



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2011 00208

(22) Data de depozit: 10.03.2011

(41) Data publicării cererii:
28.10.2011 BOPI nr. 10/2011

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA "DUNĂREA DE JOS"
DIN GALAȚI, STR. DOMNEASCĂ NR. 47,
GALAȚI, GL, RO

(72) Inventatori:
• BANU IULIANA, BD. DUNĂREA NR. 88,
BL. E13, SC. 1, ET. 5, AP. 43, GALAȚI, GL,
RO;

• APRODU IULIANA, STR. FRUNZEI
NR. 101, BL. 4E, AP. 26, GALAȚI, GL, RO;
• VASILEAN INA, STR. IONEL FERNIC
NR. 4, BL. N15, SC. 4, ET. 2, AP. 90, GALAȚI,
GL, RO;
• DRĂGOI LARISA, STR. LOGOFĂȚ TĂUTU
NR. 21, GALAȚI, GL, RO

(54) TEHNOLOGIE DE REDUCERE A CONȚINUTULUI DE
MICOTOXINE DIN PRODUSELE DE PÂNFICAȚIE

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la un procedeu de reducere a contaminării cu micotoxine a produselor de panificație, prin folosirea tehnologiei cu aluat acid. Procedeu conform invenției utilizează aluatul acid în proporție de 20% față de făină, obținut prin fermentarea, timp de 16 h, la temperatura de 30°C, cu ajutorul unor culturi starter mixte, de bacterii lactice și drojdii, a unui amestec de făină de grâu - apă în raport de 2 : 1, contaminat

artificial cu deoxinivalenol, cu obținerea unor produse de panificație cu conținut redus de micotoxină, sigure pentru consumatori.

Revendicări: 1
Figuri: 2



DESCRIEREA INVENȚIEI

Prezenta invenție descrie un procedeu de reducere a contaminării cu micotoxine a produselor de panificație prin folosirea tehnologiei cu aluat acid.

S-a demonstrat că principalii factori care influențează activitatea antifungică a bacteriilor lactice sunt: temperatura, durata de incubare, mediul de cultură, pH-ul și factorii nutriționali (Batish ș.a., 1997).

Cele mai multe date referitoare la efectele bacteriilor lactice asupra acumulării de micotoxine sunt legate de mucegaiurile producătoare de aflatoxine.

Se apreciază că există 2 mecanisme prin care se poate limita contaminarea mediilor cu micotoxine: inhibarea biosintezei micotoxinelor și îndepărtarea micotoxinelor prin legarea de membrana celulară a bacteriilor.

Nu toate bacteriile lactice au același comportament față de micotoxine (Luchese și Harrigan, 1990).

Lactobacillus rhamnosus GG, *Lactobacillus rhamnosus* LC-705 și *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS au abilitatea de a lega din mediile lichide (20 μg/ml) deoxinivalenolul (DON), nivalenolul (NIV), fusarenolul (FX), diacetoxiscirpenolul (DAS), toxina T2 (T2) și toxina HT2 (TH2) (El-Nezami ș.a., 2002), în procente cuprinse între 18 și 93%.

Abbas ș.a. (1985), Neira ș.a. (1997), Boyacioglu ș.a. (1993), Samar ș.a. (2001), Kushiro (2008) și Lancova ș.a. (2009) au efectuat studii folosind mediul de aluat.

Abbas ș.a. (1985) au arătat că prin panificarea printr-un procedeu clasic a făinii integrale de grâu contaminată cu deoxinivalenol se obține o reducere a concentrației de deoxinivalenol în făină cuprinsă între 19 și 69%. Samar ș.a. (2001) au evidențiat efectul de reducere al concentrației de deoxinivalenol în cadrul fazei tehnologice de fermentație a aluatului de grâu, fermentație realizată cu drojdii. Kushiro (2008) a arătat că deoxinivalenolul este foarte stabil în timpul procesului de coacere, în timp ce Lancova ș.a. (2009) au subliniat modificările concentrației de deoxinivalenol în timpul procesului tehnologic de panificație clasic. Influența drojdiilor și a unor ingrediente asupra concentrației de deoxinivalenol din pâine a fost evidențiată în studiile realizate de Neira ș.a. (1997) și Boyacioglu ș.a. (1993).

