



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 00208**

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

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

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

(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;**
• **DRĂGOI LARISA, STR.LOGOFĂȚ TĂUTU
NR.21, GALAȚI, GL, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:

**ABBAS, H.K., MIROCHA, C.J.,
PAWLOSKY, R.J., PUSCH, D.J., "EFFECT
OF CLEANING, MILLING, AND BAKING ON
DEOXYNIVALENOL IN WHEAT", APPLIED
ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY,
VOL.50, NO.2, PP. 482-486, 1985; SAMAR,
M.M., NEIRA, M.S., RESNIK, S.L., PACIN,
A., "EFFECT OF FERMENTATION ON
NATURALLY OCCURRING
DEOXYNIVALENOL (DON) IN
ARGENTINEAN BREAD PROCESSING
TECHNOLOGY", FOOD ADDITIVES AND
CONTAMINANTS, VOL.18, PP. 1004-1010,
2001; NEIRA, M.S., PACIN, A.M.,
MARTINEZ, E.J., MOLTO, G., RESNIK, S.L.,
"THE EFFECTS OF BAKERY
PROCESSING ON NATURAL
DEOXYNIVALENOL CONTAMINATION",
INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD
MICROBIOLOGY, VOL.37, PP.21-25, 1997**

(54)

PROCEDEU DE REDUCERE A CONTAMINĂRII CU MICOTOXINE A PRODUSELOR DE PANIFICAȚIE



1 Invenția se referă la un procedeu de reducere a contaminării cu micotoxine a
produselor de panificație, prin folosirea tehnologiei cu aluat acid.

3 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
5 nutriționali (Batish, V. K., Roy, U., Lai, R., Grover, S., 1997, *Antifungal attributes of lactic acid
bacteria - A review, Critical Reviews in Biotechnology*, 17, pp 2009-2225).

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

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

13 Nu toate bacteriile lactice au același comportament față de micotoxine (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,
15 Journal of Applied Bacteriology*, 69, pp 512-519).

17 *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), fusarenonul (FX), diacetoxiscirpenolul (DAS),
19 toxina T2 (T2) și toxina HT2 (TH2) (El-Nezami, H. S., Chrevatidis, A., Auriola, S., Salminen,
S., Mykkänen, H. 2002, *Removal of common Fusarium toxins in vitro by strains of
21 Lactobacillus and Propionibacterium, Food Additives and Contaminants*, 19, pp 680-686),
în procente cuprinse între 18 și 93%.

23 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, pp
25 482-486, arată că prin panificarea, printr-un procedeu clasic, a făinii integrale de grâu,
contaminată cu deoxinivalenol, se obține o reducere a concentrației de deoxinivalenol în
27 făină, cuprinsă între 19 și 69%.

29 Samar, M.M., Neira, M.S., Resnik, S.L., Pacin, A., 2001, *Effect of fermentation on
naturally occurring deoxynivalenol (DON) in Argentinean bread processing technologys Food
Additives and Contaminants*, 18, pp 1004-1010, evidențiază efectul de reducere al
31 concentrației de deoxinivalenol în cadrul fazei tehnologice de fermentație a aluatului de grâu,
fermentație realizată cu drojdii.

33 Kushiro M., 2008, *Effects of Milling and cooking processes on the deoxynivalenol
content in wheat, International Journal of Molecular Science*, 9, pp 2127-2145, a arătat că
35 deoxinivalenolul este foarte stabil în timpul procesului de coacere.

37 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, pp 650-659, subliniază modificările
39 concentrației de deoxinivalenol în timpul procesului tehnologic de panificație clasic.

41 Influența drojdiilor și a unor ingrediente asupra concentrației de deoxinivalenol din
pâine a fost evidențiată în studiile prezentate de Neira, M. S., Pacin, A. M., Martinez, E. J.,
43 Molto, G., Resnik, S. L., 1997, în *The effects of bakery processing of natural deoxynivalenol
contamination, International Journal of Food Microbiology*, 37:21-25, și Boyacioglu, D.,
Hettiarachcy, N. S., D'Appolonia, B. L., 1993, *Additives affect deoxynivalenol (Vomitoxin)
45 flour during breadmaking, Journal of Food Science*, 58:416-418.

