



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2021 00234

(22) Data de depozit: 10/05/2021

(41) Data publicării cererii:
29/11/2022 BOPI nr. 11/2022

(71) Solicitant:
• INCDO-INOE 2000, FILIALA INSTITUTUL
DE CERCETĂRI PENTRU
INSTRUMENTAȚIE ANALITICĂ
CLUJ-NAPOCA, STR.DONATH NR.67,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:
• BECZE ANCA, BD.NICOLAE TITULESCU,
NR.16, BL.P7, SC.4, AP.35, CLUJ-NAPOCA,
CJ, RO;
• DORDAI LUCIAN MARIUS,
STR.CÂMPULUI NR.40, BL.I2, SC.7, AP.82,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• BABALAU - FUSS LILIANA VANDA,
STR.MEHEDINȚI, NR.65-67, BL.C7, SC.2,
ET.1, AP.76, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(54) METODĂ DE DETERMINARE A ADULTERĂRII
PRODUSELOR LACTATE ACIDE FOLOSIND
SPECTROSCOPIA NIR ȘI MODELAREA MATEMATICĂ

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de determinare a adulterării produselor lactate acide folosind spectroscopia NIR și modelarea matematică care asigură depistarea cu o probabilitate de minim 95, 73% a adulterărilor produselor lactate acide. Metoda conform invenției utilizează raportul între conținutul de proteină, lipide și substanța uscată măsurate prin spectroscopie NIR și modelare matematică pentru stabilirea ecuației de

predicție a gradului de adulterare, parametrii metodei fiind gama spectrală cuprinsă între 10000 - 4000 cm^{-1} , rezoluție 64 cm^{-1} , timpul de măsurare 64 secunde și timpul scanării prin rotație, metoda asigurând o acuratețe de determinare a adulterării alimentului analizat de minim 95%.

Revendicări: 1



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr.	a 2021 00 234
Data depozit	10-05-2021

DESCRIERE TEHNICA

Prezenta invenție se refera la o **metoda de determinare a adulterării produselor lactate acide folosind spectroscopia NIR și modelarea matematica** care asigura depistarea cu o probabilitate de min. 95,73% a adulterarilor produselor lactate acide.

Prezentarea stadiului tehnicii in momentul actual la nivel international. Adulterarea laptelui și a produselor lactate a castigat o mare atentie la nivel mondial dupa descoperirea contaminarii cu melamina a produselor lactate din China din anul 2008. Cu toate acestea, istoria adulterii laptelui este foarte veche. In 1850 a fost raportat un scandal care implica adulterarea laptelui și care a avut ca si consecinta moartea a 8000 de copii doar in New York. Laptele este considerat a fi „alimentul ideal” datorita nutrientilor abundenti necesari atat sugarilor cat și adultilor. Este una dintre cele mai bune surse de proteine, grasimi, carbohidrati, vitamine și minerale. Din pacate, laptele este foarte usor adulterat in intreaga lume. Motivele posibile din spatele acesteia pot include diferenta de cerere și oferta, natura perisabila a laptelui, capacitatea scazuta de cumparare a clientului și lipsa unor teste de detectare adecvate. Motivatia pentru fraudă alimentara este economica, dar impactul este o problema reala de sanatate publica [1-3]

Deși amestecarea laptelui din surse aleatorii și a diferitelor specii de animale este cel mai ușor mijloc de a falsifica laptele, detectarea cantitativă a adulterării este mult mai complexă datorită polimorfismului genetic și nongenetic. [4]

Tehnica ELISA a fost utilizată pentru a detecta adulterarea laptelui de vacă în laptele de capră, oaie și bivol. [5] Adulterarea laptelui caprin cu laptele de vacă a fost, de asemenea, detectată folosind PCR (reactia polimerazei in lanț).[6] În plus, PCR a fost utilizat pentru a detecta laptele de vacă în laptele de oaie [7], brânza de capră [8] și în brânza mozzarella de lapte de bivolița [9]. O limbă electronică capabilă să recunoască 5 standarde de gust de bază a fost utilizată pentru a detecta adulterarea laptelui caprin în laptele bovin [10]. Aceasta este o metodă alternativă la metodele analitice clasice. Electroforeza pe gel de poli(acrilamidă) (PAGE) a fost utilizata pentru a analiza grupa de proteine individuale.[11] Adăugarea laptelui de bovine în iaurtul de oaie [12] și a laptelui de capră [13] au fost cuantificate și cu PAGE. Metodele imunochimice și bazate pe ADN au fost combinate ca PCR-LCR-EIA (Reacția în lanț a polimerazelor - Reacția în lanț a ligazei - Imunoanaliza enzimatică) pentru a detecta un nucleotid specific prezent în laptele bovin ca adulterant în laptele de oaie, capră și bivol [14]



