ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE
---

(19)

المملكة المغربية
المكتب المغربي للملكية الصناعية و التجارية

(12) **FASCICULE DE BREVET**

(11) N° de publication :
MA 37976 A1

(43) Date de publication :
31.05.2016

(51) Cl. internationale :
A23L 1/015; A23L 1/182; A23L 1/10

(21) N° Dépôt :
37976

(22) Date de Dépôt :
03.04.2015

(30) Données de Priorité :
02.10.2012 IT RM2012A000468

(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :
PCT/IB2013/000797 29.04.2013

(71) Demandeur(s) :
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI FOGGIA, Via Gramsci, 89/91 I-71122 Foggia (IT)

(72) Inventeur(s) :
DI LUCCIA, Aldo ; LAMACCHIA, Carmela ; GIANFRANI, Carmela

(74) Mandataire :
ATLAS INTELLECTUAL PROPERTY

(54) Titre : **PROCÉDÉ POUR LA DÉTOXIFICATION DES PROTÉINES DE GLUTEN DE GRAINS DE CÉRÉALES**

(57) Abrégé : La présente invention concerne un procédé qui permet d'obtenir des farines détoxifiées de gluten adaptées pour la préparation de produits de boulangerie et de pâtes à base de blé. Avec l'utilisation du procédé, les protéines de gluten subissent des changements structuraux qui n'activent pas chez les patients souffrant de maladie cœliaque, la cascade des cytokines inflammatoires. De tels changements structuraux, en outre, n'affectent pas les propriétés techniques des farines qui forment la pâte, permettant ainsi la préparation de produits détoxifiés, de goût et aspect similaires à ceux couramment utilisés dans le régime méditerranéen et qui sont destinés non seulement aux personnes qui souffrent d'intolérance au gluten, mais à l'ensemble de la population. L'utilisation généralisée de ces produits détoxifiés chez une grande partie de la population a pour but, d'une manière totalement innovante, de provoquer la réduction des effets du gluten sur la santé des gens et donc de diminuer l'incidence de la maladie cœliaque.

وصف مختصر

الطريقة تسمح بالحصول علي جلوتين مزال منه الدقيق مناسب لتحضير منتجات الخبز والمعكرونة من القمح. ومع استخدامالطريقة تتعرض بروتينات الجلوتين الي تغيرات تركيبية لا تنشط شلال السيتوكينات الالتهابية في المرضي الذين يعانون من امراض الجهاز الهضمي .

ومثل هذه التغيرات التركيبية , بالاضافة الي ذلك , لا تؤثر علي الخواص الفنية للدقيق والتي تكون العجينة , ولهذا تسمح بتحضير منتجات مزال منها السم , شبيهة في الطعم والمظهر لتلك التي تكون شائعة الاستخدام في غذاء سكان البحر المتوسط , والتي ليست فقط مقصودة للاشخاص الذين يعانون من عدم تحمل الجلوتين ., ولكن لكافة السكان .

والاستخدام المنتشر لمثل هذه المنتجات المزال منها السموم في جزء كبير من سكان لديهم الغرض , بطريقة ابداعية كليا , لتحفيز تقليل تأثيرات الجلوتين علي صحة الافراد ولهذا يقلل حدوث مرض اضطرابات الجهاز الهضمي .

MA 37976A1

37976A1

31 MAI 2016

طريقة لإزالة السموم من بروتينات الجلوتين من محاصيل الحبوب .

يقترح الاختراع الحالي طريقة لازالة السموم من بروتينات الجلوتين من محاصيل الحبوب , بالاخص من حبوب القمح , تهدف الي الحصول علي دقيق مزال منه السموم لتحضير منتجات الخبز و المعكرونة , من القمح كافية مناسبة لتغذية المرضي الذين يعانون من امراض الاضطرابات الهضمية , ولكن ايضا كافية للإحتفاظ بخصائصها العضوية ولمنظورها , لتغذية كل البشر.

ملحوظة فنية

الجلوتين مكون غذائي يتكون في الاساس من بروتينات , يمثل البرولامين حوالي 80% من جزء البروتين كاملا موجود في بُرة(الثمرة الجافة) الحبوب ويتكون في الأساس من الجليادين والجلوتينين.

الجليادين هي جزيئات احادية الوحدات تصنف مثاليا الي الفا , بيتا , جاما و اوميجا (طبقا للحركة الكهربية) حيث بسببها حالة احادي الوحدات تكون بسبب غياب بقايا السيستيين كما هو الحال في اونيجا-جليادين , او بسبب وجود روابط ثنائي سلفايد داخل جزيئية فقط (الجليادين المتبقي).

الجلوتينين بالرغم من ذلك , عبارة عن بوليمر معقد التركيب , يتكون من وحدات فرعية عالية (HMW-GS) ومنخفضة (LMW-GS) الوزن الجزيئي , مثبتة من من موصلات ثنائي السلفايد داخل جزيئية ثابتة , تعزي الخواص الفنية للدقيق الي الجليادين والجلوتينين , تساهم الجليادين في لزوجة العجينة ,بينما الجلوتينين مسئولة عن مرونة العجينة .

وبالأخص . كمية وحجم بوليمرات الجلوتيني بصورة ايجابية تتعلق بالخصائص الفنية للعجينة .

هذه الخصائص لبوليمرات الجلوتينين تعتمد علي قدرة الوحدات الفرعية الفردية لتكوين اكثر او اقل من البوليمرات الممتدة . الجلوتين بالاخص لا يكون موجود في بُرة الحبوب , ولكن يتكون في وقت آخر , والجلوتين كمركب معقد من البروتينات يتكون كنتيجة للتميه وعجن العجينة ويتكون من عناصر ضرورية لانتاج الدقيق والخبز ويعزي اليه لزوجة ومرونة العجين . وكما هو معروف بالفعل , عندما يضاف الماء الي الدقيق , الجليادين (يتكون من بروتين مفرد السلسلة) يبدأ في ان يتجمع كل واحد مع الاخر ليكون الياف دقيقة (الياف صغيرة ورفيعة) يعزي اليها تمدد كتلة الجلوتين . وبالتزامن , ايضا الجلوتينين (المكونة من وحدات بروتين فرعية مختلفة) تتجمع كل واحدة مع الاخري , لتخلق الياف لها ابعاد اكبر وتكون تركيب , ثابت وعالي التماسك , وهو الذي يعطي تماسك ومقاومة معينة لتمدد العجينة . قوة ودرجة تخمر العجينة طبقا لذلك تعتمد

علي النسبة بين محتوي الجليادين والجلوتينين في الدقيق. والعلاقة بين فئتي البروتينات تعتمد علي تعدد انواع الحبوب وتعطي الجلوتين القدرة علي التحلل ومقاومة الانتفاخ.

وخلال الفعل الميكانيكي للعجن , الالياف الدقيقة لألياف الجلوتينين والجليادين تبدأ في التضفر كل مع الاخر , لتكون شبكة ثلاثية الابعاد التي يدمج فيها حبيبات النشا (شكل .1) , الدهون , المعادن , الماء وفقاقيع الهواء , والأخر هام جدا لانتاج التخمر الكحولي للخميرة . بينما الخميرة تضاف الي الخميرو , انتاج الكحول وثاني اوكسيد الكربون يحدد تمدد شبكات الجلوتين , والتي توسع وتريح نمو حجم نفس العجينة .

والطبخ التالي يحدد تغيير طبيعة /تخثر البروتينات وايضا الجلوتين . يفقد القدرة علي التمدد , التثبيت بطريقة معكوسة لشكل وتركيب العجينة .

.

الجلوتين كمركب بروتيني معقد ليس له خواص مغذية معينة و لانه يفتقر الي الاحماض الامينية الضرورية مثل الليسين , اليثونين , والتريبتوفان.

غياب هذا المركب في الغذاء لا يشمل اي خطر غذائي معين.

وعلي صعيد اخر , الجلوتين قادر علي أداء نشاط سام بالاخص ضد الغشاء المخاطي للأمعاء , ولهذا فالتحمل الدائم لجلوتين القمح والبروتينات المقابلة للجاودار , الشعير والشوفان , والتي تمكن من حدوث تسلسل التهابي للسيتوكينات , والتي تعرف بمرض الاضطرابات الهضمية .