47 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția de față este reducerea contaminării cu
micotoxine a produselor de panificație.

RO 126739 B1

| | |
|---|------------------|
| Procedeeul de reducere a contaminării cu micotoxine a produselor de panificație, conform invenției, constă în aceea că, în procesul de obținere a produselor de panificație, se utilizează aluat 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, conținând bacterii lactice: <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> și drojdii: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sau <i>Kluyveromyces marxianus subsp. marxianus</i> , a unui amestec de făină de grâu: apă, în raport de 2:1, contaminat artificial cu deoxinivalenol. | 1 3 5 7 |
| Prin aplicarea invenției, se obține avantajul realizării de produse de panificație cu un nivel de contaminare scăzut. | 9 |
| Se dă, în continuare, un exemplu de realizare a invenției, în legătură și cu fig. 1...2, care reprezintă: | 11 |
| - fig. 1, tehnologie de obținere a aluatului acid proaspăt; | |
| - fig. 2, tehnologie de obținere a pâinii. | 13 |
| Trei probe de grâu contaminate artificial cu deoxinivalenol au fost măcinate la un agregat de laborator Buhler. Conținutul de deoxinivalenol din grâul contaminat a fost: 279,24 ppb (P1), 250,42 ppb (P2) și 372,11 ppb (P3). | 15 |
| 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 (P3). | 17 19 |
| Din făinurile obținute prin măcinare probelor de grâu contaminat și a grâului martor, au fost efectuate probe de coacere prin tehnologia cu aluat acid. | 21 |
| 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. | 23 |
| Au fost folosite tulpini de bacterii lactice, izolate din microflora epifită a grâului. <i>Lactobacillus plantarum</i> (15GAL) și <i>Lactobacillus brevis</i> (16GAL), aflate în colecția MIUG a Universității „Dunărea de Jos” din Galați, și tulpini comerciale recomandate a fi utilizate în industria de panificație, <i>Lactobacillus plantarum</i> (EDR-P), sau în industria laptelui, <i>Lactobacillus helveticus</i> (LH-B02). | 25 27 |
| Drojdiiile utilizate au fost: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> și <i>Kluyveromyces marxianus subsp. marxianus</i> (LAF-4). | 29 |
| Dimensiunea inoculului pentru culturile starter de bacterii lactice a fost de 3...5 x 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. | 31 33 |
| Parametrii procesului de obținere a aluatului acid au fost: raportul făină: apă de 1:2, timpul de fermentare 16 h, temperatura de fermentare 30°C. | 35 |
| 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%). | 37 |
| Aluatul a fost dospit 120 min, la 30°C, după care a fost divizat și modelat. Bucățile de aluat au fost supuse dospirii finale timp de 30 min, la 30°C și apoi introduse la cuptor. Coacerea s-a realizat la 186°C, timp de 40 min. | 39 41 |
| Au fost realizate probe martor, fără aluat acid, pentru fiecare probă de făină contaminată. | 43 |
| Pâinile obținute au fost transformate în pesmet, prin uscare la temperatura de 40°C, iar pesmetul a fost măcinat. | 45 |
| 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, cu o limită de detecție de 18,5 ppb. | 47 |

RO 126739 B1

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

4 Modificările concentrațiilor de DON din timpul procesului de panificație - aluat acid,
 5 frământare aluat, fermentare aluat, pâine - pentru procesele tehnologice realizate cu cele 3
 6 culturi starter, dar și pentru proba martor sunt prezentate în tabelul de mai jos.

