



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2012 00263

(22) Data de depozit: 19.04.2012

(41) Data publicării cererii:
30.10.2013 BOPI nr. 10/2013

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE
AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
DIN BUCUREȘTI, BD. MĂRĂȘTI NR. 59,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• PAPUC CAMELIA PUIA, BD. UVERTURII
NR. 87, BL. 014A, SC. C, ET. 3, AP. 61,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• SAVU CONSTANTIN, STR. IOVIȚĂ NR. 6,
BL. P25, SC. A, ET. 4, AP. 16, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;

• CRIVINEANU MARIA,
CALEA 13 SEPTEMBRIE NR. 210, BL. V40,
AP. 3, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
• NICORESCU VALENTIN RĂZVAN,
STR. VALEA OLTULUI NR. 139-141, BL. A,
SC. 2, AP. 28, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• PREDESCU NICOLETA CORINA,
CALEA VĂCĂREȘTI NR. 207, BL. 85B,
SC. A, ET. 7, AP. 28, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;
• PAPUC COSTIN, BD. UVERTURII NR. 87,
BL. 014A, SC. C, ET. 3, AP. 61, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;
• SAVU OVIDIU, STR. IOVIȚĂ NR. 6,
BL. P25, SC. A, ET. 4, AP. 16, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **PRODUS NATURAL OBȚINUT DIN FRUCTE DE CĂȚINĂ CU
ACTIVITATE ANTIOXIDANTĂ ȘI ANTIMICROBIANĂ PENTRU
CARNE ȘI PRODUSE DIN CARNE (OXIPROTECT)**

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la un produs natural, sub formă de suspensie apoasă, cu activitate antioxidantă pentru carne și produse din carne, obținut din fructe de cătină (*Hippophae rhamnoides*) uscate și măcinate, prin extracție cu un solvent organic netoxic, după evaporarea solventului rezultând un produs conținând

polifenoli în concentrație de 2,5 g echivalent acid galic/100 ml extract, și care este recomandat pentru încorporare în carnea tocată sau pulverizare pe carnea tranșată.

Revendicări: 1

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art. 32 din Legea nr. 64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art. 23 alin. (1) - (3).



DESCRIEREA INVENȚIEI CU TITLUL:

PRODUS NATURAL OBȚINUT DIN FRUCTE DE CĂȚINĂ CU ACTIVITATE ANTIOXIDANTA ȘI ANTIMICROBIANĂ PENTRU CARNE ȘI PRODUSE DIN CARNE (OXIPROTECT)

Prezenta inovație se referă la un produs natural sub formă de emulsie, cu proprietăți puternic antioxidante, indicat cu precădere pentru stocarea prin refrigerare sau congelare a cărnii de porc, vita, pui și pește și a unor preparate din sortimentele de carne menționate.

Produsul realizat este constituit dintr-un concentrat de polifenoli extrași din fructul de cătină (*Hippophae rhamnoides*), de concentrație 2,5 g echivalent acid galic/100 ml, după spălare și uscare menajată. Pentru extracție se utilizează un solvent netoxic în care acești compuși sunt solubili. Solventul organic este îndepărtat după extracție prin evaporare.

Activitatea antioxidantă și antibacteriană a produsului a fost testată în laboratoarele Universității de Științe Agronomice și Medicină Veterinară București. Rezultatele obținute indică următoarele proprietăți antioxidante și antimicrobiene ale preparatului :

1. acționează ca chelator al ionilor metalelor tranziționale, în special al ionului Fe^{2+} , considerat un inițiator al oxidării lipidelor în reacția Fenton;
2. prezintă abilitatea de a anihila speciile reactive de oxigen și azot (radicalul hidroxil, anionul superoxid, peroxidul de hidrogen, anionul hipoclorit și oxidul nitric);
3. inhibă procesul de peroxidare lipidică a unei emulsii de acid linoleic;
4. inhibă procesul de peroxidare a fosfolipidelor;
5. prezintă efect antimicrobian (a fost testat pentru bacteriile *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*).

Pentru evaluarea proprietății de conservant natural pentru carne a acestui produs, în laboratoarele U.S.A.M.V. București au fost efectuate studii de evaluare a procesului de oxidare a lipidelor și proteinelor din carnea de vita, porc, pui și pește supusă refrigerării și congelării pe diferite perioade de timp. Determinările efectuate au demonstrat că preparatul polifenolic extras din fructe de cătină inhiba procesul de oxidare a lipidelor și proteinelor din toate sortimentele de carne supuse refrigerării și congelării.

