

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Proiect de cercetare postdoctorala PD-53

Studiul proceselor de incapsulare a unor biopreparate utilizate in tehnologii de delactozare

Director proiect,

dr.ing. Alexandru Ciric

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Obiectivele cercetării

- **Obiectivul central:**

Utilizarea în industria laptelui și produselor lactate a unor tehnologii inovative de încapsulare și microîncapsulare cu scopul obținerii unor produse superioare din punct de vedere economic și senzorial

- **Obiective intermediare:**

Obiectivul I.1: Studii privind mecanismele delactozării, tipuri de enzime și microorganisme ce pot fi utilizate în acest scop

Obiectivul I.2: Cercetări și studii privind materialele ce pot fi utilizate pentru realizarea capsulelor

Obiectivul II.1: Cercetări și experimentări privind metodele de încapsulare ce pot fi utilizate în aplicațiile studiate

Obiectivul II.2: Obținerea în laborator a capsulelor și microcapsulelor cu acțiune enzimatică

Obiectivul II.3: Testarea în laborator a capsulelor și microcapsulelor obținute și alegerea variantei optime

Obiectivul II.4: Optimizarea metodelor de obținere a capsulelor și microcapsulelor precum și a concentrațiilor de enzimă utilizate

Obiectivul III.1: Proiectarea tehnologiilor alternative optime de realizare a procesului de delactozare.

Obiectivul III.2: Brevetarea soluției/soluțiilor tehnologice obținute

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

INTRODUCERE

Sistemul digestiv uman folosește β -galactozidaza (enzima cunoscută și sub numele de lactază), pentru a rupe molecula de lactoză - zahărul cel mai important în compoziția laptelui – și a o transforma în cate o moleculă de glucoză și galactoză. Lactoza este prezentă în concentrații de aproximativ 5%, în lapte și în zerul care rezultă din procesul tehnologic de fabricație a brânzeturilor. Prezența sa restricționează consumul de lapte în rândul populației adulte. Capacitatea de a metaboliza lactoza a sistemului digestiv poate fi atribuită, în general, populațiilor din nord europene și parțial la populațiilor din India, ca urmare a așa-numitei "persistență a lactazei", o caracteristică genetic transmisă de celule specializate pentru menținerea capacității intestinale de producere a lactazei, chiar și după copilărie. La nivel mondial, se consideră că aproximativ 70% din populația adultă prezintă o formă de intoleranță la lactoză. Dacă studiile indică faptul că 96% dintre suedezi și 85% dintre englezi sunt adaptați la consumul de lapte și doar 50% din populația mediteraneană poate consuma lapte în condiții de siguranță, în cazul populației thai doar 3% dintre adulți pot consuma produse care conțin lactoză. Nu există date exacte despre incidența intoleranței la lactoză în rândul populației românești. Rapoartele medicale susțin că, în România aproximativ 5% din copii se nasc cu intoleranță la lactoză și aproximativ 20% dintre adulți nu sunt genetic adaptați la consumul de lapte. Simptomele comune de intoleranță la lactoză sunt greață, crampe, balonare și diaree, care încep între 30 și 120 minute după ingestia de produse care conțin lactoză. Severitatea simptomelor variază în funcție de cantitatea de lactoză tolerată de către fiecare individ.

Intoleranța la lactoză este frecvent tratată într-unul din următoarele moduri:

1. Multe persoane cu intoleranță la lactoză evită consumul de produse lactate, dar acest lucru nu este un comportament rațional, pentru că laptele este o sursă de importanță de calciu.
 2. Alții preferă să consume lactate pre-tratate cu lactază, produs care este disponibil în comerț unele zone, dar ale cărui costuri de producție sunt relativ ridicate. Un alt dezavantaj care ar trebui să fie luat în considerare este gustul dulce al glucozei rezultate din hidroliza enzimatică, comparativ cu gustul lactozei. În plus, produsul are o consistență mai vâscoasă decât laptele netratat.
 3. O a treia metodă de a trata intoleranța la lactoză este de a ingera comprimate care conțin lactază cu puțin timp înainte de consumul de produse lactate. Aceste tablete sunt disponibile în unele farmacii și (în plus față de problema de disponibilitate limitată), acestea au un efect social ce poate fi neplăcut în anumite cazuri.
- Prin urmare, este evidentă necesitatea de a dezvolta ingrediente alimentare pentru a răspunde cu succes nevoii persoanelor cu intoleranță la lactoză, fără a schimba gustul, aspectul sau reologia produselor lactate și fără a fi nevoie de ingerarea separată de lactoză în diferite forme (pastile, soluții, etc.).

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Mentor:
prof. Denis Poncelet, PhD

Activitati:

- 1.1. Studiul mecanismelor proceselor de delactozare a laptelui si zerului proaspat
- 1.2. Studiul enzimelor utilizate si alegerea enzimei cu actiunea cea mai buna pe substratul utilizat (lapte, zer)
- 1.3. Studiul microorganismelor producatoare de lactaza si alegerea celei mai bune variante.

Rezultate:

Hidroliza lactozei poate fi realizată cu ajutorul acizilor, răsinilor acide și pe cale enzimatică. Hidroliza acidă nu este o metodă acceptată pentru delactozarea laptelui și zerului, atât datorită gustului remanent, mirosului și culorii ce ar fi imprimate produsului, cât și datorită modificărilor ce ar interveni la nivel nutrițional.

Lactoza poate fi însă hidrolizată cu ajutorul β -D-galactozid-galactohidrolazei (EC 3.2.1.23), în forma sa liberă sau imobilizată, având ca rezultat obținerea monozaharidelor constitutive, galactoza și glucoza.

S-au propus și utilizat, începând cu anii 1978 (momentul în care a fost reglementat punctul litigios asupra prezenței galactozei și a efectelor ei ipotetice asupra sănătății umane), o serie de metode de hidroliză enzimatică a lactozei din diverse produse natural-lactozate.

