



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2018 00739

(22) Data de depozit: 28/09/2018

(41) Data publicării cererii:
30/03/2020 BOPI nr. 3/2020

(71) Solicitant:
• DYV MARKET AGENCY S.R.L., NR.429,
SLOBOZIA MOARĂ, DB, RO;
• UNIVERSITATEA POLITEHNICA
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• CÎRÎC ALEXANDRU IONUȚ,
STR. GLADIOLELOR NR.10, BL.5, ET.6,
AP.50, SAT ROȘU, COMUNA CHIAJNA, IF,
RO;
• MOISAC ALEXANDRU BOGDAN,
SAT C.A.ROSETTI, COMUNA
C.A.ROSETTI, BZ, RO;
• BEGEA MIHAELA, STR. GRĂDIȘTEA
NR.3, BL.A 9, SC.A, ET.1, AP.4, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) PRODUSE SINBIOTICE OBTINUTE PRIN MURAREA VERZEI
CU BACTERII PROBIOTICE ÎN SARAMURI CU ADAOS
DE INULINĂ

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor produse alimentare pe bază de varză. Procedeu conform invenției constă în selecționarea și curățarea verzei proaspăt culese, prepararea unei saramuri prin amestecarea apei potabile cu 2,5...8% sare alimentară fără reziduu insolubil și 0,8...2% inulină, amestecarea verzei cu saramura și însămânțarea cu cultură liofilizată

mixtă de *Lb. rhamnosus* și *Lb. plantarum*, fermentarea la temperatura de 16...34°C, timp de 3...5 zile, cu barbotare la 3...5 zile, rezultând produse din varză fermentată, cu stabilitate microbiologică îmbunătățită.

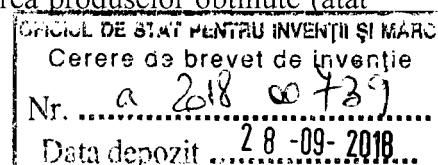
Revendicări: 2



PRODUSE SINBIOTICE OBȚINUTE PRIN MURAREA VERZEI CU BACTERII PROBIOTICE ÎN SARAMURI CU ADAOS DE INULINĂ

Invenția se referă la obținerea de noi produse sinbiotice, bazate pe fermentarea verzei cu bacterii probiotice în saramuri cu adaos de inulină.

Obținerea de produse alimentare sinbiotice pe baza de varză constă, conform invenției, în prepararea unei saramuri cu adaos de fibre (inulină), curățarea verzei proaspăt culese, introducerea ei în bazine de fermentare, fermentarea acesteia (cu sau fără barbotare regulată), ambalarea produselor obținute (atât varza murată, cât și zeama de varză)



Prezentarea stadiului tehnicii

Invenția se referă la obținerea de produse sinbiotice asemănătoare murăturilor lactice, dar care beneficiază în plus de un aport de fibră vegetală (inulină) și de fermentare controlată prin adaosul de culturi lactice selecționate, liofilizate sau congelate. Produsul poate prezenta beneficii specifice produselor sinbiotice, având avantajul faptului că această cale de administrare a bacteriilor lactice benefice și a prebioticului (inulinei) nu conține lactoză, varza fiind un aliment hipoalergenic.

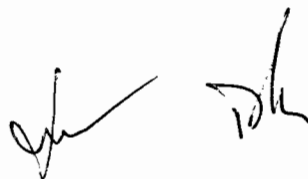
Din punctul de vedere al tehnologiilor clasice, aplicate în momentul de față, toate fluxurile de fabricație au la bază, fermentația spontană. Din punct de vedere biotehnologic, în cadrul acesteia se identifică patru etape distincte:

1. Fermentația începe imediat ce varza se umple în vanele de fermentare. În cazul în care legumele nu sunt aerate (varza este strânsă pe cotor), numărul de bacterii strict aerobe, cum ar fi cele din genurile *Pseudomonas*, *Flavobacterium* și *Acinetobacter* (prezente inițial), scade imediat. Anaerobioza este atinsă rapid, ca urmare a respirației materialului vegetal și al consumului de oxigen al enterobacteriilor facultativ anaerobe care se multiplică în primele două – trei zile. Privarea de oxigen este însoțită de o schimbare a pH-ului care se datorează acizilor organici formați (lactic, acetic, formic, și acizii succinic). Nu este clar dacă microorganismele prezente în această etapă de fermentare au sau nu o influență semnificativă asupra dezvoltării aromei.
2. Anaerobioza / potențial redox mai mic, sarea adăugată și pH-ul redus favorizează dezvoltarea bacteriilor lactice facultativ anaerobe, care devin astfel organismele predominante. Deși *Leuconostoc mesenteroides* nu este la fel de acid-tolerant ca alte specii de bacterii lactice, acesta este cel care inițiază în general fermentația lactică, deoarece este prezent într-un număr suficient de mare și este bine adaptat la substrat. În condiții ideale (de exemplu în suc de varză, această specie

poate atinge o populație mai mare de 10^8 UFC/ml după 12 - 14 ore de incubare. *Lc mesenteroides* produce acid lactic și acid acetic, care reduce rapid pH-ul. Fiind heterofermentativ, produce de asemenea dioxid de carbon care realizează înlocuirea aerului, generând astfel o atmosferă anaerobă favorabilă pentru stabilizarea vitaminei C (acid ascorbic și dehidroascorbic) și o culoare naturală a verzei murate. S-a demonstrat recent că nu numai *Lc. mesenteroides*, dar și alte tulpini din genul *Leuconostoc* sunt implicate în această etapă de fermentare. Creșterea *Lc. mesenteroides* și a altor specii din genul *Leuconostoc* este urmată de o creștere a numărului de bacterii lactice heterofermentative din speciile *Lactobacillus brevis*, care este mai tolerant la sare și la mediu acid ca *Leuconostoc*. În funcție de temperatură, primele două etape ale fermentației se finalizează după 3-6 zile. În acest timp, concentrația de acid lactic va crește până la aproximativ 1% .

3. A treia etapă de fermentare începe cu o altă schimbare în populația lactică; bacteriile lactice homofermentative devin microorganismele predominante, în principal, datorită efectului combinat al anaerobiozei, a pH-ului scăzut, și a nivelului ridicat de sare. Dintre acestea, streptococii (cel mai probabil, enterococi) și pediococci reprezintă o componentă minoră, de obicei, mai puțin de 10% din totalul populației bacteriene. Componenta dominant homofermentativă este formată din membri ai fostului "subgen" *Streptobacterium*. În literatura de specialitate mai veche, acestea sunt de obicei atribuite unei singure specii, și anume *Lactobacillus plantarum* (denumite anterior *Lactobacillus cucumeris*.) Studiile au arătat că *Lb plantarum* cuprinde între 30% și 80% din "streptobacterii" și că *Lb sakei* și *Lb curvatus* sunt de asemenea prezente în număr mare în timpul acestei etape de fermentare. Bacteriile lactice, transformă cea mai mare parte a carbohidraților disponibili (glucoză, fructoză și zaharoză) în acizi organici, cu precădere în acid lactic. În a treia etapă de fermentare, conținutul de acid total (calculat ca acid lactic), va crește până la 1,5 - 2,0%. În cazul produselor ambalate la borcan și pasteurizate, procesul este oprit în această etapă, la un pH de 3.8-4.1, deoarece consumatorii preferă din ce în ce mai mult produse ușoare, în ceea ce privește gustul de acru și de sărat.