في البداية , كان من المعتقد ان التاثير السام للجلوتين يمكن ان يكون بسبب جزء الالفا جليادين , وبالتالي كان من الواضح انه حتي الاوميجا جليادين والجلوتينين قادرة علي تحفيز تلف الغشاء المخاطي المعوي , وايضا بروﻻمينات الحبوب المتعلقة مثل الشعير (اوردرين) , الجاودار (السيكالين) والشوفان (الافينين).

وكإهتمام خاص تم دراسة ببتيد من 33 حمض اميني للالفا جليادين المذكور , يسمي 33 مير , والببتيد المذكور قادر علي مقاومة النشاط المحلل للبروتين للانزيمات الهضمية والتي تصل سليمة الي الغشاء المخاطي المعوي , حيث لها قابلية عالية لترانس جلوتاميناز في الانسجة , وتبذل نشاط محفز للجهاز المناعي في الفرد عند الخطر.

ومثل هذا التأثير سوف يتحدد بعد ازالة مجموعة الامين من الحاتمات السامة من الببتيد ,عن طريق التنشيط المكثف للخلايا الليمفاوية حيث TCD4 تطلق السيتوكينات الالتهابية (شوبان أي تال, 2009).

بالإضافة الي ذلك تبين ان الحاتمات السامة الاخري للألفا جليادين سوف تكون قادرة علي تحفيز الانيتروسيت (الخلايا المعوية المشتقة من الانسجة المزروعة من الغشاء المخاطيالمعوي في المرضي الذين يعانون من اضطرابات في الجهاز الهضمي .

ولهذا فالجلوتين يبذل تأثير ضار علي الغشاء المخاطي العموي عن طريق تنيط التسلسل الالتهابي للسيتوكينات وعن طريق التسبب في تأثير سام مباشر . والعلاج الغذائي لامراض اضطرابات الجهاز الهضمي في البداية اساسه الازالة الكلية من الغذاء من كل الحبوب والأطعمة التي تحتوي علي الجلوتين (خاصة الخبز والمعكرونة , المنتجات المعروفة جيدا التي نحصل عليها من القمح والاطعمة الاخري من تغذية البحر المتوسط) في نفس اللحظة التي يحدث فيها اعراض مثل عدم التحمل هذا , مثل الم البطن , انتفاخ البطن , التهاب المعدة , التهاب الفم القلاعي , اختلالات المزاج , الصداع وهكذا , تظهر , هذا العلاج سمح للمرضي بالحصول علي تقليل الاعراض وتعافي تركيب الغشاء المخاطي , وفي حالات وجود القرح المثالية , هذا العلاج بالرغم من ذلك يشمل صعوبة في الاستمرارية علي مرور الوقت , لانه يخلق تحديدات هائلة في غذاء المريض , وبالتالي في الانشطة الاجتماعية التي تتعلق بالطعام , ولحل هذه المشاكل ثم تقرير انتاج طعام خالي من الجلوتين للأشخاص الغير متحملين للجلوتين , او الطعام حيث الجلوتين لا يمكن ان ينشط التفاعل الالتهابي , ولاجل السماح للمرضي ليكون لهم اسلوب حياة طبيعي عن طريق تناول طعام بصورة جزئية يشبه في الطعم والمظهر الخبز والمعكرونة.

وحاليا , بعض الطرق معروفة بفضلها تم الايقاف الجزئي للتأثير السام للجلوتين.

وطريقة في المرحلة التجريبية والتي لم تبين التاثير المطلوب هي كانت لخلق قمح مزال منه السم من خلال التلاعب الجيني , أي التعديل بطريقة حيث لا تحتوي علي تتابعات تحفز الجهاز المناعي والتي تحكم انتاج الحاتمات السامة للجلوتين يمكن ان تنبه الخلايا الليمفاوية –T.

وتحديد اول لهذه الطريقة هو صعوبة التعرف علي كل التتابعات الجينية (حاليا حوالي اربعين , توضع علي موقع الستة لاثنان مختلفان من الكروموسومات) والتي تحكم تشفير الببتيات النشطة مناعيا المحتواة في التركيب الاول لبروتينات الجلوتين , هذه الطريقة , اكثر من ذلك لا تضمن نتيجة معينة لانه يوجد احتمالية عالية لوجود جين غير معروف حاليا يشفر الحاتمات السامة .

وتحديد اخر يمكن ان يكون نقص ثقة المستهلك علي المدي الطويل فالمنتجات "المعدلة جينيا " ولهذا , فصعوبة مثل هذه المنتجات لدخول السوق الي وجهة عامة هدفها كل البشر .

وطريقة اخري للفن السابق , بالرغم من ذلك , تمد باستخدام الانزيمات (روزيلو أي تال , 2007) والتي تكون مكمل مع الانوبتديز من اصل بكتيري يضاف خلال تحضير الدقيق , قادر علي تجزئ بروتينات الجلوتين و , بالاخص , جزء 33-مير , وتحديد هذه الطريقة يكمن في انها باهظة جدا لانها تشمل استخدام انزيمات نقية , الاستخدام المحتمل فقط في الطعام المقصود لمرضي اضطرابات الجهاز الهضمي واصبحت بالتالي باهظة جدا نتيجة تكاليف الانتاج العالية.

وتحديد ثاني لهذه الطريقة هي ان استخدام هذه الانزيمات ينتج عنه تدمير كلي لشبكة عمل الجلوتين وبالتالي , تفقد الهجينة خواصها الفنية التي لا يمكن ان تستخدم في عمليات التحول في الخبز والمعكرونة وانت يجب ان تنتبه الي التركيب الهام لبعض المواد (اللبان , عديد السكاريد , النشا الجيلاتيني من قبل , الاجار ... وهكذا).

وطريقة اخري معروفة في الفن السابق , هي استخدام الانزيمات الميكروبية (الترانجلوتاميتيز) في وجود الليسين ميثيل استر لازالة السم , عن طريق ازالة الامين , والحاتمات السامة الموجوة في جلياديين القمح , لحفظ شبكة عمل الجلوتين وتبقي , لهذا , الخواص للقمح . وتحديد هذه الطريقة انها باهظة جدا لانها تشمل استخدام انزيمات نقية , الاستخدام المحتمل فقط في الطعام المقصود لمرضي اضطرابات الجهاز الهضمي واصبحت بالتالي باهظة جدا نتيجة تكاليف الانتاج العالية.

وتحديد ملحوظ اخر هو ان ازالة السموم تعتمد علي تركيز كلا البروتينين السامين والانزيم الميكروبي , وايضا التفاعل الحركي , ولهذه الاسباب يمكن للتجربة الا تعطي نتيجة معينة.

وكبدل لحل مشكلة عدم تحمل الجلوتين يمكن ان يكون استخدام مثبطات الزونيولين (فاسانو , 2008) , بروتين يظهر انه يلعب دور رئيسي في تغيير نفاذية الامعاء.

هذه الطريقة , بالرغم من ذلك تتجاهل حقيقة ان نقل الجلياين السام لا يحدث فقط بالطريقة بين الخلوية (والتي يمكن ان تغلق عن طريق مثبط الزنيولين) ولكن ايضا بالطريقة داخل الخلوية .

وبسبب هذه الضرورة , أي انتاج اطعمة مثالية لنظام غذائي لسكان البحر المتوسط , مثل الخبز والمعكرونة المشتقة من القمح , حيث فيها الجلوتين غير سام للأشخاص الذين يعانون من اضطرابات الجهاز الهضمي , والتي يمكن استهلاكها , لطعمها ومظهرها , من كافة البشر , والتي كونها هذا الاختراع.

وغرض الاختراع الحالي هو التغلب علي العيوب المذكورة للفن السابق عن طريق اقتراح طريقة لازالة السموم من بروتينات الجلوتين , بالاخص , من حبوب القمح , وايضا حبوب اخري , بالرغم من التعرض للميكروويف , بعد تعرضها لعملية التميه.

الاختراع الحالي , في الحقيقة , يهدف الي حل , بالاخص , المشكلة الفنية لانتاج طعام , خبز ومعكرونة للمرضي الذي يعانون من اضطرابات في الجهاز الهضمي وتجري الدقيق من الفعل السام للجلوتين بدون خسارة الخواص الفنية لتكوين العجينة.

والاكثر تخصصا , الاختراع الحالي , عن طريق علاج الحبة الناضجة بالميكروويف , في الاساس يرغب في حل المشكلة الفنية لانتاج دقيق مع جلوتين مزال منه السم , والذي في نفس الوقت , مناسب للانتاج الفني للمعكرونة , الخبز وانتاج منتجات الخبز من القمح بدون فقدان تكوين سبكة عمل الجلوتين.

