



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 00400**

(22) Data de depozit: **10.05.2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30.09.2013** BOPI nr. **9/2013**

(41) Data publicării cererii:
29.07.2011 BOPI nr. **7/2011**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL DE CERCETĂRI ȘI
AMENAJĂRI SILVICE, BD.EROILOR
NR.128, VOLUNTARI, IF, RO**

(72) Inventatori:
• **TULUCA ELISAVETA-VALERIA,
ȘTR.FRAȚII FĂGĂRĂȘANU NR.38,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **VOICULESCU ION, ȘOS.ȘTEFĂNEȘTI
NR.128, VOLUNTARI, IF, RO;**
• **ȘERBĂNESCU OCTAVIAN- VALENTIN,
STR.IZVORUL OLTULUI NR.2, BL.25, SC.A,
ET.3, AP.12, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO;**

• **BIRIȘ IOVU-ADRIAN, STR.VIDIN NR.12,
BL.58 BIS, SC.A, ET.3, AP.13, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**S. MOCANU, D. RĂDUCANU, "PLANTE
MEDICINALE, LEGUME, FRUCTE ȘI
CEREALE ÎN TERAPEUTICĂ", PP. 248-249,
284-286, ED. MILITARĂ, BUCUREȘTI,
1989; VIRGIL T. GEICULESCU,
"BIOTERAPIE", CAP.D,
PP. 92-93, ED. ȘTIINȚIFICĂ ȘI
ENCICLOPEDICĂ, BUCUREȘTI, 1987;
RO 111905 B; RO a 2007 00765 A2**

(54) **PRODUS ALIMENTAR DE ADITIVARE PREBIOTIC DIN
FRUNZE DE MUR ȘI DE ZMEUR, ȘI PROCEDEU DE
OBTINERE A ACESTUIA**



RO 126461 B1

1 Inventția se referă la un produs alimentar prebiotic din frunze de mur și zmeur, și la
2 procedeul de obținere a acestuia, cu utilizare ca supliment în industria alimentară și în indus-
3 tria fitofarmaceutică.

4 Frunzele de mur (*Rubus hirtus*) și de zmeur (*Rubus idaeus*) conțin, alături de
5 compușii de bază, metaboliți secundari bioprotectivi din categoria carbohidraților necelulozici,
6 a bioflavonoidelor, a acizilor fenolcarboxilici etc., care prezintă însușiri fotoprotective, anti-
7 deshidratante și antioxidante. Carbohidrații necelulozici, cu structuri liniare sau ramificate și
8 greutatea moleculară medie, se definesc prin entitățile denumite generic „fibre dietetic solubile”
9 (S.D.F. - Soluble Dietary Fiber) și fibre dietetice insolubile (I.D.F. - Insoluble Dietary Fiber).
10 Fibrele dietetice solubile se consideră în prezent a reprezenta un component indispensabil
11 în reglarea homeostaziei și a metabolismului glucozei la nivelul tractusului gastrointestinal.
12 Prin formarea de geluri, rețin apa și electroliții în organism, pe care îl protejează de
13 deshidratare.

14 S.D.F. mențin nivelul optim al glicemiei, sunt anticolesterolemice, antidiabetice,
15 diminuează acțiunea agenților agresivi față de mucoasa tractusului digestiv, mențin un nivel
16 corespunzător al Fe și Ca seric, cu stoparea anemiei și a osteoporozei. Acțiunea prebiotică
17 se manifestă prin stimularea creșterii și dezvoltării bacteriilor probiotice din categoria
18 bifidiobacteriilor (**Grajek and Oleynik, 2005**). S.D.F. constituie substratul pe care se dezvoltă
19 microorganismele care habitează în colon, pe care le fermentează la acizii grași cu catenă
20 scurtă: acetic, propionic și butiric (**Reimer et al., 1997**).

21 S-a demonstrat că acești compuși rezultați, cunoscuți ca entitatea S.C.F.A. (short
22 chain fatty acids), interferează cu transportorul glucozei la nivel intestinal, (GLUT2)mRNA,
23 denumit „glucozo-dependent transportor”, efectul final fiind acela de micșorare a nivelului de
24 glucoză din sânge.

25 S.D.F. se consideră un component esențial în realizarea siguranței și securității
26 alimentare, recomandându-se un consum zilnic de 20...25 g (**Talati and Baker, 2009; Li and**
27 **Andrews, 2002**).

28 În recepturile nutriționale din categoria „alimentelor funcționale”, care în prezent
29 reprezintă un segment important în asigurarea protecției față de poluanții ambientali și de
30 stresul cotidian, S.D.F. provin mai ales din resurse procesate pe scară largă, respectiv, din
31 coji de soia și tărațe de graminee (grâu, orez și ovăz, **Inglett, 1991**).

32 Constituțional, S.D.F. sunt poliozide pectinice, constituite din unități liniare și
33 ramificate de galactani, arabinani, arabinogalactani, galactouronani, de asemenea, din
34 hemiceluloze în a căror componență se regăsesc unități de arabinoxilani, galactomanani și
35 xiloglucani. Numărul unităților glicozil variază între 50 și 300 (**Harding, 2008**).

36 Conținutul S.D.F. în diferite resurse vegetale (fructe, legume, cereale) prezintă valori
37 diferențiate: 5,6% mere, 10,2% fasole, 13% tărațe de grâu (**Li and Andrews, 2002**).

38 Sub aspectul însușirilor bioprotective, foarte importantă este conjugarea lanțurilor
39 glicozidice cu agliconii fenolici, în special, cu acizii fenolcarboxilici și cu bioflavonoidele, care
40 conferă însușiri antioxidante, de protecție față de speciile oxigenului reactiv „ROS” de natură
41 exogenă sau endogenă (**Dopkenicons and Venskutonis, 1998; Ko and Choi, 2008**).

42 Metodele uzuale de extracție a S.D.F. prebiotice utilizează ca extractanți apa și/sau
43 soluții alcaline de NOH, CO₃Na₂ sau CO₃Ca la diluții de 1-4%, la temperaturi de maximum
44 60°C (**Inglett, 1991; Beristain, 2006**).

45 Literatura de specialitate nonbrevet, cât și cea din domeniul brevetelor de invenție,
46 mai consemnează următoarele:

47 În **S. Mocanu, D. Răducanu, Plante medicinale, legume, fructe și cereale în tera-**
48 **peutică, pp. 248-249, 284-286, Editura Militară, București, 1989**, cu referire la Mur - *Rubus*
49 *fruticosus*, se precizează că „Medicina utilizează frunzele tinere de *Folium Rubi fruticosi*.

RO 126461 B1

Recoltarea foliolelor se face prin stujire, înainte și în timpul înfloririi...Produsul are miros plăcut și gust astringent; având ... indicații: intern: în diaree (tonic și astringent), colite, gastroenterite, gingivite. Extern: în leucoree, fistule anale, gingivite. Sub formă de gargară, în inflamația gingiilor, gurii și gâtului. Sub formă de cataplasme, se folosește în hemoroizi sau fisuri anale, iar sub formă de irigații, în leucoree”. 1
3
5

Referitor la Zmeur (Zmeura) - *Rubus idaeus* - se spune că: “În scopuri medicinale, se folosesc frunzele tinere, care se recoltează înaintea și în timpul înfloririi”, având următoarele proprietăți și indicații: “intern, datorită taninurilor și flavonei, frunzele au acțiune astringentă și dezinfectantă, micșorând în același timp aciditatea stomacală recomandându-se în diaree, gastrită hiperacidă, piroză (pirosis - arsură la stomac) și în alte afecțiuni ale aparatului digestiv. În unele zone ale țării, ceaiul din frunze sau ramuri tinere se bea contra tusei, răcelii și fierbințelii, precum și contra durerilor de cap, de stomac și de inimă. În alte zone, locuri, ceaiul din frunze ori decoctul din tulpinile tinere tăiate în bucățele, fierte până îngălbenea apa, se bea seara, în bolile de rinichi. Extern, frunza uscată la soare se folosea pentru buboaie vinete; se muia în apă călduță, se punea pe ele și se lega cu o cârpă curată”. 7
9
11
13
15

Virgil T. Geiculescu, Bioterapie, Cap. D), pp. 92-93, Editura Științifică și Enciclopedică, București, 1987, menționează în capitolul D: ”referitor la tratamentul cu ceaiuri al diareii, se folosesc: “*Folium Fragariae, Rubi fruticosi și Rubi idaei* (frunze de frag, mur și zmeur). Acest ceai este mult mai ușor de suportat, având gust aromat, plăcut. Se beau 2-3 căni pe zi, dintr-o infuzie, cu două lingurițe la cană”. 17
19

RO 111905 B1 prezintă o compoziție biostimulatoare, constituită din: 5 părți extract embrionar din ouă de viermi de mătase, 50 părți *folium Morus alba*, 20 părți *fructus sine sinebus Phaseolus vulgaris*, 10 părți *fructus Cynosbati*, 5 părți *folium Myrtilly* și 10 părți maltodextrină, părțile fiind exprimate în greutate. 21
23

CBI a 2007 00765/06.11.2007 descrie preparate farmaceutice cu extracte pentru tratamentul psoriazisului, constituite dintr-o primă componentă formată din extracte de frunze de mur (*Rubus fruticosus*), părți aeriene de rostopască (*Chelidonium majus*) și rădăcină de tătăneasă (*Symphytum officinalis*) și sulf coloidal, și o a doua componentă constituită din tincturi separate, de rădăcină de tătăneasă (*Symphytum officinale*) și fructe de armurariu (*Silybum marianum*), prima componentă fiind formulată sub formă de unguent, se aplică extern, iar cea de-a doua componentă se administrează oral. 25
27
29
31

Problema tehnică propusă spre rezolvare de prezenta cerere constă în potențarea efectelor antioxidante și antivirale cu ajutorul unui produs alimentar prebiotic de aditivare. 33

Soluția tehnică la această problemă constă în aceea că se supune extracției un procent de 60% dintr-un component natural prebiotic, alcătuit din frunze de mur (*Rubus hirtus*) și de zmeur (*Rubus idaeus*), în alcool etilic alimentar de fermentație, la care se adaugă 40% maltodextrine ca excipient. 35
37

Produsul alimentar prebiotic, conform invenției, este alcătuit dintr-o pulbere de culoare variind de la slab-verzui la brun-roșcat, cu miros și gust aromat, dimensiuni ale particulelor de 12...17 μ și un conținut de: 46,5...49,8% fibre dietetice solubile, 40% maltodextrine ca excipient de încorporare, 2...2,5% zaharuri solubile, 1,9...2,1% extractive neazotate, 1...1,1% proteină brută, 1,2...1,4% fenoli solubili, 0,6...0,8% lipide, 3,1...3,5% săruri minerale, părțile în greutate fiind exprimate procentual; procedeul de obținere, conform invenției, constă în aceea că se colectează biomasa foliară de mur și de zmeur, se transportă pe o bandă de alimentare 1, se spală cu un jet de apă într-o instalație de spălare 2, se usucă pe un uscător în gradienti de temperatură și flux de aer cald 3, se macină într-o moară coloidală pentru material vegetal uscat 4, se trece într-un mixer orizontal, cu programator de cap 5, cu o soluție de alcool etilic 45
47

RO 126461 B1

1 alimentară de 50% v/v, la un timp de preînmuire de 24...48 h, se dispersează țesutul foliar cu
2 solvent hidroetanolic, se trece în instalația de extracție la rece 6, într-un raport de 1:12, cu
3 adaos de acid ascorbic în proporție de 0,2%, la temperatura de 22...25°C, în regim alternativ
4 de percolare și șocuri de presiune pe o durată de 2...6 h, după care dispersia se centrifugează
5 timp de 15...20 min, la 2500 rotații/minut, în separatorul centrifugal 7, iar dispersia se presează
6 ulterior în presa cu șurub 8, iar faza fluidă se trece în instalația cu vid la 45°C, pentru a elimina
7 etanolul 9, faza fluidă concentrată se trece în bazinul de amestecare cu maltodextrină 10,
8 urmată de uscarea prin pulverizare în atomizorul 11, iar produsul cu un conținut în substanță
9 uscată de minimum 90% se trece în mașina de dozat pentru produse pulverulente 12, în
10 cantități variabile, în funcție de tipul de utilizare, în diferite recepturi alimentare.

11 Produsul alimentară prebiotic, conform invenției, prezintă următoarele avantaje:

12 - se utilizează în componența unor produse alimentare fluide, de tipul siropurilor,
13 iaurturilor sau în recepturile de alimente prebiotice;

14 - fibrele dietetice solubile (S.D.F.) din componența produsului ajută la scăderea
15 glicemiei, detoxifierea și echilibrarea funcționării tractusului gastrointestinal;

16 - în conținutul ridicat de S.D.F., se regăsesc integral și agliconii aromatici care poten-
17 țează efectele bioprotective complementare, antioxidante și antivirale;

18 - micșorează a nivelul de glucoză din sânge;

19 - asigură protecția față de poluanții ambientali și față de stresul cotidian.

20 Figura reprezintă schema procesului tehnologic din cadrul secției de procesare a produsului
21 foliar prebiotic.

22 Se prezintă, în continuare, 2 exemple concrete de realizare a invenției.

23 **Exemplul 1.** Frunzele de mur uscate (cu un conținut în substanță uscată de 90%),
24 mărunțite la 40 meshi, cu un conținut în proteină brută de 14,63%, un conținut în celuloză
25 brută de 12,2% și cu un conținut în metaboliți secundari bioprotectivi, constituite prioritar din
26 următorii componenți (determinați cu metode cromatografice avansate HPLC-DAD, MS):

27 - acid elagic 27,3 ppm/g;

28 - quercitol 10,3 ppm/g;

29 - rutin 2 ppm/g;

30 - mircetal 1,2 ppm/g;

31 - kaempferol 6,42 ppm/g;

32 - luteolină 3,46 ppm/g.

33 S-au imersat în soluție hidroetanolică cu o concentrație a etanolului de 50 % v/v, timp
34 de 48 h, cu amestecare intermitentă. Raportul țesut folianextractant a fost de 1:12.

35 După preînmuire, extracția s-a realizat într-un utilaj de extracție, acționând prin cicluri
36 succesive de percolare și șocuri de presiune, la temperaturi de 22...24°C, durata de extracție
37 6 h. După separare prin centrifugare și presare, faza fluidă s-a distilat în vid la 45°C. A rezultat
38 un extract cu miros și gust aromat de culoare brun-roșcată, cu o concentrație globală în
39 substanțe solubile de 9%.

40 Nivelul de solubilizare al țesutului foliar s-a situat la valori cuprinse între 28,2...30%
41 din substanța uscată introdusă la extracție.

42 Extractul s-a omogenizat cu maltodextrină pulverulentă, solubilă în extract într-un
43 bazin de amestecare și s-a uscat prin atomizare.

44 **Exemplul 2.** Frunzele de zmeur uscate și mărunțite ca în exemplul anterior, cu un
45 conținut în proteină brută de 22,39%, un conținut în celuloză brută de 14,90% și cu un conținut
46 prioritar în compuși bioprotectivi determinați cu metode cromatografice și spectrale avansate
47 (HPLC-DAD, MS) la limita de detecție de 0,36...5,31 ppm, având următoarea componență:

48 - acid elagic 26 ppm/g;

49 - quercetol 10,1 ppm /g;

RO 126461 B1

- izorahmentin 2,64 ppm/g;	1
- rutin 8 ppm/g;	
- mircetol 3,56 ppm/g;	3
- luteolin 3,46 ppm/g;	
- kaempferol 10,5 ppm/g.	5
Substratul foliar s-a imersat în amestecul hidroetanolic de 50% etanol, timp de 48 h, la un hidromodul de 1:12. Urmează aceleași etape de procesare ca în exemplul 1.	7
Nivelul de recuperare în solubilizat a țesutului foliar în cazul frunzelor de zmeur a fost de 25,56%. Concentrația finală a extractului a fost de 8,8...9%, uscarea și stabilizarea s-au efectuat pe suport de maltodextrină ca în exemplul anterior.	9
<i>Obținerea de produse complementare prin condiționarea rezidului foliar rezultat prin procesare extractivă</i>	11
Reziduul foliar poate fi condiționat în același tip de uscător, cu un consum energetic minimal. Umiditatea după procesare se cifrează la valori de 65...70%. Cu această umiditate, reziduul solid remanent poate fi utilizat ca substrat pentru cultura ciupercilor alimentare și terapeutice. Raportul C/N, în cazul frunzelor de mur, s-a cifrat la valori de 7,08:1, iar raportul C/N, în cazul frunzelor de zmeur, a fost de 7,58:1.	13
După extracție, nivelul proteinei și al celulozei s-a modificat astfel: conținutul în proteină brută s-a mărit la 18,26%, iar al celulozei la 16,21%, pentru frunzele de mur. Pentru frunzele de zmeur, nivelul proteinei brute a crescut la 26,9%, iar nivelul celulozei brute a crescut la 16,9%. Aceste valori motivează utilizarea rezidului cu un nivel de mărunțire avansat în componența premixurilor furajere ca atare, sau prin operații ulterioare de extrudare.	15
<i>Domenii și niveluri de utilizare ale produsului alimentar prebiotic</i>	17
Produsul prebiotic se poate utiliza ca atare sau ca aditiv în componența alimentelor funcționale, de exemplu, pentru echilibrarea funcționării tractusului gastrointestinal și a glicemiei, încorporat în ceaiuri, lapte sau iaurturi, la niveluri de 5...15 g zilnic, în alimente funcționale de echilibrare a greutateii corporale, anticolesterolemice, în diete de detoxifiere, în diete de contracarare a acțiunii speciilor oxigenului reactiv „ROS” și a poluanților ambientali, precum și în rețeturile de alimente funcționale cu însușiri de retardare a îmbătrânirii.	19
Conținutul în acid elagic conferă produsului prebiotic însușiri antivirale.	21
Produsul poate reprezenta un aditiv și în alimentele obișnuite, ca de exemplu, în produsele de panificație-patiserie, în creme, înghețate, diverse deserturi și băuturi răcoritoare, în care aportul de S.D.F. îmbunătățește proprietățile reologice de retenție a apei în organism în sezonul cald, formează geluri stabile în produsele zaharoase, minimizează oxidarea lipidelor în produsele cremoase, conferă prospețime și micșorează adaosul de emulgatori de sinteză.	23
În continuare, este prezentată pe larg invenția.	25
<i>Procesarea diferențiată a substratului vegetal, pentru a solubiliza concomitent și structurile glicozidice, hipoglicemizante și agliconii fenolici antioxidanți</i>	27
a). Produsul prebiotic, conform procedurii propus, se obține prin extracție solvolică din frunze de mur și de zmeur, în mediu hidroetanolic de concentrație 50% v/v, care, spre deosebire de procedeele uzuale de extracție enumerate, solubilizează atât structurile glicozidice, cât și agliconii fenolici bioflavonoidici și fenolcarboxilici. Concentrația etanolică de 50% facilitează solubilizarea acizilor hidroxibenzoici și hidroxicinamici puternic antioxidanți. Solubilizarea în acest reactant, la temperaturi scăzute, de numai 22...25°C, fără nici un aport termic, minimizează degradările stereostructurale ale complexelor fiziologic active. În acest	29

RO 126461 B1

1 scop, procedeul prevede și adaosul de acid ascorbic, pentru a proteja de oxidare grupările
enolice reactive (grefate pe nucleele fenolice) de conversie în grupări chinonice inactive și
3 brunificarea extractelor.

b). Pe de altă parte, procedeele care utilizează reactanți alcalini necesită înlăturarea
5 cationilor Na sau Ca prin schimb ionic, pe coloane de cationiți, la diluții avansate.

c). Îndepărtarea reactantului etanolic se realizează la temperatură scăzută prin
7 distilare în vid, la numai 45°C, rezultând concomitent o concentrare a extractului, favorabilă
stabilizării ulterioare, prin uscare sub formă pulverulentă.

9 d). Spre deosebire de resursele cerealiere sau leguminoase, care conțin cantități
importante de amidon și care necesită utilizarea de enzime amilolitice pentru separarea S.D.F.
11 din biomasa organică, țesutul foliar eliberează glicozidele pectice și hemicelulozice mai ușor,
reziduu remanent având caracteristici de solubilitate diferențiate, cu structură lignocelulozică
13 rigidizată.

e). Procedeul prezent realizează obținerea produsului prebiotic cu un conținut ridicat
15 în S.D.F., concomitent cu menținerea compușilor bioprotectivi din frunzele de mur și de zmeur,
în extracte concentrate, cu minimă degradare stereostructurală.

17 *Componența produsului prebiotic, obținut conform procedurii invenției*

Produsul conform invenției conține 60% substrat natural prebiotic și 40% maltodextrine,
19 ca excipient de încorporare și uscare a extractului concentrat din frunze de mur și de zmeur.
Substratul natural prebiotic din frunze de mur și de zmeur conține: 46,5...49,8% fibre dietetice
21 solubile (S.D.F. - Soluble Dietary Fiber), 2...2,5% zaharuri solubile, 1,9...2,1% extractive neazotate,
1...1,1% proteină brută, 1,2...1,4% fenoli solubili, 0,6...0,8% lipide, 3,1...3,5% săruri minerale.

23 *Procesarea frunzelor de mur și zmeur, pentru a obține substratul natural prebiotic*

Procesul tehnologic (figura) constă în acea că frunzele de mur și de zmeur se spală
25 cu jeturi de apă rece potabilă **2**, se usucă pe un uscător performant în trei trepte de umiditate
consecutive **3** uscare, până la un conținut în substanță uscată de minimum 90%. Frunzele
27 uscate se mărunțesc **4** prin măcinare, se sitează la dimensiuni de 40 meshi și se trec într-un
bazin de preînmuiere **5**. Peste frunzele mărunțite, se adaugă un amestec de alcool etilic
29 alimentar de fermentație și apă distilată, la o concentrație etanolică de 50% v/v, durata de
preînmuiere fiind de 24...48 h. Dispersia țesut foliar-solvent hidroalcoolic se transvazează cu
31 o pompă în extractor **6**, adăugându-se acid ascorbic în proporție de 0,2% din totalul volumului
introdus la extracție. Procedeul de extracție, conform invenției, are loc la temperatura de
33 22...25°C, fără aport termic suplimentar, în regim alternativ de percolare și șocuri de presiune,
pe o durată de 2...6 h.

35 **TESTĂRI ALE EFECTULUI PREBIOTIC ȘI REZULTATELE ACESTORA**

37 *1) Testarea comparativă a capacității de retenție a fluidelor de către frunzele de mur
și de zmeur, și de către fracțiunile prebiotice glicozidice:*

După cum a rezultat din secțiunea „Descriere” a cererii de brevetare, compușii
39 prioritari solubili în extractul etanolic de 50% v/v din frunzele de mur și de zmeur au fost
reprezenți de carbohidrații necelulozici cu greutate moleculară medie, cunoscuți îndeosebi
41 sub denumirea generică de „Fibre Dietetice Solubile” (S.D.F. „Soluble Dietary Fiber”).

Aceste entități stereostructurale oligomerice, existente în fracțiunile fluide extrase din
43 matricea biologică, pot fi vizualizate rapid prin precipitarea cu izopropanol în raport de 1:1 v/v
(Reacție de identificare clasică), caracteristică structurilor oligomerice polizaharidice liniare
45 sau ramificate. Importanța S.D.F. sub aspectul implicațiilor fiziologice complexe se conturează
mai ales în următoarele direcții:

47 - Prezintă o mare capacitate de retenție a apei și a electroliților constituind bariere
adaptative de protecție față de pierderea apei, în cazul în care plantele sunt expuse factorilor
49 de stres abiotic, respectiv, arșiță, radiații U.V. excesive sau secetă;

RO 126461 B1

- În cazul ingerării lor ca atare sau sub forma alimentelor compozite, nu sunt atacate de către enzimele digestive proprii ale organismului uman, dar sunt atacate și fermentate ulterior de către microsimbionții care populează tractusul gastrointestinal, stimulând dezvoltarea acestor microorganisme care coabitează în colon.	1
Facilitarea dezvoltării microorganismelor simbiote, localizate în tractusul gastrointestinal, se definește ca „efect prebiotic”, de care va depinde ulterior facilitarea digestiei și acțiunea de detoxifiere a organismului, atribuită microsimbionților.	3
Minimizarea microflorei intestinale sau activitatea inefficientă a acestor microorganisme se percepe în prezent ca reprezentând una dintre cauzele majore de apariție a cancerelor, datorită xenobioticelor ingerate prin hrana zilnică.	5
Devine evident că stimularea dezvoltării microflorei intestinale prin aportul fibrelor solubile S.D.F. reprezintă un real aport sanogen alimentar.	7
Prin fermentarea polizaharidelor din această categorie, microsimbionții disponibilizează energia metabolizată, aspect dependent de componenții stereostructurali ai diferitelor resurse primare deținătoare de S.D.F., din punctul de vedere al capacității de penetrare a microorganismelor în matricea fibroasă.	9
Această penetrare se realizează numai în prezența apei, fiind cu atât mai eficientă cu cât cantitatea intrinsecă de apă reținută de către fibre este mai mare (aspect demonstrat experimental în numeroase lucrări de specialitate).	11
Capacitatea de retenție a apei, dependentă de stereostructura resurselor primare, poate fi decelată atât pentru biomasa inițială (după o prealabilă deshidratare), cât și ulterior pentru fracțiunile S.D.F. solubilizate în faza fluidă prin demersuri solvolytice extractive.	13
Retenția apei de către structurile foliare ale diverselor specii vegetale prezintă diferențieri adaptative față de condițiile mediului ambiental.	15
Pentru arbuștii fructiferi din flora spontană, expuși unor mari variații climatice sezoniere și diurne, menținerea și echilibrarea homeostatică a apei, facilitată de niveluri ridicate ale S.D.F., reprezintă un factor esențial în supraviețuire.	17
În consecință, atât evaluarea nivelurilor cantitative ale S.D.F. din structurile foliare, cât și capacitatea de retenție a apei de către acestea, poate constitui o bază comparativă de testare a efectului prebiotic și nutraceutic.	19
Testarea comparativă a capacității de retenție a apei de către structurile foliare de zmeur și de mur s-a realizat comparativ cu structurile foliare ale altor arbuști fructiferi proveniți din același areal zonal, respectiv, cu structurile foliare de afin, păducel și cătină (zona Brașov).	21
Frunzele arbuștilor s-au recoltat între orele 16,00 și 18,00, s-au spălat prin pulverizare cu apă potabilă, s-au zvântat în curent de aer cald într-o etuvă cu ventilație, timp de o oră, și apoi s-au întins în strat subțire la întuneric, la temperatura mediului ambiant, între două straturi de foi albe absorbante, cu o dispersare manuală zilnică, pentru a facilita o uscare uniformă pe întreaga suprafață a frunzelor, până la atingerea unei greutate constante, cu variații maxime a umidității de maximum 5% și obținerea unor substraturi foliare ușor friabile.	23
Frunzele deshidratate s-au micronizat apoi, într-o moară coloidală pentru produse uscate, la dimensiuni de 40 meshi. Determinarea capacității de retenție a apei s-a realizat conform indicațiilor din Farmacopeea Română, respectiv, prin determinarea factorului de îmbibare a produselor vegetale.	25
Prin factor de îmbibare, conform sursei citate, se înțelege volumul pe care îl ocupă 1 g de produs vegetal, împreună cu mucilagiul care aderă la acesta, după îmbibarea cu apă sau cu un alt dizolvant la temperatura camerei, conform următoarelor etape:	27
- Pulberea uscată se introduce într-un cilindru gradat de 25 ml cu dop codat, cu subdiviziuni de 0,1 ml.	29

RO 126461 B1

- 1 - Se adaugă 25 ml apă deionizată, se astupă și se agită timp de 60 min.
2 - Se lasă în repaus 4 h la temperatura camerei, după care se citește volumul ocupat
3 de produsul vegetal și mucilagiul care aderă la acesta.

4 Capacitatea de retenție a apei s-a evaluat și prin aprecierea cantității de apă reținută
5 de un substrat, după metoda preconizată în brevetul **US 7410660 B2/2008**, intitulat
6 „**Pharmaceutical, Nutraceutical and Nutritional Composition Based on Vegetable Fibres**”,
7 **Autor: Valentino Mercati**.

8 Se definește indicatorul denumit generic „W.H.C.” („water holding capacity”), exprimat
9 prin cantitatea de apă pe care un sistem o reține în rețeaua stereostructurală proprie, când
10 nu este supus unui stres fizic, corelată cu apa existentă în sistem. Cantitatea referită se
11 evaluează (identică ca în farmacopeea Română) conform farmacopeei SUA ediția a 11-a,
12 pentru volumul ocupat în mililitri de 1 g de substanță activă cu mucilagiul aferent, după
13 staționarea în apă deionizată neutră timp de 4 h. Valoarea respectivă se mai definește și ca
14 indice de umflare „Swelling Index”. De exemplu, pentru fibrele solubile cu o compoziție
15 prioritară în glucomanani, indicele de umflare (volumul ocupat de 1 g) ocupă un volum de 75
16 ml, iar în cazul unor combinații sinergice, prezintă valori de până la 95 ml.

17 În urma solubilizării etanolice a structurilor foliare pulverulente din frunzele de mur și
18 de zmeur, s-a realizat conform descrierii din brevet dislocarea din matricea organică a
19 complexelor heterozidice de carbohidrați necelulozici, conjugați cu agliconii bioactivi.

20 Identificarea calitativă și cantitativă a fracțiunilor heterozidice S.D.F. s-a realizat cu
21 metoda clasică de precipitare cu alcool izopropilic, la un raport de 1:1 extract etanolic de
22 50%v/v: izopropanol. Așa cum a rezultat din figurile anexate, s-au obținut precipitate
23 voluminoase care încorporează volume de apă similare cu cele încorporate de S.D.F.
24 tradiționale, expuse în literatura de specialitate.

25 În tabelul 1, se prezintă comparativ capacitatea de retenție a apei de către structurile
26 foliare uscate, micronizate la 40 meshi, pentru diferiți arbuști fructiferi.

27

Tabelul 1

28 *Capacitatea de absorbție a apei de către substraturile foliare pulverulente ale unor arbuști
29 fructiferi din arealul autohton*

31 Substrat foliar 32 pulverulent	Cantitatea imersată/g	Volumul de imersie/ml	Volumul ocupat după imersare/ml	Mărirea de volum a dispersiei apoase, față de substratul inițial uscat
35 Frunze de mur	1	100	10	> 10 ori
Frunze de zmeur	1	100	20	> 20 ori
37 Frunze de afin	1	100	3	> 3 ori
Frunze de cătină	1	100	3,6	> 3,6 ori
39 Frunze de păducel	1	100	2,4	> 2,4 ori

41 Din datele tabelului 2, rezultă mari diferențieri ale capacității de absorbție a structurilor
42 foliare de zmeur și de mur, comparativ cu structurile foliare ale altor arbuști. Întrucât însușirile
43 prebiotice ale frunzelor de mur și de zmeur sunt potențate prioritar de nivelul fibrelor solubile
44 (S.D.F.) consecutiv extracției etanolice, s-a avut în vedere și evaluarea capacității intrinseci
45 a acestora, prin evidențierea nivelului de retenție a fazei fluide de către precipitatul izopropanolic

RO 126461 B1

ca atare. S-a luat în considerare nivelul mediu de solubilizare al substanței uscate și conținutul în S.D.F., în urma precipitării cu izopropanol în raport de 1:1, obținându-se următoarele valori:

Substrat	Substanță solubilizată % din s.u.	Conținut total de S.D.F. % din s.u.
Frunze de mur	24,4	8,13
Frunze de zmeur	11,83	6,83

În consecință, rezultă că în medie, la un nivel al raportului extractiv de 1:8, cantitățile de substanță uscată și de fibre solubile per 10 ml reprezintă următoarele valori:

Substrat	Substanță uscată în 10 ml extract, exprimată în g .s.u.	Fibre solubile în 10 ml extract, exprimate în g. s.u.
Frunze mur	0,27	0,0902
Frunze zmeur	0,13	0,0758

Evaluarea nivelului de fluid absorbit s-a realizat prin precipitarea a 10 ml extract etanolic de 50% cu 10 ml de izopropanol și estimarea nivelului dispersiei precipitate după 4 h de staționare.

Volumul ocupat de precipitatul izopropanolic de 10 ml, cu un conținut evaluat de S.D.F. de 0,09024 g, a fost de 2 ml pentru extractul din frunzele de mur, iar volumul precipitatului izopropanolic din frunzele de zmeur pentru o cantitate de S.D.F. estimată la 0,0758 g a fost de 5 ml.

Evaluarea indicelui de gonflare, prin raportare la cantitatea de 1 g, a reprezentat deci 22,16 ml pentru frunzele de mur și 66 ml pentru frunzele de zmeur.

Aceste valori prin comparație cu unele date din literatură (1) privitoare la indicele de gonflare, de exemplu, valorile de 18,8...75 pentru S.D.F. din alte resurse deținătoare de S.D.F., semnifică faptul că fracțiunea S.D.F. din frunzele de zmeur și de mur se încadrează în limite apropiate sub aspectul proprietăților funcționale prebiotice de retenție a fluidelor. Aceste valori sunt redată în tabelul 2.

Tabelul 2

Capacitatea de retenție a fazei fluide de către fibrele solubile (S.D.F.) extrase din structurile foliare de mur și zmeur

Substrat	Substanță solubilizată în % din s.u.	Conținut în S.D.F. din s.u. în %	Substanță uscată în g în 10 ml extract	S.D.F. în g în 10 ml extract	Nivelul precipitatului izopropanolic stabilizat pentru 10 ml extract	Indicele de gonflare pentru 1 g. S.D.F./ml
Frunze de mur deshidratate	24,4	8,13	0,27	0,09024	2	22,16
Frunze de zmeur deshidratate	11,83	6,83	0,13	0,0758	5	66
S.D.F. tip glucomanani	-	-	-	-	-	75
S.D.F. din „Opuntia”	-	-	-	-	-	20

RO 126461 B1

1 2) *Testarea polizaharidelor cu potențial prebiotic din frunzele de mur și de zmeur în*
produse alimentare

3 Sub aspectul beneficiilor nutraceutice, capacitatea de retenție a fluidelor de către ste-
reostructurile heterozidice este percepută la nivelul tractusului gastrointestinal într-o manieră
5 complexă:

7 - În intestinul subțire, acestea cresc volumul fazei apoase și prin aceasta diluzează
concentrația nutrienților ingerați din hrană, micșorând rata de absorbție a acestor nutrienți;

9 - Expansiunea fazei apoase în intestinul subțire minimizează absorbția lipidelor care
nu sunt solubile în faza apoasă, cu efecte antilipidemice, anticolesterolemice și în final
antiobezogene V. Mercati (US 7410660 B2/2008).

11 - O mare capacitate de îmbibare cu apă, respectiv, de gonflare a polizaharidelor, care
facilitează penetrarea compușilor hidrofili în „matrixul fibros”, unde sunt reținuți și reduce
13 difuzia acestor compuși la suprafața celulelor, astfel încât se minimizează folosirea nutrienților
prin absorbția acestora, cu efecte de scădere a indicelui glicemic în circuitul sanguin.

15 În consecință, aportul fibrelor dietetice ingerate atât sub aspectul minimizării nivelului
de absorbție al lipidelor, cât și asupra scăderii nivelului de absorbție al glucidelor rezultate prin
17 metabolizarea substraturilor amidonoase, este corelat direct cu capacitatea de retenție a apei
de către resursele naturale deținătoare de fibre din categoria S.D.F.

19 Pe de altă parte, la nivelul intestinului gros, capacitatea mare de retenție a apei
permite microorganismelor simbiote o mai bună penetrare în „matrixul fibros”, deci au acces
21 mai mare al microorganismelor localizate în colon, la utilizarea polizaharidelor nedigerate în
intestinul subțire. Digestia polizaharidelor de către microorganismele localizate în intestinul
23 gros le conferă acestora energia necesară pentru multiplicare în acest segment al tractusului
gastrointestinal. Respectiv, o înaltă rată de dezvoltare a microsimbionților, cunoscută ca efect
25 „prebiotic”.

27 Concluzionând: capacitatea de retenție a apei caracteristică „matrixului fibros” al unor
resurse poate reprezenta cel mai relevant indicator al diferitelor categorii de substraturi natu-
29 rale, de a induce efectele benefice menționate, de scădere a lipidemiei, a nivelului coleste-
rolului și a glicemiei serice.

31 Sub aspect senzorial, ingerarea polizaharidelor din categoria S.D.F. este percepută
ca o senzație de plinătate a gustului, inducând o stare de sațietate, comparativ cu ingerarea
unor cantități similare de produse fluide în care s-a încorporat zahăr.

33 Aceste caracteristici organoleptice sunt avute în vedere în aplicații alimentare de tipul
băuturilor sau a unor alimente compozite, în care se are în vedere micșorarea sau chiar eliminarea
35 zahărului sau a siropurilor de glucoză ca îndulcitori tradiționali (US 8268377 B2 (18 Septembrie
2012), autori Yough Chud Kwon, intitulat „Sugar Free Low Calorie Syrup and Manufacturing
37 Method Therefor”). Se preconizează obținerea de siropuri în care îndulcitorii tradiționali sunt
înlocuiți prin compoziții care imprimă o plinătate a gustului și o senzație de sațietate, bazată
39 în principial pe un nivel ridicat în fibre solubile, preconizându-se, în acest scop, utilizarea de S.D.F.

41 Redăm, pentru exemplificare, componența unor produse cu nivel caloric scăzut de „tip
siropuri”, conform brevetului menționat:

43 - fibre alimentare solubile (obținute din extracte de cicoare 100 părți/ greutate);

45 - apă purificată 200 părți/greutate;

47 - 0,2...2 părți gume vegetale (Gellan gum, Arabic gum, Xantangum, Gun Gum, Locust
Gum sau un amestec al acestora);

 - 0,2...2 % g stabilizatori reologici (amidon modificat sau nanoamidon modificat - cu
rol de a preveni floclularea la suprafață sau formarea de sedimente);

 - îndulcitori după caz (Aspartam, Acelsulfan K, sorbitol, xilitol, isomalț etc.).

RO 126461 B1

Aceste compoziții în care predomină fibrele solubile S.D.F. se utilizează sub formă de adaosuri și în componența altor alimente compozite ca, de exemplu, creme, produse de patiserie, înghețate etc. În final, se realizează teste organoleptice comparative atât pentru produse similare obținute prin utilizarea îndulcitorilor tradiționali (zahăr, sirop de glucoză), cât și pentru produsele în care îndulcitorii tradiționali s-au înlocuit cu îndulcitori de sinteză cu putere de îndulcire de 10...600 ori mai mare ca a zahărului, integrați într-o fază fluidă cu un conținut înalt în fibre solubile, pentru a realiza însușiri senzoriale similare, la niveluri calorice incomparabil mai scăzute față de zaharurile tradiționale.	1 3 5 7
Considerând că minimizarea sau substituirea zaharurilor tradiționale cu indice caloric ridicat cunoaște în prezent, la nivel internațional, un „trend ascensional”, s-a testat posibilitatea utilizării extractelor foliare din zmeur și din mur, respectiv, a nivelului fibrelor solubile constitutive, în vederea obținerii unor produse cu o largă utilizare alimentară. Constituirea de produse hipocalorice a avut la bază etape similare cu cele expuse în brevetul US menționat, în contextul în care, în locul fibrelor solubile provenite din cicoare, s-au integrat fibrele solubile din extractele de mur și de zmeur. Testarea a avut ca scop demonstrarea, prin similitudine, a însușirilor funcționale de retenție a apei și de formare a unor dispersii gelatinizante care să confere asemeni fibrelor solubile din cicoare senzații de plinătate și sațietate.	9 11 13 15 17
De menționat că, în cazul utilizării S.D.F. din cicoare sub formă solidă, s-au impus operații de solvoliză care necesită etape de solubilizare complementare la temperaturi de 50...80°C, cu o durată de agitare de 12...18 h.	19 21
În cazul constituirii de produse hipocalorice bazate pe extracte foliare de zmeur și de mur, structurile S.D.F. se găsesc deja solubilizate în extract la niveluri medii de 6,8...8,4%. În consecință, operația de solubilizare va fi înlocuită cu operația de îndepărtare a etanolului, care este preferabil să aibă loc în vid la temperaturi de maximum 45...50°C.	23 25
Această încorporare este benefică, întrucât extractantul aolvolic se poate recicla în proces, iar în faza hidrică remanentă, alături de oligozaharidele necelulozice S.D.F., se mai găsesc și alți compuși nutraceutici ca, de exemplu, proteine solubile, compuși fenolici cu însușiri bioprotective (flavonoide și acizi fenolcarboxilici) și microelemente biogene.	27 29
În continuare, în extractul fluid din care s-a îndepărtat etanolul, se vor adăuga cantități minimale de compuși gelifianti și stabilizatori, alături de îndulcitori utilizați în prezent în acest gen de produse, respectiv, sucraloză și/sau tagatoză, care nu induc efecte secundare indezirabile și prezintă o mare stabilitate în timp.	31 33
S-au realizat și testat senzorial, în scopurile menționate, două produse, respectiv, sirop cu indice glicemic scăzut și cremă de înghețată, sursa de fibre solubile fiind reprezentată de extractele foliare de mur și de zmeur.	35
Compoziții și nivelurile de integrare s-au concretizat astfel:	37
Extractele foliare de mur și de zmeur, obținute în urma extracției cu percolare și șocuri de presiune la 8 bari, după presare și centrifugare, s-au menținut la sedimentare timp de 3 zile la întuneric, pentru obținerea unei limpezimi suplimentare, întrucât deși, imediat după procesare, extractul fluid poate prezenta transparența „0” în timp, pot avea loc floculări complementare, bazate pe interacțiunile ulterioare dintre compușii solubilizați în prima etapă.	39 41
Urmează o a doua filtrare și o concentrare în vid la maximum 45...50°C, cu îndepărtarea etanolului și realizarea unui volum de aproximativ 3 ori mai mic ca volumul inițial, în care concentrația fibrelor solubile se situează la valori de 22...24% gr/v cu aspect vâscos gelatinos.	43 45
Se adaugă prin agitare continuă la 50°C extract de alge în particule fine, până la încorporarea completă în proporție de 1% gr/v sau caragenan, în proporție de 1,5% gr/v. Ulterior, în mixtura celor două componente, se mai încorporează și maltodextrina în proporție de 2%, urmată de o nouă agitare timp de 1...2 h.	47 49

RO 126461 B1

1 Ca îndulcitor, s-a opinat, pentru utilizarea în proporție de 0,1%, a îndulcitorului sucra-
3 loză, cu o capacitate de îndulcire de 600 ori mai mare ca a zahărului, care în prezent este uti-
lizat pe scară largă, pentru înlocuirea totală sau parțială a zahărului, în băuturi tonice pe bază
5 de fructe. S-a obținut, în final, un produs cu o consistență siropoasă uniformă și cu însușiri
senzoriale atractive, care poate fi aromatizat complementar cu diferite esențe, care intensifică
7 sinergic gustul aromat al extractelor etanolice din frunzele de mur și de zmeur. Acest sirop
poate fi consumat ca atare, având însușiri bioprotective antioxidante. De asemenea, poate
fi încorporat ca sursă de îndulcire hipocalorică în produse de patiserie și panificație.

9 *Obținerea cremei de înghețată*

11 Pentru cremele de înghețată, alături de benefica scădere a conținutului caloric, fibrele
solubile pot avea un rol important în menținerea stabilității reologice, cu evitarea formării
microcristalelor de gheață, care poate avea loc atunci când crema are o consistență prea
13 apoasă, respectiv, apa nu este reținută într-o stereostructură bine stabilizată. Testele s-au
realizat și în această direcție prin înlocuirea siropului bazat pe îndulcitori tradiționali cu sirop
15 hipoglucidic, obținut pe baza extractelor foliare din frunzele de zmeur și de mur, obținute con-
form etapelor descrise anterior.

17 Receptura pentru crema de înghețată cu S.D.F. din frunze de zmeur și de mur s-a
constituit astfel:

19 - 50 părți lapte praf degresat s-au solubilizat prin agitare în 100 părți apă, la care s-a
adăugat 10% praf de ouă. Ingredientele s-au omogenizat cu 50 părți sirop hipocaloric con-
21 stituit conform recepturii menționate anterior. Se adaugă amidon modificat sau maltodextrină
în proporție de 5% gr, față de compoziția menționată, de asemenea, s-au încorporat în crema
23 de înghețată 10% căpșuni și/sau 5% fructe de pădure: zmeură, afine sau coacăze - care în
prealabil au fost refrigerate în congelator și apoi au fost dezghețate și pastificate.

25 Evaluarea însușirilor senzoriale de gust, culoare și miros s-a realizat de către un
număr de 30 persoane calificate, cu experiență în domeniul testărilor organoleptice.

27 Testarea comparativă s-a realizat cu utilizarea, în produsele menționate, a îndulci-
torilor tradiționali (zahăr, glucoză) la niveluri de concentrație care induc o senzație de dulce
29 obișnuită pentru acest tip de produse.

31 Panelul de degustători s-a pronunțat prin acordarea de note, având punctaje cuprinse
între 2,5 și 10, cu următoarele semnificații: 10 foarte bine, 7,5 bine, 5 mulțumitor,
2,5 necorespunzător.

33 *Tabelul 3*

35 *Rezultatele testării însușirilor funcționale și senzoriale*

37	Produsul	Gust	Senzația de „plinătate” în gură	Aparența	Nivelul general de plăcere
39					
41	Sirop hipocaloric, constituit prioritar din fibrele solubile ale extractelor foliare de zmeur și mur	6	6	7,0	7,5
43	Înghețată cu adaos de sirop hipocaloric din fracțiunea S.D.F., extrasă din frunze 45 de mur și de zmeur	7,2	7,4	6,5	8

RO 126461 B1

Testele indică un nivel ridicat de plăcere și de acceptare pentru produsele „tip sirop” și pentru crema de înghețată. De asemenea, senzația de plinătate și de sațietate când sunt percepute în gură. Senzația a fost similară cu a preparatelor tradiționale realizate pe bază de zahăr, care au dezavantajul indicelui glicemic ridicat.	1 3
Beneficiul nutraceutic al utilizării fibrelor solubile dietetice S.D.F., pentru a obține produse dulci cu indice glicemic scăzut, poate fi deosebit, pentru multe categorii ale populației, în special, pentru diabetici, obezi și hipertensivi.	5 7

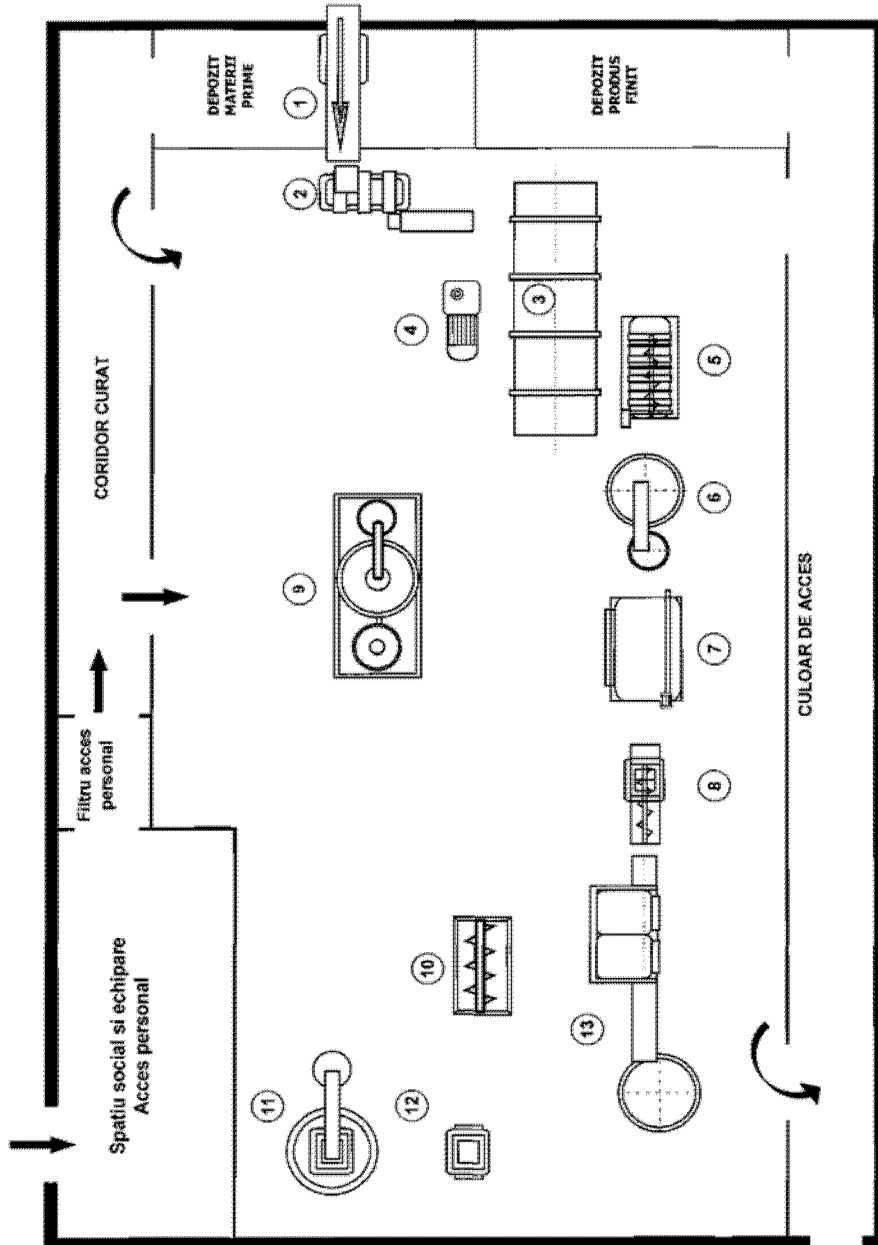
RO 126461 B1

Revendicări

1

3 1. Produs alimentar de aditivare prebiotic, din frunze de mur și de zmeur, **caracterizat**
5 **prin aceea că** este alcătuit dintr-o pulbere de culoare variind de la slab-verzui la brun-roșcat,
7 cu miros și gust aromat, dimensiuni ale particulelor de 12...17 μ și un conținut de:
9 46,5...49,8% fibre dietetice solubile, 40% maltodextrine ca excipient de încorporare, 2...2,5%
zaharuri solubile, 1,9...2,1% extractive neazotate, 1...1,1% proteină brută, 1,2...1,4% fenoli
solubili, 0,6...0,8% lipide, 3,1...3,5% săruri minerale, părțile în greutate fiind exprimate
procentual.

11 2. Procedeu pentru obținerea produsului definit în revendicarea 1, **caracterizat prin**
13 **acea că** se colectează biomasa foliară de mur și de zmeur, se transportă pe o bandă de ali-
mentare (1), se spală cu un jet de apă într-o instalație de spălare (2), se usucă pe un uscător
15 în gradienti de temperatură și flux de aer cald (3), se macină într-o moară coloidală pentru
material vegetal uscat (4), se trece într-un mixer orizontal cu programator de cap (5) cu o
17 soluție de alcool etilic alimentar de 50% v/v, la un timp de preînmuire de 24...48 h, se
dispersează țesutului foliar cu solvent hidroetanollic, se trece în instalația de extracție la rece
19 (6) într-un raport de 1:12, cu adaos de acid ascorbic în proporție de 0,2%, la temperatura de
22...25°C, în regim alternativ de percolare și șocuri de presiune pe o durată de 2...6 h, după
care dispersia se centrifugează timp de 15...20 min, la 2500 rotații/minut în separatorul
21 centrifugal (7), iar dispersia se presează ulterior în presa cu șurub (8), iar faza fluidă se trece
în instalația cu vid la 45°C, pentru a elimina etanolul (9), faza fluidă concentrată se trece în
23 bazinul de amestecare cu maltodextrină (10), urmată de uscarea prin pulverizare în
atomizorul (11), iar produsul cu un conținut în substanță uscată de minimum 90% se trece în
25 mașina de dozat pentru produse pulverulente (12), în cantități variabile, în funcție de tipul de
utilizare, în diferite recepturi alimentare.



Secție de procesare a structurilor foliare pentru obținerea de fibre alimentare prebiotice