Inhibarea procesului de oxidare a lipidelor la sortimentele de carne tratate cu polifenoli extrași din cătină este susținută de următoarele rezultate:

- nivelul dienelor conjugate (produși primari de oxidare a lipidelor) este mai redus cu 25 – 44%;
- indicele de peroxid este mai redus cu 36 – 58%;
- concentrația compușilor care reacționează cu acidul tiobarbituric a scăzut cu 33 – 52%, comparativ cu sortimentele de carne netratate cu polifenoli supuse aceluiași procese de refrigerare și congelare.

Inhibarea procesului de oxidare a proteinelor la sortimentele de carne tratate cu polifenoli extrași din cătină este susținută de următoarele rezultate:

- concentrația metmioglobinei (pigmentul de culoare brună rezultat din oxidarea pigmentului mioglobină de culoare roșie intensă) a scăzut cu 17 – 55%;
- nivelul proteinelor solubile a fost cu 26 – 41% mai mare;
- nivelul carbonilului proteic a fost cu 21 – 37% mai mic, comparativ cu sortimentele de carne netratate cu polifenoli supuse aceluiași procese de refrigerare și congelare.

Activitatea antimicrobiană a produsului a fost testată pe următoarele tulpini bacteriene: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 și *Bacillus cereus* ATCC 11778. Rezultatele obținute au demonstrat că:

- polifenolii extrași din fructe de cătină posedă proprietăți antibacteriene;
- cele mai sensibile microorganisme la acțiunea polifenolilor din extractul de cătină au fost *B. cereus* și *B. subtilis*;
- bacteriile *S. typhimurium* și *S. aureus* au prezentat zone de inhibiție intermediare la acțiunea extractului de cătină;
- față de *E. coli*, acțiunea polifenolilor extrași din fructe de cătină a fost cea mai redusă.

Rezultatele prezentate conduc la următoarele concluzii:

1. preparatul polifenolic obținut din fructe de cătină este un conservant natural care poate fi utilizat cu succes pentru sortimentele de carne menționate supuse refrigerării și congelării;
2. utilizarea preparatului polifenolic extras din fructe de cătină drept conservant pentru carne satisface atât siguranța consumatorilor, cât și unele problemele economice ale producătorilor deoarece:



Rectori

Prof. univ. Dr. Sorin Cimpeanu

- a. permite înlocuirea totală sau parțială a nitriților (compuși toxici pentru organismul uman), care se utilizează în mod obișnuit pentru conservarea unor preparate din carne;
- b. menține culoarea roșie a cărnii nealterată pe o perioadă mare de timp;
- c. menține valoarea nutritivă a proteinelor și lipidelor apropiată de nivelurile cărnii proaspete;
- d. reduce semnificativ nivelul unor compuși de oxidare a lipidelor și proteinelor cu potențial toxic: aldehide, cetone, cetoacizi, peroxizi, etc.;
- e. polifenolii extrași din cătină, datorită efectului antioxidant, exercită un efect benefic asupra sănătății consumatorilor.

Stadiul actual al cunoștințelor din domeniul antioxidanților sintetici și naturali

În scopul măririi perioadei de valabilitate a cărnii și preparatelor din carne, se utilizează compuși chimici cu activitate antioxidantă și cu nitriți. Cei mai cunoscuți antioxidanți utilizați pentru inhibarea procesului de oxidare a grăsimilor sunt BHT, BHA și BHQ, iar cei mai utilizați compuși chimici cu efect antimicrobian sunt nitritul de sodiu și nitritul de potasiu. Nitriții sunt utilizați și în scopul imprimării unei culori roșii cărnii și preparatelor din carne.

Dezavantajele utilizării acestor substanțe chimice rezultă din efectele negative pe care le exercită asupra sănătății consumatorilor. Literatura de specialitate indică multiple efecte negative exercitate de către aceste substanțe chimice atât asupra animalelor de experiență, cât și a omului. Aceste substanțe sunt toxice pentru ficat și rinichi, pot cauza alergii, astm bronșic, hiperactivitate, creșterea colesterolemiei, se pot combina cu alte substanțe din alimente cu formarea unor compuși cu potențial carcinogenic. Deoarece s-a înregistrat apariția tumorilor maligne la nivelul unor organe interne la șobolanii de experiență hrăniți cu alimente conservate cu BHT și BHA, în țări precum Japonia și alte câteva țări din Europa, utilizarea acestor antioxidanți sintetici a fost restricționată.