واخيرا , الاختراع الحالي , بالرغم من انتاج الدقيق , بالتالي لمنتجات الطعام المشتقة من القمح ومكافئة في الطعم والمظهر لتلك شائعة الاستخام في تغذية سكان منطقة البحر المتوسط والتي تحد , بالرغم من استخدامها في الوقت ومن جزء كبير من السان , ليس فقطى في الاشخاص الذين يعانون من اضطرابات الجهاز الهضمي , تقليل حدو مرض اضطرابات الجهاز الهضمي في الاشخاص وبالتالي ايضا تأثير اقتصادي لانتاج منتجات طعام خاصة للاشخاص الذين يعانون من امراض الجهاز الهضمي .

وتم تحقيق ذلك بطريقة ازالة السموم طبقا لعنصر الحماية رقم 1.

<u>وصف مختصر للوحات الرسم</u>

سوف يوصف الاختراع الحالي الان , بالطريقة التوضيحية , ولكن ليس للحصر , مع اشارة خاصة للأشكال المرفقة حيث فيها :

شكل 1 يبين شبكة ثلاثية الابعاد مدمج فيها حبيبات نشا والمكونة في وجود ماء , خلال الفعل الميكانيكي للعجن من ارتباط الجليادين والجلوتينين.

شكل 2. يبين المظهر الكهربي للجليادين المستخلص من عينات مختلفة (أ,ب,ت,ث,ج,ح ,خ , د) حيث العينات ا وب تعالج بطريقة ازالة السموم من موضوع الاختراع الحالي .

شكل .3 يبين مظهر البروتين للسيمولينا المزال منه السم (شكل 3أ هو بروتين مذاب وبروتين غير مذاب هو شكل 3 ب) عن طريق تحليل SE-HPLC.

شكل .4 يبين رسم بياني لانتاج الانترفيرون في الخلايا الليمفاوية T المولدة من الغشاء المخاطي المعوي للمرضي الذين يعانون من امراض اضطراب الجهاز الهضمي .

شكل .5 يبين شبكة عمل الجلوتين والتي تكون مكونة بع المعالجة في الميكرووف حبوب ناضجة (ا) وشبكة عمل الجلوتين المكونة بصورة طبيعية (ب).

شكل .6 يبين طريقة تغطية الحاتمات السامة باتباع معالجة ازالة السموم , لجعا موقع الاتصال للجليادين غير قابل للولوج اليه و/او غير متعرف عليه عند مستوي معوي بواسطة الترانسجلوتاميتيز , والتي في حالات اضطرابات الجهاز الهضمي تحفز رد الفعل المناعي .

وصف الاختراع

في الاختراع الحالي , الموصوف هنا طريقة تمد بازالة السموم من بروتينات الجلوتين , بالاخص من حبوب القمح

.طريقة لعمل دقيق مذكور مزال منه السم عن طريق حاتمات سامة للجلوتين تضم المراحل التالية :

أ) تميه الحبوب , بالاخص فيالقمح, والتي تبقي الماء لمدة حوالي ساعة , ل100 جرامات من الحبوب الناضجة حيث يضاف 500 مل ماء , هذه المرحلة ضرورية لتحفيز التفاعلات الكيميائية الوظيفية لازالة السموم من بروتينات الجلوتين.

ب) ازالة الماء , هذه المرحلة تتم عن طريق التصريف بمصفاة لابقاء الحبوب وازالة الماء .

ت) المعالجة بالميكروويف للحبوب المتموهة (المهيدرة) لمدة دقيقتين باستخدام قوة 1000 وات , عند هذه المرحلة المهم , ليس درجة الحرارة داخل الفرن , ولكن قوة الموجات الكهرومغناطيسية التي تحفز من خلال الماء الموجود في الحبوب , تفاعلات ازالة السموم.

ث) تبريد الحبوب المعالجة بالميكروويف عند درجة حرارة الغرفة (20 -22 سلزية).

وكل المراحل المذكورة اعلاه اجبارية , فهيدرة (تميه) الحبوب لمدة ساعة يسمح للبذور بتراكم كمية من الماء المطلوبة تحفيز تفاعلات ازالة السموم من الجلوتين, في وجود موجات كهرومغناطيسية ,

وقوة 1000 وات , تطبق طبقا للخطوات الموصوفة اعلاه , كافية لمة دقيقتين بحيث ان الطاقة المتراكمة من الماء تفضل انتاج شق اوكسجين , هيدروكسيل او هيدروجين احادي عن طريق الايض الخلوي (البيروكسيديز , الليبواوكسجينز وهكذا) وهذه المركبات عالية التفاعل داخل بذرة القمح تشمل تفاعلات بلمرة لبروتينات الجلوتين

الموجودة في قطاعات مختلفة من البرة (اجسام بروتينية موجودة في طبقة الاليورون واجسام بروتينية موجودة في الاندوسبرم) عن طريق الروابط بين الجزيئات و/او الروابط داخل الجزيئات مع تغير في الشكل الفراغي .

والتبريد البطئ الي دجرة حرارة حوالي 20 سلزية يسمح باتمام التفاعلات الكيميائية المحفزة من فعل الموجات الكهرومغناطيسية والماء.

الطريقة الموضة في الاختراع الحالي اساسها تحليل الدراسات الحديثة حيث فيها لاماشيا واخرون (2010) قد سجلت انه , عندما درجات الحرارة العالية تطبيق علي برة القمح , البروتينات يحدث لها تغيرات ليسن مشابهة للتلك الموجودة في انظمة النماذج , تتكون فقط من الجلوتين (شوفيلد أي تال , 1983 , سنج اند ماكريتشي ,2004) , ولا حتي التي تري في المعكرونة خلال دورات التجفيف.

وبالاخص , الالبيومين والجلوبيولين ليست ممجة في بوليمرات عالية الوزن الجزيئي ولكن تتجمع وتتداخل مع الجلياديين لتكون تجمع وزن جزيئي متوسط عن الموجود في الجلياين والالبيومين والجلوبيولين والتي ينشأ عنها قمة جديدة " بروتين وسط " قمة IP.

ومساهمة الاوميجا-جلياديين لهذه التغيرات تقترح التداخل بين البروتينات التي تحدث ليس فقط من خلال تكون روابط ثنائية السلفايد ولكن ايضا من خلال تكون روابط تساهمية تشمل بقايا تيروسين.

وباحثي لاماشيا واخرون (2010) قد شرحوا هذه الظاهرة علي اساس حقيقة ان برة القمح , الجلوتين ليست مكونة حاليا وبروتينات الجلوتين موقعها في اجسام بروتينية مختلفة (روبين أي تال , 1992 ' كريشمان أي تال 1986 , لانديتج أي تال 1989).

ودراسة حديثة , توسي واخرون (2009) مؤكدة , في الحقيقة , ان HMV بالاخص متركزة في الطبقة الداخلية لبرة القمح (الاندوسبرم) وعمليا غير موجودة تحت طبقة الاليرون والتي بالرغم من ذلك , غنية بالجلياديين والLMW.

هذا النمط من التموضع يبقي خلال مرحلة تطور برة القمح ويستمر حتي بع دمج اجسام البروتين وتكوين شبكة النشا.

ولهذا , ففصل بروتينات الجلوتين في اجسام البروتين عندما تكون في البرة وتطبيق درجات حرارة عالية في هذه المرحلة قبل الطحن , سوف تسمح لمثل هذه البروتينات للتغيرات التركيبية المختبرة بحيث لا تجعلها متعرف عليها بعد الأن عن طريق الترانس جلوتاميناز المعوي ,ولهذا تمنع شلال السيتوكينات الالتهابية.

تتموه الحبوب وتعرض الي العلاج بالميكروويف , ليتولد شق مائي يحفز بلمرة بروتينات الجلوتين .

تظهر هذه البلمرة انها مفضلة عندما تتفصل بروتينات الجلوتين في اجسام البروتين بسبب حقيقة انه داخل اجسام البروتينات هذه تكون قريبة جا من بعضها لتسمح بالتداخل السهل بين الفئات المتعددة اعتمادا علي نوع جسم البروتين حيث فيها تكون , في حالة اجسام البروتين الحصوية (طبقة الاليورون) يمكن ان نحصل علي تداخلات بين الجليادين , LMW والالبيومين /الجلوبيولين , في حالة اجسام بروتين النوع الاندوبلازمي (طبقة الاندوسبرم) يمكن فقط ان نحصل علي تداخلات بين HMW.