Tabel

7
 8 *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 | 90,67 |
| Făină (P3) 239,88 | | | | |
| Aluat acid | 86,71 | 95,64 | 90,66 | - |
| Aluat după frământare | 177,63 | 181,55 | 179,72 | 201,1 |
| Aluat după dospire | 136,11 | 146,12 | 143,33 | 166,84 |
| Pâine | 110,12 | 117,18 | 115,63 | 134,12 |

27
 28 Se constată că nivelul de deoxinivalenol din aluatul acid a fost de aproximativ 36%,
 29 în cazul probelor cu 15GAL+16GAL, de aproximativ 40%, în cazul probelor cu EDR-P, și de
 30 aproximativ 38%, în cazul probei cu LH-B02, din conținutul de deoxinivalenol al făinii. Au fost
 31 constatate reduceri mari ale conținutului de deoxinivalenol atunci când *Lactobacillus*
 32 *plantarum* a fost folosit în amestec cu *Lactobacillus brevis*.

33 Raportat la aluatul acid, conținutul de deoxinivalenol a crescut în aluat după
 34 frământare, datorită adăugării unei cantități de făină contaminată (fig. 2, tabel).

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

RO 126739 B1

După fermentarea aluatului, timp de 120 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 drojdii, reducerile au fost de aproximativ 16,5%. 1
3
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. 7

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. 9
11

RO 126739 B1

1

Revendicare

3

Procedeu de reducere a contaminării cu micotoxine a produselor de panificație, **caracterizat prin aceea că**, în procesul de obținere a produselor de panificație, se utilizează

5

aluat 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 conținând bacterii lactice:

7

Lactobacillus plantarum, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus helveticus*, și drojdii:

9

Saccharomyces cerevisiae sau *Kluyveromyces marxianus* subsp. *marxianus*, a unui amestec de făină de grâu:apă, în raport de 2:1, contaminat artificial cu deoxinivalenol.

