



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2011 01119

(22) Data de depozit: 08.11.2011

(41) Data publicării cererii:  
29.06.2012 BOPI nr. 6/2012

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL DE CERCETĂRI ȘI  
AMENAJĂRI SILVICE,  
BD.EROILOR NR.128, VOLUNTARI, IF, RO

(72) Inventatori:  
• ȚULUCA ELISAVETA,  
STR.FRAȚII FĂGĂRĂȘANU NR.38,  
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;  
• BIRIȘ IOVU ADRIAN, STR.VIDIN NR.12,  
BL.58 BIS, SC.A, ET.3, AP.13, SECTOR 2,  
VOLUNTARI, IF, RO;

• ALBULESCU VIOREL LIVIU,  
STR.DRUMUL TABEREI NR.39, BL.OS4,  
SC.4, ET.8, AP.154, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• ȘERBĂNESCU OCTAVIAN VALENTIN,  
STR.IZVORUL OLTULUI NR.2, BL.25, SC.A,  
ET.3, AP.12, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• VOICULESCU ION, ȘOS.ȘTEFĂNEȘTI  
NR.128, VOLUNTARI, IF, RO

(54) ALIMENT FUNCȚIONAL CU POTENȚIAL BIOPROTECTIV,  
ANTIOXIDANT ȘI IMPLICAȚII FIZIOLOGICE COMPLEXE

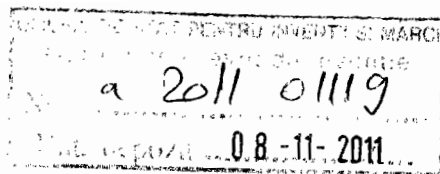
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui aliment funcțional cu potențial bioprotectiv, antioxidant și cu implicații fiziologice complexe. Procedeu conform invenției constă din condiționarea rășinii de pin, prin îndepărtarea impurităților macerarea acesteia în alcool etilic 96%, în raport 1:8...1:10, în absența luminii, cu agitare intermitentă timp de 7...9 zile, filtrarea dispersiei rezultate, cu spălarea filtrului de 2 ori cu solvent propas-păt, rezultând un extract fluid cu mare capacitate anti-oxidantă, peste care se adaugă apă la un volum de 30% din volumul extractului etanolic, și etanolul se distilează la vid la maximum 45°C, până la un volum de

10% din cel inițial, la soluția rezultată se adaugă, cu amestecare la 35...40°C, o soluție glucidică 55...65%, o dispersie gelatinoasă solubilizată la maximum 60...70°C, după care amestecul se fasonază în matrițe, se menține la frigider, la 4°C, timp de 24 h, rezultând minitabiletele de 5 g, care se pudrează cu cacao sau se acoperă cu ciocolată amăruie, obținându-se un conținut final de 86,5 mg substanță activă constând în principal din terpenoide, cu un conținut de zahăr de 33,3%.

Revendicări: 3





18

## **ALIMENT FUNCȚIONAL CU POTENȚIAL BIOPROTECTIV, ANTIOXIDANT ȘI IMPLICAȚII FIZIOLOGICE COMPLEXE**

### **1. REZUMAT**

Invenția se referă la un aliment funcțional obținut din rășină de pin purificată, încorporat pe un substrat gelifiant acidulat, porționat sub formă de minitablete, cu următoarea compoziție: rășină de pin purificată 1,73%, zahăr 33,3%, proteină 5%, acid malic 0,8%. Minitabletele cu o greutate de 5 gr, conțin 86,5 mg substanță activă, predominant terpenoide, rezultând 30 tablete.

Procedeul conform invenției, cuprinde următoarele etape:

- ⇒ Purificarea rășinii de pin prin extracție cu etanol de 96% la un raport de 1:8-1:10 rășină de pin: extractant, separarea fazei fluide extrase timp de 7 zile la temperatura mediului ambiant, de rezidui insolubili alcătuiți din impurități organice și minerale.
- ⇒ Prepararea dispersiei hidroetanolice din rășina de pin, prin adaosul în extractul etanolic concentrat, a unui volum de apă de 30% din volumul total al extractului și distilarea etanolului în vid la maxim 45°C, astfel încât volumul etanolului remanent să reprezinte maxim 25% din volumul inițial.
- ⇒ Prepararea amestecului gelifiant din zahăr, gelatină și acid malic în mediu apos, în raport de 1 : 1 apă : zahăr, cu adaos de 5% gelatină alimentară și 0,8% acid malic.
- ⇒ Încorporarea treptată prin agitare continuă a dispersiei hidroetanolice din rășina de pin, în amestecul gelifiant, la temperatura de 40° - 50°C și turnarea compoziției calde în minimatrițe dreptunghiulare, cu dimensiuni de 1,2 / 2,5 cm.
- ⇒ Răcirea treptată la temperatura camerei și apoi menținerea timp de 24 ore la temperatura de 4°C, pentru asigurarea stabilității și consistenței tabletelor.
- ⇒ Detașarea tabletelor din matrițe, prin imersie în apă fierbinte timp de 5 - 20 secunde și pudrarea cu praf de cacao, sau copertarea în ciocolată amăruie.

### **2. DESCRIERE**

Acutizarea factorilor cauzatori de stress, nivelul ridicat al radiațiilor nocive și al poluanților, impun găsirea de soluții alternative față de medicina alopată, preferabil prin consumul de alimente funcționale bioprotective.

Invenția se referă la un aliment funcțional obținut prin concentrarea compușilor cu potențial bioprotectiv din rășină de pin. Acțiunile complexe de bioprotecție a rășinilor de pin, se

bazează pe conținutul lor înalt de compuși terpenoidici, cu precădere a acizilor diterpenoidici abietic și dehidroabietic.

Conform descoperirilor din ultimii ani, compușii terpenoidici pot exercita un efect relevant de stimulare a metabolismului carbohidraților și lipidelor, constituind un „senzor” al consumului lipidelor din dietă.

Ingerarea acestora prezintă beneficii complexe pentru sănătate, respectiv de normalizare a unor funcții endocrine, de scădere a colesterolului și a lipidelor serice, de stimulare a imunității, de protecție în osteoporoză, de ameliorare a sindromului metabolic (Mts), etc. Aceste acțiuni sunt corelate fiziologic la nivel molecular cu modulatori nucleari care activează proliferarea peroxizomelor (PPARs). Peroxisomes proliferators - activated receptor, PPARs, implicați în homeostazia energetică.

*„Various Terpenoids Derived from Herbal and Dietary Plants Function as PPAR Modulators and Regulate Carbohydrate and Lipid Metabolism”*

- Tsuyoshi Gota, Nohoyuki Takahashi, 2010 (India). [ 1 ].

De semnalat de asemenea reconsiderarea importanței rășinilor de conifere, ca resurse cu potențial fitoterapeutic în prevenirea și tratarea a numeroase disfuncții dintre care semnalăm:

- ⇒ Potențialul de implicare a rășinilor de pin în reglarea producției de androsteroni, în afecțiuni ca acneea juvenilă sau hiperplazia benignă a prostatei prin inhibarea enzimei testosteron 5  $\alpha$ -reductaza - 2010 (Seong Soh Rob) [ 2 ].
- ⇒ Rășinile de pin cu un conținut înalt în acizi abietic și dehidroabietic, se indică a fi utilizate și în tratamentele de prevenire a fracturilor și a osteoporozei, întrucât s-a demonstrat că pot media nivelul de asimilare al calciului și al potasiului, prin mecanisme moleculare de activare a canalelor de conductanță a ionilor de  $\text{Ca}^{2+}$  și  $\text{K}^{+}$  (Nazuko Sakamoto - Japonia) [ 3 ].
- ⇒ De remarcat de asemeni lucrările care fundamentează potențialul acidului abietic și a derivaților acestuia, ca inhibitori ai celulelor maligne, cu reducerea dimensiunii tumorilor (Chi Hung Lin, Hisin Shin - Taiwan) [ 4 ].
- ⇒ Compușii bioactivi din rășini extrași în solvenți lipofili, se preferă în tratarea infecțiilor cronice și a ulcerărilor, prin inhibarea deopotrivă a bacteriilor și a fungilor (Arno Sipponeu - Norvegia) [ 5 ].

În arealul autohton, utilizările rășinilor de pin în scopuri terapeutice au fost consemnate de-alungul timpului. Astfel rășinile topite incorporate în grăsimi animaliere s-au aplicat pentru a atenua durerile reumatismale. Efectele lor analgezice au fost evidențiate în

prezent prin lucrări științifice [6]. Rășinile macerate în băuturi alcoolice, ca de exemplu țuică și vin roșu se administrau persoanelor de vârstă a treia cu disfuncții ale gonadelor (Tradiții în Bucovina).

Compoziția rășinilor de pin este deosebit de complexă cu predominanța structurilor de tip terpenoidic cu volatilitate diferențiată. Frațiunile volatile fiind reprezentate de mono și sesquiterpene ca de exemplu  $\alpha$ - și  $\beta$ -pinen, camphen, mircen, terpieneol, limoneu, cariofolen, etc. Frațiunile acide sunt constituite mai ales din acizi abietic și dehidroabietic, acizii pimaric și palustic.

Foarte importantă sub aspect fitoterapeutic este și prezența fitoestrogenilor hidroximatairesinol și secoisolariciresinol și a pinosilvanilor stilbenici.

Dependent de nivelele diferențiate ale acestor compuși s-au semnalat însușiri anxiolitice, antivirale, antitumorale, respectiv de îmbunătățire a activității medicamentelor anticanceroase.

Prin procedeul conform invenției se are în vedere integrarea într-o formă compatibilă sinergică a rășinilor de pin, pe suporturi utilizate tradițional în industria produselor zaharoase, respectiv gelatină, zahăr și un acidulant, preferabil acid malic.

Procedeul se bazează pe conceptul prelucrării la temperaturi minimale pentru a nu afecta compușii bioactivi sub aspect stereostructural și de menținere a activității antioxidante a extractelor din rășină de pin, situată la nivele foarte înalte comparativ cu alte categorii de extracte naturale.

Succesiunea etapelor de procesare este următoarea:

- ⇒ Rășina de pin recoltată de pe arbori sănătoși (necontaminați de ciuperci) preferabil în zilele însorite, se condiționează îndepărtând resturile de scoarțe sau impurități minerale.  
Se introduce la macerare cu agitare intermitentă, în absența luminii, cu etanol de concentrație 96% la raporturi cuprinse între 1 : 8 - 1 : 10 rășină : etanol de 96% v/v. Se menține la macerat 7 - 9 zile, asigurându-se penetrarea eficientă a solventului în materialul vâcos.
- ⇒ Separarea de materialul insolubil se realizează prin filtrare, spălând de două ori filtrul cu cantități proaspete de solvent. Se obține un extract fluid cu o concentrație în materialul solubilizat de 2,4 - 2,6%. Capacitatea antioxidantă a extractului fluid, evaluată cu metoda ABTS se situează la valori de 3200 - 3500  $\mu$ moli TEAC/ gr produs.
- ⇒ Pentru a nu introduce în produsul final cantități de alcool inadecvate unui aliment funcțional și pentru a facilita o bună omogenizare a extractului în excipienți de încorporare, se adaugă un volum de apă de circa 30% față de volumul extractului etanolic inițial, urmată de distilarea în vid la maximum 45°C a etanolului.

Nivelul etanolului remanent în extractul final de rășină de pin se va situa la valori maxime de 10 – 25% din volumul total.

Excipienții alimentari de incorporare se vor prelucra în etapele ulterioare astfel:

Zahărul se solubilizează prin încălzire moderată în apă, la o concentrație de 55 – 65%. Soluția glucidică se răcește și se adaugă gelatină alimentară și 1,3 – 1,5 % acid malic, dizolvat în prealabil într-o soluție concentrată. După o preînmuiere a gelatinei la temperatura mediului ambiant, amestecul glucidic se transferă pe o baie de apă pentru dizolvarea completă a gelatinei, la 60 – 70°C. Amestecul se răcește ușor la 35° – 40°C și se introduce extractul hidroetanolic concentrat de rășină de pin treptat, cu omogenizare continuă.

După omogenizare, amestecul se toarnă în minimatrițe plasate în seturi de 30 – 60 bucăți, minimatrițele având forme dreptunghiulare cu dimensiuni de 1,2 – 2,5 cm.

Seturile de minimatrițe se răcesc la temperatura mediului ambiant și apoi sunt introduse la răcire în frigider la 4°C, timp de 24 ore, pentru completa stabilizare a gelului.

Minitabletele se detașează prin imersie în apă caldă timp de 10 – 20 secunde și apoi se pudrează cu praf de cacao, sau se copertează cu ciocolată amăruie, fluidificată în prealabil pe o baie de apă.

**Exemplu:** 20 g rășină de pin condiționată se introduce în 80 ml etanol de 96%. Se macerează cu agitare intermitentă timp de 7 zile, după care se filtrează și rezidul insolubil se mai spală pe filtru de două ori cu 10 ml de etanol de 96%. 50 g zahăr cristal se introduce în 30 ml apă de robinet și se încălzește încet până la dizolvarea completă, cu agitare continuă. Este de preferat să se obțină concentrații glucidice de min. 50%. Soluția glucidică se răcește la temperatura camerei și apoi se introduce la preînmuiere 7,5 gr de gelatină alimentară și acid malic 1,3 – 1,5% dizolvat în prealabil. Substratul gelifiant se menține pe o baie de apă la o temperatură de 60 – 70°C pentru a facilita completa dizolvare a gelatinei.

Extractul etanolic concentrat din rășina de pin se prelucrează pentru a nu atinge în produsul finit concentrații de etanol la nivele nedorite pentru un aliment funcțional și pentru a realiza o bună incorporare a rășinei în substratul glucidic.

Se are în vedere îndepărtarea excesului de etanol prin distilare în vacuum la maxim 45°C, nivelul etanolului remanent va trebui să nu depășească maxim 25%.

Întrucât în acest caz vâscozitatea amestecului rășinos va fi prea mare, anterior îndepărtării etanolului, în extractul inițial se adaugă un volum de apă de circa 30% față de

volumul extractului inițial. Se va obține o fracțiune hidroetanolică, cu particole de rășină fin dispersate.

În etapa ulterioară, o cantitate de 35 ml din dispersia hidroetanolică a rășinii de pin, se va integra în substratul glucidic gelifiant, la temperatura de 30 – 40°C pentru a asigura o bună omogenizare.

După răcire se va obține un produs gelifiat, cu o greutate de aproximativ 150 g din care pot rezulta aproximativ 30 minitabele. Nivelul de reprezentare al compușilor bioprotectivi antioxidanți, se va cifra la valori de 86,5 mg/minitabele de 5 gr.

Înșușirile senzoriale de gust și miros sunt atractive, iar dozele de compuși antioxidanți pot fi relevante la nivelul de consum zilnic a 2 tablete de 5 g preferabil dimineața și seara, sub forma unui desert.

### **3. REVENDICĂRI**

- 1) Obținerea unui produs cu potențial antioxidant și implicații fiziologice complexe, ingerabil pe cale orală, sub formă de minitabele gelatinoase, cu însușiri senzoriale atractive.
- 2) Obținerea unui produs cu potențial antioxidant prin solubilizare la temperatura camerei a rășinii de pin în etanol de 96°C, eliminarea etanolului în proporție de 75% prin distilare în vid și facilitarea dispersiei rășinii în substratul gelifiant prin adaosul a 30% apă.
- 3) Obținerea unui produs cu însușiri antioxidante și cu stabilitate îndelungată prin copertarea cu ciocolată amăruie a unor minitabele gelatinoase cu un conținut în compuși bioactivi antioxidanți la nivele de 86,5 mg substrat copertat.

volumul extractului inițial. Se va obține o fracțiune hidroetanolică, cu particole de rășină fin dispersate.

În etapa ulterioară, o cantitate de 35 ml din dispersia hidroetanolică a rășinii de pin, se va integra în substratul glucidic gelifiant, la temperatura de 30 – 40°C pentru a asigura o bună omogenizare.

După răcire se va obține un produs gelifiat, cu o greutate de aproximativ 150 g din care pot rezulta aproximativ 30 minitabele. Nivelul de reprezentare al compușilor bioprotectivi antioxidanți, se va cifra la valori de 86,5 mg/minitabele de 5 gr.

Înșușirile senzoriale de gust și miros sunt atractive, iar dozele de compuși antioxidanți pot fi relevante la nivelul de consum zilnic a 2 tablete de 5 g preferabil dimineața și seara, sub forma unui desert.

### **3. REVENDICĂRI**

1) Obținerea unui produs cu potențial antioxidant și implicații fiziologice complexe, ingerabil pe cale orală, sub formă de minitabele gelatinoase, cu însușiri senzoriale atractive.

2) Obținerea unui produs cu potențial antioxidant prin solubilizare la temperatura camerei a rășinii de pin în etanol de 96°C, eliminarea etanolului în proporție de 75% prin distilare în vid și facilitarea dispersiei rășinii în substratul gelifiant prin adaosul a 30% apă.

3) Obținerea unui produs cu însușiri antioxidante și cu stabilitate îndelungată prin copertarea cu ciocolată amăruie a unor minitabele gelatinoase cu un conținut în compuși bioactivi antioxidanți la nivele de 86,5 mg substrat copertat.