
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cercetări privind exploatarea potențialului bioactiv al speciilor de grâu străvechi în obținerea de aluaturi acide și sortimente de pâine optimizate nutrițional

Doctorand **Larisa – Rebeca Șerban**

Conducător de doctorat **Prof.univ. dr. Adriana Păucean**



1. INTRODUCERE

În prezent, tendința consumatorilor este de a-și îndrepta atenția spre așa numitele "alimente medicament", adică produse funcționale care ajută în controlul și prevenirea bolilor cronice. Pâinea este recunoscută ca fiind o sursă importantă de carbohidrați, macronutrienți cheie în furnizarea de energie, dar și pentru compușii bioactivi (antioxidanți, vitamine, minerale) cu efect benefic asupra sănătății. Cu toate acestea, datorită indicelui glicemic mare (95) și a conținutului scăzut în fibre pâinea albă obținută din cereale rafinate a început să fie înlocuită cu produse mai avantajoase din punct de vedere nutrițional. Astfel, pâinea fermentată cu aluat acid a început să primească tot mai mult credit pe piața globală a produselor de panificație datorită calității senzoriale superioare, a indicelui glicemic mai scăzut (54), a conținutului ridicat în compuși bioactivi și în amidon rezistent.

Deși scopul principal al aluatului acid este de a fermenta făina, aceasta este utilizat și pentru obținerea altor atribute, precum: creșterea duratei de valabilitate sau îmbunătățirea profilului nutrițional, senzorial/aromatic și reologic al produselor. De asemenea, parametrii tehnologici de prelucrare a aluatului și factorii endogeni din făină exercită un rol important în influențarea comunității microbiene. Complexitatea aluatului este dată de interacțiunea dintre bacterii și drojzii cu restul ingredientelor, în funcție de parametrii tehnologici.

Pe de altă parte, cerealele străvechi precum alacul (*Triticum monococcum* L. ssp. *Monococum*), grâul spelta (*Triticum aestivum* L. ssp. *Spelta*) sau emmer-ul (*Triticum turgidum* L. ssp. *Dicocum*) au reînceput să revină în atenția consumatorilor datorită acestei compoziții chimice specifice (proteine, fibre, acizi grași nesaturați, minerale, vitamine și alți compuși bioactivi) care prezintă beneficii pentru sănătate. Mai mult, cerealele străvechi prezintă o rezistență mai ridicată la boli fungice comparativ cu grâul comun (*Triticum aestivum* L.), fapt care le face mai pretabile pentru producția ecologică unde este interzisă utilizarea pesticidelor și a îngrășămintelor. De asemenea, cultivarea acestora nu necesită o tehnologie avansată, iar prin obținerea de cereale ecologice are loc și o conservare a biodiversității solului.

Prezenta lucrare urmărește realizarea unui produs de panificație cu proprietăți nutritive superioare/îmbunătățite, care să prezinte o rată de digestie mai scăzută și o viteză mai lentă de descompunere a amidonului astfel încât să poată ajuta la controlul nivelului de zahăr din sânge. În acest sens s-au ales trei tipuri de cereale străvechi (alac, emmer, spelta) care vor reprezenta materia primă în obținerea unor sortimente de pâine obținută pe bază de aluat acide.

2. SCOP ȘI OBIECTIVE

Scopul prezentei teze intitulată "Cercetări privind exploatarea potențialului bioactiv al speciilor de grâu străvechi în obținerea de aluaturi acide și sortimente de pâine optimizate nutrițional" constă în exploatarea potențialului biologic activ al unor specii selectate de grâu străvechi (spelta, alac și emmer) în vederea obținerii de aluaturi acide și sortimente de pâine bogate în fibre și cu proprietăți nutriționale îmbunătățite.

În vederea atingerii scopului propus s-au stabilit trei direcții de cercetare considerate ca fiind obiective majore de cercetare. La rândul lor acestea au fost divizate în mai multe sub-obiective după cum urmează:

I. Prima direcție de cercetare – Evaluarea influenței bacteriilor lactice acide asupra procesului de fermentare a aluaturilor acide obținute din făină de alac, spelta și emmer.

- I.1 Evaluarea dinamicii microbiene de dezvoltare a tulpinii de *Lb. plantarum* ATCC 8014 pe matricea reprezentată de făinuri de grâu străvechi;
- I.2. Evaluarea și monitorizarea parametrilor de calitate specifici aluaturilor acide (pH, TTA, parametri reologici, compuși de aromă);
- I.3 Evaluarea principalilor compuși bioactivi din alaturile acide.

II. Direcția a doua de cercetare – Obținerea și caracterizarea unor sortimente de pâine din făinuri de alac, spelta și emmer, bogate în fibre și cu caracteristici nutriționale îmbunătățite.

- II.1 Evaluarea principalilor compuși bioactivi din probele de pâine obținute cu aluaturi acide;
- II.2 Cuantificarea derivaților volatili și analiza profilului de aromă a probelor de pâine; II.3 Analiza texturală și senzorială a probelor de pâine.

III. Direcția a treia de cercetare – Evaluarea digestibilități *in vitro* a carbohidraților din sortimentele de pâine și cuantificarea indicelui de digestibilitate.

- III.1 Cuantificarea conținutului de amidon, maltoză, glucoză și fructoză din probele de pâine obținute cu aluaturi acide;
- III.2 Determinarea indicelui de digestibilitate *in vitro*.

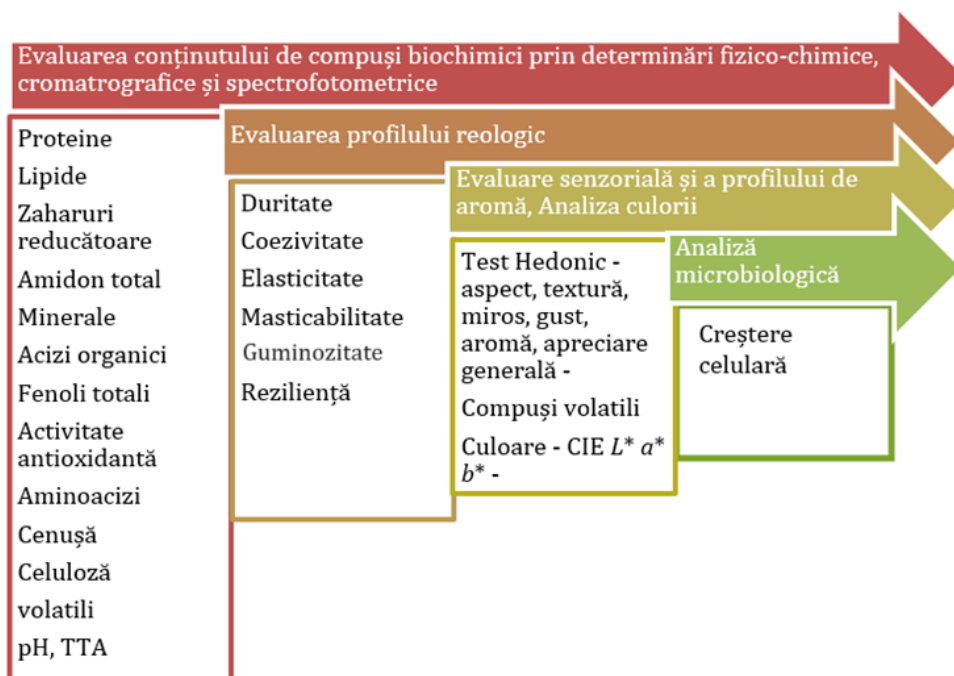


Fig. 1. Protocol experimental al cercetării privind conținutul în compuși biochimici, evaluare reologică și profil psiho-senzorial a materiilor prime, aluaturilor acide și a produselor finite (original)

3. STRUCTURA TEZEI

Prezenta teză "Cercetări privind exploatarea potențialului bioactiv al speciilor de grâu străvechi în obținerea de aluaturi acide și sortimente de pâine optimizate nutrițional" este structurată în două părți principale.

Prima parte denumită "Stadiul actual al cunoașterii privind compoziția chimică a materiilor prime utilizate și obținerea de aluaturi acide" este compusă din două capitole pe parcursul cărora sunt caracterizate materiile utilizate în rețeta de fabricație a produsului finit, precum și noțiuni privind modul de obținere a aluatului acid și acțiunile pe care acesta le exercită asupra celorlalți constituenți din produsul de panificație

Cea de a II – a parte a lucrării prevede "Contribuții proprii în dezvoltarea unui produs de panificație cu calități nutritive îmbunătățite/funcțional cu ajutorul aluaturilor acide", și este structurată în cinci capitole cuprinzând contribuții personale, rezultate, discuții, concluzii și perspective de cercetare.

4. CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

4.1. Material și metodă de lucru

Experimentele au fost efectuate în Stația pilot de obținere a produselor de panificație din cadrul Facultății de Știința și Tehnologia Alimentelor, a laboratoarelor de Controlul Calității Alimentelor, laboratorul de Microbiologie, laboratorul de Analiză Fitochimică și Metabolomică Agroalimentară din cadrul Institutului de Științe ale Vieții, USAMV Cluj-Napoca, Platforma de Cercetare Interdisciplinara din cadrul Universitatii de Stiintele Vietii “regele Mihai I” Timișoara și Institutul de Inginerie Alimentară din cadrul Universității Politehnice din Valencia, Spania.

Astfel, experimentul a presupus în primă fază obținerea de 4 variante de aluaturi acide din cele 4 tipuri de făinuri utilizate în studiu, și anume, cu: făină integrală de grâu comun (M_0), alac (M_1), spelta (M_2) și emmer (M_3). Din cele 4 variante de aluaturi acide care au fost fermentate de către tulpina de *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 la 30°C, s-au prelevat probe la momentul 0 al fermentației, după 12 ore și după 24 ore în scopul de a se analiza cum durată de fermentație a aluatului acid influențează produsul finit atât din punct de vedere nutrițional, cât și reologic și senzorial. Drept urmare, în etapa a doua, fiecare tip de aluat acid s-a utilizat la obținerea unui tip de pâine complementar (pâine grâu comun – P_0 , alac – P_1 , spelta – P_2 și emmer – P_3) în ceea ce privește făina utilizată.

Materialul biologic utilizat a fost alcătuit din: făină integrală de grâu, făină integrală de seară, făină integrală de alac, făină integrală de spelta, făină integrală de emmer, cultură de bacterii lactice acide (*Lb. plantarum* ATCC 8014), drojdie, fasole Mung, inulină, zahăr, ulei de floarea soarelui și sare. Cultura de *Lb. plantarum* ATCC 8014 fost achiziționată de la Microbiologics (Minnesota, USA). Cu excepția făinii integrale de emmer, toate celelalte tipuri de făină utilizate au fost achiziționate din cadrul fermei ecologice BioFarmland Manufactura S.R.L (Arad, Firiteaz, nr. 350). Restul ingredientelor folosite provin din magazine naturiste și de specialitate din Cluj-Napoca.

4.2. Rezultate și discuții

Analizele s-au efectuat în triplicat, literele mici indicând diferențele semnificative statistic între cele 4 tipuri de aluaturi acide/pâine în același moment (0, 12, 24 H), iar literele mari diferențele semnificativ statistic între cele 4 tipuri de aluaturi acide/pâine la momente diferite (0, 12, 24 H). Pentru prelucrarea statistică s-a utilizat testul de corelații multiple – Testul Duncan. De asemenea, s-a realizat și analiza

componentelor principale (Principal component analysis – PCA) precum și analiza claselor ierarhice (Hierarchical Cluster Analysis – HCA) folosind Heatmap.

4.2.1. Rezultate privind prima direcție de cercetare

Din punct de vedere al creșterii celulare cele patru variante de făină au prezentat o creșterea celulară semnificativă pe parcursul celor trei timpi de fermentație (0, 12, 24 H), fapt care dovedește o bună adaptabilitate a tulpinii *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 pe aceste matrici vegetale.

Valorile măsurate ale pH – ului (sub 4 după 24H) și acidității totale titrabile (15.6 – 23.4 mL de NaOH/10g după 24H) au fost optime pentru aluaturile acide, comparabile cu cele citate în literatura de specialitate.

Acizii organici care se formează ca urmare a fermentației lactice au avut o creștere progresivă pe durata celor 24 ore, cu precădere acidul lactic (M_1 /alac – 6.37 mg/g, M_2 /spelta – 5.43 mg/g).

În ceea ce privește zaharurile reducătoare, glucoza a urmat o traiectorie ascendentă odată cu creșterea duratei de fermentație în ceea ce privește făinurile străvechi (M_1 /alac – 4.99 mg/g, M_2 /spelta – 5.36 mg/g, M_3 /emmer – 2.71 mg/g), în timp ce fructoza a scăzut odată cu timpul de fermentare. Maltoza a scăzut, de asemenea, ca urmare a conversiei sale în glucoză și consumului în timpul procesului de fermentație.

Concentrația de celuloză brută din toate probele de aluat acid a scăzut pe parcursul fermentației ca urmare a procesului de solubilizarea a fibrelor insolubile în fibre solubile, înregistrând valori cuprinse între 1.05 și 2.09% în variantele fermentate pentru 24 ore.

Fermentația a crescut nivelurile mineralelor ca urmare a acidifierii care a activat în mod indirect fitazele endogene ale grâului, precum și datorită activității enzimelor microbiene. Astfel, aluatul acid cu alac/ M_1 s-a remarcat prin conținutul în zinc, potasiu, fier și calciu; iar aluatul acid cu grâu spelta/ M_2 prin conținutul în magneziu. Spre deosebire, aluatul acid cu emmer a înregistrat cele mai scăzute niveluri de minerale.

Conținutul de polifenoli din probele de aluat acid au crescut odată cu creșterea timpului de fermentare, acidifierea conducând la îmbunătățirea extractabilității acestor compuși. Dintre făinurile străvechi remarcându-se variantele de aluat acid obținut din alac/ M_1 (de la 118 mg GAE/100g la 167 mg GAE/100g). Activitatea antioxidantă s-a aflat în strânsă legătură cu conținutul în polifenoli al probelor.

Au fost detectați 42 compuși volatili care s-au acumulat ca urmare a acidifierii și a eliberării unor precursori de aromă precum aminoacizi. Cei mai reprezentativi compuși de aromă care au conferit aluatului acid o aroma plăcută, dulce, fructată au fost 1-hexanol, 1-pentanol, hexanal, benzaldehida, acetofenona, acidul hexanoic și 2-pentil furan.

Impactul fermentației asupra proprietăților reologice ale aluaturile acide a fost stabilit cu ajutorul modulului elastic – G' ; și a modulului plastic G'' . Astfel, s-a remarcat

Cercetări privind exploatarea potențialului bioactiv al speciilor de grâu străvechi în obținerea de aluaturi acide și sortimente de pâine optimizate nutrițional

că modulul elastic a fost mai mare decât modulul de plastic, ceea ce duce la concluzia că aluatul acid are un comportament elastic.

4.2.2. Rezultate și discuții privind direcția a doua de cercetare

Conținutul de proteine al celor 12 variante de pâine a fost unul variabil. Aminoacizii în schimb au urmat o traiectorie ascendentă ca urmare a creșterii duratei de fermentație a acestuia. Cele mai bune niveluri fiind semnalate în proba P₂/pâine cu făină spelta – 111.1 mg alanină/100g probă.

Lipidele au înregistrat valori scăzute în toate probele, putând fiind atribuită fermentației microorganismelor care folosesc lipidele ca sursă de energie pentru activitățile lor metabolice.

Dintre acizi organici s-a remarcat acidul lactic cu valori crescute în pâinile cu alac/P₁ (1.13 mg/g) și grâu emmer/P₃ (0.95 mg/g) și acidul citric din nou în proba cu alac/P₁ (0.55 mg/g). Acidul acetic a prezentat cantități reduse în toate probele. Importanța acizilor organici este dată de capacitatea lor de a stopa apariția bacteriilor patogene, respectiv de prelungirea duratei de valabilitate a produselor.

Conținutul de cenușă a variantelor de pâine a crescut odată cu creșterea duratei de fermentație a aluatului acid, în ideea în care fermentația crește nivelurile mineralelor. Astfel, pâinile cu făinuri străvechi asemenea aluaturilor acide s-au remarcat prin nivelurile ridicate în minerale precum zinc, potasiu, mangan, calciu, și fier.

Aluatul acid a influențat pozitiv nivelurile compușilor fenolici din pâine ca urmare a slăbirii matricei aluatului și eliberării unui număr mare de polifenoli extractibili. Cele mai bune rezultate au fost înregistrate în proba P₁/alac (140 – 149 mg GAE/100g), iar cele mai mici în proba P₃/emmer (120 – 125 mg GAE/100g). Activitatea antioxidantă a pâinii se află în strânsă legătură cu conținutul de polifenoli, astfel că probele au urmat aceeași traiectorie.

În variantele de pâine cu făinuri din grâu modern și străvechi au fost determinați 24 compuși volatili. Printre cei mai reprezentativi pentru pâine fiind: 2-metil-1-butanol, 2-heptanona, hexanalul și 2-pentilfuranul. La fel ca și în cazul aluaturilor acide, și în pâine au dominat alcoolii și aldehydele. O explicație pentru prezența acestora, în special al hexanalului ar putea fi oxidarea degradativă a acizilor grași nesaturați care contribuie la formarea acestuia.

În ceea ce privește parametrii texturali; duritatea, guminozitatea, mastecabilitatea și indicele de elasticitate au fost influențati pozitiv și semnificativ de timpul de fermentație. Asupra coeziunii și rezilientei, timpul de fermentație nu a avut o influență semnificativă, dar valorile lor au crescut odată cu timpul de fermentație. Calitatea și cantitatea glutenului influențează semnificativ parametrii texturali ai pâinii. Făinurile stravechi producand aluaturi mai moi, cu elasticitate mai mică și extensibilitate mai mare în comparație cu grâul modern.

Parametrii de culoare ai probelor nu au fost influențați semnificativ de timpul de fermentare a aluatului acid. Perioadele de fermentare prelungite ducând la creșterea acestora. În general, proba cu emmer/P₃ a avut cele mai mari valori pentru luminozitate, tonurile de roșu și galben, urmată fiind de proba cu alac/P₁.

Analiza senzorială – Test Hedonic – a produselor finite a arătat că variantele de pâine în care s-a utilizat aluat acid fermentat pentru 12 ore sunt cele mai apreciate de către evaluatori în ceea ce privește aspectul, gustul și textura. Din punct de vedere al mirosului și a aromei, se poate vedea o scădere semnificativă odată cu creșterea duratei de fermentație a maiei (24 ore) în toate probele.

4.2.3. Rezultate și discuții privind direcția a treia de cercetare

Amidonul a atins valori maxime în toate variantele de pâine fermentate cu aluat acid fermentat pentru 12 ore (34.3 – 39.6 g/100g). Valorile ridicate înregistrate pentru acest timp de fermentație s-ar putea datora diferențelor dintre granulele de amidon în ceea ce privește dimensiunea și gradul de încorporare în matricea proteică. De asemenea potrivit studiilor, rata de digestie a acestuia scade ca urmare a producției de acizi organici, iar pâinea cu aluat acid conține o cantitate mai mare de amidon rezistent, o formă mai greu digerabilă a amidonului. Aceste aspecte conduc la concluzia că timpul în care organismul îl poate descompune crește semnificativ, fapt care provoacă menținerea nivelului de zahăr din sânge pentru o perioadă mai îndelungată.

Digestia *in vitro* a produselor finite a relevat că există o scădere a cantității de maltoză, glucoză, fructoză odată cu scăderea duratei de fermentație a aluatului acide. Astfel, în probele în care s-a utilizat aluat acid cu 24 ore de fermentație cea mai mare valoare în conținutul de maltoză s-a înregistrat la proba martor/P₀ cu 184.80 mg/g și cea mai mică la proba cu făină emmer/P₃ cu 137.08 mg/g. În ceea ce privește conținutul de fructoză, în prima probă/P₀ s-a determinat un nivel de 29.93 mg/g din acest glucid, iar în ultima/P₃ o cantitate de doar 21.11 mg/g. În timp ce pentru glucoză cele mai ridicate valori (după 24 ore) au fost consemnate în probele P₁/alac – 12.90 mg/g și P₀/grâu comun – 13.13 mg/g, iar cea mai mică din nou în proba P₃/emmer – 10.02 mg/g. De asemenea, reziduurile rezultate în urma digestiei conțin cantități apreciabile din aceste monozaharide, cu precădere de maltoză. În ceea ce privește gradul de digestibilitate *in vitro* (IDV), acesta a crescut odată cu durata de fermentație. Cea mai mare rata a fost înregistrată în proba cu făină din emmer/P₃ (86.5% 24 H).

Ca și o concluzie, nivelurile de carbohidrați înregistrți în probele de pâine conduc la ipoteza că pâinile obținute din făinuri străvechi, fermentate cu aluat acide din făinuri străvechi și *Lb. plantarum* ATCC 8014, și în compoziția cărora s-au adăugat și alte ingrediente menite să scadă indicele glicemic (inulină) pot avea un anumit potențial în reducerea nivelului de glucoză din sânge.

5. CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI

Pe baza rezultatelor obținute în aluaturile acide se poate afirma că *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 prezintă o bună adaptabilitate, o creștere celulară și o rată bună de acidificare, în aluatul acid obținut cu făină de grâu, făină de alac, făină de spelta și făină de emmer, între aluaturile acide din grâu străvechi și aluatul acid din grâu comun fiind diferențe clare. Metaboliți specifici fermentației au fost identificați ca urmare a interacțiunii dintre făinurile străvechi și *Lb. plantarum* ATCC 8014. Dintre cerealele străvechi, grâul emmer a prezentat un comportament distinctiv în timpul fermentației în ceea ce privește dinamica celulară, metabolizarea carbohidraților și formarea acidului lactic. Acest lucru ar putea fi explicat prin conținutul său mai mare în amidon rezistent, dar și datorită cantităților mai mici în zinc și mangan, factori importanți pentru propagarea celulelor microbiene. Analiza cluster a arătat compuși volatili specifici pentru fiecare tip de aluat acid.

În ceea ce privește produsele finite (pâinea) analizele statistice ale datelor obținute au indicat diferențe clare între probele obținute din soiuri moderne și cele obținute din soiuri străvechi. Atât compoziția chimică specifică a făinurilor, cât și fermentația aluatului acid au influențat semnificativ proprietățile nutriționale, texturale și senzoriale ale pâinilor. Fermentația aluatului acid a îmbunătățit conținutul în compuși bioactivi (minerale, polifenoli), în aceeași măsură în care au îmbunătățit caracteristicile texturale și senzoriale. De asemenea, digestibilitatea *in vitro* a probelor de pâine a avut valori tipice pentru pâinea cu conținut ridicat în fibre și chiar dacă conținutul de fructoză a fost mai mare în fracțiile digerate decât cel de glucoză, concentrația nu este prea mare pentru o dietă rațională. Cu toate acestea, la fel ca și în cazul aluatului acid, variantele de pâine cu grâu emmer au prezentat diferențe semnificative statistic față de restul cerealelor. Pâinea cu grâu emmer a prezentat cea mai mare digestibilitate, conținut în compuși volatili, precum și parametri texturali.

5.1. Elemente de originalitate a tezei

Elementele de originalitate a tezei presupun în următoarele:

- caracterizarea și compararea principalelor specii de grâu străvechi (*Triticum monococcum* – alac, *Triticum spelta* – spelta, *Triticum dicoccum* – emmer) din punct de vedere al compoziției chimice;
- caracterizarea procesului de fermentație a aluaturilor acide obținute din făinurile unor specii străvechi de grâu;

- determinarea influenței fermentației lactice asupra conținutului în compuși bioactivi și compuși volatili din aluaturile acide cu ajutorul tehnicilor HPLC-RID, AAS, ITEX/GC-MS;
- caracterizarea aluaturilor acide din punct de vedere reologic;
- utilizarea aluaturilor acide în obținerea unor produse finite inovative, cu potențial funcțional;
- caracterizarea produselor finite cu ajutorul determinărilor fizico-chimice (macronutrienți), spectrofotometrice (compuși bioactivi, compuși volatili), reologice, colorimetrice și senzoriale;
- digestia *in vitro* a produselor finite obținute prin fermentarea cu aluaturi acide și studierea influenței acestora asupra conținutului în zaharuri reducătoare (maltoză, glucoză, fructoză).

5.2. Perspective de viitor

Pe baza rezultatelor obținute se propun următoarele perspective pentru viitor:

- determinarea indicelui glicemic al pâinii fermentate cu aluat acid și determinarea gradului în care acesta este influențat de fermentația lactică și de compoziția chimică (ex: fibre) a făinurilor străvechi (alac, spelta, emmer);
- efectuarea unor studii clinice în scopul determinării răspunsului glicemic ca urmare a consumului de pâine îmbogățite în fibre, obținută din alac, emmer, spelta, secară folosind metoda indirectă;
- utilizarea și a altor microorganisme (*Lactobacillus sanfranciscensis*, *Weissella confusa*) în fermentarea făinurilor străvechi cu scopul identificării unei tulpini cheie de microorganisme care să maximizeze conținutul în anumiți compuși bioactivi ;
- efectuarea unor analizele chimice care să aprofundeze și să compare potențialul bioactiv al speciilor moderne de grâu și a celor străvechi;
- delimitare mai clară (determinări fizico-chimice, tehnici de analiză avansată) între făinurile de alac, spelta și emmer în ceea ce privește valoarea nutrițională.