- Procedul de hidroliză cu enzimă liberă, sub formă de soluție în produsul hidrolizat (procedul Delvo)
- Procedul de hidroliză cu enzimă fixată chimic pe un suport solid (procedul Corning-Glass și procedul Rhone-Poulenc)
- Procedul de hidroliză cu enzimă fixată fizic (procedul INRA și procedul Snamprogetti)

Pe lângă aceste procedee, pe care le putem numi tradiționale, tehnologia actuală propune variante moderne de delactozare. Studiile sunt însă, în momentul de față, sporadice și neelocvente, propunerile tehnologice fiind încă în stadiul dezvoltării teoretice sau aplicațiilor de laborator.

Astfel, în 2006 Rodriguez-Nogales și Lopez prezintă posibilitatea încapsulării lactazei în lipozomi, și eliberarea controlată a enzimei la nivel gastric. Autorii susțin că imobilizarea β -galactozidazei în lipozomi poate fi folosită pentru depășirea problemei gustului dulce al laptelui delactozat. Ansari și Husain (2010) ne propun varianta hidrolizei lactozei cu ajutorul β -galactozidazei imobilizate pe un suport de concanavalin A-celuloză, în cadrul unui proces continuu.

Literatura de specialitate menționează ca fiind cele mai des utilizate surse de β -galactozidază drojdiile precum *Kluyveromyces lactis* și *Kluyveromyces fragilis* și mușcăiurile *Aspergillus niger* și *Aspergillus oryzae*.

În laboratoarele ICA s-au obținut extracte enzimatiche și s-a determinat activitatea β -galactozidazică intracelulară în omogenatul de celule de *K. fragilis* și în omogenatele de miceliu de *A.niger* și *A.oryzae*, precum și activitatea extracelulară în lichidele de cultură, folosind tehnica de determinare cu o-nitro-fenil- β -D-galactozid (ONPG) și cu lactoză ca substrat, dozând glucoza eliberată.

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Mentor:
prof. Denis Poncelet, PhD

Activitati:

2.1. Studii privind tipurile de materiale ce pot fi utilizate în aplicațiile propuse.

2.2. Studii privind permeabilitatea materialelor de încapsulare

2.3. Cercetări privind eliberarea controlată a bacteriilor microîncapsulate

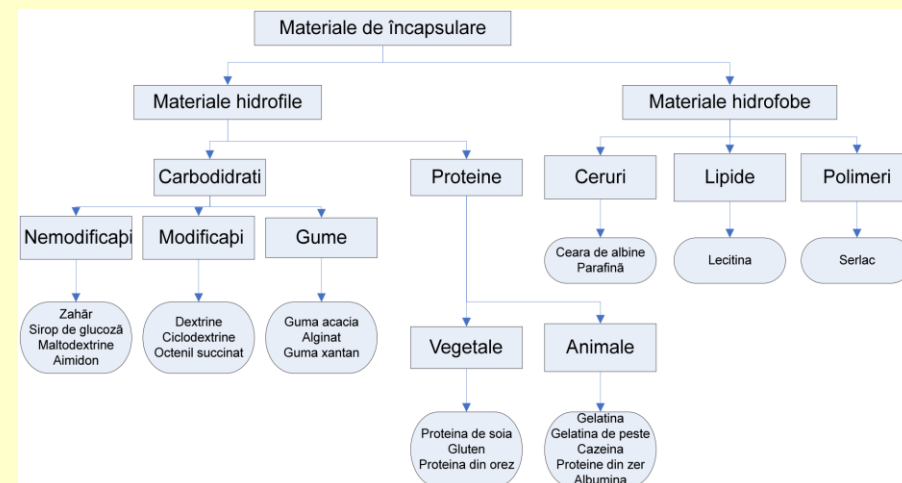
Rezultate:

În general, pentru eliberarea controlată a unor substanțe este folosit la ora actuală alginatul, combinații ale acestuia cu hidroxipropilmetilceluloza, cu guma locust sau carragenan; proteinele zerului; gelatina; amidonul precum și polimeri hidrofobi asemenea serlacului. În funcție de momentul în care se impune să aibă loc eliberarea controlată se poate varia raportul dintre diversele gume din amestecul încapsulant sau se poate chiar varia proporția de acid manuronic și guleronic din componența alginatului.

Pentru testarea „in vitro” a capacității de eliberare controlată a conținutului microcapsulelor, bibliografia consultată prezintă mai multe modele. Acestea pot fi statice sau dinamice. Modelele statice, deși sunt simple și puțin costisitoare, prezintă și o serie de dezavantaje. Preferate sunt modelele dinamice, precum modelul SHIME, modelul TIM1 sau modelul TIM2. Testele de simulare a tractului gastrointestinal realizate preliminar în laboratoarele ICA R&D au avut ca bază modelul SHIME de stimulare a tractului gastrointestinal. Acesta presupune existența a 5 vase diferite, fiecare dintre ele reproducând condițiile existente în segmentele tubului digestiv (I-duoden+jejun, II-ileon, III-cecum+colon ascendent, IV-colon transvers, V-colon distal). Se utilizează de asemenea soluții de suc gastric simulat, fermenți biliari și suc pancreatic simulat.

Concluzii:

- activitățile propuse în etapa actuală au fost în totalitate realizate;
- bibliografia consultată a demonstrat nevoia de găsire a unor noi metode de delactozare a laptelui și zerului, metode ce trebuie să fie mai puțin costisitoare pentru întreprinderea procesatoare decât metodele actuale;
- testele preliminare efectuate în laborator, având la bază bibliografia consultată, au demonstrat existența posibilităților practice de atingere a obiectivelor propuse prin prezentul proiect.



Obiectivele cercetarii

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

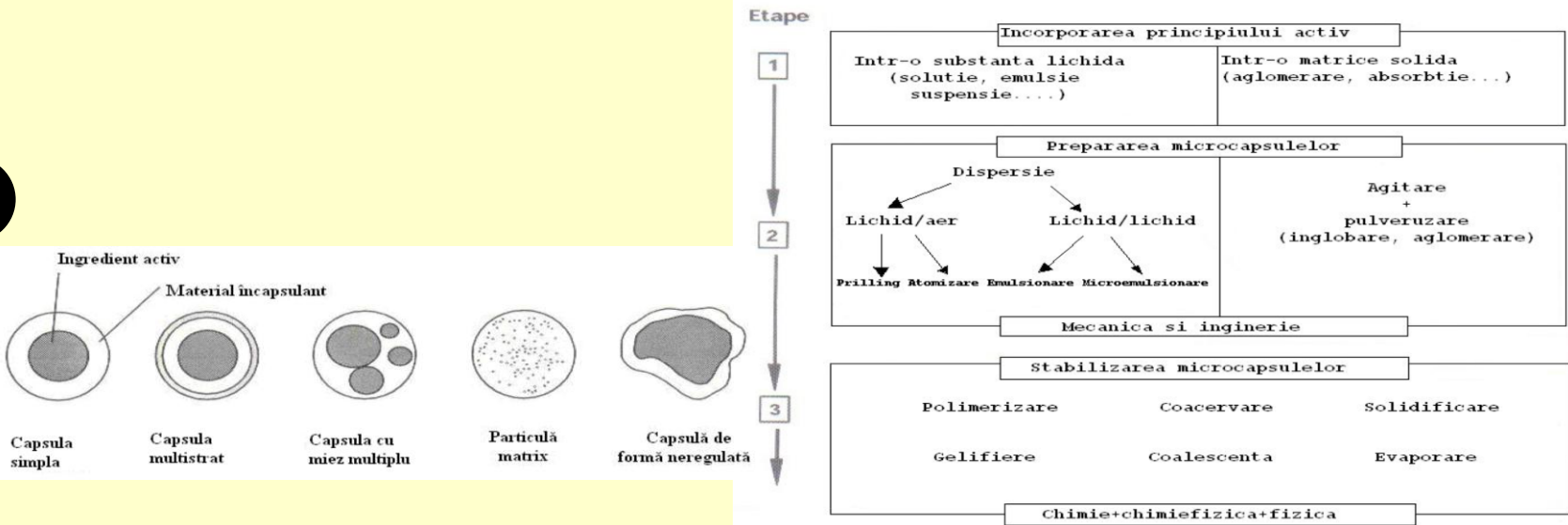
Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Concluziile etapei:

- Obiectivele proiectului au fost în totalitate atinse, respectându-se etapizarea propusă initial.
- S-au obținut *Kluyveromyces fragillis* încapsulat în capsule de alginat de calciu cu activitate de delactozare a zerului.
- S-a microincapsulat β -galactozidaza într-un amestec de alginat, maltodextrine și trehaloză. Dimensiunea medie a particulei a putut fi adusă sub 30 microni (limita de percepție a limbii umane).
- Parte din rezultatele obținute în cadrul acestui proiect au fost diseminate prin participarea la conferinta „XIX International Conference on Bioencapsulation” cu posterul *Encapsulation for Delactozation Purposes* si prin publicarea articolului (obținerea acordului de publicare) *Microencapsulation of bifidobacteria and β -galactosidase for the dairy industry* în Romanian Biotechnological Letters.



Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Activitati:

- 1.1. Studii privind metodele de incapsulare si microincapsulare
- 1.2. Cercetari privind conditiile tehnologice de realizare a capsulelor
- 1.3. Alegerea metodelor testate de incapsulare a microorganismelor producatoare de lactaza
- 1.4. Cercetari privind conditiile tehnologice de realizare a microincapsularii lactazei
- 1.5. Alegerea metodelor testate de microincapsulare a lactazei

Rezultate:

În urma studiilor anterior realizate în cadrul acestui proiect s-a demonstrat că activitatea β -galactozidazică extracelulară cea mai însemnata pe mediu de cultura lichid a fost înregistrată în cazul *Kluyveromyces fragillis* și *Aspergillus niger*. Ceea ce se urmărește însă este obținerea unor capsule simple (cu formă sferică sau neregulată) în care sa „închidem” o suspensie de microorganisme producătoare de β -galactozidază. Acest lucru implică faptul că microorganismul încapsulat trebuie sa aibă caracter anaerob. Datorită acestui fapt *Aspergillus niger* a fost exclus pe parcursul experimentelor.

Pentru încapsularea *Kluyveromyces fragillis* au fost testate, ca metode de dispersare, prilling-ul și emulsionarea, iar ca metodă de stabilizare a preparatului – gelifierea. Rezultatele obținute au condus la alegerea ca metodă de obținere a drojdiilor încapsulate a prilling-ului urmat de gelifiere. Considerentele pentru care s-a renunțat la celelalte metode au ținut fie de stabilitatea capsulelor, fie de toxicitatea materialelor folosite, pentru microorganismul utilizat.

Ca și în cazul precedent s-a urmărit obținerea unor capsule simple (sferice sau neregulate). Microcapsulele obținute trebuie așadar să fie stabile, cu umiditate redusă, să asigure menținerea activității enzimatică a preparatului cât mai aproape de activitatea inițială a enzimei neîncapsulate și să asigure eliberarea controlată a enzimei la nivel intestinal.

Pentru obținerea unor astfel de microcapsule au fost folosite drept metode de dispersie pulverizarea și emulsionarea, iar ca metode de stabilizare evaporarea și gelifierea. Așadar microcapsulele obținute au fost realizate fie prin emulsionare-gelifiere ionotropică, fie prin uscare prin pulverizare. Pentru uscarea prin pulverizare au fost utilizate trei echipamente distincte, fiecare având în dotare un alt tip de duza de pulverizare (atomizorul Büchi B290 cu duză bifluid, atomizorul semi-industrial Niro cu duză centrifugală si capacitate de 20 l de apă evaporată pe oră și atomizorul SonoDry750 cu duză de pulverizare ultrasonică).

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Mentor:
prof. Denis Poncelet, PhD

Activitati:

2.1. Obținerea capsulelor prin metodele anterior selectate

2.2. Obținerea microcapsulelor prin metodele selectate

Rezultate:

Pornind de la datele obținute s-a realizat încapsularea unei suspensii de *Kluyveromyces fragillis* în alginat de calciu prin metoda prilling-gelifiere. S-a folosit în principal procedeul standard de obținere în laborator a unor capsule și anume picurarea unei suspensii de microorganisme (*Kluyveromyces fragillis* în CaCl_2) într-o soluție de alginat de sodiu. Cea de-a doua varianta testată a fost obținerea capsulelor cu ajutorul echipamentului Büchi Encapsulator B390.

Pentru obținerea capsulelor în laborator s-au testat următoarele formule: *suspensia de microorganisme* - aproximativ 10^4 , 10^5 UFC/ml, în CaCl_2 0,05mMol/l respectiv 0,1 mMol/l; *alginatul de sodiu* - soluții apoase de 0,5%; 0,25%; 0,1%; 0,05%. Pentru testarea cu echipamentul Büchi Encapsulator B390 s-a folosit doar o suspensie de 10^5 UFC/ml în CaCl_2 0,05mMol/l, soluția de alginat fiind de 0,5%

Pentru realizarea procesului de microîncapsulare prin emulsionare-gelifiere ionotropică s-a preparat o soluție apoasă de alginat de sodiu 2% (pH 8) în care s-a adăugat soluția de enzima. Peste acest amestec s-au adăugat: suspensie de ioni de calciu în proporție de 500mM Ca^{2+} , ulei de floarea soarelui și emulgator SPAN 80. Pentru emulsionare s-a folosit un agitator magnetic (250rpm /15 minute). S-a obținut o emulsie de tip A/U. După emulsionare s-a adăugat sub agitare continuă ulei de floarea soarelui în care au fost emulsionați 0,1 moli acid acetic. După 10 minute de agitare, s-a adăugat în picătură, cu amestecare ușoară, soluție CaCl_2 0,05mMol/l pentru inversarea de fază a emulsiei. După separarea fazei uleioase, a avut loc filtrarea fazei apoase printr-un filtru de sticlă, care s-a spalat cu soluție de TWEEN 1%. De pe filtru s-au prelevat probe de gel care au fost supuse experimentărilor ulterioare.

Pentru obținerea de microcapsule prin uscare prin pulverizare au fost utilizate două tipuri de β -galactozidază: β -galactozidaza din *Aspergillus oryzae* (Sigma) și Lactozyme 2600L (Sigma-Novozyme). Testele s-au realizat prin uscarea β -galactozidazei pe două materiale-suport diferite, cu rol în stabilizarea produsului: 1. un amestec de (2-hidroxipropil)- β -ciclodextrina cu zaharoză și 2. trehaloză. În plus, au fost adăugate alginat de sodiu (încapsulantul propriu-zis) și maltodextrine (adjuvant în procesul de uscare). Cele două formule obținute au fost constituite din:

- soluție enzimă, alginat, maltodextrină, (2-hidroxipropil)- β -ciclodextrina și zaharoză
- soluție enzimă, alginat, maltodextrină, trehaloză

Pentru cele două formule, au fost aplicate temperaturi diferite în timpul procesului de microîncapsulare pentru toate trei echipamentele de atomizare folosite. Prima formulă a fost uscată la temperatura de intrare a aerului de $190 \pm 5^\circ \text{C}$ și temperatura de evacuare a aerului de $60 \pm 5^\circ \text{C}$, iar a doua la $140 \pm 5^\circ \text{C}$ (intrare) și, respectiv, $60 \pm 5^\circ \text{C}$ (evacuare).

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Activitati:

3.1. Testarea activitatii enzimatice a capsulelor obtinute in mediu lactat

3.2. Testarea activitatii enzimatice a microcapsulelor obtinute in mediul lactat

3.3. Simularea tractului digestiv si demonstrarea in vitro a eliberarii controlate a enzimelor microincapsulate

3.4. Selectionarea formulelor de obtinere a capsulelor cu cele mai bune rezultate tehnologice.

Rezultate:

Testarea activității enzimatice a capsulelor cu *Kluyveromyces fragillis* a fost realizată pe o probă medie de zer recoltată din zerul rezultat pe perioada unei zile de fabricație la Lactis SRL Odorheiul Secuiesc. Proba de zer recoltată a fost complet descrisă prin analize de laborator, împărțită în recipiente și congelată pentru testări pe întreaga durată a proiectului. pH-ul produsului a fost reglat la 6,5.

Din punct de vedere fizic, cele mai bune capsule obținute au fost cele realizate cu ajutorul Büchi Encapsulator B390 (ca uniformitate a dimensiunii, formei, precum și din punctul de vedere al rezistenței mecanice). Activitatea enzimatică determinată în mediul rezultat în interiorul capsulelor după 8 de ore de menținere în zer a fost de 0,27 unități/ml.

Din punctul de vedere al activității enzimatice, rezultatele cele mai bune au fost înregistrate în cazul realizării capsulelor prin picurare într-o baie de alginat (0,1%), a unei suspensii cu 10^5 UFC/ml *Kluyveromyces fragillis* în CaCl_2 0,05mMol/l. Activitatea enzimatică măsurată în mediul încapsulat a fost de 0,41 unități/ml. Dezavantajele capsulelor obținute prin această metodă au fost: rezistența mecanică scăzută și o formă nu întotdeauna sferică.

Pentru testarea microcapsulelor pe lapte de consum a fost folosită o singură sarja de lapte pasteurizat, cu un conținut de grăsime de 1,5% și de lactoză de 4,34%.

Nu s-au înregistrat modificări ale conținutului de lactoză din lapte în cazul menținerii timp de 8 ore la 45°C a aproximativ 15000 unitati de lactaza încapsulată la 100g lapte. Acest fapt se poate datora atât formării la suprafața microcapsulelor a alginatului de calciu (conținutul de calciu al laptelui a fost de 138 mg/100g) dar și faptului că, în special în cazul utilizării lactazei din *Asperrgillus oryzae*, laptele proaspăt nu are un pH corespunzător acțiunii enzimei.

Simularea tractului digestiv a fost realizată pe un model de laborator similar modelului SHIME. Pentru demonstrarea eliberării controlate s-a analizat activitatea enzimatică a unei suspensii lapte – microcapsule înainte și după „trecerea” prin tractul digestiv simulat. Rezultatele au fost evidențiate prin analiza gaz-cromatografică a conținutului de glucide ([click aici pentru cromatograme](#)). La finalul procesului laptele ajunge la un conținut de lactoză de aproximativ 0,02% (dar glucoză 2,17% și galactoză 2,35%).

Obiectivele cercetarii

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

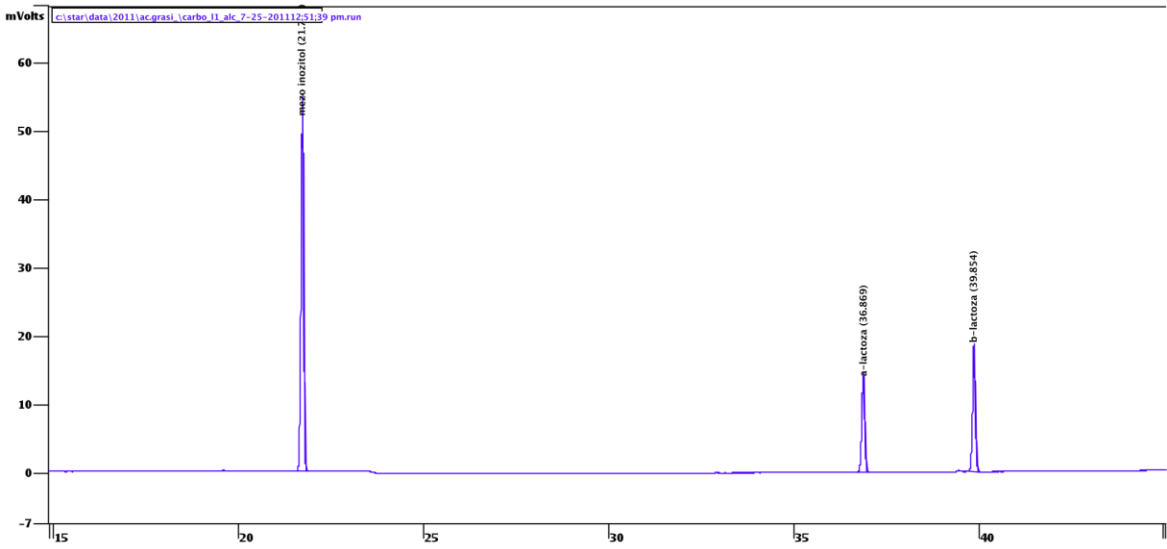
Etapa III - 2012

Obiectivul 1

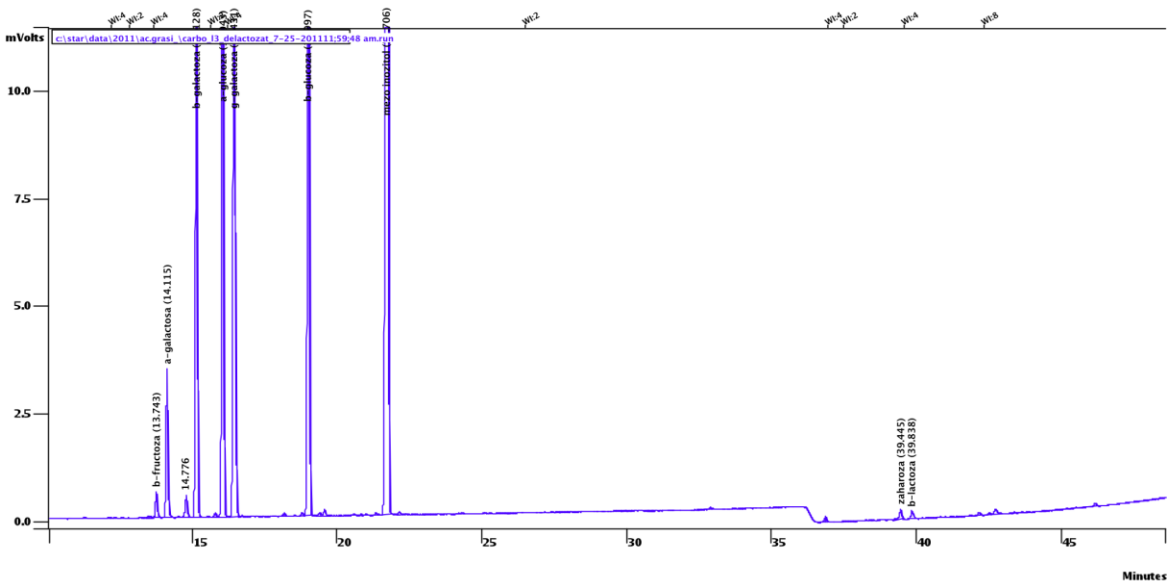
Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale



Conținutul de glucide al
laptelui, înainte de trecerea
prin tractul digestiv
simulat



Conținutul de glucide al
laptelui, după trecerea prin
tractul digestiv simulat

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Mentor:
prof. Denis Poncelet, PhD

Activitati:

4.1. Stabilirea raportului optim încapsulat:încapsulant

4.2. Stabilirea dimensiunilor optime ale capsuleor si microcapsulelor

4.3. Stabilirea activitatii enzimatice optime in functie de substrat si de specificul fiecarui preparat

4.4. Calculul costurilor delactozarii prin metodele propuse comparativ cu procedeele clasice utilizate

Rezultate:

Raportul optim atins în cazul capsulelor având un diametru mediu de 1,8 mm a fost de 2:3 încapsulat:încapsulant (substanța uscată a capsulei sub 0,2 %).

Lactaza pulverulentă a fost folosită în proporție de 7 % față de excipienți (ținându-se cont de faptul că cele mai bune rezultate obținute au generat, în urma încapsularii, o pierdere a activității enzimatice de 54%)

Deoarece din punct de vedere tehnologic posibilități de separare la dimensiuni de 1,5-2,0 mm există și nu implică costuri deosebite, am considerat ca dimensiune optimă 1,8 mm, dimensiune la care s-au obținut în timpul testelor cele mai bune rezultate din punct de vedere al stabilității mecanice la un raport încapsulat:încapsulant de 2:3. Încercările efectuate au demonstrat posibilitățile de obținere a dimensiunii medii a microcapsulelor sub 30 microni (limita de percepție a limbii umane)

Activitatea enzimatică optimă poate fi stabilită pentru fiecare produs în parte, în funcție de cantitatea de lactoză din produs, de activitatea enzimatică a enzimelor folosite și de scăderea activității enzimatice în timpul procesului tehnologic de obținere a capsulelor/microcapsulelor.

Încapsularea, ca procedeu, este considerată în general o metodă scumpă. Avantajele aduse de această tehnologie nu țin în special de costuri, ci de funcționalitate.