تحفز البلمرة بالماء وعن طريق الموجات الكهرومغناطيسية لا تحدد فقدان مجموعات السلفاهيدريل الحرة , الضرورية لتكوين الجلوتين , لينتج عنها شبكة عمل بروتينية بالرغم من الاختلاف في الشكل (شكل 5أ) (بسبب التداخل للتجمعات المختلفة سالفة الذكر) ولكن تضمن خواص فنية كافية لتحويل دقيق القمح في المنتج النهائي .

بلمرة بروتينات الجلوتين بشق الماء يفضل من الموجات الكهرومغناطيسية تنتج تكوين روابط تساهمية بين بروتينات الجلوتين هذه . تكون هذه الروابط بين بين بروتينات الجلوتين داخل الاجسام البروتينية يسمح بتغطية الحاتمات السامة , كما هو مبين في شكل6 , لجعل موقع الهجوم للجليادين غير قابل للولوج و/او غير متعرف عليه عند المستوي المعوي عن طريق الترانسجلوتاميناز , والتي تكون في حالات اضطرابات الجهاز الهضمس تحفز رد الفعل المناعي .

التغيرات التركيبية لبروتين الجلوتين للدقيق مزال منه السم تم التركيز عليها في الاختبار الذي يمكن ان يحدد مؤشر الجلوتين, يقيم قوته .

جلوتين الدقيق مزال منه السم , يمر بصورة كاملة من خلال قضبان الجهاز الكهربية , وتتعرض الي ترشيح مكونات الحبة , لتدل علي وجود تغيرات تركيبية في بروتين الجلوتين.

والتغيرات التركيبية للجلوتين للدقيق مزال منه السم تحلل افضل في الاشكال 2 و3 , شكل 2 يبين تغير نمط بروتين الجليادين المستخلص من العينات المختلفة للحبوب المعالجة بطريقة ازالة السموم الخاصة بالاختراع الحالي (أ و ب- قمح سيمولينا من نوع ديورم) , يقارن بعينات اخري غير معالجة (ت , ث , ج-سيمولينا من نوع ديورم , ح ,خ ,د دقيق قمح ناعم) , بروتينات الجليادي والجلوتين والتي تكون ذائبة في الكحول تحتوي علي حاتمات سامة متعرف عليها في الامعاء.

وانخفاض كثافة الروابط الكهربية يشير الى التغير الكمي والنوعي للجليادين.

كمي بسبب ان معظمها , نتيجة عمليات البلمرة يحفز بالعلاج باليكروويف , تم جعله غير ذائب في محلول ايثانول الي 70% ولهذا ليست محددة في الجل الكهربي (الاليكتروفورسيس).

نوعي لان الروابط المرئية بالرغم من ذلك تجمع الجلياديين (والتي تتعرض الي البلمرة من الميكروويف) الي اقل وزن جزيئي ولهذا يمكن استخلاصها بمحلول ايثانول ويمكن تحديدها بجل الرحلان الكهربي , ولكن بالرغم من ذلك غير سامة طبقا للاكتشافات المناعية التي تم عملها في المعمل (شكل .4).

وعلي صعيد اخر , الاشكال 3أ و 3 ب , تبين اثنان من الرسوم البيانية التي تشيرالي مظهر البروتين للبروتينات المعتبر القابلة والغير قابلة للذوبا , المستخلصة من الحبوب المزال منها السموم (المنحنيات المظللة بالرمادي الداكن) والحبوب الغير معالجة (المنحني المظلل بالرمادي الفاتح) عن طريق SE-HPLC , شكل 3أ يشير الس اثنات من القمم الاساسية , واحد علي اليمين يمل بوليمرات عالية الوزن الجزيئي (HMWI و) والايسر يمثل اوليجومرات واحادي الوحدات للجلياديين , يبين الرسم البياني انخفاض ذائبية بروتينات الجلوتين بعد ازالة السموم للاختراع الحالي .

الشكل 3 ب يشير الي زيادة قمتين في الدقيق مزال منه السم , ليشير الي زيادة البروتينات الغير ذائبة في المعالجة بإزالة السم.

هذه التغيرات التركيبية لبروتينات الجلوتين من المحتمل ان تجرد الجلوتين من سميته , بفضل تغطية موقع الهجوم للترانسجلوتاميناز (شكل 6) وللسماح بإبقاء الخواص الفنية للعجينة بسبب ابقاء مجموعات السلفهيريل الحرة , الضرورية لتكوين شبكة عمل الجلوتين (الاشكال 5أ و5ب).

وباعتبار فقدان سمية الجلوتين الموجود في الدقيق المعالج , شكل 4 يبين ان الرسم البياني للخلايا الليمفاوية المناعية (خلاياT) للمرضي الذين يعانون من اضطرابات الجهاز الهضمي , في هذا المخطط يمثل انتاج الانترفيرون-γ في صفوف الخلايا T الليمفاوية المأخوذة من الغشاء المخاطي المعوي للمرضي الذين يعانون من اضطرابات الجهاز الهضمي , صفوف الخايا قد اثبتت انها عالية الاستجابة للجلياديين من القمح سداسي

القيمة الصبغية (تربيتيك دايجست ببتو-PT) بعد ازالة الامين مع اسنجة الترانسجلوتاميناز بينما اي نشاط مناعي للجليادين يستخلص من الدقيق A وB المعالج عند تركيزات 50 و 100 مجم /مل تم ملاحظتها.

وأخيرا , باعتبار الابقاء علي الخواص الفنية للدقيق المزال منه السم , فنحن نعرف ان العجن بالماء , الدقيق يمتص الماء يسبب ارتباط الجليادين والجلوتينين و , لهذا , فتكوين شبكة عمل الجلوتين التي تؤثر علي تكوين الكتلة اللزجة المرنة لحبس الغاز.

يزال السم من الدقيق عن طريق هذه الطريقة يبقي القدرة علي عجن العجينة لانها لا تفقد قدرتها علي تكوين روابط بين مجموعات ثنائي السلفايد السيستيين الحرة (اشكل 5أ و 5 ب) الضرورية لتكوين شبكة العمل , العجينة نحصل عليها من الدقيق المزال منه السم ليبقي علي خصائص قابلية التمدد , والتي كما هو معروف يكون اساسيا بسبب الجليادين , يفقد جزيئا المرونة واللزوجة بسبب تكوين تجمعات اجسام البروتين من خلال روابط تساهمية .

وبالاخص , فقدان جزء من المرونة يكون بسبب التفاعل بين الوحدات الفرعية للHMW, من خلال روابط تساهمية تشمل الاحماض الامينية للجزء الاساسي للوحدة الفرعية للبروتين عالية الوزن الجزئيئ , والتي تكون معروفة , من دراسات الفن السابق , لتحدد مرونة العجينة.

فقدان لزوجة العجينة يكون بسبب تداخل الجليادين ; كل واحد مع الاخر , لانه مسئول عن خواص اللزوجة .

<u>مميزات اضافية للاختراع</u>

ميزة اولي للطريقة تكون من هذه الحبوب والدقيق سوف يكون من المحتمل ان ينتج طعام غير سام للافراد الذين يعانون من امراض اضطرابات الجهاز الهضمي مع الخواص العضوية لمكافئة في الطعم والمظهر لتلك التي تكون شائعة الاستخدام المستخدمة في تغذية سكان البحر المتوسط .

الميزة الثانية هي ميزة اقتصادية , بسبب المادة الخام المستخدمة , القمح (ايطاليا هي واحدة من اكبر منتجي القمح في العالم) , بدلا من الذرة وكل المواد التركيبية (الاطار , الاجار , الجيلاتيني وهكذا) والتي تكون باهظة الثمن ولكن ايضا للاستخدام خلال تجربة فقط الماء والموجات الكهرومغناطسيسة لمدة زمنية قصيرة , وبالتالي , المنتجات الخالية من الجلوتين لن تكون باهظة الثمن بعد الان .

