, obținut din făină integrală de cereale (grâu sau secară) și cultură mixtă de *Lactobacillus  
brevis* și *Saccharomyces dairensis*. Au fost folosiți ca aditivi : uleiul de soia, care conține ca  
39 agent de emulsifiere lecitina, și ca antioxidanți, tocoferolii, uleiul de măsline, mierea și făina  
obținută prin măcinarea de grâu sau secară germinate.

41 În **US 2001/0051196 (A1)**, sunt descrise procedee de obținere a aluatului acid, care  
presupun folosirea de preparate comerciale de enzime (ce conțin amilaze, hemicelulaze,  
43 glucozoxidază), fosfat de sodiu și aluminiu, drojdie uscată, glucono-delta-lactonă și acid  
ascorbic.

45 În **RO 122520 (B1)**, este descris un procedeu de obținere a unui aluat acid, uscat la  
60°C, până la obținerea unei umidități finale de maximum 8%. Aluatul acid este obținut din  
47 făină de grâu moale, în trei etape, pentru a se putea dezvolta microflora lactică, spontană,  
a făinii.

# RO 126627

- În **EP 0777420 (B1)**, este descris un procedeu de obținere a aluatului acid cu un pH mai mic de 4,2, un raport acid lactic : acid acetic mai mic de 3 și o umiditate de 32%, din cereale integrale și culturi starter. 1  
3
- În **EP 0979608 (A2)**, este descris un procedeu de obținere a aluatului acid, bazat pe utilizarea, drept material starter, a pesmetului prelucrat în prealabil prin hidroliză acidă sau enzimatică și ulterior purificat pentru îndepărtarea reziduurilor. Siropul separat a fost utilizat pentru cultivarea drojdiei. După dezvoltarea biomasei, lichidul fermentat este utilizat pentru pregătirea aluatului acid, prin amestecare cu secară măcinată. 5  
7
- În **US 2006/0105081 (A1)**, este descris un procedeu de obținere a aluatului acid, în care, în mediul făină-apă, fermentat cu bacterii lactice, sunt adăugați aminoacizi precum leucina, valina, izoleucina și/sau fenilalanina, care au rolul de a favoriza acumularea unor cantități mai mari de compuși de aromă. 9  
11
- US 4889810** și **US 4897350** descriu procedee de preparare a aluatului acid prin folosirea unor tulpini de *Lactobacillus fermentum* Lex. sub., modificate genetic, înalt producătoare de lizină, iar în **US 6066343**, se menționează utilizarea unei tulpini de *Lactobacillus fermentum* auxotrofă pentru metionină, motiv pentru care în mediul de fermentare s-a adăugat zer, ca sursă de metionină. 13  
15  
17
- În **US 2006/0165848 (A1)**, este descris un procedeu de obținere a aluatului acid, folosind tulpini de bacterii lactice homofermentative (*Lactobacillus plantarum*) în două etape. În prima etapă, după 24 h de fermentare, la 30°C, se obține aluat cu un pH de 4,8; a doua etapă de fermentare durează 24...48 h și se realizează în condiții de aerare. 19  
21
- În **US 2008/0131556 (A1)**, este descris un procedeu de obținere a aluatului acid, folosind o cultură mixtă, formată din 6 tulpini de bacterii lactice (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*). În prima etapă de fermentare, realizată la 30°C, timp de 24 h, se folosește făină de grâu, ca substrat, iar în etapa a doua, se folosește făină obținută prin măcinarea de hrișcă, porumb, orez, sorg, tapioca etc. 23  
25  
27
- În **US 5108766**, este descris un procedeu de obținere a aluatului acid, care folosește un amestec de lapte și/sau zer, apă și, opțional, făină, citrat de sodiu, zaharoză și drojdie. Inocularea s-a făcut cu o tulpină de bacterii lactice heterofermentative (*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*). 29  
31
- În **US 5211971**, este descris un procedeu de obținere a aluatului acid, folosind tulpini de bacterii lactice, cultivate pe un mediu ce conține o dispersie apoasă a unui produs obținut din cereale expandate (la presiunea de 50 bari și o temperatură de cel puțin 150°C). 33  
35
- În **US 6827952 (B2)**, este descris un procedeu de obținere a aluatului acid, folosind o tulpină de *Lactobacillus sanfranciscencis*, care produce un agent antibacterin ce inhibă dezvoltarea mucegaiurilor în produsele de panificație. 37
- Problema tehnică pe care o rezolvă invenția de față constă în realizarea unui procedeu biotehnologic de obținere a aluatului acid, uscat, din făină integrală de secară, care să poată fi folosit în unitățile de panificație mari și mici, pentru fabricarea pâinii de secară, cu investiții mici din partea unităților respective (reducerea spațiului de producție, a numărului de cuve, a numărului de forme). 39  
41  
43
- Procedeul biotehnologic de obținere a unui aluat acid, uscat, din făină integrală de secară, conform invenției, constă în aceea că făina integrală de secară se hidratează în raport făină : apă de 1 : 2, se supune fermentației la 30...35°C, timp de 12 h, cu ajutorul unor culturi starter mixte, formate din bacterii lactice specifice microflorei spontane a grâului și 45  
47

# RO 126627

1       secarei: *Weisella confusa*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactobacillus plantarum*,  
2       *Lactobacillus brevis* sau din bacterii lactice specifice altor produse fermentate: *Lactobacillus*  
3       *helveticus*, și drojdii: *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* subsp.  
4       *marxianus*, până la obținerea unei populații bacteriene de  $10^9$  și  $10^{10}$  ufc/g aluat și a unui pH  
5       mai mic de 4, se stabilizează cu melasă, în concentrații de 2, 4 și 6%, în aluatul acid,  
6       proaspăt obținut, după 12 h de fermentare, sau cu amestec format din cantități egale de  
7       maltoză, zaharoză și galactoză, în concentrații de 6%, în aluatul acid, proaspăt obținut, după  
8       12 h de fermentare, și se usucă prin liofilizare.