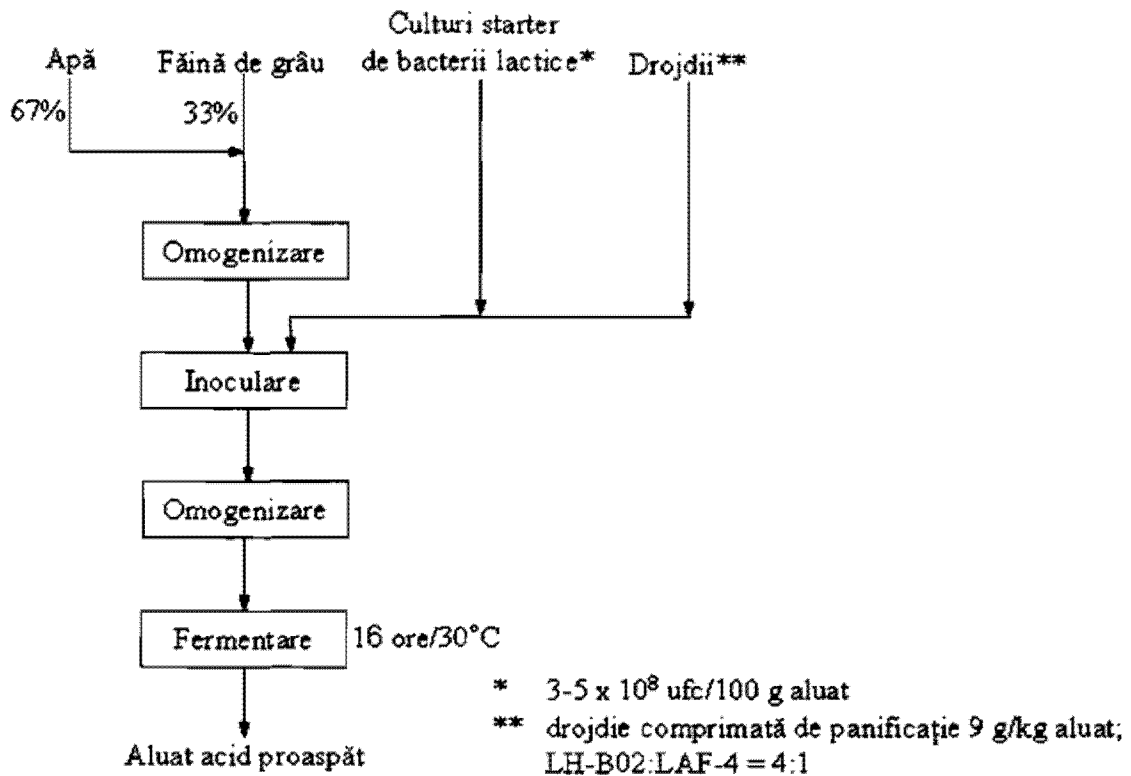


Fig. 1

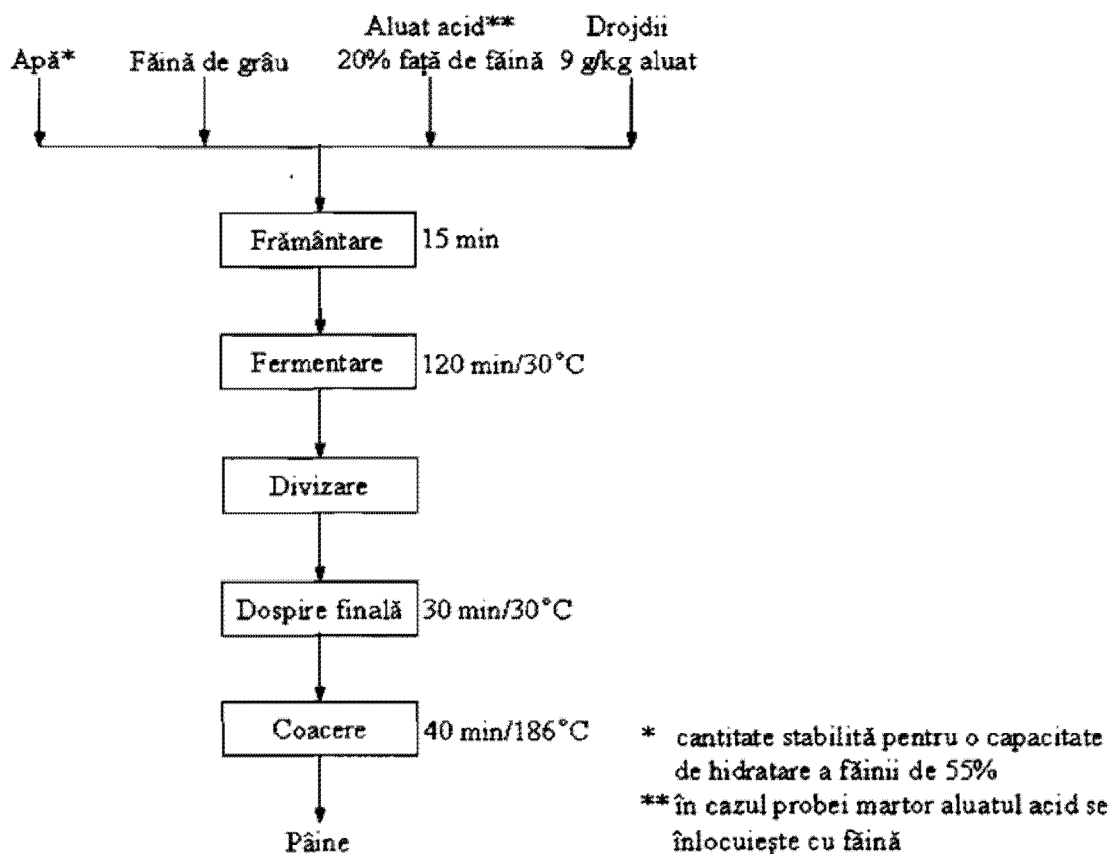


Fig. 2