الميزة الثالثة هي الصحة , لان قمح الدقيق اقل نشوبة عن الذرة (المستخدم حتي تم معرفة انتاج منتجات خالية من الجلوتين) ولهذا ينتج عنها منتجات تتميز بمؤشر سكر في الدم منخفض ولهذا مثل هذه المنتجات سوف تكون مثالية لاطعام المرضي الذين , بالاضافة الي مرض اضطرابات الجهاز الهضمي يعانون ايضل من السكري نوع 1 , وهو ارتباط متكرر الملاحظة بسبب الركيزة الجينية الشائعة المحتملة وجودها في كلا المرضين .

الميزة الرابعة هي بشاطة الخطوات , بسهولة يمكن تطبيقها ايضا علي حبوب اخري تشمل , كمثال , الشعير لانتاج البيرة , الخالية من الاوردرين السام (بروتينات شبيهة بجلياديين القمح) او الشوفان لعمل منجات للإفطار , ايضا خالية من المواد السامة (بروتينات شبيهة بجلياديين القمح).

الميزة الخامسة هي انتاج الاطعمة يحددها , من خلال استخدامها زمن وعدد كبير من السكان , ليس فقط الافراد الذين يعانون من امراض الاضطرابات الهضمية في الافراد بسبب التاثير المناعي الاصغر للمنتجات المزال منها السم .

الاختراع الحالي موصوف للاغراض التوضيحية , بدون اي حصر , ولكن حيث يمكن فهم ان الاختلافات و/او التعديلات يمكن ان تتم من قبل الماهرين في الفن بدون الخروج عن مجال الحماي كما هو محدد من عناصر الحماية المرفقة.

عناصر الحماية

1. طريقة لإزالة السموم من بروتينات الجلوتين من حبوب محاصيل الحبوب , تتميز بالمراحل التالية:

أ. تميه الحبوب بالماء., بالأخص في القمح, والتي تبقي الماء لمدة حوالي ساعة , ل100 جرامات من الحبوب الناضجة حيث يضاف 500 مل ماء , هذه المرحلة ضرورية لتحفيز التفاعلات الكيميائية الوظيفية لازالة السموم من بروتينات الجلوتين.

ب. ازالة الماء من بذور الحبوب

ت. المعالجة بالميكروويف للحبوب .

ث. تبريد بذور الحبوب.

2. طريقة لازالة السموم من بروتينات الجلوتين طبقا لعنصر الحماية 1 , يتميز بان في خطوة التميه هذه الحبوب تعالج في اطار زمني بين 30 دقيقة و 3 ساعات وتشمل استخدام 500 مل من الماء لكل 100 جم من الحبوب.

3. طريقة لازالة السموم من بروتينات الجلوتين طبقا لعنصر الحماية 2 تتميز بان الاطار الزمني حوالي ساعة واحدة.

4. طريقة لازالة السموم من بروتينات الجلوتين طبقا لعنصر الحماية1 تتميز بأن ازالة الطبقة المائية يتم عن طريق التصريف باستخدام وسائل مثفاة.

5. طريقة لازالة السموم من بروتينات الجلوتين طبقا لعنصر الحماية 1, تتميز بان مرحلة المعالج بالميكروويف للحبوب يتم في اطار زمني بين واحد الي ثلاث دقائق , باستخدام قوة ما بين 750 و1500 وات.

6. طريقة لازالة السموم من بروتينات الجلوتين طبقا لعنصر الحماية 5 تتميز في ان الفترة الزمنية يفضل ان تكون دقيقتين والقوة المستخدمة 1000 وات.

7. طريقة لازالة السموم من بروتينات الجلوتين طبقا لعنصر الحماية 1 تتميز في ان مرحلة التبريد للحبوب تتم عند درجة حرارة ما بين 18 سليزية و 24 سلزية.

8. تطبيق الطريقة طبقا لعنصر الحماية 1 الي 7 لازالة السموم من القمح من الحاتمات السامة للجلوتين.

9. استخدام القمح الذي نحصل عليه طبقا لعنصر الحماية 8 لانتاج سمولينا ودقيق للأشخاص الذين يعانون من مرض اضطرابات الجهاز الهضمي والاشخاص الذين يعانون من السكري نوع1.

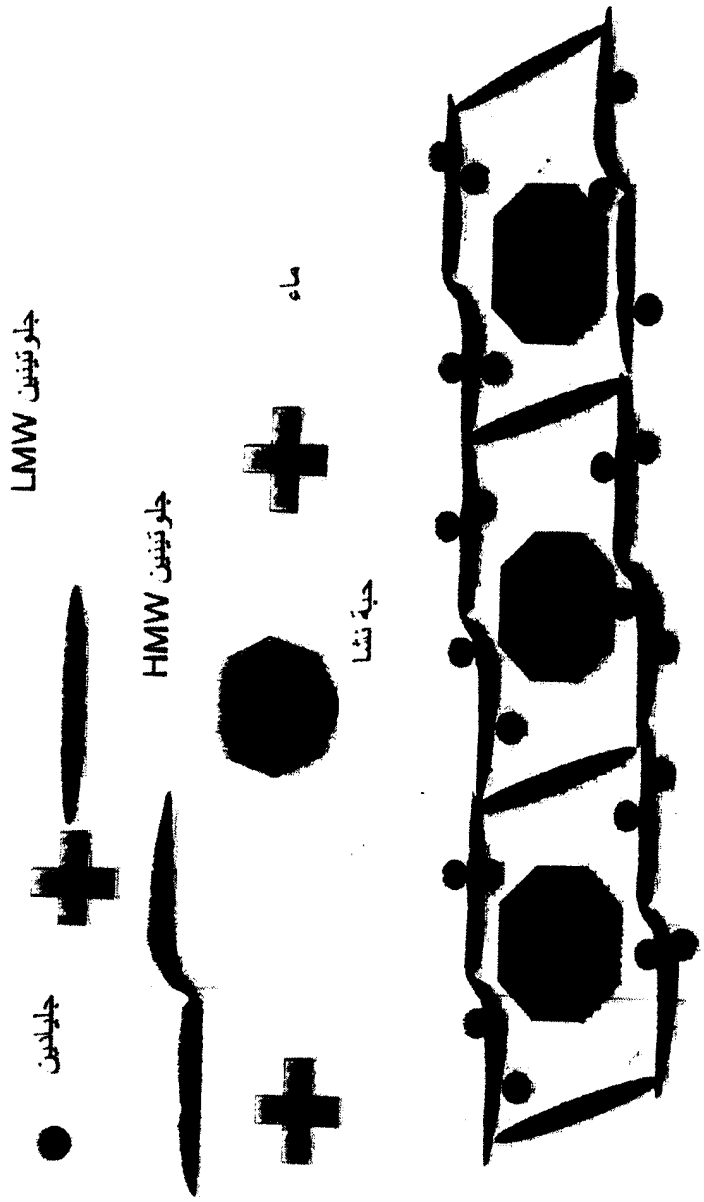
10. تطبيق الطريقة طبقا لعناصر الحماية 1 الي 7 لازالة السموم من الشعير من الحاتمات السامة للجلوتين.

11. استخدام الشعير الذي نحصل عليه طبقا لعنصر الحماية رقم 10 لانتاج البيرة الخالية من الاوردرين السام.