9       Procedeul conform invenției prezintă următoarele avantaje: prin folosirea făinii  
10       integrale de secară, se asigură substanțele nutritive necesare dezvoltării și multiplicării  
11       bacteriilor lactice și drojdiilor, ce permit obținerea aluatului acid proaspăt care, supus  
12       liofilizării, după protejarea prealabilă a celulelor de microorganisme, prin suplimentarea cu  
13       amestec de maltoză, zaharoză, galactoză sau melasă, conduce la obținerea unui aluat acid  
14       liofilizat, care poate fi direct utilizat în unitățile de producție; folosirea aluatului acid liofilizat  
15       oferă avantajul scurtării duratei procesului de producție a pâinii de secară, permițând  
16       obținerea unor produse de panificație cu proprietăți nutritive superioare.

17       Pentru obținerea aluatului acid din invenție, a fost utilizată făină integrală de secară,  
18       cu un conținut de cenușă de 1,65%.

19       Au fost folosite tulpini de bacterii lactice izolate din microflora epifită a unor soiuri  
20       românești de secară și grâu, dar și tulpini comerciale de bacterii lactice recomandate a fi  
21       utilizate în industria de panificație sau în industria laptelui, după cum urmează: tulpini izolate  
22       din microflora epifită a secarei *Weisella confusa* (UGAL1) și *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*  
23       (UGAL2), aflate în colecția MIUG a Universității „Dunărea de Jos” din Galați; tulpini izolate  
24       din microflora epifită a grâului *Lactobacillus plantarum* (15GAL) și *Lactobacillus brevis*  
25       (16GAL), aflate în colecția MIUG a Universității „Dunărea de Jos” din Galați; tulpini  
26       comerciale de *Lactobacillus plantarum* și *Lactobacillus brevis* (DI-PROX MTTX); tulpini  
27       comerciale de *Lactobacillus helveticus* (LH-B02).

28       Drojdiile utilizate au fost: *Saccharomyces cerevisiae* și *Kluyveromyces marxianus*  
29       subsp. *marxianus* (LAF-4).

30       Dimensiunea inoculului pentru culturile starter de bacterii lactice a fost de  $3...5 \times$   
31        $10^8$  ufc/100 g aluat. Drodia comprimată de panificație a fost folosită în cantitate de 9 g/kg  
32       aluat, cu excepția experimentelor cu LH-B02, la care s-a folosit LAF-4 în raport de 1/4 față  
33       de LH-B02.

34       Făina integrală de secară a fost amestecată cu apa în raport de 1 : 2. Amestecul  
35       omogen obținut a fost inoculat cu culturi mixte de bacterii lactice și drojdii. În experimentele  
36       efectuate de noi, am folosit pentru exemplificare următoarele variante: amestec de culturi  
37       uzuale în industria laptelui (LH-B02 și LAF-4), amestec de culturi uzuale în panificație (DI-  
38       PROX MTTX și drojdie comprimată), amestec de culturi de bacterii lactice provenite din  
39       microflora epifită a grâului și secarei (15GAL și 16GAL, UGAL1, UGAL2). După inoculare,  
40       amestecul a fost fermentat la o temperatură de 30...35°C, timp de 12 h. Aluatul acid,  
41       proaspăt obținut, a fost adus și menținut la temperatura de 25°C, timp de 2 h, după care a  
42       fost suplimentat cu diferiți stabilizatori. Au fost testate următoarele variante de stabilizatori:  
43       zer praf parțial demineralizat și delactozat (51,5% lactoză și 30% proteine), în cantități de 4,  
44       6, 8% (procentul stabilizatorului în aluatul acid proaspăt final); zer praf dulce (80% lactoză  
45       și 11% proteine), în cantități de 2, 4, 6% (procentul stabilizatorului în aluatul acid proaspăt  
46       final); melasă în cantități de 4, 6, 8% (procentul stabilizatorului în aluatul acid proaspăt final);  
47       zaharoză, maltoză și galactoză, în cantități de câte 2, 4, 6% (procentul stabilizatorului în  
48       aluatul acid proaspăt final). Aluatul acid proaspăt, suplimentat cu stabilizatori, a fost introdus

în pungi speciale de congelare și apoi congelat la  $-30^{\circ}\text{C}$ , în congelator-ultrafreezer (Angelantoni-Industrie). Liofilizarea a fost făcută la un sistem Alpha 1-4 (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH), până la obținerea unei umidități finale a aluatului acid uscat de 2...4%.

După 6 luni de depozitare în condiții de refrigerare, aluatul acid uscat a fost reconstituit prin introducerea într-un mediu format din făină integrală de secară și apă; raportul aluat acid uscat : făină integrală de secară : apă a fost de 1 : 2,5 : 6,5.

Se dau, în continuare, două exemple de realizare a invenției, în legătură și cu fig. 1...4, care reprezintă:

- fig. 1, reprezentare schematică a procedurii biotehnologice de obținere a aluatului acid, uscat, din făină de secară, conform cu descrierea invenției;

- fig. 2, pH-ul aluatului acid, proaspăt, obținut prin fermentație spontană, fără adaos de inocul, (PO) și prin fermentație cu culturi mixte de drojdii și de bacterii lactice: LH-B02+LAF-4 (P1), DI-PROX MTTX+S (P2), 15GAL+16GAL+S (P3), UGAL2+S (P4), UGAL1+S (P5);

- fig. 3, aciditatea totală titrabilă a aluatului acid, proaspăt, obținut prin fermentație spontană, fără adaos de inocul, (PO) și prin fermentație cu culturi mixte de drojdii și de bacterii lactice: LH-B02+LAF-4 (P1), DI-PROX MTTX+S (P2), 15GAL+16GAL+S (P3), UGAL2+S (P4), UGAL1+S (P5);

- fig. 4, cantitatea de acid lactic și cantitatea de acid acetic din aluatul acid proaspăt, obținut prin fermentație spontană, fără adaos de inocul, (PO) și prin fermentație cu culturi mixte de drojdii și de bacterii lactice: LH-B02+LAF-4 (P1), DI-PROX MTTX+S (P2), 15GAL+16GAL+S (P3), UGAL2+S (P4), UGAL1+S (P5).