Față de cele menționate mai sus invenția noastră se individualizează prin faptul că se reduce contaminarea cu deoxinivalenol a produselor de panificație prin folosirea tehnologiei cu aluat acid, care presupune folosirea bacteriilor lactice.

Parametrii invenției

Trei probe de grâu contaminate artificial cu deoxinivalenol au fost măcinate la un agregat de laborator Bühler. Conținutul de deoxinivalenol din grâul contaminat a fost: 279,24 ppb (P1), 250,42 ppb (P2) și 372,11 (P3).

Prin măcinarea celor patru probe de grâu am obținut făină albă în extracție de 76% și conținut de cenușă de 0,69%. Făina a avut a avut conținuturi de deoxinivalenol de 177,39 ppb (P1), 160,56 ppb (P2) și 239,88 ppb.

Din făinurile obținute prin măcinare probelor de grâu contaminat și a grâului martor au fost efectuate probe de coacere prin tehnologia cu aluat acid. În Figura 1 este prezentată tehnologia de obținere a aluatului acid proaspăt, iar în Figura 2 este prezentată tehnologia de obținere a pâinii.

Aluatul acid a fost obținut prin fermentarea unui amestec de făină și apă în raport de 1:2 cu culturi mixte de bacterii lactice și drojdii.

Au fost folosite tulpini de bacterii lactice izolate din microflora de grâu. *Lactobacillus plantarum* (15GAL) și *Lactobacillus brevis* (16GAL), aflate în colecția de cultură a Universității „Dunărea de Jos” din Galați, și tulpini comerciale recomandate a fi utilizate în industria de panificație, *Lactobacillus plantarum* (EDR-P) achiziționată de la



Handwritten signature.

Ingredients (România) sau în industria laptelui, *Lactobacillus helveticus* (LH-B02) achiziționată de la Chr Hansen (România).

Drojdiiile utilizate au fost: *Saccharomyces cerevisiae* (Pakmaya, S.C. Rompak S.R.L., România) și *Kluyveromyces marxianus* subsp. *marxianus* (LAF-4) (achiziționată de la Chr Hansen România).

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

Parametrii procesului de obținere a aluatului acid au fost: raportul făină:apă de 1:2, timpul de fermentare 16 ore, temperatura de fermentare 30°C.

Probele de coacere au fost efectuate cu adaos de aluat acid, 20% față de făină, apă (corespunzătoare unei capacități de hidratare a făinii de 55%), drojdie (2%) și sare (1,5%).

Aluatul a fost dospit 120 minute la 30°C, după care a fost divizat și modelat. Bucățile de aluat au fost supuse dospirii finale 30 minute la 30°C și apoi introduse la cuptor. Coacerea s-a realizat la 186°C timp de 40 minute.

Au fost realizate probe martor, fără aluat acid, pentru fiecare probă de făină contaminată.

Pâinile obținute au fost transformate în pesmet prin uscare la temperatura de 40°C iar pesmetul a fost măcinat.

Pentru probe recoltate din aluatul acid, din aluatul după frământare, din aluatul după dospire și din pâine pesmetată s-a determinat conținutul de deoxinivalenol prin metoda imunoenzimatică ELISA, folosind kitul Ridascreen® DON (R-Biopharm Rhone Ltd.) cu o limită de detecție de 18,5 ppb

Experimente efectuate

Aluaturile acide au avut după 16 ore de fermentare la 30°C pH-uri de 3,97 pentru probele fermentate cu 15GAL+16GAL, 3,91 pentru cele fermentate cu EDR-P și de 3,84 pentru probele fermentate cu LH-B02.

Modificările concentrațiilor de DON din timpul procesului de panificație – aluat acid, frământare aluat, fermentare aluat, pâine – pentru procesele tehnologice realizate cu cele 3 culturi starter, dar și pentru proba martor sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1. Evoluția concentrației de deoxinivalenol în timpul procesului de panificație

Proba	DON, ppb			
	15GAL+16GAL	EDR-P	LH-B02	Martor
Făină (P1)	177,56			
Aluat acid	64,12	71,02	67,34	-
Aluat după frământare	130,34	134,11	132,49	151,11
Aluat după dospire	99,57	108,34	105,17	125,75
Pâine	79,82	87,12	84,97	101,75
Făină (P2)	160,56			
Aluat acid	57,86	63,62	60,83	-
Aluat după frământare	116,51	120,47	117,17	135,43
Aluat după dospire	89,44	97,12	90,63	113,17
Pâine	72,22	78,61	72,56	
Făină (P3)	239,88			
Aluat acid	86,71	95,64	90,63	
Aluat după frământare	177,63	181,55	179,63	
Aluat după dospire	136,11	146,12	143,33	
Pâine	110,12	117,18	115,63	



Se constată că nivelul de deoxinivalenol din aluatul acid a fost de aproximativ 36%, în cazul probelor cu 15GAL+16GAL, de aproximativ 40%, în cazul probelor cu EDR-P, și de aproximativ 38%, în cazul probei cu LH-B02, din conținutul de deoxinivalenol al făinii. Au fost constatate reduceri mari ale conținutului de deoxinivalenol atunci când *Lactobacillus plantarum* a fost folosit în amestec cu *Lactobacillus brevis*.

Raportat la aluatul acid, conținutul de deoxinivalenol a crescut în aluat după frământare, datorită adăugării unei cantități de făină contaminată (Figura 2, Tabelul 1).

Pentru fiecare tip de făină contaminate utilizată în analiză, aluatul obținut după încorporarea de aluat acid a avut un conținut de deoxinivalenol mai mic decât în cazul aluatului preparat fără aluat acid (proba martor).

După fermentarea aluatului, timp de 120 de min, s-a înregistrat o nouă scădere a conținutului de deoxinivalenol în aluat. Astfel, raportând concentrația de deoxinivalenol din aluatul fermentat la cea de după frământare au fost obținute procente de reducere a conținutului de deoxinivalenol de 23% în cazul probelor cu 15GAL+16GAL, de 19% în cazul probelor cu EDR-P și de 20% în cazul probelor cu LH-B02; în probele martor, la care fermentarea a fost făcută doar cu drojzii, reducerile au fost de aproximativ 16,5%.

În urma coacerii conținutul de deoxinivalenol din pâine se reduce față de cel de la sfârșitul fermentării cu aproximativ 19% în cazul tuturor probelor.

Față de nivelul inițial de contaminare cu deoxinivalenol al făinii, prin prelucrarea acesteia printr-un proces tehnologic de panificație cu aluat acid, produsele de panificație au avut un nivel de contaminare de 51-55%. În proba realizată prin tehnologie clasică, fără aluat acid, nivelul de contaminare a fost 43-44% față de nivelul de contaminare al făinii.

Referințe bibliografice

Abbas, H.K., Mirocha, C.J., Pawlosky, R.J., Pusch, D.J. 1985. Effect of cleaning, milling, and baking on deoxynivalenol in wheat, *Applied Environmental Microbiology*, 50, 482-486.

Batish, V. K., Roy, U., Lal, R., Grover, S. 1997. Antifungal attributes of lactic acid bacteria – A review, *Critical Reviews in Biotechnology*, 17, 2009–2225.

Boyacioglu, D., Hettiarachcy, N.S., D'Appolonia, B.L. 1993. Additives affect deoxynivalenol (Vomitoxin) flour during breadmaking, *Journal of Food Science*, 58:416–418.

El-Nezami, H. S., Chrevatidis, A., Auriola, S., Salminen, S., Mykkänen, H. 2002. Removal of common *Fusarium* toxins in vitro by strains of *Lactobacillus* and *Propionibacterium*, *Food Additives and Contaminants*, 19, 680–686.

Kushiro M. 2008. Effects of Milling and cooking processes on the deoxynivalenol content in wheat, *International Journal of Molecular Science*, 9, 2127-2145.

Lancova, K., Hajslova, J., Kostelanska, M., Kohoutkova, J., Nedelnik, J., Moravcova, H., Vanova M. 2008. Fate of trichothecene mycotoxins during the processing: milling and baking, *Food Additives and Contaminants*, 25, 650-659.

Luchese, R. H., Harrigan, W. F. 1990. Growth of and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* when in the presence of either *Lactococcus lactis* or lactic acid and at different initial pH values. *Journal of Applied Bacteriology*, 69, 512–519.

Neira, M.S., Pacin, A.M., Martinez, E.J., Molto, G., Resnik, S.L. 1997. The effects of bakery processing of natural deoxynivalenol contamination, *International Journal of Food Microbiology*, 37:21–25.