Efectele sanogene ale fructului de cătină

Cățina albă (*Hippophae rhamnoides L.*) este un arbust fructifer din flora spontană a Europei și Asiei. Încă din cele mai vechi timpuri, fructele de cătină au fost utilizate în scop terapeutic.

Este bine cunoscut faptul că fructele de cătină sunt bogate în vitaminele A, C, E, K, bioflavone, licopine, acizi organici, kaemferol, trigliceride, glicerofosfolipide, fitosteroli



compuși polifenolici și minerale. Conținutul ridicat în vitaminele A, C, E, bioflavone, polifenoli, caroteni și seleniu imprimă fructelor de cătină un puternic efect antioxidant. Se cunoaște că polifenolii din cătină, în special flavonoidele, precum și mineralele, provitaminele și vitaminele au numeroase efecte benefice asupra sănătății consumatorilor, cele mai importante efecte fiind înregistrate în terapia cancerului, bolilor cardiovasculare, ulcerului și cirozei hepatice.

Terapia cancerului. Studiile efectuate pe extracte obținute din fructul de cătină, bogate în flavonoide, au demonstrat că aceste extracte au activitate anti-cancer și cresc imunitatea nespecifică la animalele de experiență. Cercetările efectuate pe pacienți care au fost supuși radioterapiei au relevat efectul protector al polifenolilor (flavonoidelor) din cătină asupra măduvei osoase față de distrugerile provocate de radiații. Introducerea uleiului de cătină în mâncarea șoarecilor tratați cu doze mari de 5-FU (substanță cu efect chimioterapic) a determinat refacerea rapidă a sistemului homeopoietic.

Terapia bolilor cardiovasculare. Administrarea a 10 mg flavonoide extrase din cătină de 3 ori pe zi, timp de 7 zile la 128 de pacienți cu afecțiuni cardiovasculare, a determinat reducerea nivelului colesterolemiei, îmbunătățirea activității cordului, prevenirea anginei pectorale. De asemenea, polifenolii extrași din cătină reduc apariția trombozelor și îmbunătățesc circulația sângelui.

Terapia ulcerului gastric. Polifenolii din cătină normalizează secreția sucului gastric și reduc inflamația mucoasei prin controlarea mediatorilor pro-inflamatori.

Terapia cirozei hepatice. Polifenolii din cătină normalizează secreția enzimelor hepatice, acizilor biliari și markerilor sistemului imunitar implicați în inflamația și degenerarea ficatului. Suplimentar, polifenolii din cătină protejează ficatul împotriva distrugerilor provocate de toxicele chimice.

Prezentarea soluției tehnice a invenției, cu evidențierea elementelor de creație științifică sau tehnică originale care rezolvă problemele menționate

În scopul reducerii riscurilor generate de nitriți și antioxidanți sintetici, se pot utiliza polifenoli naturali extrași din cătină. Polifenolii din cătină prezintă activitate antioxidantă datorită: 1. capacității de chelatare a ionii metalelor tranzitionale și 2. capacității de anihilare a radicalilor liberi. Proprietatea polifenolilor din cătină de a chelata ionii metalelor tranzitionale este extrem de importantă deoarece acești ioni, în special ionul Fe^{2+} , în reacția Fenton și în reacții „Fenton like” pun în libertate cea mai agresivă specie reactivă de oxigen, și anume





radicalul hidroxil ($\text{HO}\cdot$). Acest radical liber inițiază reacțiile înlănțuite de peroxidare lipidică prin scindarea homolitică a unei legături C – H din molecula unui acid gras (în special a unui acid gras polinesaturat). Polifenolii din cătină prezintă și abilitatea de a anihila speciile reactive de oxigen ($\text{HO}\cdot$, $\text{O}_2\cdot^-$, H_2O_2 , HOCl), precum și radicalii peroxil (produși intermediari ai lanțului de peroxidare) care pot iniția la rândul lor un alt lanț de reacții de oxidare.

Produsul natural cu activitate antioxidantă propus de noi are efect benefic pentru sănătatea consumatorilor deoarece:

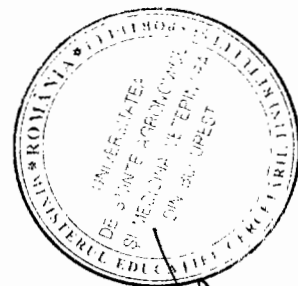
- permite înlocuirea totală sau parțială a substanțelor chimice nocive utilizate în scopul creșterii perioadei de valabilitate a cărnii și produselor din carne;
- reduce riscul apariției cetonelor, aldehydelor, cetoacizilor (compuși toxici rezultați din oxidarea proteinelor și lipidelor) pe parcursul stocării cărnii și preparatelor din carne;
- menține nealterată valoarea nutritivă a proteinelor și lipidelor;
- scade riscul de contaminare bacteriană a cărnii și produselor din carne.

Problemele pe care le rezolvă invenția

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este aceea că produsul natural cu activitate antioxidantă și antimicrobiană obținut de noi este net superior compușilor chimici utilizați în prezent din următoarele motive:

- introducerea în carne a produsului are același efect pe care îl au nitriții de sodiu și potasiu și antioxidanții sintetici BHA, BHT și BHQ;
- este lipsit de toxicitate;
- conține pe lângă polifenoli și alți compuși cu efect benefic asupra sănătății consumatorilor (caroteni, vitaminele A, E și K, fitosteroli etc.);
- are un preț de cost scăzut și este ecologic.

Forma de livrare. Produsul va fi comercializat în sticle de culoare brună de 100, 500 și 1000 ml sub formă de suspensie apoasă. Adăugarea acestui produs în carne va inhiba procesul de oxidare a lipidelor și proteinelor, va scădea riscul de înmulțire a unor bacterii, măbind perioada de valabilitate a cărnii și preparatelor din carne și va avea un efect benefic asupra sănătății consumatorilor.



Exemple de utilizare a produsului

Efectul protector al produsului asupra proteinelor și lipidelor din musculatura de crap, stocată prin congelare

- În musculatura tocată de crap s-a incorporat produsul natural extras din fructe de cătină în concentrație de 250 ppm;
- S-a congelat carnea la -18°C timp de 6 săptămâni;

După decongelare s-au obținut următoarele rezultate:

- **Indici de caracterizare analitică a lipidelor:**

Concentrația dienei conjugate a fost mai mică în musculatura tratată cu polifenoli față de musculatura netratată:

- în musculatură albă partea dorsală – cu 39,02%
- în musculatură albă partea ventrală – cu 51,85%
- în musculatură roșie – cu 58,56%

Valoarea indicelui de peroxid a scăzut în musculatura tratată cu polifenoli față de musculatura netratată:

- în musculatură albă partea dorsală – cu 72,2%
- în musculatură albă partea ventrală – cu 63,23%
- în musculatură roșie – cu 61,04%

Concentrația compușilor care reacționează cu acidul tiobarbituric a scăzut în musculatura tratată cu polifenoli față de musculatura netratată:

- în musculatură albă partea dorsală – cu 37,55%
- în musculatură albă partea ventrală – cu 44,91%
- în musculatură roșie – cu 51,05%

- **Indici de caracterizare analitică a proteinelor**

Concentrația mioglobinei în musculatura tratată cu polifenoli a fost mai mare față de musculatura netratată:

- în musculatură albă partea dorsală – cu 20,58%
- în musculatură albă partea ventrală – cu 23,87%
- în musculatură roșie – cu 13,77%

Concentrația relativă a metmioglobinei în musculatura tratată cu polifenoli a fost mai mică față de musculatura netratată:

- în musculatură albă partea dorsală – cu 18,75%
- în musculatură albă partea ventrală – cu 17,65%



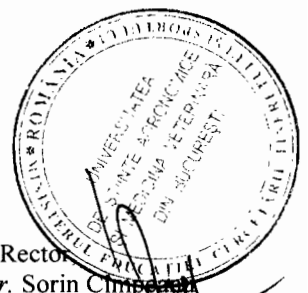
- în musculatură roșie – cu 14,29%

Concentrația proteinelor solubile a crescut în musculatura de pește tratată cu polifenoli față de musculatura netratată:

- în musculatură albă partea dorsală – cu 16,33%
- în musculatură albă partea ventrală – cu 9,80%
- în musculatură longitudinală – cu 12,15%

Concentrația carbonilul proteic a scăzut în musculatura de pește tratată cu polifenoli față de musculatura netratată:

- în musculatură albă partea dorsală – cu 41,50%
- în musculatură albă partea ventrală – cu 36,82%
- în musculatură roșie – cu 39,41%



REVENDICĂRI

1. Conservant natural extras din fructe de cătină cu activitate antioxidantă și antimicrobiană pentru carne și preparate din carne caracterizat prin aceea că conține polifenoli în concentrație de 2,5 g echivalent acid galic/100 ml extract.