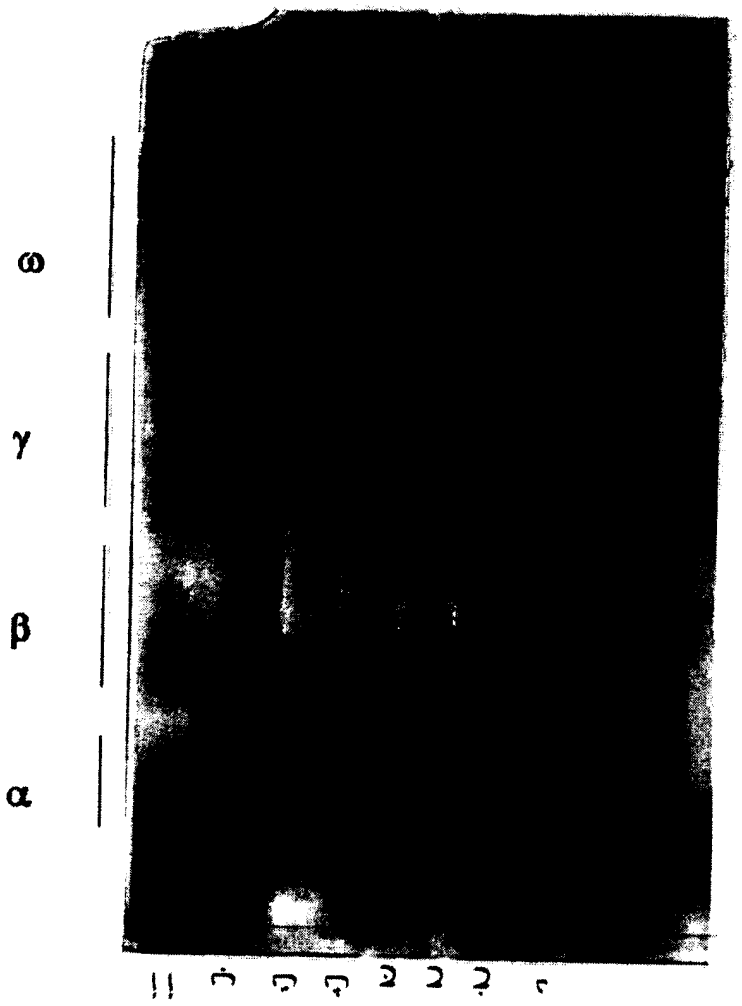
12. تطبيق الطريقة طبقا لعناصر الحماية 1 الي 7 لازالة السموم من الشوفان من الحاتمات السامة للجلوتين.

13. استخدام الشوفات الذي نحصل عليه طبقا لعنصر الحماية رقم 12 لانتاج منتجات خالية من الافينين السام.

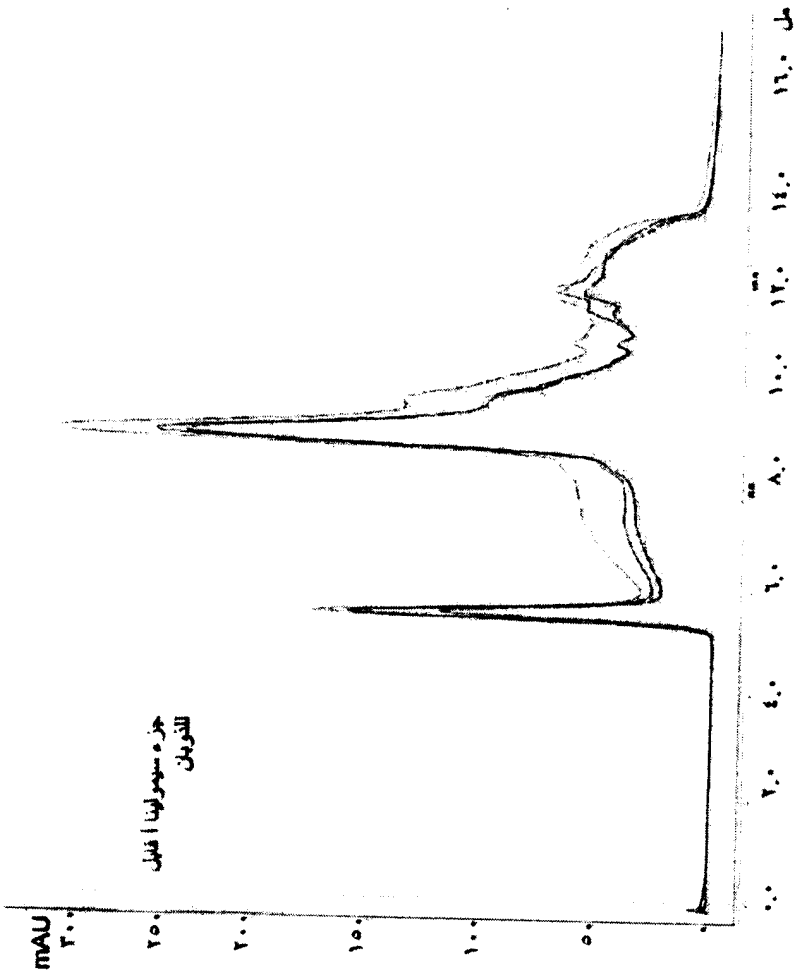
14. استخدام الدقيق المصنوع من حبوب محاصيل الحبوب من الحاتمات السامة للجلوتين طبقا للطريقة الموصوفة في عناصر الحماية 1 الي 7 , لتحضير مواد غذائية مناسبة للاشخاص الذين يعانون من مرض اضطرابات الجهاز الهضمي ومكافئة في الطعم والمظهر , لمواد غذائية مستخدمة في غذاء سكان البحر المتوسط.