Samar, M.M., Neira, M.S., Resnik, S.L., Pacin, A., 2001. Effect of fermentation on naturally occurring deoxynivalenol (DON) in Argentinean bread processing technology, *Food Additives and Contaminants* 18, 1004–1010.

Shah, N., Wu, X. 1999. Aflatoxin B1 binding abilities of probiotic bacteria, *Bioscience and Microflora*, 18, 43–48.



REVENDICĂRI

Procedeu de reducere a contaminării cu micotoxine a produselor de panificație, realizat în cadrul contractului de cercetare nr. 52132-2008 (Parteneriate în Domeniile Prioritare – P4, CNMP), și caracterizat prin aceea că folosește în rețeta de fabricație a pâinii aluat acid (în proporție de 20% față de făină) obținut prin fermentarea timp de 16 ore la temperatura de 30°C, cu ajutorul unor culturi starter mixte de bacterii lactice (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus helveticus*) și drojdii (*Saccharomyces cerevisiae* sau *Kluyveromyces marxianus* subsp. *marxianus*) a unui amestec de făină de grâu – apă (în raport de 2:1) contaminat artificial cu deoxinivalenol, astfel încât să se obțină produse de panificație cu conținut redus de micotoxină sigure pentru consumatori.



DESENE EXPLICATIVE

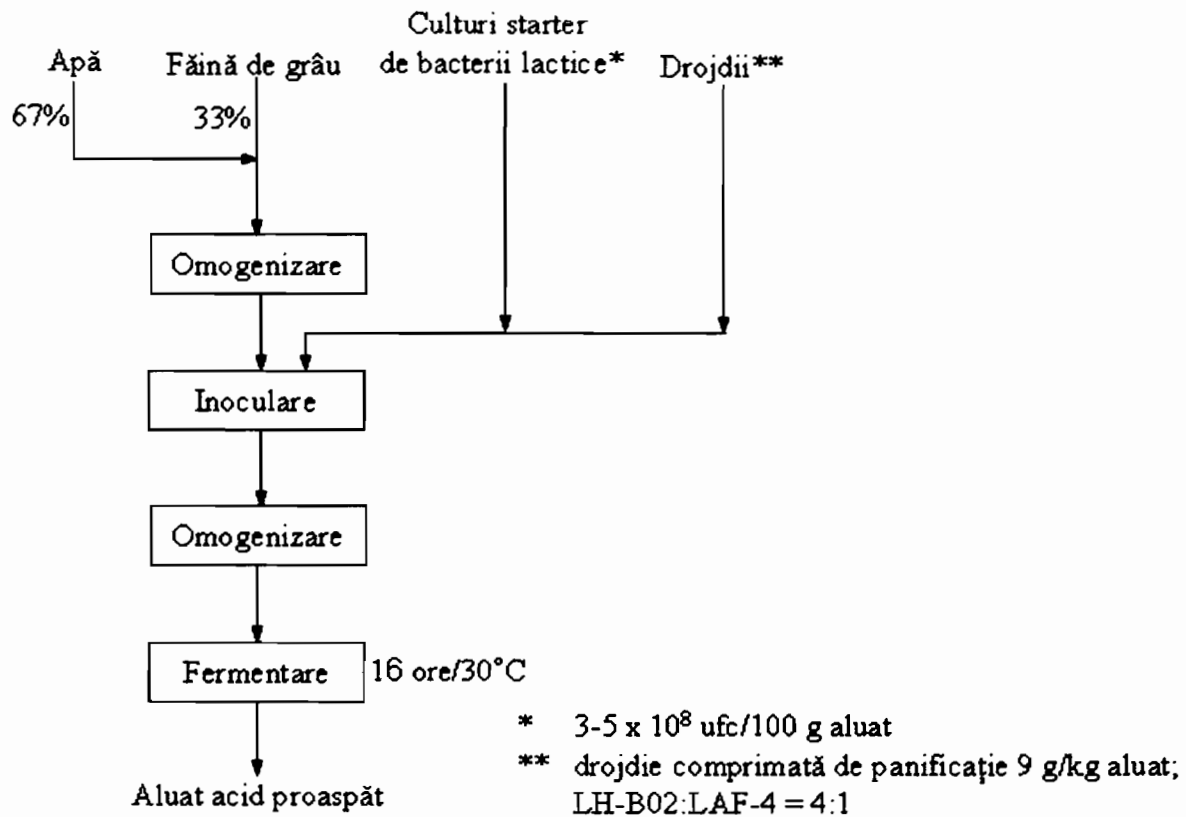


Figura 1. Tehnologia de obținere a aluatului acid



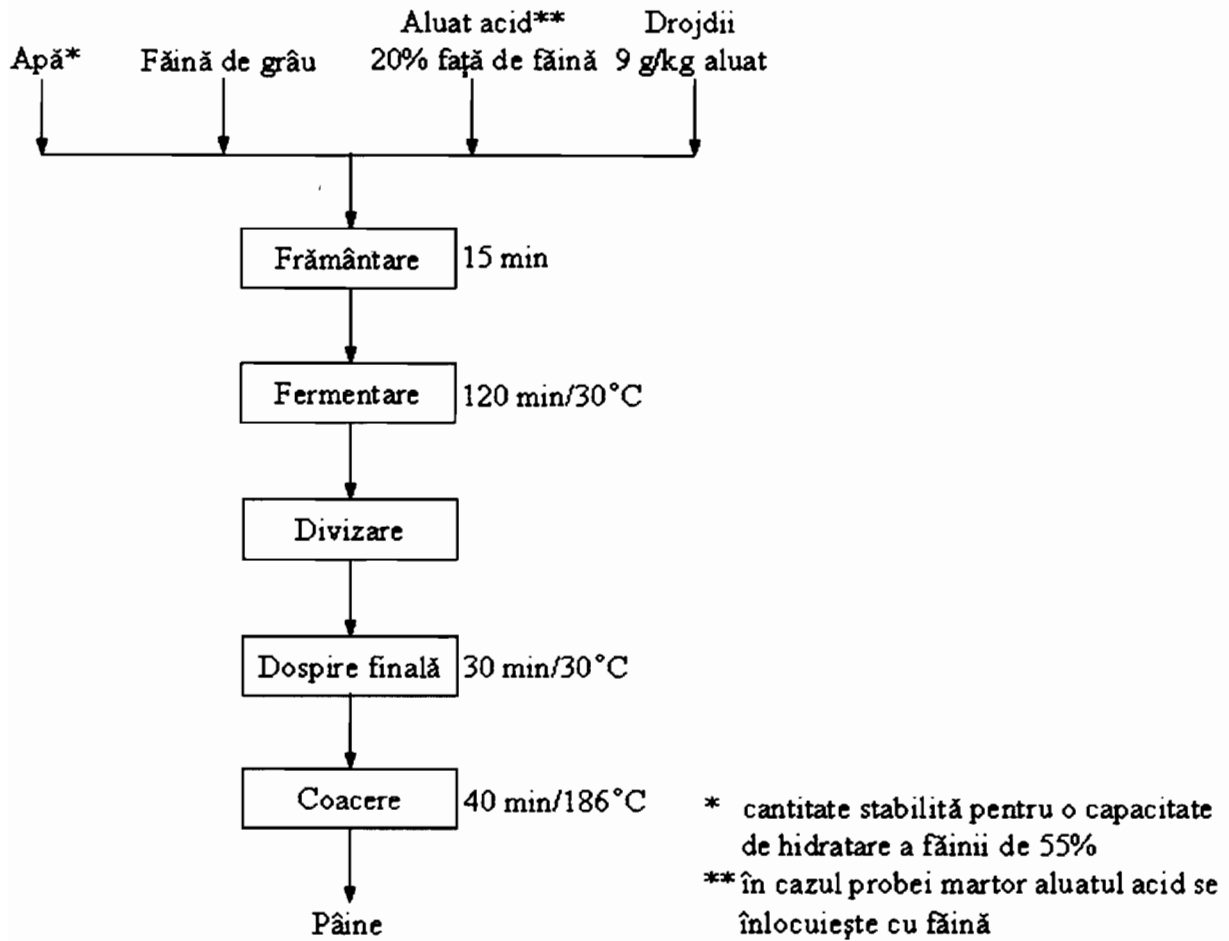


Figura 2. Tehnologia de obținere a pâinii



[Handwritten signature]