4. Numai produsele nepasteurizate, distribuite în stare proaspătă vor suferi etapa finală de fermentare, atunci când *Lb brevis*, iar alte specii heterofermentative capabile să metabolizeze pentoze, cum ar fi arabinoza și xiloza, devin dominante. Materialul vegetal nu are în mod normal pentoze libere, dar acestea sunt eliberate după recoltare, ca rezultat al hidrolizei acide a hemicelulozei. Datorită creșterii conținutului de acid total de până la 2,5%, pH-ul verzei va scădea la nivelul pH 3.4.



La nivel european și mondial, sunt depuse sau se aplica deja o serie de brevete de invenție care fac referire la varza murata: CN108065295 (A) 2018-05-25 Spicy pickled vegetable preparation method, CN107149111 (A) 2017-09-12 Ginseng Chinese sauerkraut and processing method thereof, CN107114736 (A) 2017-09-01 Making method of sauerkraut, CN106993783 (A) 2017-08-01 Pickling fermentation method of Chinese sauerkraut and processing technology thereof, CN106962857 (A) 2017-07-21 Chinese sauerkraut manufacturing method. Toate brevetele studiate nu se refera la obținerea de produse sinbiotice din varza murata ci la tehnologii de obținere a verzei murate clasice.

In cadrul etapei de cercetare documentară nu au fost identificate brevete sau cereri de brevet la nivel național în legătură cu subiectul prezentului document.

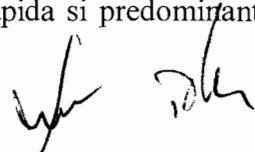
Până în prezent, atât la nivel casnic cât și la nivel industrial, produsele obținute prin fermentație lactica din legume sunt încă preparate prin fermentarea spontană. Evoluțiile actuale în domeniul securității alimentare și al calității produselor alimentare vor impune, cu certitudine, în viitorul nu foarte îndepărtat utilizarea culturilor starter pentru fermentarea murăturilor.

O altă problemă cu care se confruntă producătorii de legume murate nepasteurizate și neconservate prin adaos de aditivi (sorbați sau benzoați) este bombajul ambalajului. În cadrul studiilor efectuate de autori, s-au constatat pierderi, datorate acestui fenomen ce variază între 2% și 27% din marfa livrată, în funcție de lot și de perioada din an.

De asemenea, științele alimentare moderne recomandă consumul de alimente cu microorganisme vii, ale căror roluri benefice pentru organismul uman a fost demonstrat (probiotice), însoțite de substanțe prebiotice, cu rol în stimularea proliferării la nivel intestinal a microflorei benefice.

Studiile din ultimele două decenii au demonstrat valoarea probiotică a *Lactobacillus plantarum*, unul dintre principalele microorganisme implicate în procesele fermentative ce au loc în cadrul tehnologiei de obținere a vegetalelor fermentate lactic.

Deoarece nu este posibilă eliminarea completă a microflorei naturale din legume, și în special din varză, prin metode compatibile cu scopul final al acestui proces, tulpinile selecționate utilizate trebuie să fie foarte competitive și să poată asigura un produs de o calitate constantă. Din aceasta cauză, s-au stabilit anumite criterii de alegere a tulpinilor de bacterii selecționate ce ar putea fi utilizate în acest scop. Astfel, din punct de vedere tehnologic, tulpinile utilizate trebuie să prezinte o creștere rapidă și predominantă în mediul



ales, o acido-toleranță crescută, totodată nemetabolizând acizii organici din mediu, precum și o capacitate bună de dezvoltare la temperaturi relativ scăzute; dar să nu aibă o activitate pectinolică. Se considera de asemenea un avantaj al culturii o toleranță bună la concentrații medii de sare (1,5-4,5%). Din punct de vedere senzorial cultura aleasă trebuie să asigure și o fermentație heterofermentativă precum și formarea de precursori de aromă, iar din punct de vedere nutrițional se urmărește formarea acidului L(+)-lactic într-o proporție cât mai mare, posibilitățile de reducere a nitraților și nitriților dar și evitarea formării de amine biogene. Experimentele folosind tulpini de *Lactobacillus plantarum* drept cultură inițială a arătat că acest starter a generat o scădere rapidă a pH-ului. Cu toate acestea, produsele rezultate au prezentat o aromă slabă, dezechilibrată și mai puțin complexă datorită lipsei diferiților metaboliți produși în mod normal de alte microorganisme. Pe de altă parte, produse având caracteristici excelente de aromă au fost obținute folosind tulpini selectate *Leuconostoc mesenteroides*