Cromatografia interactivă hidrofobă este utilizată pentru separarea și determinarea diferitelor cazeine din laptele bovin, ovin și de capră. [15]

Multe din analizele de depistare a adulterării laptelui și produselor lactate prezentate sunt laborioase și pot fi realizate numai de personal specializat în tehnica aplicată, de aceea sunt necesare tehnici analitice superioare care să aibă sensibilitate ridicată și timp redus de analiză. Acestea trebuie să asigure o certitudine de minim 95% a rezultatelor. [1]

Prezentarea stadiului tehnicii în momentul actual la nivel național. Pe baza informațiilor din literatura de specialitate deținute, în momentul actual nu există referințe bibliografice privind existența unor metode pentru determinarea adulterării produselor lactate acide folosind spectroscopia NIR și modelarea matematică.

Scopul invenției: asigurarea unor produse alimentare de înaltă calitate sigure pentru sănătatea consumatorului prin depistarea falsificării produselor lactate acide folosind raportul între conținutul de proteină, lipide și substanța uscată, care are o mare specificitate în funcție de materia primă din care produsul lactat acid a fost produs

Probleme tehnice pe care prezenta invenție dorește să le rezolve. Metoda de determinare a adulterării produselor lactate acide folosind spectroscopia NIR și modelarea matematică propusă spre brevetare rezolvă următoarele probleme:

- Durata mare de analiză pentru depistarea adulterărilor, prin reducerea duratei de analiză la 3 minute;
- Costul de analiză ridicat pentru depistarea adulterărilor; prin eliminarea etapei de extracție sau purificare care sunt etape necesare și costisitoare în cazul analizei prin alte tehnici scade semnificativ costul de analiză;
- Determinarea adulterărilor în cazul în care procentul falsificat este sub 15 %, datorită specificității ridicate a noii metode propuse. Cu metoda propusă spre brevetare se poate determina falsificarea produselor lactate acide cu o eficiență a predicției de minim 95 % deci determinarea poate fi efectuată chiar și în cazul în care falsificarea s-a realizat într-un procent sub 10 %.

Descriere și avantaje aduse de prezenta invenție

Principiul metodei



Determinarea falsificării produselor lactate acide folosind raportul dintre conținutul de proteină, lipide și substanța uscată măsurate prin spectroscopie NIR și modelare matematică, pentru stabilirea ecuației de predicție a gradului de adulterare.

Prepararea probei

- Nu este necesară nici o etapă de preparare a probei;

Parametrii metodei NIR

- Gama spectrală: 10000 - 4000 cm^{-1} .
- Rezoluție: 64 cm^{-1}
- Timpul de măsurare: 64 sec.
- Tipul scanării: prin rotație

Mod de aplicare

- Min 25 g de probă se introduc într-un recipient de măsurare (cutie Petri din sticlă sau plastic);
- Se setează parametrii metodei;
- Se măsoară proba: conținut de proteină, lipide și substanța uscată cu un aparat FT-NIR
- După măsurare se prelucrează rezultatele: se face un raport între valoarea determinată pentru conținutul de proteine totale și lipide raportată la valoarea determinată pentru substanța uscată
- Pe valorile obținute se aplică ecuația de prezicere a gradului de adulterare.

Avantajele aduse de prezenta invenție

- Durata de analiză scurtă: 3 minute;
- Prepararea probei nu este necesară;
- Se determină un număr de 3 parametri care oferă specificitate ridicată metodei,;
- Costul de analiză scăzut, datorită simplității metodei atât în etapa de preparare probă cât și în etapa de analiză, ceea ce reduce atât costul cu materialele cât și cu manopera.



Bibliografie

1. Peng, D., Bi, Y., Ren, X., Yang, G., Sun, S., & Wang, X. (2015). Detection and quantification of adulteration of sesame oils with vegetable oils using gas chromatography and multivariate data analysis. *Food Chemistry*, 188, pp. 415-421.
2. Monfreda, M., Gobbi, L., & Grippa, A. (2014). Blends of olive oil and seeds oils: characterisation and olive oil quantification using fatty acids composition and chemometric tools. Part II, *Food Chemistry*, 145, pp. 584-592.
3. Zhang, L. X., Li, P. W., Sun, X. M., Wang, X. F., Xu, B. C., Wang, W. P., et al. (2014). Classification and adulteration detection of vegetable oils based on fatty acid profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, pp. 8745-8751.
4. Recio I, Perez-Rodriguez ML, Ramos M, Amigo L. Capillary electrophoretic analysis of genetic variants of milk proteins from different species. *J Chromatogr A*. 1997;768:47-56
5. Hurley IP, Coleman RC, Ireland HE, Williams JHH. Measurement of bovine IgG by indirect competitive ELISA as a means of detecting milk adulteration. *J Dairy Sci*. 2004;87:543-9.
6. Bania J, Ugorski M, Polanowski A, Adamczyk E. Application of polymerase chain reaction for detection of goats' milk adulteration by milk of cow. *J Dairy Res*. 2001;68:333-6.
7. López-Calleja I, González I, Fajardo V, Rodríguez MA, Hernández PE, García T, Matín R. Rapid detection of cows' milk in sheeps' and goats' milk by a species-specific polymerase chain reaction technique. *J Dairy Sci*. 2004;87:2839-45.
8. Maudet C, Taberlet P. Detection of cows' milk in goats' cheeses inferred from mitochondrial DNA polymorphism. *J Dairy Res*. 2001;68:229-35.
9. Bottero MT, Civera T, Anastasio A, Turi RM, Rosati S. Identification of cow's milk in buffalo cheese by duplex polymerase chain reaction. *J Food Prot*. 2002;65:362-6.
10. Dias LA, Peres AM, Veloso ACA, Reis FS, Vilas-Boas M, Machado AASC. An electronic tongue taste evaluation: Identification of goat milk adulteration with bovine milk. *Sens Actuators B: Chem*. 2009;136(1):209-17.
11. Strange ED, Malin EL, Van Hekken DL, Basch JJ. Chromatographic and electrophoretic methods used for analysis of milk proteins. *J Chromatogr A*. 1992;624:81-102.
12. Kaminarides SE, Koukiassa P. Detection of bovine milk in ovine yoghurt by electrophoresis of para- κ -casein. *Food Chem*. 2002;78:53-5.
13. Tamime AY, Barclay MNI, Law AJR, Leaver J, Anifantakis EM, O'connor TPO. Kishk - a dried fermented milk/cereal mixture. 2. Assessment of a variety of protein analytical techniques for determining adulteration and proteolysis. *Lait*. 1999;79:331-9.
14. Klotz A, Einspanier R. Development of a DNAbased screening method to detect cow milk in ewe, goat and buffalo milk and dairy products using PCR-LCR- EIA-technique. *Milchwissenschaft*. 2001;56:67-70.
15. Bramanti E, Sortino C, Onor M, Beni F, Raspi G. Separation and determination of denatured α 1-, α 2-, β - and κ -caseins by hydrophobic interaction chromatography in cows', ewes' and goats' milk, milk mixtures and cheeses. *J Chromatogr A*. 2003;994:59-74.



[Handwritten signature]

REVENDICARI

Metoda de determinare a adulterarii produselor lactate acide folosind spectroscopia NIR si modelarea matematica **caracterizata prin aceea ca** utilizeaza raportul intre continutul de proteina, lipide si substanta uscata masurate prin spectroscopie NIR si modelare matematica pentru stabilirea ecuatiei de predictie a gradului de adulterare, parametrii metodei fiind gama spectrala: $10000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$; rezolutie: 64 cm^{-1} , timpul de masurare: 64 secunde si tipul scanarii: prin rotatie; metoda asigurand o acuratete de determinare a adulterarii alimentului analizat de min. 95%.

