



(11) RO 127477 B1

(51) Int.Cl.

A23L 33/105 (2016.01),

A61K 36/15 (2006.01)

(12)

BREVET DE INVENTIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 01119**

(22) Data de depozit: **08/11/2011**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/12/2016** BOPI nr. **12/2016**

(41) Data publicării cererii:
29/06/2012 BOPI nr. **6/2012**

(73) Titular:

• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE ÎN
SILVICULTURĂ "MARIN DRĂCEA",
BD.EROILOR NR.128, VOLUNTARI, IF, RO

(72) Inventatori:

• TULUCA ELISAVETA,
STR.FRAȚII FĂGĂRĂȘANU NR.38,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
• BIRIŞ IOVU-ADRIAN, STR.VIDIN NR.12,
BL.58 BIS, SC.A, ET.3, AP.13, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, 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 OLȚULUI NR.2, BL.25, SC.A,
ET.3, AP.12, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO;

• VOICULESCU ION, ȘOS.ȘTEFĂNEȘTI
NR.128, VOLUNTARI, IF, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:

CN 101708194 (A); FR 2792203 (A1);
JPS 5581816 (A); JP 2001095491 (A)

(54) **PROCEDEU DE OBȚINERE A UNUI ALIMENT FUNCȚIONAL
CU POTENȚIAL BIOPROTECTIV, ANTIOXIDANT ȘI
IMPLICAȚII FIZIOLOGICE COMPLEXE**

Examinator: biochimist BABALIGEA IRINA



Orice persoană are dreptul să formuleze în scris și
motivat, la OSIM, o cerere de revocare a brevetului de
invenție, în termen de 6 luni de la publicarea mențiunii
hotărârii de acordare a acesteia

RO 127477 B1

1 Inventia se referă la un procedeu de obținere a unui aliment funcțional, cu potențial
bioprotectiv antioxidant și implicații fiziologice complexe.

3 Acutizarea factorilor cauzatori de stres, nivelul ridicat al radiațiilor nocive și al poluan-
5 tilor, impun găsirea de soluții alternative față de medicina alopată, preferabil prin consumul
de alimente funcționale bioprotective.

7 Inventia se referă la un procedeu de obținere a unui aliment funcțional obținut prin
concentrarea compușilor cu potențial bioprotectiv din răsină de pin.

9 Acțiunile complexe de bioprotecție a răsinilor de pin se bazează pe conținutul lor înalt
de compuși terpenoidici, cu precădere a acizilor diterpenoidici abietic și dehidroabietic.

11 Conform descoperirilor din ultimii ani, compușii terpenoidici pot exercita un efect rele-
vant de stimulare a metabolismului carbohidraților și lipidelor, constituind un „senzor” al con-
sumului lipidelor din dietă.

13 Ingerarea acestora prezintă beneficii complexe pentru sănătate, respectiv, de norma-
lizare a unor funcții endocrine, de scădere a colesterolului și a lipidelor serice, de stimulare
15 a imunității, de protecție în osteoporoză, de ameliorare a sindromului metabolic (MTS) etc.

17 Aceste acțiuni sunt corelate fiziologic la nivel molecular cu modulatori nucleari care
activează proliferarea peroxizomilor (PPARs) implicați în homeostazia energetică (Goto, T.,
Takahashi, N., Hirai, S., & Kawada T., 2010, **Various terpenoids derived from herbal**
19 **and dietary plants function as PPAR modulators and regulate carbohydrate and lipid**
metabolism, PPAR research, 2010. article I. D. 483958, 9 pag.).

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

25 - potențialul de implicare a răsinilor de pin în reglarea producției de androsteroni, în
afecțiuni ca acneea juvenilă sau hiperplazia benignă a prostatei, prin inhibarea enzimei testo-
steron 5 α-reductază (Roh, S. S., Park, M. K., & Kim, Y. U., 2010, **Abietic Acid from**
27 **Resina Pini of Pinus Species as a Testosterone 5. ALPHA.-Reductase Inhibitor.**
Journal of Health Science, 56(4), 451-455);

29 - răsinile 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
31 că pot media nivelul de asimilare a calciului și a potasiului, prin mecanisme moleculare de
activare a canalelor de conductanță a ionilor de Ca²⁺ și K⁺ (Sakamoto K., Nonomura T.,
33 Ohya S., Muraki K., Ohwada T., & Imaizumi Y., 2006, **Molecular mechanisms for large**
35 **conductance Ca²⁺ - activated K⁺ channel activation by a novel opener, 12, 14-**
dichlorodehydroabietic acid, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics,
316 (1), 144-153);

37 - potențialul acidului abietic și al derivaților acestuia, ca inhibitori ai celulelor maligne,
cu reducerea dimensiunii tumorilor (Lin C. H., & Chuang H. S., 2006, **Use of abietic acid**
39 **and derivatives thereof for inhibiting cancer, US 7015248, Washington, DC: US Patent**
and Trademark Office);

41 - compușii bioactivi din rășini, extrași în solventi lipofili, se preferă în tratarea infecțiilor
cronice și a ulcerărilor, prin inhibarea deopotrivă a bacteriilor și a fungilor (Sipponen A.,
43 Rautio M. L., Jokinen J. J., Laakso T., Saranpaa P., & Lohi J., 2007, **Resin-salve from**
Norway spruce-a potențial method to treat infected chronic skin ulcers?, **Drug**
45 **metabolism letters, 7(2), 143-145**).

În arealul autohton, utilizarea răšinilor de pin în scopuri terapeutice a fost consemnată de-a lungul timpului. Astfel, răšinile topite și încorporate în grăsimi animaliere s-au aplicat pentru a atenua durerile reumatismale. Efectele lor analgezice au fost evidențiate în prezent prin lucrări științifice (González M. A., Pérez-Guaita D., Correa-Royer J., Zapata B., Agudelo L., Mesa-Arango A., & Betancur-Galvis L., 2010, <i>Synthesis and biological evaluation of dehydroabietic acid derivatives, European journal of medicinal chemistry, 45(2), 811-816</i>). Răšinile macerate în băuturi alcoolice, ca, de exemplu, țuica și vinul roșu, se administruau persoanelor de vârstă a treia cu disfuncții ale gonadelor (Tradiții în Bucovina). Componența răšinilor de pin este deosebit de complexă, cu predominarea structurilor de tip terpenoidic, cu volatilitate diferențiată. Fracțiunile volatile sunt reprezentate de mono și sesquiterpene, ca, de exemplu, α- și β-pinene, camfen, mircen, terpineol, limonen, cariofolen etc. Fracțiunile acide sunt constituite mai ales din acizi abietic și dehidroabietic, acizii pimamic și palustric. Foarte importantă sub aspect fitoterapeutic este și prezența fitoestrogenilor hidroximatairezinol și secoizolaricirezinol, și a pinosivanilor stilbenici. Dependent de nivelurile diferențiate ale acestor compuși, s-au semnalat însușiri anxiolitice, antivirale, antitumorale, respectiv, de îmbunătățire a activității medicamentelor anticanceroase. Produsul rezultat în urma procedeului revendicat în prezenta cerere de brevet de inventie, bazat pe extracte concentrate din răšină de pin (cu însușirile sanogene menționate anterior), integrat pe suporturi, respectiv, proteine (gelatină) și monozaharide, cu adaos de acidulanți (acid malic) pentru atraktivitatea însușirilor senzoriale, se integrează în categoria alimentelor funcționale, conform conceptelor și definițiilor prefigurate încă din anul 1993 în Japonia - [Food for Specified health uses (FOSHU)]. Această categorie de produse ilustrează conceptul de „consum special de promovare a sănătății prin substanțe alimentare, incluse în viața zilnică, pentru aportul acestora la îmbunătățirea stării de sănătate și minimizarea riscurilor de apariție a îmbolnăvirilor, care sunt generate de un stil de viață și de o alimentație inadecvate”. Componența produsului din prezenta cerere de brevet de inventie ilustrează, de asemenea, însușirile de aliment funcțional [prezentate de Constantin Banu și colab., în publicația intitulată „ <i>Alimente funcționale, suplimente alimentare și plante medicinale</i> ”, Editura ASAB, București, 2010, pp. 37-358], conform căror alimentul funcțional este similar ca aspect cu un aliment convențional, destinat a fi consumat ca parte a dietei, dar care a fost modificat pentru a confieri proprietăți fiziologice, pe lângă faptul că asigură și necesități nutriționale. În acest context, produsul rezultat în urma inventiei poate fi asimilat și consumat ca un aperitiv tradițional zaharos, întrucât, alături de potențialul sanogen, prezintă însușiri senzoriale atractive, cu aromă revigorantă de conifere. Din punctul de vedere al soluțiilor tehnice propuse până în prezent, s-au evidențiat următoarele informații documentare: CN 101708194 (A), 19.05.2010, cu titlul „Procedeu pentru fabricarea unui extract de scoarță de pin/Process for manufacturing pine bark extract”, descrie un procedeu cuprinzând adăugarea de etanol 50...70% la un material neprelucrat de scoarță de pin, într-un raport de 8 la 1, realizarea extracției de trei ori la 70°C (prima dată timp de 3 h, a doua oară timp de 2 ½ h, iar a treia oară timp de 2 h), colectarea extractelor, distilarea etanolului în vid, urmat de o serie de etape ca: centrifugare, trecerea extractului centrifugat printr-o coloană cromatografică cu răšină macroporoasă, reluarea și desorbția acestuia, recuperarea etanolului sub vid și obținerea în final a unui extract concentrat sub formă de pastă.	1 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39 41 43 45 47 49
--	---

FR 2792203 (A1), 20.10.2000, cu titlul „**Noi compozitii pe bază de extracte vegetale naturale și utilizarea acestora, în special în domeniile farmaceutic și cosmetic/Nouvelle composition à base d'extraits végétaux naturels, et son utilisation, notamment dans les domaines pharmaceutiques ou cosmétiques**”, descrie un procedeu de obținere a unei compozitii pe bază de extract de pin și coacăze, constând în extracția hidroalcoolică a unor fragmente de scoarță de pin și de frunze de coacăze, cu etanol 96,3% și apă deionizată, la temperatură ambientă, cu agitare mecanică lentă, la întuneric, urmată de o etapă de separare și filtrare a extractului final, care poate fi folosit în compozitii farmaceutice și cosmetice.

JPS 5581816 (A) (rezumat), 20.06.1980, descrie un agent antibacterian cu acțiune împotriva germenilor supurativi, care conține răsină de pin drept component activ principal, și poate fi administrat oral, sub formă de pastile, pudră, capsule, tablete cu înveliș zaharos, obținute prin metode convenționale.

JP 2001095491 (A) (rezumat), 10.04.2001, se referă la o bomboană antifumat, care conține: cel puțin o componentă dintre pudră din frunze de pin, extract de frunze de pin și răsină de pin, ulei de mentă sau un mentol cristalin; un miez care conține zahăr și un sirop gros de mălt; un înveliș care conține zahăr.

S-a avut în vedere performanța limitată a unor soluții în contextul problemei tehnice pe care procedeul conform invenției urmărește să o rezolve, după cum urmează:

CN 101708194 (A), 19.05.2010: se menține o temperatură de 70°C pe parcursul demersurilor extractive un timp relativ îndelungat, în total operații extractive cu o durată de 7,5 h. Aportul termic, deși moderat, poate afecta stereostructurile bioactive terpenoidice, constituie din terpenoidele polinucleare ciclice, labile termic și, în final, minimizează potențarea efectelor sanogene. Nu se precizează conținutul final în compuși bioactivi, raportat procentual la pasta concentrată, și nici utilizările concrete ale produsului.

În documentul FR 2792203 (A1), 20.10.2000, nu se motivează preferințele fitoterapeutice și nici efectele sinergice pentru care s-au selectat raporturile de participare dintre resursele naturale introduse la extractie. Absorbțiile și desorbțiile succese pot influența nivelul de puritate, dar nu clarifică modul în care contribuie la îmbunătățirea potențialului farmaceutic și/sau cosmetic.

JP S5581816 (A) are în vedere exclusiv însușirile antimicrobiene, și nu delimităază compoziției de aditivare din punctul de vedere al conținutului procentual, raportat la componentul activ antibacterian. Nu apare nicio indicație asupra compușilor naturali individualizați, predominant pentru efectele antibacteriene, aspect important în corelarea raportului structură/categorii de compuși cu activitate antimicbiană și indicații de utilizări diversificate.

Referitor la cererea de brevet JP 2001095491 (A), prezentarea motivelor pentru care produsul „antifumat” este un antidot care va stopa dorința de a fuma este relativ sumară în ceea ce privește mecanismul de acțiune. De asemenea, este neclară metoda de încorporare a ingredientelor menționate într-un înveliș bazat pe zaharuri, respectiv, proporția dintre zaharuri și compozitia deținătoare de compuși naturali protectivi „antifumat”.

Problema tehnică pe care o rezolvă procedeul conform invenției constă în obținerea unui aliment funcțional de tip produs zaharos cu un conținut ridicat de compuși bioactivi antioxidantii.

Procedeul conform invenției constă din următoarele etape:
 a) prepararea unui extract etanic concentrat de răsină de pin, prin recoltarea răsinii de pin de la arborii sănătoși, necontaminați cu ciuperci, preferabil în lunile aprilie-mai, în zilele însorite, condiționarea prin îndepărțarea resturilor de scoarță și impurități minerale, introducerea la macerare, cu agitare intermitentă, în absența luminii, cu soluție etanică

96% v/v, în raport de 1:8...1:10, timp de 7...9 zile, urmată de separarea dispersiei rezultate prin filtrare, spălând de 2 ori filtrul cu cantități proaspete de soluție etanolică 96%, obținându-se un extract fluid cu o capacitate antioxidantă de 3200...3500 micromoli TEAC/g extract, adăugare de apă, la un volum de 30% față de volumul extractului etanolic, și distilarea etanolului în vid, la maximum până la un nivel al etanolului remanent de 10...25% din volumul etanolului inițial.	1 3 5 7
În extractul fluid, rezultat în urma filtrării și spălării filtratului cu etanol de 96%, se adaugă apă, pentru a facilita distilarea etanolului și a concentra substanța activă în volume minime;	7
b) prepararea unui substrat glucidic gelifiant, care conține o soluție glucidică având o concentrație de 55...65%, 7,5% gelatină alimentară și 1,3...1,5% acid malic, în condiții de solubilizare a acestor ingrediente la 60...70°C;	9
c) integrarea extractului etanolic concentrat de răsină de pin în substratul glucidic gelifiant, la 30...40°C, astfel că din amestecul soluției glucidice cu extractul concentrat de pin, gelatină și acid malic rezultă un amestec final care conține 33,3% zaharoză, 5% gelatină și 0,8% acid malic, și care se fasonează în minimatrie, care se mențin la 4°C timp de 24 h, se detașează din minimatrie după gelificare, rezultând minitablete care se pudrează cu praf de cacao sau se copertează cu ciocolată amăruie, și care, în final, conțin 86,5 mg substanțe active, predominant terpenoide, per 5 g de produs finit.	11 13 15 17
Prin integrarea soluției glucidice (a) cu extractul concentrat de răsină de pin (b), în produsul final, gelatina, care în substratul glucidic s-a introdus la nivel de 7,5%, va reprezenta aproximativ 5%, iar acidul malic, care în soluția glucidică s-a introdus la nivel de 1,3...1,5%, va reprezenta aproximativ 0,8%.	19 21
Procedeul de obținere a unui aliment funcțional, conform invenției, prezintă următoarele avantaje:	23
- asigură solubilizarea terpenoidelor bioactive, fără riscul degradării structurilor polinucleare sau al pierderii în compuși volatili, întrucât extractia etanolică se realizează la temperatură mediului ambiental, iar îndepărțarea excesului de etanol se realizează în vid, la maximum 45°C;	25 27
- parametrii tehnologici previzionați mențin în extract un nivel al capacitatii antioxidante foarte înalt, comparativ cu al altor produse, respectiv, de 3200...3500 micromoli TEAC/g. Se asigură penetrarea eficientă a solventului în răsină vâscoasă;	29
- încorporarea pe substrat proteic gelifiant reține și stabilizează terpenoidele volatile, și mărește nivelul de biofolosință metabolică a acestora;	31
- delimităză cantitativ ingrediente de aditivare, respectiv, participarea procentuală a zahărului și a acidulantului, astfel încât să rezulte un produs cu însușiri senzoriale de miros și gust atractive, cu atribute revigorante;	33 35
- s-a realizat concentrarea unei doze relevante de terpenoide bioactive cu potențial energizant și revigorant, la nivelul de 86,5 mg/5 g produs, într-o formă de consum tradițională, integrabilă în meniurile zilnice, sub forma unor aperitive dulci.	37
Prin procedeul conform invenției se are în vedere integrarea într-o formă compatibilă sinergică a răsiniilor de pin, pe suporturi utilizate tradițional în industria produselor zaharoase, respectiv, gelatină, zahăr și un acidulant, preferabil acid malic.	39 41
Procedeul se bazează pe conceptul prelucrării la temperaturi minime, pentru a nu afecta compușii bioactivi sub aspect stereostructural și de menținere a activității antioxidantă a extractelor din răsină de pin, situată la niveluri foarte înalte, comparativ cu alte categorii de extracte naturale.	43 45
Mai detaliat, procedeul conform invenției constă din următoarele etape:	
- răsina de pin recoltată de pe arborii sănătoși (necontaminați de ciuperci), preferabil în zilele însorite, se condiționează prin îndepărțarea resturilor de scoarță sau a impurităților minerale;	47 49

1 - rășina se introduce la macerare cu agitare intermitentă, în absența luminii, cu etanol
2 de concentrație 96%, la raporturi cuprinse între 1:8 și 1:10 rășină:etanol de 96% v/v, se
3 menține la macerat 7...9 zile, asigurându-se penetrarea eficientă a solventului în materialul
vâscos;

5 - materialul insolubil se separă prin filtrare, după care se spală de 2 ori pe filtru cu
7 cantități proaspete de solvent. Se obține un extract fluid, cu o concentrație în substanțe
active de 2,4...2,6%. Capacitatea antioxidantă a extractului fluid, evaluat cu metoda ABTS,
9 se situează la valori de 3200...3500 micromoli TEAC/g produs;

11 - extractul etanic concentrat (96% etanol) se aditionează cu un volum de apă, la un
13 nivel de 30% față de volumul extractului etanic inițial, apoi amestecul se distilează în vid
la o temperatură de maximum 45°C. Distilarea se realizează pentru ca produsul final, conceput ca un aliment funcțional, să nu prezinte un nivel al etanolului inadecvat produsului
sanogen. Nivelul etanolului remanent în extractul fluid se va situa preferențial la niveluri de
maximum 10...25% din volumul total;

15 - se obține soluția glucidică concentrată de 55...65%, prin încălzirea zahărului la un
raport de 1:0,6 zahăr:apă, urmată de răcire și de adăos al acidului malic dizolvat în prealabil;

17 - se obține o dispersie de gelatină prin preînmuierea gelatinei în apă rece, inițial la
19 temperatura mediului ambiant, și apoi pe o baie de apă, pentru dizolvarea completă a
gelatinei la 60...70°C, urmată de o răcire usoară la 30...40°C;

21 - extractul concentrat din rășină de pin se integrează prin omogenizare cu soluția glu-
cidică și cu dispersia de gelatină, se toarnă în minimatrie dreptunghiulare, cu dimensiuni de
1,2...2,5 cm, care se răcesc la temperatura mediului ambiant;

23 - seturile de minimatrie se introduc în frigider pentru răcire, la 4°C, timp de 24 h,
pentru stabilizarea completă a gelului;

25 - minitabletele se detașează din matrie prin imersie în apă caldă, timp de 10...20 s,
și apoi se pudrează cu praf de cacao, sau se copertează cu ciocolată amăruie, fluidificată
27 în prealabil pe o baie de apă.

În continuare, se dă un exemplu de realizare a procedeului conform invenției.

Exemplu

29 20 g rășină de pin condiționată (în care s-au identificat prin analize GC-MS peste 40
31 de compuși terpenoidici, dintre care acidul abietic majoritar, la nivel de 20...22%, α- și β-
33 pinen, 3-caren, camfen, α-murolen, β-felandren, borneol, cedren, cubenol, isoleden, terpe-
35 noide polinucleare, fitoestrogeni, derivați ai androstanului, ai acidului pimaric și palustric etc.)
37 se introduc în 80 ml etanol de 96%. Se macerează cu agitare intermitentă timp de 7 zile,
39 după care se filtrează și reziduul insolubil se spală pe filtru de 2 ori cu 10 ml de etanol de
96%, 50 g zahăr cristal se introduce în 30 ml apă de robinet (în raport de 1:0,6 zahăr:apă)
41 și se încălzește încet până la dizolvarea completă, cu agitare continuă. Este de preferat să
43 se obțină concentrații glucidice de minimum 50%. Soluția glucidică se răcește la temperatura
45 camerei și apoi se introduce la preînmuiere 7,5 g gelatină alimentară în 50 ml apă rece și
acid malic 1,3...1,5%, dizolvat în prealabil.

Substratul gelifiant se menține pe o baie de apă, la 60...70°C, pentru a facilita
completa dizolvare a gelatinei.

Extractul etanic concentrat, din rășină de pin, se prelucrează pentru a nu atinge în
produsul finit concentrații de etanol nedorite pentru un aliment funcțional, și pentru a realiza
o bună încorporare a rășinii în substratul glucidic.

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

RO 127477 B1

Întrucât în acest caz viscozitatea amestecului răšinos va fi prea mare, anterior îndepărțării 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 particule 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 rezultat din omogenizarea soluției glucidice concentrate cu gelatina solubilizată, la temperatura de 30...40°C, pentru a asigura o bună omogenizare.

Prin amestecul soluției glucidice cu extractul concentrat de rășină de pin, în produsul final gelatina, care în soluția glucidică s-a introdus la nivel de 7,5%, va reprezenta aproximativ 5%, iar acidul malic, care în substratul glucidic s-a introdus la un nivel de 1,3...1,5%, în produsul final va reprezenta aproximativ 0,8%.

După răcire, se va obține un produs gelificat, cu o greutate de circa 150 g, din care pot rezulta circa 30 minitablete. Nivelul de reprezentare a compușilor bioprotectivi antioxidanti se va cifra la valori de minimum 86,5 mg/minitablete de 5 g.

Însușirile senzoriale de gust și miros sunt atractive, iar dozele de compuși antioxidanti pot fi relevante la nivelul de consum zilnic a 2 tablete de 5 g, preferabil dimineață și seara, sub forma unui desert (aperitiv dulce).

Procedeu de obținere a unui aliment funcțional cu potențial bioprotectiv antioxidant și implicații fiziologice complexe, pe bază de extract etanolic vegetal din pin, **caracterizat prin aceea că**:

i) se prepară un extract etanolic concentrat, de răsină de pin, prin recoltarea rășinii de pin de la arborii sănătoși, necontaminați cu ciuperci, preferabil în lunile aprilie-mai, în zilele însorite, condiționarea prin îndepărțarea resturilor de scoartă și impurități minerale, introducerea la macerare, cu agitare intermitentă, în absența luminii, cu soluție etanolică 96% v/v, în raport de 1:8...1:10, timp de 7...9 zile, urmată de separarea dispersiei rezultate prin filtrare, spălând de 2 ori filtrul cu cantități proaspete de soluție etanolică 96%, obținându-se un extract fluid cu o capacitate antioxidantă de 3200...3500 micromoli TEAC/g extract, adăugare de apă, la un volum de 30% față de volumul extractului etanolic, și distilarea etanolului în vid, la maximum 45°C, până la un nivel al etanolului remanent de maximum 10...25% din volumul etanolului inițial;

ii) se prepară un substrat glucidic gelifiant, care conține o soluție glucidică având o concentrație de 55...65%, 7,5% gelatină alimentară și 1,3...1,5 % acid malic, în condiții de solubilizare a acestor ingrediente, la 60...70°C;

iii) se integrează extractul etanolic concentrat de răsină de pin în substratul glucidic gelifiant, la maximum 30...40°C, astfel că din amestecul soluției glucidice cu extractul concentrat de pin, gelatină și acid malic rezultă un amestec final care conține 33,3% zaharoză, 5% gelatină și 0,8% acid malic, și care se fasonează în minimatrie care se mențin la +4°C timp de 24 h, se detașează din minimatrie după gelificare, se pudrează cu praf de cacao sau se copertează cu ciocolată amăruie, conținutul de substanță activă reprezentând aproximativ 86,5 mg/5 g de produs finit.