În cazul încapsulării *Kluyveromyces fragillis* costurile reale nu pot fi estimate, deoarece nu există tehnologie industrială pentru realizarea și transportul unor capsule uniforme din gel semipermeabil (cu umiditate de peste 99%). Tehnologia de laborator pentru obținerea unor asemenea capsule este abia intrată pe piață (singurul echipament fiind cel testat și ulterior achiziționat prin prezentul proiect)

În cazul microîncapsularii enzimei, costurile pot fi calculate, deoarece se aplica proceduri cunoscute (pulverizare-uscarea), pe echipamente existente și la nivel industrial (ce pot fi, eventual, doar adaptate). Costurile procedurii aplicat la nivel de laborator au crescut prețul pe unitatea enzimatică cu 273%.

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Concluziile etapei:

- Obiectivele proiectului au fost în totalitate atinse, respectându-se etapizarea propusă initial.
- S-au realizat schemele tehnologice, în conformitate cu testările la nivel de laborator, pentru doua porduse : microorganisme producatoare de lactaza incapsulate (produs integrat in schema de obtinere a unor produse lactate partial delactozate) si lactaza microencapsulata (produs integrat in schema de obtinere a laptelui de consum pasteurizat cu lactaza microencapsulata. Pentru cel de-al doilea pordus a fost depusa la OSIM cererea de obtinere a unui brevet de inventie.
- Studiile efectuate pana in acest moment trebuie continuate cu testare *in vivo* a produselor obtinute, rezultatele testarilor *in vitro* fiind incurajatoare.
- Parte din rezultatele obtinute vor fi diseminate pe parcursul anului in curs prin prezentarea lucrarii «*Alginate β -galactosidase microcapsules for lactose intolerance prevention*» in cadrul XX International Conference on Bioencapsulation, Ontario, Canada, septembrie 2012 (lucrare acceptata), si prin publicarea in Romanian Biotechnological Letters a lucrarii cu titlului «*Microencapsulated β -galactosidase for milk delactozation* » (lucrare depusa)

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Mentor:
prof. Denis Poncelet, PhD

Obiectivul 1

Activitati:

- 1.1. Proiectarea tehnologiei de delactozare a laptelui si zerului prin adaugare de bacterii incapsulate
- 1.2. Proiectarea tehnologiei de realizare a laptelui de consum cu lactaza microincapsulata
- 1.3. Analiza senzoriala a laptelui de consum obtinut atat prin tehnologiile novatoare propuse cat si prin tehnologia de delactozare existenta, comparativ cu un lapte nedelactozat

Rezultate

Schema tehnologica de obtinere a unui produs lactat (lapte sau zer dulce) cu un continut redus de lactoza cu ajutorul capsuler de *Kluyveromyces fragillis*

Procesul tehnologic produs poate fi utilizat doar pentru delactozarea partiala a produselor lactate (de exemplu ca etapa intermediara pentru obtinerea zerului pudra partial delactozat)

Datorita limitarilor tehnologice existente la ora actula tehnologia nu este scalabila pentru nivel industrial

Schema tehnologica de obtinere a unui lapte de consum pasteurizat cu lactaza microincapsulata

Procesul este adaptabil la nivel industrial Necesita insa testari prealabile in vivo acestui tip de produse.

Graficul de analiza senzoriala a laptelui delactozat cu capsle de *Kluyveromyces fragillis*, laptelui cu adaos de microcapsule enzimatic, laptelui de consum pasteurizat, netratat

*Asa cum se poate observa din figura 3, comparativ, laptele delactozat cu ajutorul capsulelor de *Kluyveromyces fragillis* a inregistrat punctaje slabe la toate caracteristicile senzoriale, mai putin la consistenta. Influentiali probabil de toate celelalte caracteristici, panelistii au acordat insa si acestei caractristici punctaje usor mai slabe decat in cazul celorlalte doua produse.*

Celelate doua produse analizate au inregistrat punctaje comparabile, diferenta de punctaj total fiind de 2 puncte (laptele de consum netratat a inregistrat 564 de puncte, iar cel caruia i-au fost adaugate microcapsule probiotice a inregistrat 562 de puncte, dintr-un maxim posibil de 625 de puncte)

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

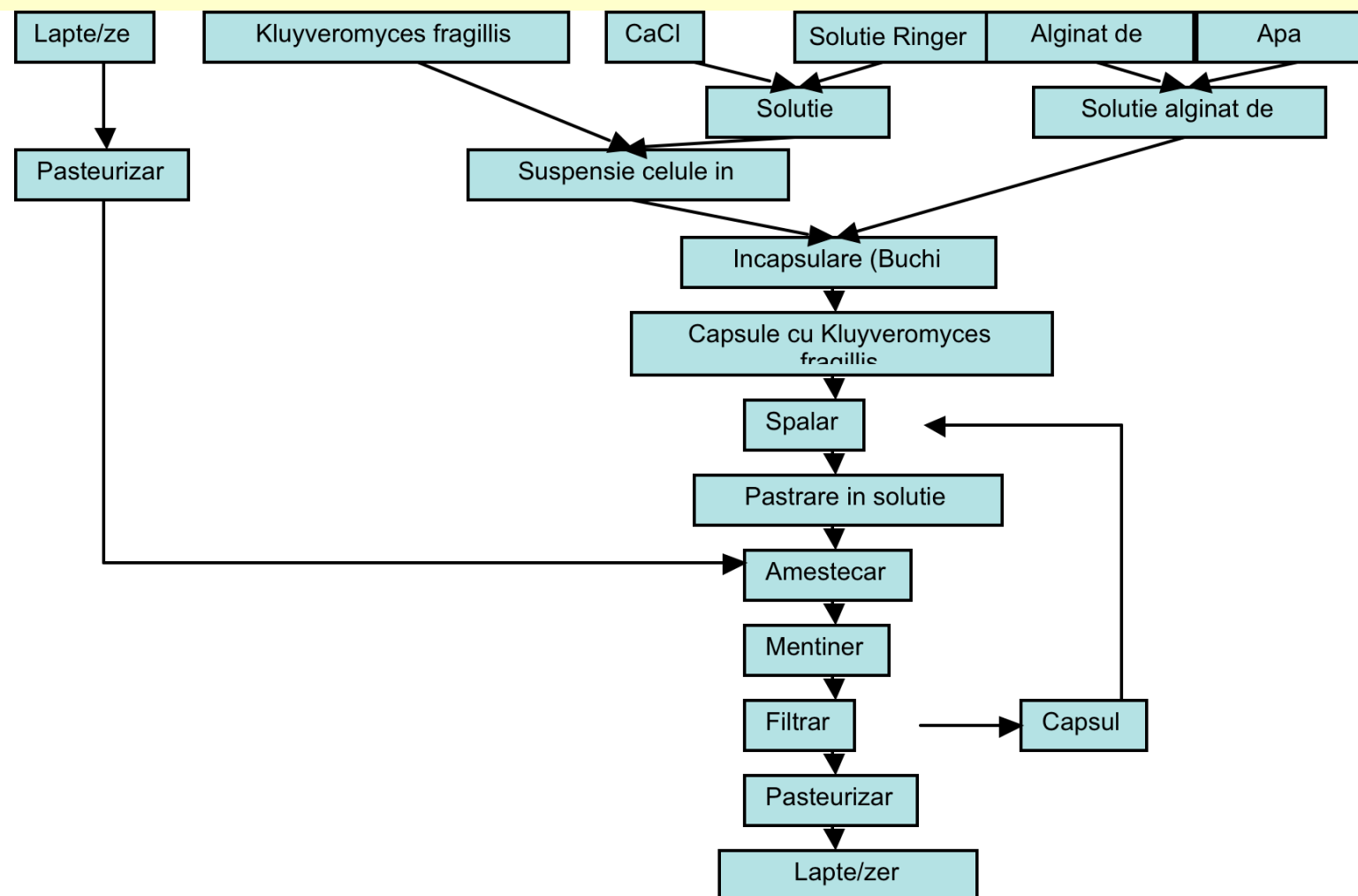
Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Obținerea lapte/ zer delactozat



Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

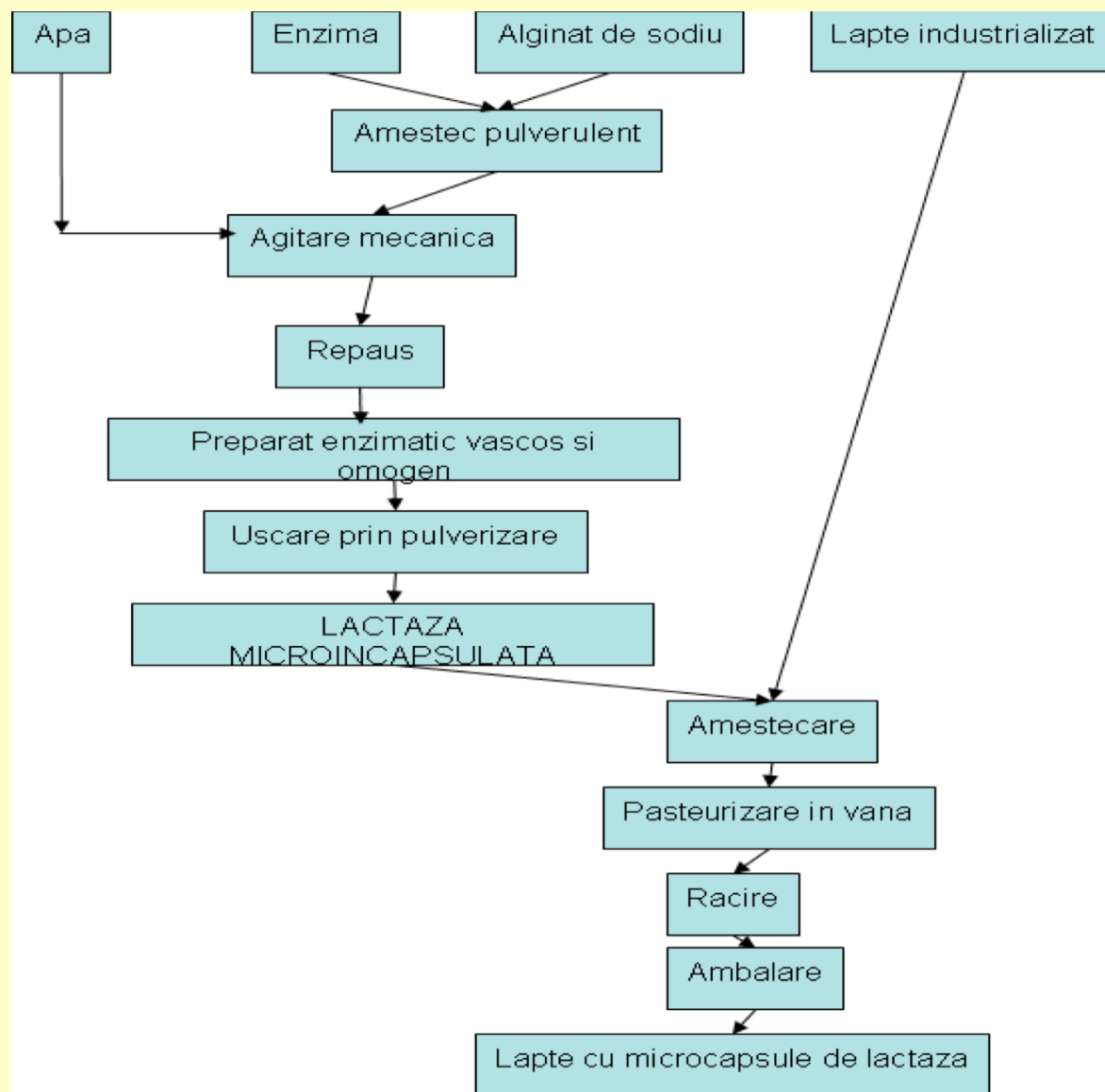
Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Obținerea laptelui cu microcapsule delactozante



Obiectivele cercetarii

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

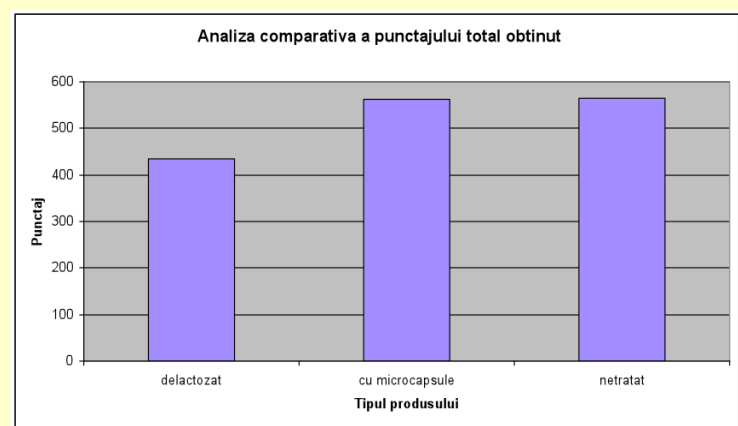
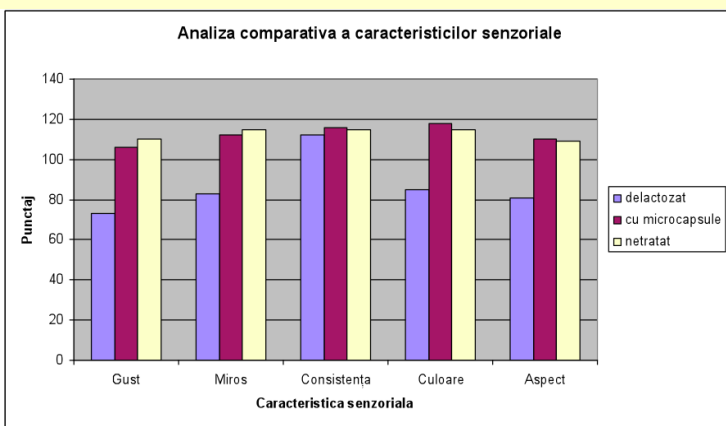
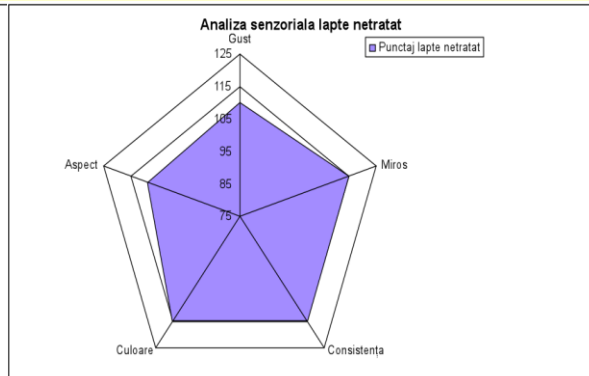
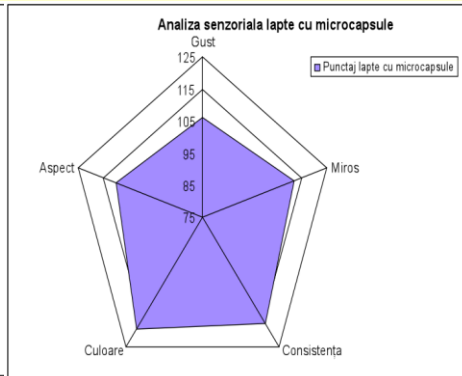
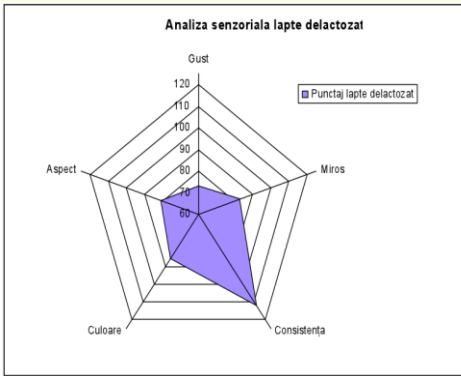
Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Analiza senzoriala comparativa



Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Activitati:

- 2.1. Adunarea informatiilor tehnice necesare
- 2.2. Intocmirea si depunerea cererii de brevet

Rezultate:

S-a depus la OSIM cu numarul de inregistrare A/00521 cererea de brevet de inventie cu titlul „Procedeu de obtinere a microcapsulelor gastrorezistente de β -galactozidaza”.

Obiectivele cercetarii

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

Bugetul postcalcul

DENUMIRE CAPITOL BUGET	TOTAL AN 2010 (lei)	TOTAL AN 2011 (lei)	TOTAL AN 2012 (lei)	TOTAL PROIECT (lei)
CHELTUIELI DE PERSONAL * * (salarii + contributi angajator, etc.) ex. 8.300lei/luna	24750	59400	34650	118800
CHELTUIELI INDIRECTE (regie) max. % din bugetul proiectului	7100	18900	8000	34000
CHELTUIELI DE LOGISTICA (infrastructura de cercetare, cheltuieli materiale, etc)	64700	97068.35	15600	177368.35
CHELTUIELI DE MOBILITATE (cheltuieli de documentare-cercetare, transport, etc)	4000	5831.65	0	9831.65
TOTAL	100550	181200	58250	340000

Obiectivele cercetării

Etapa I - 2010

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Etapa II - 2011

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Obiectivul 3

Obiectivul 4

Etapa III - 2012

Obiectivul 1

Obiectivul 2

Date financiare

Concluzii generale

- Obiectivele propuse și asumate au fost în totalitate atinse.
- S-au obținut produse la nivel de laborator care au fost testate și complet analizate
- S-au trimis spre publicare două articole în reviste cotate ISI (dintre care unul a primit acordul de publicare, al doilea fiind în așteptarea evaluării). De asemenea a fost publicat un articol într-o revistă de specialitate ne înscrisă în baze de date internaționale.
- S-au realizat două prezentări la conferințe internaționale prestigioase de specialitate, pe baza cercetării efectuate în cadrul proiectului.
- S-a depus la Oficiul de Stat pentru Inventii și Marci o cerere de brevet cu titlul „Procedeu de obținere a microcapsulelor gastrorezistente de β -galactozidază”.
- Bugetul proiectului a fost respectat, cu mici realocări de la capitolul “Mobilitati” la capitolul “Logistica” datorită creșterii costurilor materialelor necesare pe parcursul proiectului.