**Exemplul 1.** Făina integrală de secară a fost amestecată cu apa în raport de 1 : 2. Amestecul omogen obținut a fost inoculat cu un amestec de culturi uzuale în panificație (DI-PROX MTTX și drojdie comprimată). După inoculare, amestecul a fost fermentat la o temperatură de  $30^{\circ}\text{C}$ , timp de 12 h. Aluatul acid proaspăt, obținut a fost adus și menținut la temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ , timp de 2 h, după care a fost suplimentat cu 6% melasă. Aluatul acid, proaspăt, suplimentat cu melasă a fost introdus în pungi speciale de congelare și apoi congelat la  $-30^{\circ}\text{C}$ . Liofilizarea a fost făcută până la obținerea unei umidități finale a aluatului acid, uscat, de 2...4%.

**Exemplul 2.** Se procedează ca în exemplul 1, respectând aceiași parametri de lucru, cu excepția inoculului folosit, care va fi un amestec de culturi uzuale în industria laptelui (LH-B02 și LAF-4).

Aluatul acid, proaspăt, preparat cu 5 variante de culturi mixte de bacterii lactice și drojdii (P1, P2, P3, P4, P5), a fost caracterizat, înainte de adăugarea stabilizatorilor, pe baza următorilor parametri: pH, aciditate, conținut de acid lactic și acid acetic și unitățile formatoare de colonii/g de aluat (ufc/g aluat, tabelul 1).

Aluatul acid, obținut din făină integrală de secară, prin fermentația microflorei spontane, a avut, la finalul perioadei de fermentare, un pH de 4,88 (PO în fig. 2) și o aciditate titrabilă totală de 9,89 (PO în fig. 3). Toate alaturile acide, preparate cu culturi starter (P1, P2, P3, P4, P5 în fig. 2), au avut pH mai mic de 4, cele mai mici valori fiind înregistrate în cazul probelor cu UGAL2 (pH=3,56). Aluatul acid, preparat cu LH-B02 (P1 în fig. 2) a avut pH 3,81 și aciditate titrabilă totală de 14,85 (P1 în fig. 3).

Analizând rezultatele din fig. 4, se constată că activitatea metabolică a bacteriilor lactice a permis acumularea în aluat a unor cantități de acid lactic superioare celor de acid acetic. Cele mai mari rapoarte acid lactic/acid acetic au fost obținute în cazul probelor cu LH-B02 (6,64) și în cazul probelor cu UGAL1 (5,51). Pe de altă parte, aluatul acid, obținut cu

# RO 126627

1 cultură mixtă de LAB heterofermentativă și drojdie, conține concentrații mai mari de  
2 metaboliți de fermentație ai drojdiei și concentrații mai mici de metaboliți de fermentație ai  
3 bacteriilor. Asocierea LAB heterofermentative cu LAB homofermentative și drojdie  
4 comprimată de panificație garantează un profil de aromă echilibrat în pâinea preparată prin  
5 tehnologia cu aluat acid. Aceste observații pot explica și valorile mai mici ale raportului acid  
6 lactic/acid acetic, obținute pentru aluatul acid fermentat cu UGAL2 (4,16), care este LAB  
7 obligat heterofermentativă.

8 Viabilitatea bacteriilor lactice din aluatul acid proaspăt a variat între  $5,4 \times 10^9$  ufc/g,  
9 în cazul aluatului acid preparat cu 15GAL+16GAL (P3), și  $6,9 \times 10^{10}$  ufc/g, pentru aluatul acid  
10 preparat cu LH-B02 (P1) (Tabelul 1).

11 pH-ul și ufc/g obținute pentru aluaturile acide preparate cu culturile starter și  
12 parametrii tehnologici menționați în fig. 1 au valorile cerute prin definiție pentru un aluat acid.

13 Aluatul acid uscat a fost analizat din punct de vedere al ufc/g aluat, imediat după  
14 liofilizare, dar și după 6 luni de la liofilizare (tabelul 1).

15 Imediat după liofilizare, în cazul folosirii ca stabilizator a zerului praf parțial  
16 demineralizat și delactozat, cele mai bune rezultate, din punct de vedere al viabilității  
17 celulelor de bacterii lactice, au fost obținute în cazul aluaturilor acide, preparate cu UGAL2,  
18 15GAL+16GAL și DI-PROX MTTX, la concentrații ale stabilizatorului de 4%. Nu au fost  
19 observate diferențe semnificative în cazul aluaturilor acide uscate, preparate cu LH-B02 și  
20 cantități diferite de zer praf (tabelul 1). Numărul total de unități formatoare de colonii de  
21 bacterii lactice din aluatul acid uscat a fost mai mare în cazul experimentelor realizate cu  
22 zerul praf parțial demineralizat și delactozat, comparativ cu experimentele cu zer praf dulce.  
23 În cazul aluatului acid uscat, preparat cu DI-PROX MTTX și zer praf dulce ca stabilizator, în  
24 cantități de 2 și 6%, viabilitatea bacteriilor lactice a fost de  $5,6 \times 10^9$  și  $2,8 \times 10^9$  ufc/g, mai  
25 mare față de probele cu niveluri de 4 și 8% zer praf parțial demineralizat și delactozat ( $4,2$   
26  $\times 10^7$  și  $8,1 \times 10^6$  ufc/g). Zerul praf dulce conține cantități mai mari de lactoză și cantități mai  
27 mici de proteine, comparativ cu zerul praf parțial demineralizat și delactozat.

28 Prin folosirea melasei și a amestecului de glucide (zaharoză, maltoză și galactoză),  
29 au fost înregistrate cele mai bune rezultate în ceea ce privește viabilitatea bacteriilor lactice.  
30 La adaosuri de 6% amestec de glucide, viabilitatea bacteriilor lactice a fost mai bună decât  
31 în cazul folosirii aceleiași cantități de zer praf dulce (tabelul 1). Prin folosirea glucidelor  
32 (maltoză, zaharoză și galactoză) ca stabilizator, în cantități de 6 și 8%, s-au obținut  
33 îmbunătățiri ale viabilității bacteriilor lactice cu un ordin de mărime. Rezultate comparabile  
34 au fost obținute și în cazul folosirii ca stabilizator a zerului praf dulce. În schimb, în cazul  
35 folosirii zerului praf parțial demineralizat și delactozat, același efect a fost obținut la adaos  
36 de 2%, ceea ce sugerează că fracțiunea proteică din zerul demineralizat și delactozat  
37 influențează negativ activitatea bacteriilor lactice din aluatul acid, acest efect fiind evitat prin  
utilizarea unor concentrații ridicate de stabilizatori ca sursă de glucide.

# RO 126627 B1

Tabelul 1 1

Numărul de unități formatoare de colonii de bacterii lactice/g de aluat proaspăt și uscat 3

Proba de aluat	Zer praf parțial demineralizat și delactozat, %			Zer praf dulce, %			Zaharoză, maltoză, galactoză, %			Melasă, %			
	4	6	8	2	4	6	4	6	8	2	4	6	
UGAL1+S													5
Aluat acid proaspăt	3,6x10 <sup>10</sup>												9
Aluat acid liofilizat	7,4x10 <sup>7</sup>	4,2x10 <sup>7</sup>	1,8x10 <sup>7</sup>	4,7x10 <sup>7</sup>	5,3x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>7</sup>	7,6x10 <sup>7</sup>	8,8x10 <sup>7</sup>	3,7x10 <sup>8</sup>	6,1x10 <sup>7</sup>	8,8x10 <sup>7</sup>	1x10 <sup>8</sup>	
Aluat acid liofilizat după 6 luni de depozitare	1,9x10 <sup>6</sup>	1,1x10 <sup>6</sup>	1,4x10 <sup>6</sup>	7,6x10 <sup>6</sup>	5,2x10 <sup>6</sup>	5,5x10 <sup>6</sup>	7,1x10 <sup>6</sup>	5,5x10 <sup>6</sup>	8,5x10 <sup>6</sup>	4,2x10 <sup>6</sup>	7,3x10 <sup>6</sup>	9,6x10 <sup>7</sup>	11
UGAL2+S													13
Aluat acid proaspăt	2,5 x10 <sup>10</sup>												
Aluat acid liofilizat	8,2x10 <sup>7</sup>	4,7x10 <sup>7</sup>	2,1x10 <sup>7</sup>	3,7x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>7</sup>	7,5x10 <sup>7</sup>	7,1x10 <sup>7</sup>	8,5x10 <sup>7</sup>	2,1x10 <sup>8</sup>	5,1x10 <sup>7</sup>	8,1x10 <sup>7</sup>	9,4x10 <sup>7</sup>	15
Aluat acid liofilizat după 6 luni de depozitare	3,9x10 <sup>6</sup>	2,1x10 <sup>6</sup>	1,8x10 <sup>6</sup>	8,6x10 <sup>6</sup>	4,1x10 <sup>6</sup>	5,5x10 <sup>6</sup>	5,1x10 <sup>6</sup>	6,2x10 <sup>6</sup>	9,5x10 <sup>6</sup>	3,8x10 <sup>6</sup>	5,1x10 <sup>6</sup>	9,0x10 <sup>6</sup>	17
15GAL+16GAL+S													
Aluat acid proaspăt	5,4 x10 <sup>9</sup>												19
Aluat acid liofilizat	5,7x10 <sup>7</sup>	3,9x10 <sup>7</sup>	2,4x10 <sup>7</sup>	2,2x10 <sup>7</sup>	6,4x10 <sup>7</sup>	7,1x10 <sup>7</sup>	7,4x10 <sup>7</sup>	7,9x10 <sup>7</sup>	2,4x10 <sup>8</sup>	4,1x10 <sup>7</sup>	8,2x10 <sup>7</sup>	8,8x10 <sup>7</sup>	
Aluat acid liofilizat după 6 luni de depozitare	3,6x10 <sup>6</sup>	2,1x10 <sup>6</sup>	9,0x10 <sup>6</sup>	7,7x10 <sup>6</sup>	2,5x10 <sup>6</sup>	3,1x10 <sup>6</sup>	2,9x10 <sup>6</sup>	4,4x10 <sup>6</sup>	6,0x10 <sup>6</sup>	9,8x10 <sup>6</sup>	4,1x10 <sup>6</sup>	8,2x10 <sup>6</sup>	21
DI-PROX MTTX+S													23

## RO 126627 B1

*Tabelul 1 (continuare)*

	Proba de aluat	Zer praf parțial demineralizat și delactozat, %			Zer praf dulce, %			Zaharoză, maltoză, galactoză, %			Melasă, %		
		4	6	8	2	4	6	4	6	8	2	4	6
5	Aluat acid proaspăt	$4,6 \times 10^{10}$											
	Aluat acid liofilizat	$4,2 \times 10^7$	$2,2 \times 10^7$	$8,1 \times 10^6$	$5,6 \times 10^7$	$6,1 \times 10^7$	$2,8 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$	$5,3 \times 10^8$	$1,4 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$	$6,9 \times 10^8$
7	Aluat acid liofilizat după 6 luni de depozitare	$7,8 \times 10^6$	$6,9 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$	$8,4 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$7,7 \times 10^6$	$9,1 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$3,2 \times 10^7$	$3,9 \times 10^7$
9	LH-B02+ LAF-4 (P1)												
	Aluat acid proaspăt	$6,9 \times 10^{10}$											
11	Aluat acid liofilizat	$9,5 \times 10^7$	$8,2 \times 10^7$	$7,3 \times 10^7$	$7,2 \times 10^7$	$9,8 \times 10^7$	$1,9 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$3,5 \times 10^8$	$4,1 \times 10^8$	$3,1 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$
13	Aluat acid liofilizat după 6 luni de depozitare	$4,7 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$9,1 \times 10^6$	$9,2 \times 10^6$	$3,1 \times 10^6$	$8,3 \times 10^6$	$9,6 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$3,4 \times 10^7$	$5,7 \times 10^7$

15           După 6 luni de depozitare, viabilitatea bacteriilor lactice din aluatul acid uscat scade. Astfel, viabilitatea microorganismelor din aluatul  
 17 preparat cu DI-PROX MTTX și UGAL2 scade de la  $6,9 \times 10^9$  la  $8,8 \times 10^7$  și, respectiv, de la  $9,4 \times 10^8$  la  $1,4 \times 10^7$  ufc/g aluat, când melasa a  
 fost utilizată ca stabilizator. Așa cum se poate constata din tabelul 1, cea mai mică scădere a fost înregistrată în cazul folosirii melasei ca  
 stabilizator.

19           După 6 luni de la liofilizare, aluatul acid uscat a fost reconstituit și analizat din punct de vedere al pH-ului (tabelul 2) și ufc/g aluat (tabelul  
 3).



# RO 126627 B1

Tabelul 2 1

*pH-ul aluatului acid uscat, reconstituit după 6 luni de depozitare*

Proba de aluat	Zer praf parțial demineralizat și delactozat, %			Zer praf dulce, %			Zaharoză, maltoză, galactoză, %			Melasă, %			
	4	6	8	2	4	6	4	6	8	2	4	6	
UGAL1+S (P5)													7
0	5,2	5,3	5,5	5,3	5,2	5,1	5,2	5,1	5,0	5,2	5,1	5,0	
2	4,8	5,1	5,2	4,8	4,6	4,5	4,5	4,3	4,2	4,6	4,5	4,2	9
4	4,3	4,5	4,6	4,3	4,3	4,2	4,0	4,0	3,9	4,5	4,0	4,0	
8	3,8	3,9	4,0	3,8	3,7	3,7	3,6	3,5	3,5	3,9	3,9	3,8	11
UGAL2+S (P4)													
0	5,6	5,6	5,6	5,6	5,4	5,2	5,3	5,2	5,0	5,3	5,2	5,1	13
2	5,1	5,4	5,4	5,0	4,8	4,7	4,7	4,6	4,4	4,8	4,7	4,5	
4	4,6	4,7	4,8	4,4	4,4	4,3	4,1	4,1	3,9	4,7	4,0	4,0	15
8	4,0	4,1	4,1	4,0	3,8	3,8	3,9	3,8	3,8	3,9	3,8	3,8	
15GAL+16GAL+S (P3)													17
0	5,4	5,4	5,5	5,4	5,3	5,6	5,3	5,1	4,9	5,1	5,1	5,1	
2	5,0	4,9	5,1	5,0	4,8	4,3	4,7	4,3	4,2	4,9	4,6	4,2	19
4	4,5	4,6	4,8	4,5	4,2	4,1	4,2	4,2	4,0	4,4	4,2	4,1	
8	4,0	4,0	4,1	4,2	4,1	3,9	4,1	4,0	4,0	4,1	3,9	4,0	21

# RO 126627 B1

Tabelul 2 (continuare)

	Proba de aluat	Zer praf parțial demineralizat și delactozat, %			Zer praf dulce, %			Zaharoză, maltoză, galactoză, %			Melasă, %		
		4	6	8	2	4	6	4	6	8	2	4	6
5	DI-PROX MTTX+S (P3)												
	0	5,4	5,4	5,6	5,4	5,4	5,3	5,4	5,2	5,2	5,4	5,3	5,1
7	2	4,9	5,0	5,1	4,8	4,5	4,4	4,5	4,2	4,1	4,6	4,3	4,1
	4	4,4	4,5	4,6	4,2	4,2	4,1	4,1	4,0	4,0	4,2	4,0	4,0
9	8	4,0	4,0	4,1	4,0	4,0	3,9	3,9	3,9	3,8	4,0	3,9	3,8
	LH-B02+LAF-4 (P1)												
11	0	5,5	5,5	5,7	5,6	5,4	5,2	5,2	5,2	5,0	5,4	5,2	5,1
	2	5,1	5,2	5,2	5,2	5,0	5,0	5,0	4,8	4,6	5,6	5,0	4,7
13	4	4,6	4,7	4,9	4,7	4,6	4,5	4,5	4,4	4,3	4,7	4,5	4,4
	8	4,0	4,2	4,2	4,1	4,0	4,0	4,0	3,9	3,8	4,0	3,9	3,9

# RO 126627 B1

Tabelul 3 1

Numărul de unități formatoare de colonii/g de aluat, al aluatului acid uscat, reconstituit după 6 luni de depozitare

Proba de aluat	Zer praf parțial demineralizat și delactozat, %			Zer praf dulce, %			Zaharoză, maltoză, galactoză, %			Melasă, %			
	4	6	8	2	4	6	4	6	8	2	4	6	
UGAL1+S (P5)													
2	8,8x10 <sup>7</sup>	7,5x10 <sup>7</sup>	6,6x10 <sup>7</sup>	4-3x10 <sup>7</sup>	8,6x10 <sup>7</sup>	9,2x10 <sup>7</sup>	8,5x10 <sup>7</sup>	9,6x10 <sup>7</sup>	2,8x10 <sup>8</sup>	7,8x10 <sup>7</sup>	9,7x10 <sup>7</sup>	3,3x10 <sup>8</sup>	7
4	1,4x10 <sup>8</sup>	9,4x10 <sup>7</sup>	9,1x10 <sup>7</sup>	9,5x10 <sup>7</sup>	1,5x10 <sup>8</sup>	3,2x10 <sup>8</sup>	4,2x10 <sup>8</sup>	6,4x10 <sup>8</sup>	7,1x10 <sup>8</sup>	4,3x10 <sup>8</sup>	6,3x10 <sup>8</sup>	8,9x10 <sup>8</sup>	
8	8,7x10 <sup>8</sup>	6,6x10 <sup>8</sup>	5,7x10 <sup>8</sup>	6,8x10 <sup>8</sup>	8,9x10 <sup>8</sup>	9,5x10 <sup>8</sup>	9,4x10 <sup>8</sup>	1,5x10 <sup>9</sup>	3,7x10 <sup>9</sup>	8,2x10 <sup>8</sup>	9,5x10 <sup>8</sup>	4,1x10 <sup>9</sup>	9
UGAL2+S (P4)													
2	5,8x10 <sup>7</sup>	4,9x10 <sup>7</sup>	3,6x10 <sup>7</sup>	1,6x10 <sup>7</sup>	7,1x10 <sup>7</sup>	8,3x10 <sup>7</sup>	7,6x10 <sup>7</sup>	9,2x10 <sup>7</sup>	1,5x10 <sup>8</sup>	7,3x10 <sup>7</sup>	8,4x10 <sup>7</sup>	2,1x10 <sup>8</sup>	11
4	8,4x10 <sup>7</sup>	7,5x10 <sup>7</sup>	5,9x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>7</sup>	9,7x10 <sup>7</sup>	1,3x10 <sup>8</sup>	1,1x10 <sup>8</sup>	4,7x10 <sup>8</sup>	5,3x10 <sup>8</sup>	2,7x10 <sup>8</sup>	4,3x10 <sup>8</sup>	7,6x10 <sup>8</sup>	
8	6,5x10 <sup>8</sup>	3,1x10 <sup>8</sup>	2,6x10 <sup>8</sup>	5,4x10 <sup>8</sup>	7,8x10 <sup>8</sup>	9,1x10 <sup>8</sup>	7,2x10 <sup>8</sup>	1,1x10 <sup>9</sup>	2,5x10 <sup>9</sup>	6,5x10 <sup>8</sup>	8,9x10 <sup>8</sup>	3,7x10 <sup>9</sup>	13
15GAL+16GAL+S (P3)													
2	5,1x10 <sup>7</sup>	4,7x10 <sup>7</sup>	3,0x10 <sup>7</sup>	2,4x10 <sup>7</sup>	6,8x10 <sup>7</sup>	8,3x10 <sup>7</sup>	7,7x10 <sup>7</sup>	8,2x10 <sup>7</sup>	9,5x10 <sup>7</sup>	3,1x10 <sup>7</sup>	7,9x10 <sup>7</sup>	1,6x10 <sup>8</sup>	15
4	1,2x10 <sup>8</sup>	8,4x10 <sup>7</sup>	6,3x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>7</sup>	9,7x10 <sup>7</sup>	2,4x10 <sup>8</sup>	1,6x10 <sup>8</sup>	3,4x10 <sup>8</sup>	4,2x10 <sup>8</sup>	7,6x10 <sup>7</sup>	3,1x10 <sup>8</sup>	6,7x10 <sup>8</sup>	
8	4,6x10 <sup>8</sup>	1,1x10 <sup>8</sup>	8,8x10 <sup>7</sup>	8,2x10 <sup>7</sup>	2,4x10 <sup>8</sup>	6,1x10 <sup>8</sup>	6,3x10 <sup>8</sup>	9,8x10 <sup>8</sup>	1,1x10 <sup>9</sup>	2,8x10 <sup>8</sup>	7,7x10 <sup>8</sup>	2,3x10 <sup>9</sup>	17

# RO 126627 B1

Tabelul 3 (continuare)

1  
3  
5  
7  
9  
11  
13

Proba de aluat	Zer praf parțial demineralizat și delactozat, %			Zer praf dulce, %			Zaharoză, maltoză, galactoză, %			Melasă, %		
	4	6	8	2	4	6	4	6	8	2	4	6
DI-PROX MTTX+S (P2)												
2	6,2x10 <sup>7</sup>	3,5x10 <sup>7</sup>	1,8x10 <sup>7</sup>	3,4x10 <sup>7</sup>	5,7x10 <sup>7</sup>	1,3x10 <sup>8</sup>	4,2x10 <sup>8</sup>	6,3x10 <sup>8</sup>	8,2x10 <sup>8</sup>	5,1x10 <sup>8</sup>	7,3x10 <sup>8</sup>	8,9x10 <sup>8</sup>
4	9,0x10 <sup>7</sup>	7,2x10 <sup>7</sup>	6,7x10 <sup>7</sup>	7,1x10 <sup>7</sup>	9,8x10 <sup>7</sup>	5,9x10 <sup>8</sup>	7,6x10 <sup>8</sup>	8,2x10 <sup>8</sup>	2,3x10 <sup>9</sup>	6,9x10 <sup>8</sup>	9,8x10 <sup>8</sup>	1,7x10 <sup>9</sup>
8	4,2x10 <sup>8</sup>	3,6x10 <sup>8</sup>	2,5x10 <sup>8</sup>	2,1x10 <sup>8</sup>	4,6x10 <sup>8</sup>	9,3x10 <sup>8</sup>	2,7x10 <sup>9</sup>	1,3x10 <sup>9</sup>	3,1x10 <sup>9</sup>	8,8x10 <sup>8</sup>	2,2x10 <sup>9</sup>	4,3x10 <sup>9</sup>
LH-B02+LAF-4 (P1)												
2	9,2x10 <sup>7</sup>	4,7x10 <sup>7</sup>	2,9x10 <sup>7</sup>	3,9x10 <sup>7</sup>	6,2x10 <sup>7</sup>	2,6x10 <sup>8</sup>	5,7x10 <sup>8</sup>	6,2x10 <sup>8</sup>	9,1x10 <sup>8</sup>	6,2x10 <sup>8</sup>	7,3x10 <sup>8</sup>	9,6x10 <sup>8</sup>
4	1,4x10 <sup>8</sup>	7,8x10 <sup>7</sup>	7,3x10 <sup>7</sup>	7,8x10 <sup>7</sup>	1,3x10 <sup>8</sup>	6,2x10 <sup>8</sup>	7,9x10 <sup>8</sup>	9,6x10 <sup>8</sup>	3,2x10 <sup>9</sup>	8,5x10 <sup>8</sup>	2,1x10 <sup>9</sup>	3,2x10 <sup>9</sup>
8	5,1x10 <sup>8</sup>	4,0x10 <sup>8</sup>	1,9x10 <sup>8</sup>	2,6x10 <sup>8</sup>	5,4x10 <sup>8</sup>	9,6x10 <sup>8</sup>	1,0x10 <sup>9</sup>	2,2x10 <sup>9</sup>	5,3x10 <sup>9</sup>	2,0x10 <sup>9</sup>	3,9x10 <sup>9</sup>	4,1x10 <sup>9</sup>

## RO 126627 B1

Astfel, după 8 h de termostatare a aluatului acid, preparat cu melasă și reconstituit, cele mai bune valori de pH, de 3,76, respectiv, de 3,89, au fost obținute în cazul UGAL2 și 15GAL+16GAL. pH-urile aluaturilor acide reconstituite, preparate cu zer praf dulce, respectiv, cu amestec de glucide, au fost comparabile (tabelul 3). Cele mai mari valori ale pH-ului au fost obținute în cazul aluatului acid uscat, reconstituit, preparat cu zer praf parțial demineralizat și delactozat. După 2 h de termostatare a aluatului acid reconstituit, au fost obținute ufc/g aluat de ordinul $10^7$ , pentru toate probele la care s-a folosit zerul drept stabilizator. Pentru UGAL1 și UGAL2, au fost obținute $10^8$ ufc/g aluat, în cazul utilizării unor concentrații maxime de amestec de glucide și de melasă, în timp ce pentru DI-PROX MTTX și LH-B02, aceeași viabilitate a fost obținută chiar și la concentrații minime de stabilizator.	1 3 5 7 9
Prin prelungirea perioadei de termostatare, până la 8 h, a aluatului acid reconstituit, pentru toți stabilizatorii folosiți, au fost obținute creșteri ale ufc/g de aluat cu un ordin de mărime.	11 13
Putem concluziona că cei mai buni stabilizatori folosiți la obținerea aluatului acid liofilizat, din făină integrală de secară, au fost amestecul de glucide (zaharoză, maltoză și galactoză) și melasa. După 6 luni de depozitare a acestor aluaturi acide, prin reconstituire și termostatare timp de 8 h, viabilitatea LAB este de ordinul $10^9$ ufc/g aluat, iar pH-ul este mai mic de 4.	15 17

# RO 126627 B1

1

## Revendicare

3

Procedeu biotehnologic de obținere a unui aluat acid uscat, din făină integrală de seară, **caracterizat prin aceea că** făina integrală de seară se hidratează în raport făină :

5

apă de 1 : 2, se supune fermentației la 30...35°C, timp de 12 h, cu ajutorul unor culturi starter mixte, formate din bacterii lactice specifice microflorei spontane a grâului și secarei: *Weisella*

7

*confusa*, *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* sau din bacterii lactice specifice altor produse fermentate: *Lactobacillus helveticus*, și drojdii:

9

*Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* subsp. *marxianus*, până la obținerea unei populații bacteriene de  $10^9$  și  $10^{10}$  ufc/g aluat și a unui pH mai mic de 4, se stabilizează

11

cu melasă, în concentrații de 2, 4 și 6% în aluatul acid proaspăt, obținut după 12 h de fermentare sau cu amestec format din cantități egale de maltoză, zaharoză și galactoză, în

13

concentrații de 6% în aluatul acid proaspăt, obținut după 12 h de fermentare, și se usucă prin liofilizare.