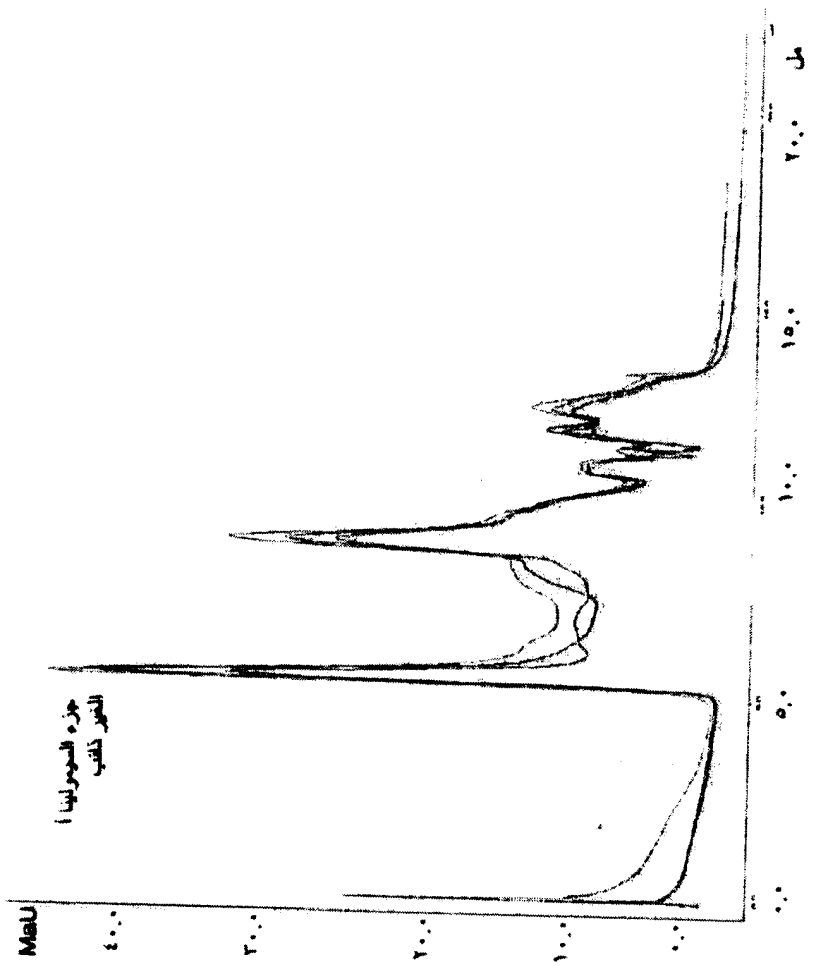
شكل ١



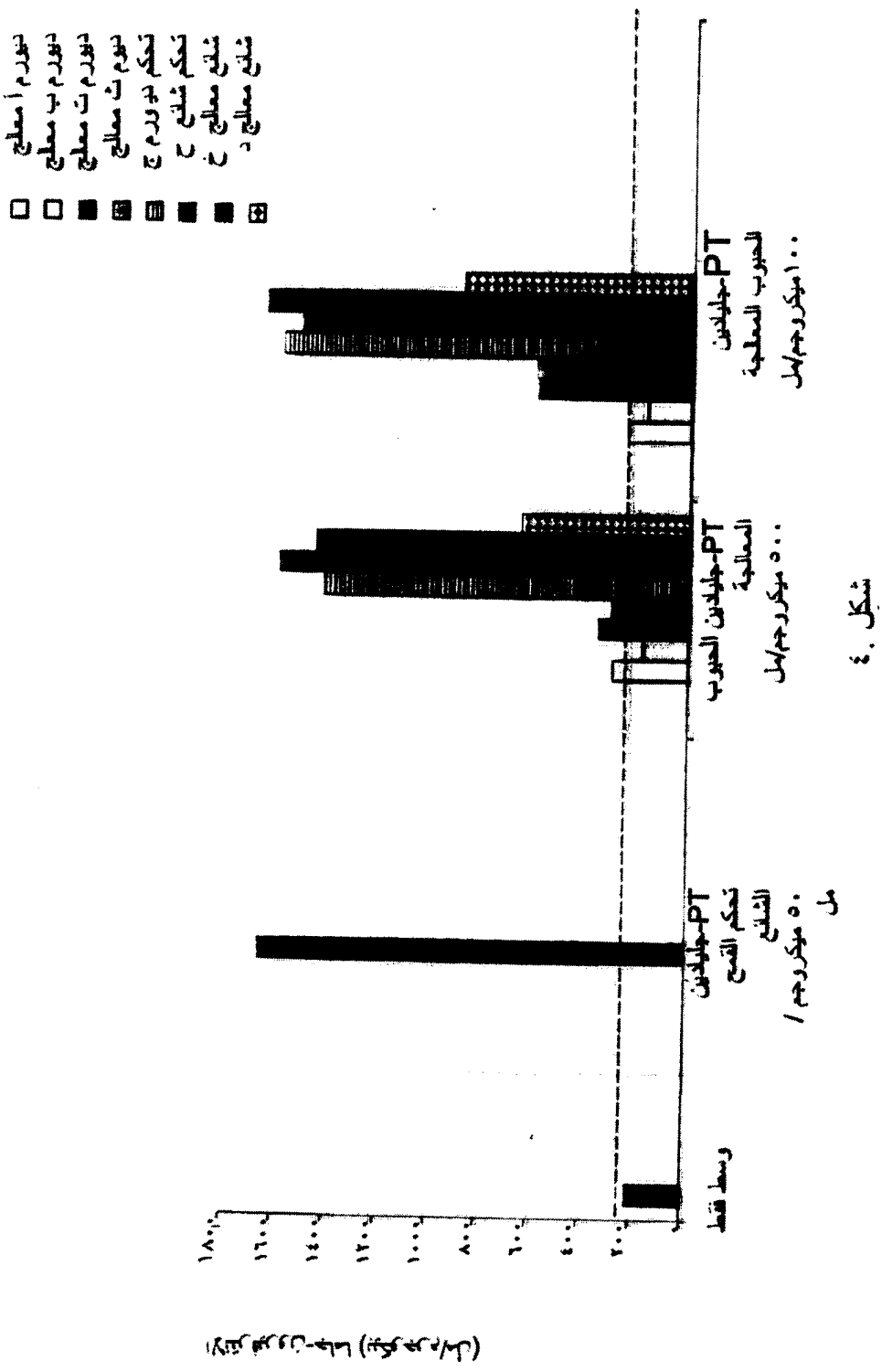
شكل ٢


mAU
٣٠٠
٢٥٠
٢٠٠
١٥٠
١٠٠
٥٠
٠
جزء سيبوكينا أقل
للتوبان
٠,٠
٢,٠
٤,٠
٦,٠
٨,٠
١٠,٠
١٢,٠
١٤,٠
١٦,٠
دق

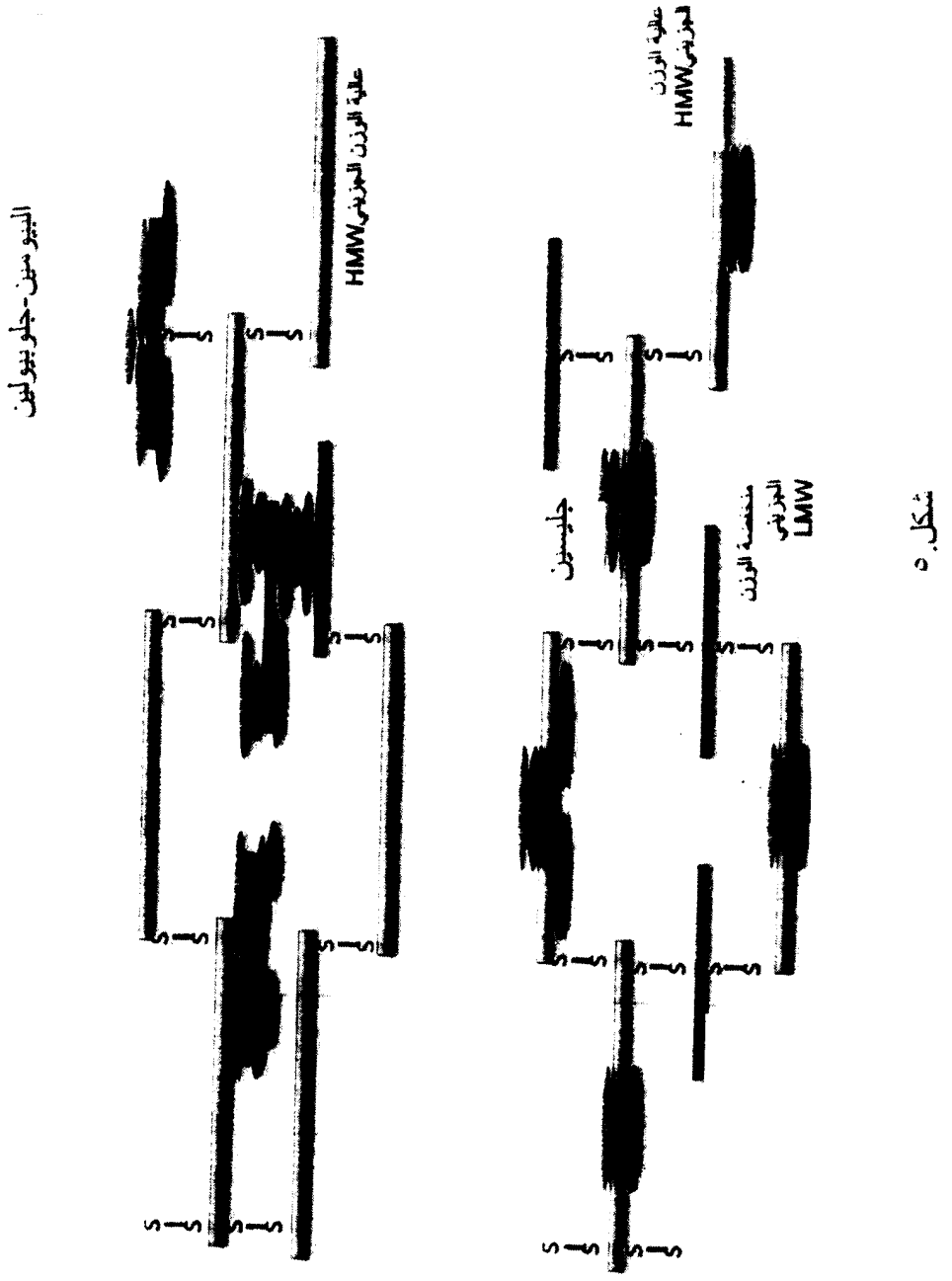
شكل ١٣.