Utilizarea culturilor starter selectate și în special tulpini de *Lb plantarum*, a dus la o reducere semnificativă în formarea aminelor biogene, în special tiramină, putresceină și cadaverină. În plus, Kalac et al. observat o reducere semnificativă în formarea acidului acetic, amoniacului și grupărilor alfa-amino în timpul fermentației.

De asemenea studiile anterioare realizate de către autori, la nivel de laborator, au demonstrat faptul că utilizarea unor culturi mixte *Lactobacillus plantarum* – *Lactobacillus rhamnosus* (comercializate în mod curent drept culturi probiotice sau de bioprotecție pentru industria lactatelor), a condus la obținerea unor produse având caracteristici senzoriale superioare celor obținute de doar cu ajutorul lui *Lb plantarum* și, de asemenea, a diminuat la 0% cantitatea de rebut datorat bombajului pungilor vidate din material plastic în care este ambalat în mod uzual produsul nepasteurizat (la 2 săptămâni de la ambalare; fata de lotul martor unde s-a înregistrat un rebut de 20%)

Prezentarea problemei tehnice

Invenția prezintă avantaj atât din punct de vedere tehnologic cât și sanogenic: din punct de vedere tehnologic, lucrul cu tulpini selecționate asigură reducerea semnificativă a cantității de rebut datorat bombării ambalajelor pe piață iar din punct de vedere sanogenic acțiunea celor două bacterii probiotice asupra sănătății consumatorului este un subiect îndelung studiat și demonstrat.

Invenția se referă la un procedeu prin care se obțin produse noi, cu stabilitate îmbunătățită și cu proprietăți sanogene.



Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unor produse noi, cu o stabilitate microbiologică îmbunătățită, comparativ cu cele obținute prin tehnologia tradițională, clasică, și cu proprietăți sanogene datorate atât fermentării cu culturi starter de bacterii probiotice cât și suplimentării saramurii cu o cantitate de inulină (prebiotic), conducând astfel la obținerea unui produs sinbiotic. Produsele astfel obținute pot fi căpățâni de varză murată, frunze de varză murată sau răzătură de varză murată și, de asemenea, seama de varză acida, rezultată în urma fermentației lactice a verzei în saramură.

Procedeeul de obținere constă în parcurgerea următoarelor etape principale:

I. Selecționarea și curățirea verzei materie prima. Varza se selectează în așa fel încât masa căpățânilor să varieze între 1 și 2 kg. Este preferată varza plată, mai puțin strânsă pe cotor, care se poate atât spăla mai bine cât și pătrunde mai rapid între frunzele legumei.

II. Prepararea saramurii, prin amestecarea de apă potabilă cu sare (între 2,5% și 8% masic, în funcție de sezon) și inulină (între 0,8 și 2%) . Saramurile se pot prepara în instalații de solubilizare și decantare a sării sau direct în vana de murare în cazul în care sarea nu conține o cantitate mare de reziduu insolubil. În cazul preparării în vană se pot folosi instalații externe de agitare sau instalația proprie de barbotare a vanei.

III. Amestecarea verzei cu saramură și însămânțarea amestecului cu cultură probiotică. Varza și saramura prebiotică se amestecă în așa fel încât saramura să acopere complet cantitatea de varza, indiferent de forma vasului în care se face fermentarea. Cultura probiotică, formată din sușe documentate de *Lb. rhamnosus* și *Lb. plantarum*, se adaugă în cantitate suficientă încât să pornească fermentarea în 24-48 h de la însămânțare (în funcție de temperatura exterioară) și se amestecă în masa de saramură prin agitare sau barbotare.

IV. Fermentarea (murarea) verzei. Procesul se desfășoară la temperaturi mezofile (pornind de la temperaturi de 34°C și mergând până la 16°C), timpul de murare fiind de minim 21 de zile (și variind invers proporțional cu temperatura). Se barbotează la 3-5 zile.

V. Ambalarea. Ambalarea verzei murate poate fi realizată, în funcție de solicitări atât în ambalaje din material plastic (găleușe, folie etc.) cât și în ambalaje din sticla (borcane cu filet). De asemenea, zeama de varză murată poate fi ambalată la recipiente de material plastic sau sticlă.

Prin aplicarea procedeeului se obțin următoarele avantaje:

- scad pierderile datorate bombajului ambalajelor în piață;
- se obține fermentarea (parțial) controlată a produsului;

- prin adaosul se inulină în saramură se pornește mai rapid procesul fermentativ;
- adaosul de inulină generează scurtarea per ansamblu a procesului fermentativ, chiar și la temperaturi foarte scăzute (14°C);
- prin utilizarea de tulpini documentate de *Lb. rhamnosus* și *Lb. plantarum* se obțin produse sinbiotice ale căror efecte pot fi chiar marcate pe ambalaj (în funcție de beneficiile demonstrate ale fiecărei tulpini);
- posibilitatea de valorificare superioară (comercializare) inclusiv a zemii de murături.

În cele ce urmează se prezintă un exemplu de realizare a invenției.

Exemplu

Se realizează o saramură cu 1% inulină și 7% sare. Se adaugă căpățânile de varză și cultură liofilizată mixtă de *Lb. rhamnosus* și *Lb. plantarum* în proporție de 1000 unități per vană 5000 litri. Temperatura medie de fermentare a fost 16,8°C. Perioada de timp până la ambalare a fost de 36 de zile. De-a lungul fermentației au fost obținuți următorii parametri fizico-chimici:

Ziua	NTG, UFC/g	Leuconostoc, UFC/g	Lactobacillus, UFC/g	pH	Aciditate, %acid lactic
0	9,7x10 ⁴	2,1x10 ¹	nedetectabil	6,5	sub 0,2
3	5,6x10 ³	1,8x10 ⁴	6,0	5,8	0,4
6	5,5x10 ⁷	4,3x10 ⁶	1,4x10 ²	5,6	0,6
9	8,8x10 ⁷	5,2x10 ⁴	9,3x10 ³	5,1	0,8
12	5,8x10 ⁹	4,0x10 ²	1,1x10 ⁵	4,1	1,2
24	7,0x10 ⁹	4,1x10 ²	1,0x10 ⁶	3,5	1,6
36	4,2x10 ⁹	8,8x10 ²	5,1x10 ⁶	3,3	1,9

Comparativ cu procedeul clasic se observa o scurtare a perioadei cu aproximativ 10 zile calendaristice, dar și o creștere mai susținută, încă de la început a numărului de lactobacili.

REVEDICĂRI

1. Procedu tehnologic de obținere a produselor sinbiotice din varză murată **caracterizate prin aceea că** se obțin prin murarea verzei (la temperaturi între 16°C-34°C) în saramuri de concentrație 2,8-8% sare cu adaos de inulină (0,8%-2%) cu ajutorul unor tulpini de bacterii probiotice adăugate (*Lactobacillus rhamnosus* și *Lactobacillus plantarum*)
2. Produse sinbiotice pe baza de varză murată **caracterizate prin aceea că** se obțin prin murarea verzei (la temperaturi între 16°C-34°C) în saramuri de concentrație 2,8-8% sare cu adaos de inulină (0,8%-2%) cu ajutorul unor tulpini de bacterii probiotice adăugate (*Lactobacillus rhamnosus* și *Lactobacillus plantarum*)