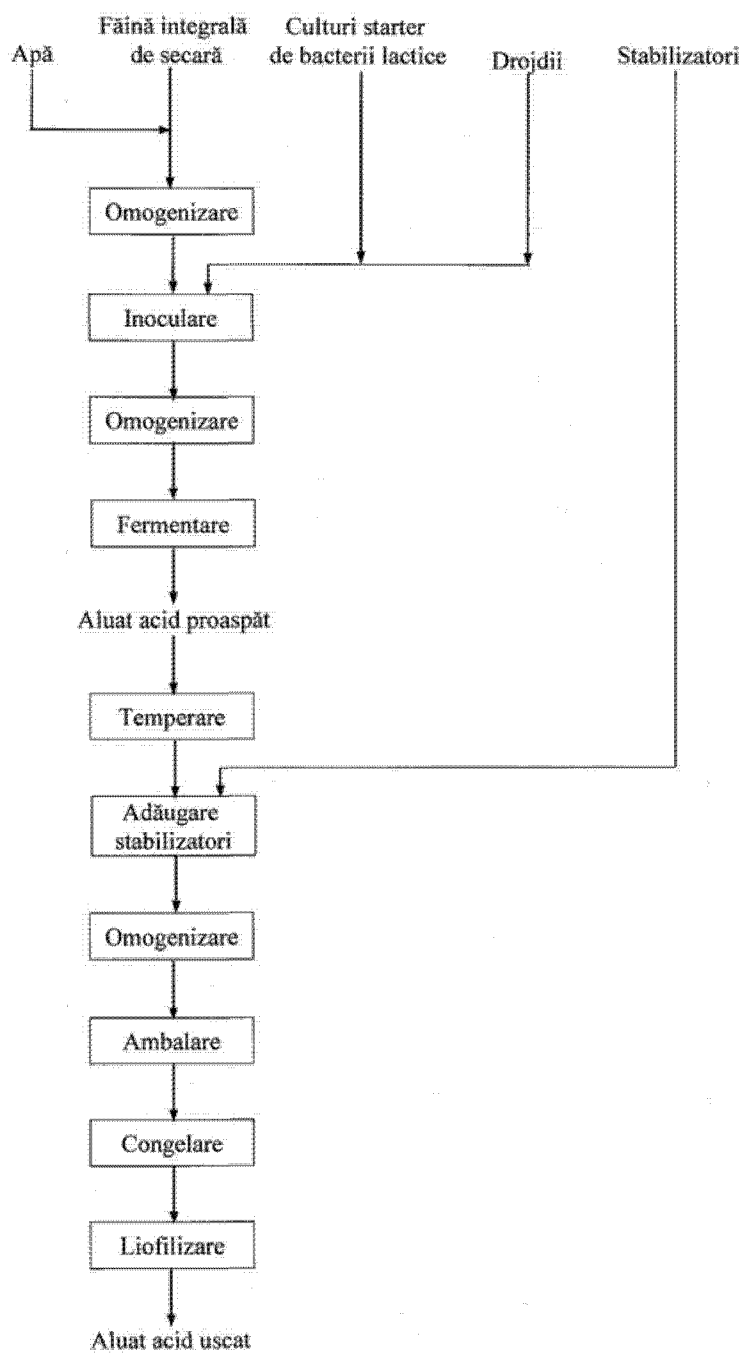


Fig. 1

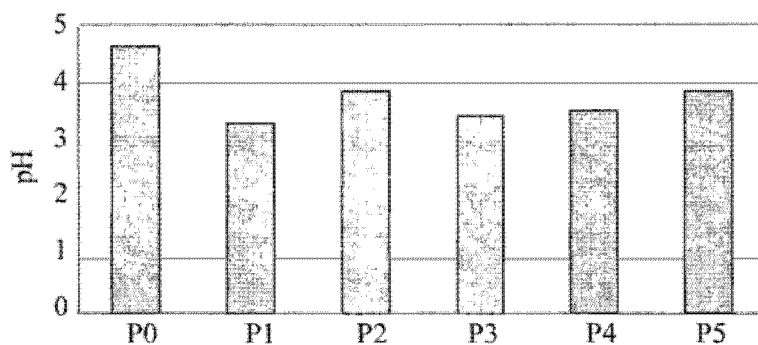


Fig. 2

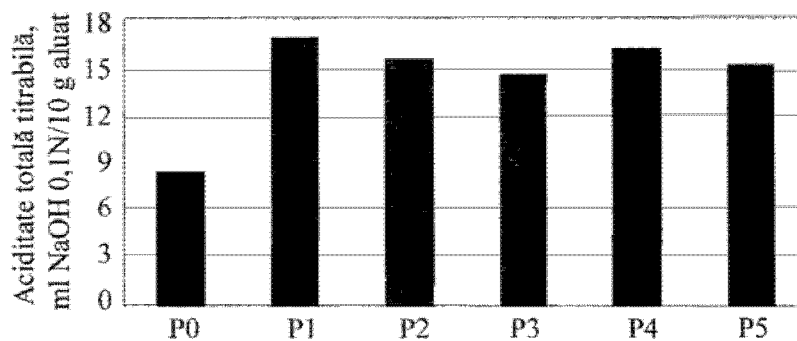


Fig. 3

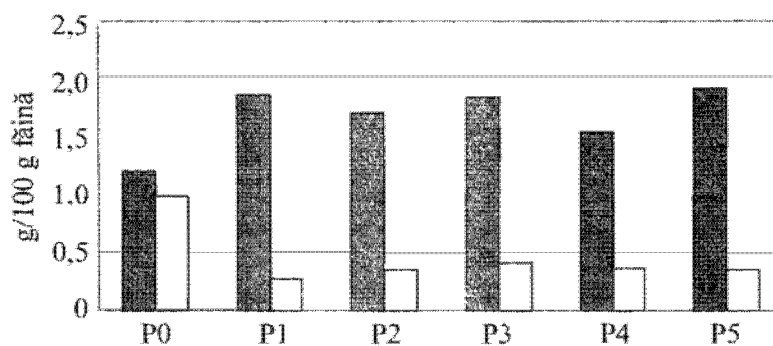


Fig. 4