mAU
٤٠٠٠
٣٠٠٠
٢٠٠٠
١٠٠٠
٠٠٠
جزء الميوليبا
الغير نقي
٥٠
١٠٠
١٥٠
٢٠٠
دق

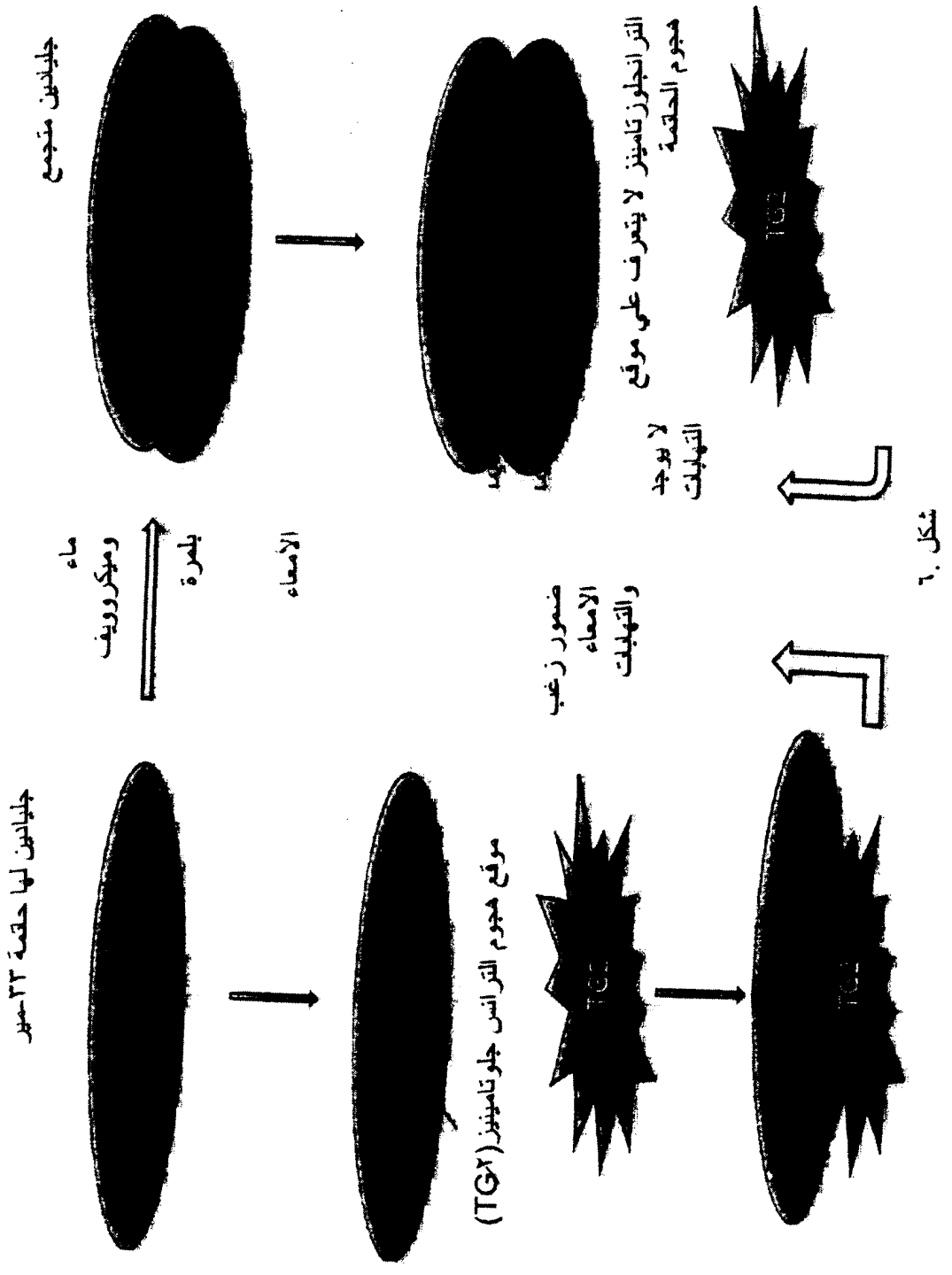
شكل ٣.ب


تفوق أ مطلع
تفوق ب مطلع
تفوق ت مطلع
تفوق د مطلع
تفوق ج
تفوق شائع ج
شائع مطلع ج
شائع مطلع د
PT-جليادين
الحبوب المطلبة
١٠٠ ميكروجم/مل
PT-جليادين الحبوب
المطلبة
٥٠٠ ميكروجم/مل
PT-جليادين
تفوق القمح
الشائع
٥٠ ميكروجم/
مل
وسط قطع

شكل ٤.


علية الوزن الجزيئي HMW
جليسين
منخفضة الوزن الجزيئي LMW
البيوسين-جلوبيولين
علية الوزن الجزيئي HMW

شكل. ٥


جليادين لها حلقة ٢٣ سير
موقع هجوم الترانس جلوتاميز (TG٢)
ضمور زغب الامعاء والثنيات
الترانجلوز تاميز لا يتعرف على موقع هجوم الحلقة
لا يوجد الثنيات
جليادين متجمع
ماء وميكروويف بلمرة
الامعاء

شكل ٦.

MA 37976A1

ROYAUME DU MAROC
****
OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE
****

OMPIC

المملكة المغربية
المكتب المغربي للملكية الصناعية و التجارية

RAPPORT DE RECHERCHE AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE

(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle)

Renseignements relatifs à la demande	
N° de la demande : 37976	Date de dépôt : 29/04/2013 ; Date d'entrée en phase nationale : 03/04/2015
Déposant : UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI FOGGIA	Date de priorité: 02/10/2012

Intitulé de l'invention : PROCÉDÉ POUR LA DÉTOXIFICATION DES PROTÉINES DE GLUTEN DE GRAINS DE CÉRÉALES

Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

Les documents cités par l'examinateur dans la partie rapport de recherche sont joints au présent document

Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants :

Partie 1 : Considérations générales
- ☒ Cadre 1 : Base du présent rapport
- ☐ Cadre 2 : Priorité
- ☐ Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés

Partie 2 : Rapport de recherche

Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité
- ☐ Cadre 4 : Remarques de clarté
- ☒ Cadre 5 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle
- ☐ Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications dont aucune recherche significative n'a pu être effectuée
- ☐ Cadre 7 : Défaut d'unité d'invention

Examinateur: M. Bendaoud	**Date d'établissement du rapport** : 04/05/2016
Téléphone: **212 5 22 58 64 14/00**	

ROYAUME DU MAROC ☆ Office Marocain de la Propriété Industrielle et Commerciale ☆ Brevets, Dessins et Modèles

Partie 1 : Considérations générales

Cadre 1 : base du présent rapport

Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :

- Description
  11 Pages
- Revendications
  14
- Planches de dessin
  7 Pages

Partie 2 : Rapport de recherche

Classement de l'objet de la demande :

CIB : A23L1/015, A23L1/10, A23L1/182

Bases de données électroniques consultées au cours de la recherche :

EPOQUE, Orbit

Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	N° des revendications visées
A	US2011/0293724; 01/12/2011; HAUSCH FELIX ; GRAY GARY ; SHAN LU ; KHOSLA CHAITAN	1-14
A	"Celiac Disease: Advances in Treatment via Gluten Modification"; 08/2012; Samantha Stoven, Joseph A. Murray, Eric Marietta	1-14
A	CN101623064; 13/01/2010; NANJING UNIVERSITY OF FINANCE	1-14

***Catégories spéciales de documents cités :**

-« **X** » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
-« **Y** » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
-« **A** » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
-« **P** » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs
-« **E** » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté

Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité

Cadre 5 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle

Nouveauté (N)	Revendications 1-14 Revendications aucune	Oui Non
Activité inventive (AI)	Revendications 1-14 Revendications aucune	Oui Non
Possibilité d'application Industrielle (PAI)	Revendications 1-14 Revendications aucune	Oui Non

Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure

D1 : US2011/0293724; 01/12/2011; HAUSCH FELIX ; GRAY GARY ; SHAN LU ; KHOSLA CHAITAN

1. **Nouveauté (N) :**

Aucun des documents mentionnés ci-dessus ne décrit l'utilisation d'un procédé qui permet l'obtention des farines détoxifiées de gluten adaptées pour la préparation de produits de boulangerie et de pâtes à base de blé, les protéines de gluten subissent des changements structuraux qui n'activent pas chez les patients souffrant de maladie cœliaque, la cascade des cytokines inflammatoires. De tels changements structuraux, en outre, n'affectent pas les propriétés techniques des farines qui forment la pâte, permettant ainsi la préparation de produits détoxifiés, de goût et aspect similaires aux produits courants, d'où l'objet de la revendication 1 est nouveau. Par la suite toutes les revendications dépendantes le sont.

2. **Activité inventive (AI) :**

Le document D1 qui est considéré comme l'état de la technique le plus proche de l'objet de la revendication 1 décrit une méthode pour la désintoxication du conteneur contenant du gluten denrées alimentaires en les en contact avec une enzyme (glutenase), par conséquent l'objet de la revendication 1 diffère de D1 en ce que cette méthode de détoxification du gluten est effectuée en traitant les grains de céréales hydratés avec micro-ondes.
Le problème que la présente invention se propose de résoudre peut donc être considéré comme une méthode alternative pour fournir des denrées alimentaires non toxiques comprenant du gluten. Tout en préservant les propriétés rhéologiques du gluten contenu dans les céréales.
Aucun document cité de l'art antérieur n'enseigne des éléments ou ne suggère un traitement entièrement physique des grains de céréales pour la désintoxication du gluten.
Les revendications 1-14 vérifient l'activité inventive puisqu'elles sont non évidentes à l'égard de l'art antérieur.

3. **Possibilité d'application industrielle (PAI) :**

L'objet de la présente invention est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible