



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2013 00296

(22) Data de depozit: 11.04.2013

(41) Data publicării cererii:  
30.04.2014 BOPI nr. 4/2014

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA "TRANSILVANIA" DIN  
BRAȘOV, BD. EROILOR NR.29, BRAȘOV,  
BV, RO

(72) Inventatori:  
• POP OLIVIU- GRIGORE,  
STR. FĂGETULUI NR. 33, BRAȘOV, BV,  
RO;  
• MĂRCULESCU ANGELA,  
STR. FÂNTĂNIȚEI NR. 47A, BRAȘOV, BV,  
RO;

• GRUIA ROMULUS,  
STR. CALEA BUCUREȘTILOR NR.3, BL.40,  
SC.E, AP.28, BRAȘOV, BV, RO;  
• ȚULUCA ELISAVETA VALERIA,  
STR. ȘCOLII NR. 1, AP. 1, TIMIȘOARA, TM,  
RO;  
• ANTOFIE MARIA- MIHAELA,  
STR. ATMOSFEREI NR. 7, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO

(54) AROMATIZANȚI NATURALI BIOPROTECTIVI PENTRU  
UTILIZĂRI NUTRACEUTICE ȘI PROCEDEE DE OBTINERE A  
ACESTORA

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs aromatizant natural, cu utilizări în industria alimentară, și la un procedeu de obținere a acestuia. Produsul conform invenției are un conținut de 1,4...7,8% uleiuri esențiale din conifere, din care 5...5,6% compuși terpenoidici, 0,4...1,2% substanțe ceroase, 0,05...0,4% cenușă brută, fiind condiționat uzual în fază pulverulentă, lichidă și uleioasă. Procedeu conform invenției constă din recoltarea masei de conifere în sezonul rece, selectarea masei având diametrul ramurilor de 0,2...0,5 cm, urmează prima etapă de condiționare, pentru îndepărtarea impurităților orga-

nice și minerale, spălare și mărunțire grosieră până la dimensiuni de 1,2...2,5 cm, eventual o etapă de mărunțire fină, după care materialul este antrenat cu vapori de apă, la o presiune de 1,1...1,2 at, timp de 4...5 h, fiind antrenați compușii volatili care sunt condensați și separați, uleiul esențial fiind purificat și condiționat uzual, pentru utilizare în stare pulverulentă, lichidă și uleioasă.

Revendicări: 6  
Figuri: 6



Nr. Int. BPI : 102/28.03.13

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MARCI  
Cerere de brevet de invenție  
Nr. a 2013 00296  
Data depozitului 11-04-2013

72

## „AROMATIZANȚI NATURALI BIOPROTECTIVI PENTRU UTILIZĂRI NUTRACEUTICE ȘI PROCEDEE DE OBTINERE A ACESTORA”

Invenția se referă la aromatizanți naturali bioprotectivi pentru utilizări nutraceutice și procedee de obținere a acestora prin biotehnologii alimentare.

Aromatizanții la care se referă invenția, sunt produse naturale cu însușiri senzoriale de gust și miros atractive și cu proprietăți antioxidante antimicrobiene, antigenotoxice, antiinflamatoare și de stimulare a metabolismului energetic, obținute prin procesarea menajantă a cedinilor de brad, molid, pin și ienupăr.

Compuși bioprotectivi din conifere la care se face referire în prezenta invenție, reprezintă un cumul de compuși aromatizanți volatili, din categoria uleiurilor esențiale, cu predominanță izoprenoidică, respectiv mono și sesquiterpene, precum și derivații oxigenați grefați pe structuri izoprenoidice, respectiv alcooli, aldehide, cetone și acizi terpenoidici.

### Stadiul actual al cercetărilor și al tehnicii privind caracterizarea și utilizarea aromatizanților bioprotectivi naturali

Este cunoscut faptul că substraturile naturale deținătoare de compuși aromatizanți, s-au integrat și prețuit din timpuri imemorabile ca adjuvanți indispensabili ai alimentelor uzuale, constituind o bază de diferențiere a tradițiilor culinare specifice în diferite arealuri zonale și regionale.

În prezent, descoperiri recente ale unor științe de frontieră ca de exemplu nutrigenomica, metabolomica, transcriptomica, proteomica etc., au pus în evidență potențialul sanogen și implicațiile complexe ale uleiurilor esențiale asupra calității vieții. Capacitatea specifică de aromatzare senzorială, nu se mai percepe în prezent ca fiind cea mai importantă însușire a uleiurilor esențiale. Se are în vedere descifrarea mecanismelor moleculare de acțiune a compușilor aromatizanți asupra receptorilor nucleari de transcripție genetică, care accelerează procesele de eliberare a energiei la nivel celular (Goto T., Takahashi N., Hirai S., Kawada T., 2010), reglând metabolismul carbohidraților și al lipidelor. De asemenea înaltul potențial antioxidant al uleiurilor esențiale care contracarează speciile reactive ale oxigenului și azotului, (R.O.S. și H.O.S.) care generează stressul oxidativ, cu repersursiuni majore asupra stării de sănătate.

Pe de altă parte, întrucât în prezent alimentele uzuale se aromatizează cel mai adesea cu aditivi de sinteză „E-uri”, care nu sunt absorbite de organism la nivelul tractusului gastrointestinal și pot constitui ulterior un balast toxic, compușii naturali de aromatzare reprezintă în perspectivă cea mai dezirabilă opțiune. Uleiurile esențiale optimizează procesele digestive prin stimularea producției sucurilor gastrice, aspect care îmbunătățește absorbția și utilizarea hranei ingerate.

Importanța aportului nutrițional al uleiurilor esențiale, rezidă și în mobilitatea și capacitatea înaltă de penetrare de-alungul membranelor celulare, facilitată de caracterul lipofilic al acestora, consecința directă fiind capacitatea rapidă de transport a unor compuși bioactivi lipofilici prin membranele celulare, ca de exemplu a vitaminelor liposolubile A, E, D, K, a unor fosfolipide, fitoestrogeni, fitosteroli, pigmenti carotenoidici, policosanoli etc.

Derularea etapelor de procesare a resurselor primare, conform procedeei invenției, are ca scop depășirea empiricului tradițional și utilizarea rezultatelor cercetărilor de avangardă, pentru a dezvolta produse cu noi conotații sanogene și contribuții proprii în dezvoltarea domeniului nutraceuticelor.

Necesitatea utilizării unor remedii naturale alternative în prevenirea și tratarea a îmbolnăvirilor, față de remediile medicinei alopate care integrează prioritar compuși de sinteză chimică cu inerente efecte secundare indezirabile, a situat în prim plan necesitatea



evaluării și testării resurselor primare deținătoare de compuși bioprotectivi, cu o direcționare substanțială spre obținerea și testarea uleiurilor esențiale din diferite structuri vegetale sau resurse condimentare.

Pe baza unor utilizări fitoterapeutice validate empiric, în numeroase arealuri geografice, se aprofundează și se caracterizează însușirile sanogene ale resurselor primare deținătoare de compuși aromatizanți bioprotectivi, din punctul de vedere al compoziției chimice și stereostructurale, a potențialului extractiv al diferitelor substraturi și al dozelor de administrare care pot induce efectul sanogen scontat. Deasemenea a formulelor de incorporare și de administrare în recepturi specifice, ca produse individualizate sau în amestec cu alte substraturi sinergice. De menționat multitudinea de publicații științifice a ultimilor ani (2009 – 2012) apărute predilect în India, China și nu în ultimul rând în țările africane. Evaluarea analitică se realizează cu aparatură avansată GC – MS, însoțită sau nu de teste care demonstrează efectele sanogene pe animale de experiență și/sau pe voluntari umani, dar fără a include obligatoriu aceste teste.

Pe de altă parte, în numeroase lucrări de specialitate sunt adăugate pentru resurse deja cunoscute tradițional pentru un anumit efect, motivații suplimentare, bazate pe noile cercetări, în direcția extinderii domeniilor de utilizare sanogenă.

De exemplu în 2012 (Li A., Linna Han L., Han C.C., 2012) se demonstrează cu teste concludente însușirile uleiurilor esențiale din *Angelica sinensis* nu numai în direcția bioprotecției antioxidante și a inhibării speciilor radicalice nocive ci și în direcția îmbunătățirii semnificative a funcțiilor neuroprotective, respectiv a comportării neuroprotective, consecutivă ischemiei cerebrale.

Tot la nivelul anului 2012 (Alnamer R., Alaoni K., Bouidida E.H., Benjouard A., Cherrah Y., 2012) pentru uleiurile esențiale din *Rosmarinus officinalis*, se demonstrează suplimentar potențialul de implicare al acestora asupra sistemului nervos central, ca psihostimulanți.

În anul 2011 (Bakkour Y., Kassir S., Kanj D., El Omar F., Mouneimne Y., 2011) se evaluează uleiurile esențiale din *Salvia libanotica* și *Origanum syriacum* utilizând procedeul de hidrodistilare și extracția în solvenți organici la rece, și tehnici analitice GC – MS. S-au identificat 35 compuși demonstrându-se înalta capacitate antioxidantă a acestora. Cei mai mulți componenți identificați în uleiurile esențiale, au prezentat structură terpenoidică caracterizată prin greutate moleculară scăzută, ceea ce facilitează un înalt potențial de transport peste membranele celulare, precum și inducerea unor efecte biologice complexe, care includ însușiri antioxidante, antiinflamatoare și anticolinesterazice. Procedeul de hidrodistilare a fost identificat ca fiind cel mai bun pentru decelarea compoziției uleiurilor esențiale. Solvenții utilizați pentru extracția selectivă a uleiurilor esențiale din matricea organică, au fost etanol de 99,8%, acetonă, acetat de etil, eter, hexan și diclormetan. Raportul dintre pulberea uscată de plante și solvenții organici, a fost de 1:5, la temperatura camerei, timp de 24 ore cu o agitare continuă de 125 rpm.

Hidrodistilarea s-a realizat într-un aparat clasic de tip „Clevenger”, comercializat în prezent pe scară largă, pe o durată de 4 ore, uleiul obținut s-a colectat în vase de sticlă de culoare închisă și s-a stocat la 4°C. Randamentele obținute calculate prin raportare la substanța uscată, au fost de 2,5% pentru uleiul esențial din *Salvia libanotica* și de 3% din *Origanum syriacum*.

În *Salvia libanotica* s-au identificat 34 componenți, cei mai importanți fiind: Eucalyptol, Camphor,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, camphen,  $\beta$ -myrcen și  $\alpha$ -terpineol. În *Origanum syriacum* s-au identificat 35 componenți, în următoarea ordine cantitativă: carvacrol, p-cymen,  $\gamma$ -terpinen, naphthalenenă, caryafilenă și tymol. Encalyptolul este definit chimic ca un terpenoidoxid, fiind cunoscut ca un puternic inhibitor al speciilor oxegenului reactiv (R.O.S.). aceste specii radicalice sunt implicate în inducerea a numeroase afecțiuni degenerative, care includ reumatisme, cancere, inflamații etc.

Carvacrolul este un component dominant în oregano, reprezentând un fenol monoterpenoidic, care posedă însușiri antioxidante la nivele similare cu antioxidanții de sinteză ca butilhidroxiansolul (B.H.A.) dar fără a prezenta și efectele secundare pe care le induce antioxidanții de sinteză. Deasemenea carvacrolul prezintă și alte însușiri bioprotective fiind un antibacterian, antifungic, antispasmodic, stimulator al formării celulelor albe și a macrofagelor, precum și un protectiv cardiac.

De menționat că fiecare din solvenții enumerați, dislocă diferențiat compușii bioactivi, din punctul de vedere al conținutului procentual, dar și din punctul de vedere al naturii chimice a compusului, nivelul de solubilizare fiind dependent de solubilitatea selectivă pentru o anumită structură chimică. De exemplu cel mai mare procent de eucaliptol s-a obținut în hexan, în cazul uleiului esențial din salvie.

În uleiul esențial esențial din *Origanum syriacum* cel mai înalt procent de carvacrol, s-a obținut în diclormetan. Cei mai importanți componenți ai uleiurilor esențiale din salvie și origanum au fost reprezentați de hidrocarburile monoterpenice ( $\rho$ -cymen, o-cymen,  $\beta$ -mircen,  $\alpha$  și  $\beta$ -pinen, camphen), deasemenea de aldehidele și alcoolii monoterpenoici ( $\alpha$ -terpineol, tymol și carvacrol), de epoxizi monoterpenici (eucaliptol, thujonă) și de hidrocarburile sesquiterpenice (caryophylen).

Stadiul tehnic actual privitor la caracterizarea compozițională și aplicațiile fitoterapeutice și nutriționale ale uleiurilor esențiale aromatizante, rezultă și din alte publicații comparative ca de exemplu:

La nivelul anului 2012 (Nikolić B., Mitić-Ćulafić D., Vuković-Gačić B., Knežević-Vukčević J., 2012), se demonstrează că uleiurile esențiale din *Ocinum basilicum* și *Salvia officinalis* protejează de degradare ADN, având potențial antigenotoxic și antimutagenic.

Ca mecanisme moleculare, s-a stabilit că terpenoidele cu greutate moleculară mică, respectiv monoterpenele, acționează în direcția inhibării carcinogenezi în prima etapă și anume ca „desmutageni”, inhibând formarea de leziuni premutagenice în cromozomi, iar „bio-antimutagenii” previn producerea de mutanți din leziunile premutagene ale DNA. Procesul bio-antimutagenic este favorizat de prezența terpenoidelor cu greutate moleculară mare, care există deasemenea în cele două uleiuri esențiale menționate.

Autorii sugerează deci o modalitate complementară de contracarare a proceselor de mutageneză, întrucât prezența „desmutagenilor” și „bioantimutagenilor” este posibil să fie sesizată și în alte resurse terpenoidice.

Se au în vedere și uleiuri esențiale din resurse mai puțin cunoscute până în prezent, ca de exemplu uleiurile esențiale din *Vitis vinifera* și *Curcubita maxima* (Bakkour Y., Makhoul S., El-Nakat1 H., El Omar F., 2011). Evaluările cantitative MS – GC evidențiază terpenoide cu greutatea moleculară mici, care sunt transportori activi peste membranele ceulare și care induc activități biologice importante, respectiv pot acționa ca antiinflamatoare, antioxidante, antimicrobiene cu aplicații multiple, ca de exemplu activități anticolinesterazice.

Pe baza aceleași proceduri extractive, respectiv hidrodistilarea Verdian-rizi-Mohamomadreza, evaluează acumularea compușilor bioactivi din uleiurile esențiale ale unei plante din familia Asteraceae, respectiv *Artemisia annua* (Mohammadeza V., 2008). Importanța evaluării este semnificativă prin faptul că demonstrează diferențierea acumulării compușilor în dinamica de dezvoltare a structurilor vegetale, element esențial pentru definirea perioadelor optime de recoltare.

Cantitățile de ulei volatil exprimate în procente de greutate din stadiile diferite de dezvoltare, au prezentat următoarele valori: în stadiul de preînflorire 0,97%; în stadiul de înflorire 1,23%; după înflorire 0,37%.

Uleiurile evaluate analitic prin GC – MS, au fost reprezentate de 32 componenți în stadiul de preînflorire, de 35 de componenți în timpul înfloririi și de 33 de componenți după înflorire. Componenții identificați prioritar, au fost reprezentați de camfor, 1,8-cineol, camphen,

 3

spathulenol,  $\alpha$ -pinen, artemisia cetone etc. Principalul tip de componenți a fost reprezentat de monoterpene, respectiv 72,44%, în perioada înfloririi.

Din punctul de vedere al aplicațiilor consecutive procedeele de extracție a uleiurilor esențiale din diferite resurse, se evidențiază preocupări în următoarele direcții:

- utilizări ale uleiurilor esențiale ca bioprotective față de atacul microorganismelor respectiv ca antibacteriene, antifungice și antivirale, aspect corelat cu proprietățile lor de citotoxice pentru microorganisme;

- utilizări ale uleiurilor esențiale ca antioxidanți, pentru a proteja de peroxidare compușii de tip lipofilic, cu aplicații potențiale în protecția antioxidantă a uleiurilor rezultate prin prelucrarea semințelor oleaginoase;

- evaluări cantitative deosebit de importante pentru aplicații nutraceutice de bioprotecție antimicrobiană, a diferitelor tipuri de uleiuri esențiale. (Reichlung J., Schnitzler P., Suschke U., Saller R., 2009).

Asigurarea securității produselor alimentare, din punctul de vedere al inhibării microorganismelor, reprezintă o necesitate esențială, care în majoritatea cazurilor în prezent se asigură cu produse de sinteză chimice.

Perspectiva înlocuirii acestora cu inhibitori naturali este cea mai dezirabilă acțiune, dar aceasta presupune o corelare a potențialului de inhibiție a diferitelor uleiuri (respectiv a resurselor din care provin) cu tipologia microorganismelor pentru care acestea prezintă eficiență. Evaluările se evidențiază cantitativ prin nivelul concentrației minime de inhibare (MIC), respectiv prin valoarea MBC, egală cu concentrația bactericidă minimă, MIC/MBC, exprimată în micrograme/mililitru, ( $\mu\text{g/ml}$ ).

De exemplu pentru inhibarea bacteriilor gram pozitive, de către uleiul esențial din ienupăr, valoarea MIC exprimată în micrograme per mililitru este de 1,0 – 2,0% din ulei. Pentru uleiul esențial provenit din mentă, această valoare este de 400 – 800 micrograme/mililitru, pentru uleiul de salvie este de 493 – 584 micrograme/mililitru. Valoarea MIC/MBC, exprimată în micrograme/ml pentru inhibarea activității bacteriene a lui *Helicobacter pylori* de către uleiul esențial din scorțișoară, este de 40,0  $\mu\text{g/ml}$ , de către uleiul esențial din *Citrus aurantica* de 65,1  $\mu\text{g/ml}$ , din *Salvia officinalis* de 137,6  $\mu\text{g/ml}$ , din *Thymus vulgaris* de 275,2  $\mu\text{g/ml}$ , iar de către uleiul esențial de busuioc de 286,7 – 573,4  $\mu\text{g/ml}$ .

În ceea ce privește nivelul protecției antioxidante conferit de uleiurile esențiale, în 2011, s-au realizat teste semnificative în cadrul Academiei de Științe a Rusiei (Misharina T., Terenina M., Krikunova N., 2011), prin care s-au conturat nivelele de inhibiție a unor uleiuri esențiale din scorțișoară, dafin și cardoman, prin evaluarea inhibiției de oxidare a unei aldehide (2-Hexanalul) la acidul alifatic corespondent, respectiv acidul hexanoic, prin analize efectuate cu cromatografie G.C. capilară, la temperatura mediului ambiant, la lumină, pe o perioadă de stocare de 100 zile. Uleiurile s-au obținut prin metoda hidrodistilării. Componenții majori ai uleiului de cuișoare au fost eugenolul (80,3%), acetatul de eugenol și caryophyllenul. Componenți responsabili de efectele aromatizante, antiseptice și antioxidante. Uleiul de cardamon conține majoritar 1,8 – cineol și  $\alpha$ -terpenil acetat și carbohidrați monoterpenuci ca linalol și geraniol. Toate uleiurile esențiale au prezentat activitate antioxidantă.

La nivele de 3,3 microlitri/mililitru de ulei esențial, activitatea antioxidantă a fost mai mare de 50%. Cea mai eficientă inhibiție a peroxidării 2-hexanalului, s-a înregistrat pentru uleiul esențial din cuișoare, respectiv de 83%, iar acest nivel nu a depins de concentrația uleiului de cuișoare în mediul de testare. Proprietăți antioxidante ale celorlalte uleiuri esențiale, au depins de concentrația uleiului esențial în mediul de testare.

Privitor la resursele primare care conform procedeele invenției reprezintă substratul natural procesat în vederea obținerii de aromatizanți naturali din specii de conifere, respectiv brad, molid, pin și ienupăr, deși există evaluări privitoare la natura chimică a constituenților naturali din componența uleiurilor esențiale, până în prezent, referirile cu privire la domeniile

 4

de utilizare a acestora, se regăsesc în cea mai mare măsură numai pentru aplicații tradiționale de tip fitofarmaceutic. Fără atingerea și/sau explicitarea tranșantă a potențialului de implicare a uleiurilor esențiale din speciile de conifere în potențiale produse alimentare nutraceutice cu însușiri antioxidante, antimicrobiene, antiinflamatoare și anticolinesterasice, sau ca transportori cu înaltă eficiență la nivelul tractusului gastrointestinal a unor compuși bioactivi de tip lipofilic, ca de exemplu a vitaminelor liposolubile A, E, D, K sau a fosfolipoidelor, fitoestrogenilor, fitosterolilor etc. și de asemenea nici referiri conturate adecvat, privitoare la însușirile de stimulare a sucurilor gastrice de către uleiurile esențiale de conifere, acțiune de maximă importanță pentru digestie.

Preocupările în această direcție se consemnează în prezent mai ales asupra potențialului extractiv de obținere a uleiurilor esențiale din diferite resurse de conifere, fără preocupările complementare pentru utilizarea acestora în produse nutraceutice, corelate conform noilor date științifice privitoare la implicațiile mai profunde la nivel molecular, ca de exemplu stimularea metabolismului energetic. De consemnat totuși în această direcție lucrările din 2010, (Karanikas C., Walker V., Scaltsoyiannes A., Comte G, Bertrand C., 2010), privitoare la nivelele de oleoresine care pot rezulta din procesarea structurilor vegetale ale unor specii de pin, cu referire la *Pinus halepensis*. S-au selectat arbori de pin din 2 arealuri grecești, iar producția de oleoresine se evaluează cu metode GC – MS.

Dintre constituenții oleoresinelor de pin dizolvați în metanol și derivatizați cu agenți de metilare, componenții cei mai relevanți identificați prin timpii de retenție și date bibliografice specifice spectroscopiei de masă M.S., respectiv NST 98, Wiley 275 CNRS, au fost reprezentați de următoarele structuri:

Monoterpene cu prelevanță: α pinen, camphen, sabinen, β pinen, mircen, -3-caren, limonen, cis-β ocimen, γ terpinen, α terpinolen

Sesquiterpene: cyclosativen, α copaen, β elemen, α-muurolen, γ-cadinen, cadinen, α-cadinol, α-muurolol, β-copaen, α-humulen, δ -germacren, β -selinen.

Diterpene: abietadienă, acid ciclohexancarboxilic 1,3-dimetil-2-[2-(3-(1-metiletilfenil)etil)], acid levopimaric, acid secodehidroabietic, acid 8-15-pimaradienoic, pinearic acid, sandarapinearic acid, isopinearic acid, palustric acid, acid dehidroabietic, acid abietic, metillabietat, acid metabietic .

Total pentru arbori de pin din zona Chalkidiki: monoterpene - 32,90 %; sesquiterpene 1,26 %; diterpene 65,84 %.

#### Abordări conceptuale cu potențial de contribuție în dezvoltarea domeniului tehnic

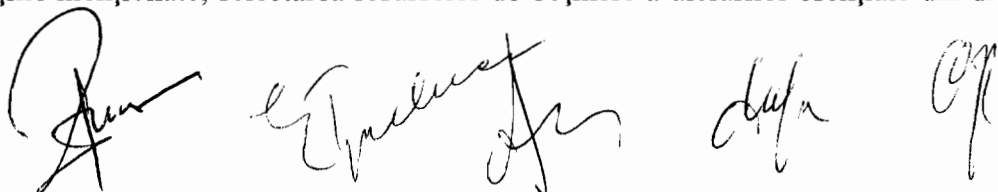
Potențialul de interacțiune al uleiurilor esențiale cu funcțiile fiziologice de bază ale organismului uman, conform actualelor descoperiri științifice (Goto T., Takahashi N., Hirai S., Kawada T., 2010; Nikolić B., Mitić-Ćulafić D., Vuković-Gačić B., Knežević-Vukčević J., 2012), motivează extinderea utilizărilor tradiționale prioritare farmaceutice, spre domeniul nutraceutic, dat fiind necesitatea de a contracara mai generalizat prin alimente, dezechilibrele metabolice și afecțiunile degenerative.

Se conturează aplicații nutraceutice ale uleiurilor esențiale în direcția stimulării metabolismului carbohidraților și al acizilor grași, respectiv obținerea de produse alimentare cu însușiri antiobezogene.

Deasemenea aplicații în direcția creșterii imunității, prin includerea în alimentație a uleiurilor esențiale cu însușiri antimutagenice și de bioprotecție antioxidantă a formațiunilor celulare lipofice, ca de exemplu a membranelor neuronale.

În contextul escaladării alimentelor uzuale cu aditivi de aromatizare sintetici, din categoria „E-urilor”, alternativa utilizării uleiurilor esențiale deținătoare de compuși naturali aromatizanti este o perspectivă atractivă senzorial și cu beneficii mari pentru sănătate.

În direcțiile menționate, selectarea resurselor de obținere a uleiurilor esențiale din diverse

 5

specii de conifere, prezintă beneficii multiple. În primul rând fiindcă spre deosebire de plantele medicinale, cetinile de conifere rezultă în cantități mari ca produs rezidual, care în prezent se valorifică ineficient în exploatarea forestieră în perioada de obținere a cherestelei. Pe de altă parte, conținutul în substanță uscată este mult mai mare în cetinile de conifere, comparativ cu structurile foliare ale plantelor ierboase, deasemenea conținutul în uleiuri esențiale este relativ ridicat, iar exploatarea cetinilor se poate realiza pe o perioadă mult mai îndelungată decât a vegetalelor sezoniere.

Identificăm câteva dezavantaje ale soluțiilor cunoscute, pe care prezenta invenție își propune să le rezolve: alimentele uzuale se aromatizează cel mai adesea cu aditivi de sinteză „E-uri”, nocivi pentru sănătatea umană; utilizarea insuficientă a uleiurilor esențiale cu proprietăți aromatizante și bioprotective, provenite din materii prime ieftine ușor de procurat, insuficient valorificate în prezent.

**Scopul invenției** este obținerea de produse nutraceutice cu nivel înalt de biofolosință prin valorificarea superioară a unor resurse autohtone din zona montană în prezent ineficient valorificate.

Obiectivele invenției sunt:

- Obținerea uleiurilor esențiale din cetinile unor specii de conifere cu largă răspândire în arealul carpatin.
- Identificarea și cuantificarea compușilor naturali, rezultați în urma diferitelor variante de dislocare a compușilor volatili din cetinile de brad, molid, pin și ienupăr.
- Optimizarea inovativă a procedeele extractive la nivelul exigențelor calitative ale U.E.
- Selectarea variantelor de procesare, adecvate unor utilizări nutraceutice, cu o marjă convenabilă de profit.
- Evaluarea variantelor optime de stabilizare și incorporare a uleiurilor esențiale, la doze adecvate obținerii de efecte sanogene și senzoriale persistente în timp.
- Selectarea substraturilor adecvate de incorporare pe suporturi pulverulente și fluide, pentru realizarea de sinergii compoziționale atractive.
- Obținerea de produse alimentare bioprotective, prin integrarea uleiurilor esențiale stabilizate, în recepturi cu înaltă densitate nutraceutică și cu implicații fiziologice complexe de echilibrare metabolică și energetică.
- Obținerea de produse alimentare cu înaltă capacitate antioxidantă deopotrivă în mediu hidrofил și lipofil, antricrobiene și psihostimulante.

Invenția se referă la produse obținute din conifere și la procedee de obținere a acestora, prin extinderea utilizărilor nutraceutice de stimulare a energetismului celular de bioprotecția antigenotoxică și antioxidantă lipofilă, și ca alternativă de aromatizare naturală a produselor alimentare față de „E-urile” de sinteză.

#### **Avantaje ale aplicării cererii de brevetare în comparație cu actualul stadiu al tehnicilor în domeniu:**

- abordarea unor procedee de procesare a resurselor de conifere, în direcția dislocării de compuși naturali, în conformitate cu cele mai noi descoperiri științifice ale domeniului fitoterapeutic, ca de exemplu;
- realizarea de produse cu potențial de activare al peroxizonilor (PPARs), respectiv a unor terpenoide implicate în metabolismul energetic al carbohidraților și al acizilor grași;
- realizarea de produse naturale cu rol de bioprotecție a ADN, respectiv produse antimutagenice și antigenotoxice, cu aplicații în multiple afecțiuni degenerative, reumatisme, cancer, etc.;
- extinderea produselor din categoria uleiurilor esențiale din resursele de conifere, în direcția utilizărilor de tip nutraceutic, respectiv o diversificare inovativă a unor alimente din

6

meniurile zilnice, prin aditivarea cu produse naturale cu potențial terapeutic și însușiri senzoriale atractive;

- realizarea de produse naturale cu înaltă capacitate de bioprotecție antioxidantă deopotrivă pentru formațiunile celulare de tip hidrofil cât și pentru membranele celulare lipofile, respectiv produse antioxidante lipofile de maximă importanță pentru celulele neuronale;

- diversificarea metodelor de incorporare a compușilor volatili energizanți din conifere, pe substraturi pulverulente, fluide sau uleioase pentru a optimiza absorbția alimentelor compozite la nivelul tractusului gastrointestinal, cu stimularea sucurilor gastrice și bioprotecția vitaminelor liposolubile.

În continuare se prezintă etapele de procesare în scopul obținerii produselor aromatizante și bioprotective și se dau mai multe exemple, corelate cu figurile 1, 2, 3, 4 și 6 care reprezintă:

- figura 1 - Linie tehnologică de obținerea produsului natural pulverulent;
- figura 2 - Linie tehnologică de obținerea produsului natural fluid;
- figura 3 - Linie tehnologică de obținerea produsului natural lipofilic;
- figura 4 - Schemă tehnologică de obținere a produsului AROMATIZANT NATURAL PULVERULENT;
- figura 5 - Schemă tehnologică de obținere a produsului AROMATIZANT NATURAL FLUID;
- figura 6 - Schemă tehnologică de obținere a produsului AROMATIZANT NATURAL LIPOFILIC.

#### **Etape de procesare în scopul obținerii produselor aromatizante și bioprotective cu utilizări nutraceutice:**

Etapele de procesare prezintă diferențieri în funcție de categoriile de produse finale avute în vedere, care s-au selectat astfel încât să cuprindă un spectru larg de utilizări nutraceutice cu nivele investiționale accesibile pentru IMM-uri mici și mijlocii.

În final s-au selectat trei categorii de produse, unele etape de procesare fiind identice, în special etapele de pregătire a substraturilor primare, iar apoi etapele sunt diferențiate în funcție de modalitățile de dislocare a compușilor volatili și de utilizările previzionate.

Materia primă constituită din cetini de conifere cu un raport carbon/azot de 20:1 – 60:1, un conținut în celuloză brută de 15 – 22%, un conținut în proteină brută de 2,3 – 7%, un conținut în compuși lipofilici extractibil în solvenți nepolari (hexan) de 9,5 – 21% și un conținut în cenușă brută de 1,8 – 3,2%, se recoltează preferabil în perioadele de exploatare a lemnului de conifere (de obicei în sezonul rece).

Materialul recoltat se selectează în incinta (1), respectiv ramurile cu ace vor avea un diametru de maxim 0,2 – 0,5 cm. Materialul selectat este preluat pe o bandă transportoare (2), unde se condiționează prin îndepărtarea impurităților pămâtoase grosiere și a eventualelor părți organice alterate (fig. 1, 4)

Materialul este spălat prin pulverizare cu apă de robinet în instalația de spălare (3), după care este trecut la mărunțire într-un dispozitiv tip ghilotină (4) la dimensiuni de maxim 1,2 – 2 cm. După mărunțire, materialul se introduce într-o incintă cilindrică (5) cu fund rotund, pentru dislocarea compușilor volatili prin antrenare cu vapori de apă, proveniți din instalația de obținere a aburului (6), cu o presiune de 1,1 – 1,2 atm, care se introduce pe la partea inferioară a incintei cilindrice. Aburii barbotează în flux continuu biomasa vegetală timp de 4 – 5 ore, antrenând compușii volatili care sunt condensați prin răcitorul spiralat (7) și trecuți în tancul de depozitare (8). Din tancul de depozitare amestecul de uleiuri esențiale și abur condensat, este trecut în separatorul centrifugal (9) pentru a separa faza uleioasă de faza hidrofilă și apoi





uleiul esențial este trecut într-un decantor (10) prevăzut cu sulfat de sodiu anhidru pentru îndepărtarea completă a urmelor de apă, care în timp îndelungat ar facilita peroxidarea unor compuși hidrocarbonați.

Din decantorul (10), produsul purificat este trecut la un omogenizator prevăzut cu microdoze (11), prin care uleiul esențial este impregnat pe un suport pulverulent de maltodextrine și omogenizat timp de 30 minute. Produsul aromatizant pulverulent, este trecut la dispozitivul de dozare (12) și este introdus în borcane de sticlă de culoare închisă ferit de lumină și depozitat în spații cu temperatură controlată la +4°C.

**Obținerea de produse aromatizante fluide cu utilizări nutraceutice în fază lichidă (fig. 2, 5)**

Materia primă este procesată identic până la etapa de mărunțire primară prin dispozitivul tip ghilotină (4). Urmează a doua etapă de condiționare în care se realizează uscarea în incinta de uscare (5') cu ventilație și aer cald, la temperaturi menajante de maxim 70°C, până la un conținut în substanță uscată de minim 90%. Urmează o a doua mărunțire într-o moară coloidală pentru pulberi uscate (6'), la dimensiuni de 40 meshi. Materialul fin mărunțit se trece într-un extractor automatizat (7') care acționează la temperatura mediului ambiant cu percolare și șocuri de presiune la 6 – 8 bari, în care se adaugă alcool etilic la concentrație de 96% v/v, la un raport de 1:4, extracția solvolică acționând într-un interval de 2,5 – 4 ore, în funcție de rigiditatea substratului, după care dispersia se presează printr-o presă cu șnec (8') și un separator centrifugal pentru înlăturarea eventualelor suspensii (9'), iar extractul fluid se trece la un dozator de lichide (10') și se ambalează în sticle de culoare închisă, de 50 – 500 ml, după care se depozitează ferit de lumină la o temperatură controlată de +4°C.

Reziduuil remanent se poate condiționa printr-o uscare suplimentară, rezultând un produs cu o creștere a conținutului în azot, consecutiv extracției etanolice, cu o structură microporoasă, care poate fi valorificat în hrana rumegătoarelor sau ca fertilizant natural, având o mare capacitate de absorbție a apei și a electroliților.

**Obținerea produsului aromatizant uleios cu utilizări în mediu lipofilic (fig. 3, 6)**

Etapele de procesare inițiale ale materiilor prime, sunt identice cu cele prezentate pentru produsul fluid, până la etapa de mărunțire fină în moara coloidală pentru pulberi uscate la dimensiuni de 40 meshi (6'). Materialul fin mărunțit se trece într-un tanc de macerare în fază uleioasă (7'') adăugându-se cu agitare intermitentă ulei alimentar (de floarea soarelui, din germeni de porumb sau de dovleac) în proporție de 1:4, pulbere mărunțită : ulei alimentar. Macerarea are loc prin agitare cu agitatorul mecanic (8'') zilnic, timp de 30 minute, într-un timp variabil (depinzând de rigiditatea substratului) de 7 – 14 zile, după care dispersia uleioasă formată din uleiul alimentar în care s-a solubilizat uleiul esențial, se trece la o presă cu șnec (9'') și la un separator centrifugal (10'') rezultând prima fracțiune lipofilică. Reziduuil uleios i se adaugă apă deionizată în proporție de 1:3 în rezervorul de separare (11'') cu agitare intermitentă timp de 1 oră, când are loc o a doua extracție a fazei lipofilice, urmată de o nouă presare prin presa cu șnec (12''), o a doua trecere prin separatorul centrifugal (13'') pentru recuperarea fracțiunii uleioase reziduale. Frațiunile uleioase se combină în decantorul (14'') prevăzut cu sulfat de amoniu anhidru pentru deshidratarea completă a maceratului uleios, se trec în dozatorul automat (15'') și se ambalează în sticle închise la culoare, ferite de lumină de 100 – 500 ml, cu depozitare la temperatură controlată de maxim +10°C. Temperaturile prea scăzute favorizează depunerea cerurilor din faza uleioasă, motiv pentru care nu se recomandă.

**Exemple**

**Exemplul (1)**

Cetina de molid recoltată în sezonul rece, s-a evaluat din punctul de vedere al

conținutului în ulei esențial, diferențiat, pentru rămurelele de molid cu diametrul cuprins între 0,2 – 0,5 cm și acele de molid ca atare.

Cele două fracțiuni au fost procesate separat într-o instalație de laborator, în care uleiurile volatile au fost dislocate din substratul de conifere prin antrenare cu vapori de apă la 1,1 – 1,2 atm, timp de 4 – 5 ore, iar compușii volatili condensați prin răcire, separați de apă și deshidratați pe sulfat de sodiu anhidru, s-au analizat prin tehnici cromatografice și spectrometrie de masă, respectiv G.C. – M.S.

**Compușii volatili identificați în ramuri de molid cu diametre cuprinse între 0,2 – 0,5 cm, antrenați cu vapori de apă prin hidrodistilare:** α Pinen; 3 Caren; 4(10) Thujen; 6,6-Dimetil-2-metilenebiciclo[3,1,1]heptan; β Myrcen, Camphen [1R, 4S]-(+)-; α Cymen; Limonen.

**Compușii volatili din acele de molid, identificați prin GC – MS (procedeu de hidrodistilare):** α-Santolin alcool; Borneol acetat; α Pinen; β Pinen; Cadino-1(10),4 dienă; γ-Cadinol; Camfor; Caryophyllen oxid; Caryophyllen; 3 Caren; γ-Element; γ-Terpinen; D Germacren; Humulen-(VI); D -Limonen; p-Menth-4(8)-ene; p-Menth-1-en-8-ol, acetat; Benzen-4-aryl-1,2-dimetoxi; Muurolen; Murolol; (-)-Spathulenol; cis-β-Terpineol; Ment-1-en-4-ol; Triciclen; 3-Thujen.

Produsul final obținut a avut următoarea compoziție: maltodextrină în s.u. = 90 – 92%; uleiuri esențiale din pin = 6,8 – 7,8%, din care compuși terpenoidici = 5 – 5,6%; substanțe ceroase = 0,4 – 0,6%; cenușă brută în s.u. = 0,2 – 0,4%.

### Exemplul (2)

Cetina de pin cu valori ale raportului C/N cuprinse între 58,5:1 un conținut mediu în proteină brută de 2,3% și în celuloză brută de 16%, se prelucrează conform etapelor descrise pentru „Produse aromatizante nutraceutice pulverulente utilizabile în mediu hidrofilic”. În conformitate cu analizele efectuate pe aparatură avansată G.C. – M.S., compușii identificați în urma incorporării uleiului volatil de pin pe maltodextrină, la nivel de 8%, au prezentat următoarele structuri: Acetat de bornil (Borneol acetat); α pinen; β pinen; cis-α-Bisabolen 1,7,7-Trimetilbiciclo [2,2,1] hept-6 en-2-ol; Borneol; Cadino-1[10],4-dienă; Camphen; Camphor; Caryophyllen; Chrysanthenonă; 3-Isopropil-5-metil-1-ciclohexenă; 2-(Acetoxil-1-[hexadecacicloxilmetil] etilacetat –; Etiliso-allacholat ; 2-isopropil-10-metilfenantren –; γ iononă; germacren D –; Isopropil laurat –; Isopropil miristat –; Isopropil palmitat –; γ Murolen; Lauric acid n-metil ester; Pinocamphon; Transpinocarveol; Stigmatsa-6-22 dieno, 3 β metoxi; (δ)cis-verbenol.

Produsul final obținut a avut următoarea compoziție: maltodextrină în s.u. = 90 – 92%; uleiuri esențiale din pin = 6,8 – 7,8%, din care compuși terpenoidici = 5 – 5,6%; substanțe ceroase = 0,4 – 0,6%; cenușă brută în s.u. = 0,2 – 0,4%.

### Exemplul (3)

Cetina de brad Douglas, cu un conținut în compuși solubili în mediu hidrofilic, în solvenți nepolari, respectiv în hexan de 18,2%, un conținut în celuloză brută de 9,2% și în proteină brută de 2,9%, s-a procesat prin extracție în etanol de 96%, conform etapelor de procesare indicate pentru „Produse aromatizante fluide, cu utilizări nutraceutice în fază lichidă”.

Analizele efectuate prin G.C. – M.S. au evidențiat următorii compuși: β pinen; p-Mentha-1-4(8)-dienă; γ-Terpinen; 4-Isopropil-1-metil-2-ciclohexen-1-ol; 1-6-Dimetilciclohexena; p-Ment-3-one-2-isopropenil-1-vinil ; trans p-Ment-2-ena; Camphen ; Caryofilen; Guaia-[(1S),1]-dienă –; Germacren D –; Eremofiladienă –; Cadino 1-[10, 4] dienă; ; β Guaien; 4-Isopropil-1-3 ciclohexan dionă ; 2 cis-9 Octadeceniloxietanol; Acid homosiringic; Fitol; Cis-11-Eicosenamidă; Adogen octadecenamidă ; Pimaro-7, dien-3-ol; gama sitosterol; 2,3 Dihidroxiopropil elaidat; 17-Pentatriaconten.

 9

Produsul final fluid a prezentat următoarea componență: alcool etilic = 75 – 80%; uleiuri esențiale = 1,4 – 1,8%; substanțe ceroase = 0,8 – 1,2%; extractive neazotate = 3 – 4%; fenoli totali = 0,4 – 1,2%; cenușă brută = 0,3 – 0,4%.

#### Exemplul (4)

##### **Macerare cetini de brad in ulei de floarea-soarelui.**

Cetina de brad obișnuit cu un raport mediu C:N de 20,9:1, un conținut în proteină brută de 7,1% în s.u. și un conținut în celuloză brută de 21%, s-a procesat în fază lipofilică, conform etapelor indicate pentru „Produse aromatizante naturale cu utilizări nutraceutice în mediu lipofilic”.

În urma macerării cetenilor de brad, în uleiul aromatizant s-au identificat următorii compuși decelați prin cromatografie G.C. și spectrometrie M.S. Macerarea s-a realizat pe o perioadă de 2 săptămâni: 3 Caren;  $\alpha$  Pinen; Santolinotrienă;  $\beta$  Pinen;  $\beta$  Mircen; Camfen; 1,3,3, Trimetil-2-oxobiciclo [2,2,2] octan-6-ol; 1,7,7 Trimetilbiciclo [2,2,1]hept-2-il-acetat –; p-Menth-1-en-4-ol-acetat –; Caryofilen; Himacolo-2,4-dienă;  $\gamma$  Gurjunenepoxid; Azulenă, Guaia-1-[5,7] (11) dienă; Cedral; Tujaspenă; Neoisoloangilicenă; Guaia-1(5), 11 dienă –; Cubenol; Metil(2)-5,11,14,17 – eicosatetraenoat;  $\gamma$  Sitosterol.

Produsul final lipofilic prezintă următoarea compoziție: ulei de floarea-soarelui = 88 – 94%; uleiuri esențiale din cetină de brad = 3,5 – 4%; substanțe ceroase = 0,8 – 1,1%; cenușă brută = 0,05 – 0,1%.

#### **Exemplificări privind procedee și produse brevetate din resurse primare de conifere:**

I. Sub aspectul similitudinii cu produsele care constituie obiectul prezentei cereri de brevetare, poate fi menționat brevetul SUA-2009-0110760A1 din 30.04.2009 intitulat „*Lipometabolism improver, containing pine bark extract*”, autori Kinya Takagaki, Sadan Mori (11). Extractul din scoarțele de pin prezintă potențial de implicare în stimularea metabolismului lipidelor și poate contribui la scăderea nivelului acestora, respectiv prezintă abilități de promovare a excreției colesterolului, de inhibare a absorbției lipidelor și de reducere a nivelului grăsimilor din corp.

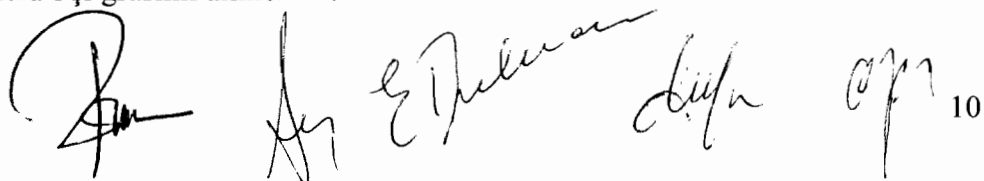
Se reliefează o abordare conceptuală similară cu obiectivele prezentei cereri de brevetare, respectiv de extindere a utilizării resurselor primare de conifere, din domeniul exclusiv farmaceutic, în domeniul produselor naturale ingerabile ca atare, în componența unor produse de tip alimentar. Această abordare se justifică prin necesitatea de a contracara escaladarea disfuncțiilor metabolice, induse de o alimentație neechilibrată și de factori ambientali cauzatori de stress biotic și abiotic, prin produse naturale.

Pe baza recentelor descoperiri privitoare la multiplele însușiri sanogene ale compușilor bioactivi din conifere, extinderea utilizării resurselor primare în direcția integrării coniferelor ca resurse viabile de recoltare în perioade îndelungate de timp, poate reprezenta o reală oportunitate.

În brevetul menționat, se demonstrează o eficiență mai înaltă a extractului din scoarță de pin (sub aspectul abilităților de a scădea conținutul de grăsime din corp), decât a altor remedii naturale, ca de exemplu chitosanul, acidul hialuronic, fucoidanul sau izolatele din soia.

Extractul din scoarțe de pin ca produs de îmbunătățire a metabolismului lipidic, poate să conțină și nutrienți și alți aditivi dacă este necesar și poate fi formulat în mai multe alternative, pentru a se realiza conceptul de bază al invenției. Deasemenea ca resurse primare, alături de Pinul maritim, pot fi utilizate scoarțe din diferite specii de pin și de Larix.

Extractul se obține utilizând apă sau un solvent organic, care se preferă a fi utilizabil în scopuri farmaceutice sau alimentare, incluzând apă, etanol, etanol apos, acetat de etil, diclormetan sau uleiuri și grăsimi alimentare.

 10

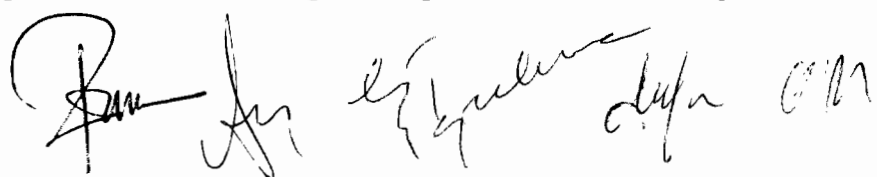
Se preferă apa, etanolul sau etanolul apos. Se utilizează de asemenea metode combinate de extracție cu solvenți organici și cu fluide supercritice, respectiv cu CO<sub>2</sub>. Extractul brut se obține în soluție saturată de clorură de sodiu, la un raport de 1:3, urmată de concentrarea în acetat de etil, separare și uscare pe sulfat de sodiu anhidru, concentrarea fazei organice la presiune redusă și purificarea ulterioară prin precipitare în cloroform. Extractul purificat este constituit prioritar din proantocianidine cu un grad de polimerizare de 2-4 unități monomere, cu denumirea generică de „oligomeric proantocianidins”, prescurtat „OPCs” cu înalt potențial antioxidant. Randamente produs purificat: 0,5% din biomasa scoarțelor de pin.

Pentru utilizarea în scopuri nutriționale, produsul obținut care îmbunătățește metabolismul lipidelor, poate fi aditivat cu proteine, minerale, lecitină, pudră de stevia, miere, maltitol, lactoză, soluție de zahăr, etc., pentru controlul gustului. De asemenea produsul poate fi pulverulent, sau integrat în fiole sau tablete, în forme fluide sau semifluide. Se poate utiliza ca o băutură sau un aperitiv, dizolvat în apă sau în lapte. În funcție de efectele scontate, dozele de incorporare pot fi cuprinse între 0,00005 % gr - 50 % gr, în termenii de conținut în proantocianidine. Cantitățile ingerate zilnic în funcție de efectele scontate, se preferă a fi de 0,02 gr, mai preferabile 0,04 gr (exprimate ca și conținut în proantocianidine). Limita consumului zilnic fiind de 0,3 gr.

II. Sub aspectul utilizărilor nutraceutice mai tradiționale, pe parcursul timpului s-au evidențiat aplicații brevetate, în special cu utilizări ale pinului, respectiv extracte din muguri, mlădițe și scoarțe.

Astfel în brevetul SUA Nr. 5690984/1997 intitulat „*Process for making a beverage from pine needles*”, autori Jung Geun Lim și Hoengchon Myon (12) se descrie următorul procedeu: Mugurii de pin se fierb în apă cu diferite adaosuri, respectiv cu rădăcini de lemn dulce, pulbere de scorțișoară, boabe de leguminoase (black beans) și ciuperci (*Ganoderma Lucidum*). Băutura obținută se consideră a fi benefică pentru sănătate, datorită compușilor bioactivi din muguri de pin, care conțin lipide, minerale, vitamine solubile în grăsimi, terpenoide, ceruri, taninuri și clorofile. Substraturile adăugate au capacitatea de a atenua gustul amar al terpenoidelor, iar în final produsul obținut este agreabil sub aspect organoleptic și sanogen prin compoziție. Ingredientele se fierb timp de 3 ore la 100° – 120°C, pentru 5 ore, după care dispersia se filtrează. Produsul fluid rezultat, poate fi apoi prelucrat pentru a obține diverse băuturi, prin adaus de zahăr, miere, sirop de porumb și acidifianți, acid lactic sau acetic, precum și etanol pentru obținerea de băuturi alcoolice. În cazul obținerii unei băuturi dulci, proporțiile preferabile sunt următoarele: muguri de pin 5-7% gr; rădăcină de lemn dulce 0,5 – 0,6% gr; scorțișoară 0,1 – 0,2% gr; boabe de leguminoase 0,5 – 0,6% gr; îndulcitori ca zahăr sau miere – 4,4 – 4,6%; *Ganoderma lucidum* 0,2 – 0,3% gr; apă 85 – 90% gr.

III. În brevetul SUA Nr. 5466453 din Nov. 1995, intitulat „*Method for improving the taste of pine extract, and orally administrable product obtained thereby*”, autorii Yukio Uchida Satoshi Iritani – Japonia, se descriu alternative de utilizare în numeroase produse și preparate a extractelor din mai multe specii de pin, cu însușiri benefice pentru circulația sanogenă, îmbunătățirea funcționării unor organe interne ca ianima, ficatul și rinichii, prevenirea hipertensiunii și a infecțiilor, promovarea apetitului și stimularea sistemului imun, prevenirea oboselii etc. Pentru promovarea pe scară largă a extractelor de pin, pe cale orală, se au în vedere adaosuri de produse naturale care compensează gustul amar și astringent al acestor extracte, în care resursele primare sunt reprezentate de semințe, conuri, crengi și ace de pin. Se au în vedere extractele obținute în mediu hidroetanolic sau în soluții apoase alcaline, respectiv a extractelor obținute cu fluide supercritice, la presiuni de 60 – 300 Kg/cm<sup>2</sup>, a căror însușiri senzoriale pot fi îmbunătățite prin adaosul unor extracte din bambus și din caise, și utilizate ulterior, ca alimente funcționale sau în scopuri medicinale. Dozele de administrare pe cale orală, a extractului de pin, pentru obținerea de efecte sanogene, se integrează la valori cuprinse între 0,001 – 10 gr/zilnic pentru un adult. Exemplele de utilizare

 11

în produse alimentare descrise de autori sunt următoarele: Sosul de soia „Furikake”, maioneză, dressing-urile denumite „Sanbai-zu”, „Chuka-no-moto”, „Mentsuyu” (supă japoneză cu tăiței), ketchup, supă premix „Dashinomoto”, „Gyuhi” (paste cu amidon), „Niro” (jeleu de orez dulce), băuturi alcoolice, lichioruri, vin și whisky și băuturi ca și cafeaua, cacao, băuturi gazoase, băuturi lactice acide, și băuturi fermentate cu lactobacili.

Produsele administrabile oral, pot fi avantajoase ca alimente pentru animalele domestice, ca un antiseptic și agent de control al afecțiunilor intestinale.

Deasemenea pot fi utilizate în gume de mestecat sau în produse cosmetice.

Se au în vedere și utilizări ale extractului de pin în concentrație de 0,1 gr/v% cu plante medicinale, în preparate îndulcite cu o compoziție de bază de 0,05 gr/v% de extract de pin, 0,5 gr/v% extract de plante și 5 gr/v% zahăr. S-a dovedit deasemeni eficiența extractelor de pin în inhibarea virusurilor, ca de exemplu a VSV (virusul stomatitelor virale) sau a virusului herpetic tip I (HSV – 1 virus).

În componența unor băuturi, concentratele extractului de pin în raport cu componentele menționate anterior pentru optimizarea gustului, se cifrează la următoarele valori: extract de pin – 0,05% din componența de bază; extract de bambus – 0,3%; extract din caise japoneze – 3,0%; zahăr invert 10%.

Produsul acidificat mai poate conține și 0,5% acizi organici alimentari

Extractul de pin poate fi aministrat și alături de produse de patiserie, ca agent de însiropare, de exemplu în prăjituri cu nucă și ouă și făină de grâu, în combinație cu siropuri de caise.

Se preferă deasemenea utilizarea extractului de pin în cremele de înghețată, bazate pe ouă, lapte și pudră de gelatină. Produsele de acest tip se consideră a prezenta însușiri de menținere și promovare a sănătății.

**IV.** În brevetul intitulat „Process for producing a beverage composition containing pine sprout extract” (14), autori Sung I. Lee și Soe Min Park, identifică un procedeu de preparare a unei băuturi bazate pe extractul de mlădițe de pin, căruia i se atribuie multiple însușiri sanogene, ca de exemplu dizolvarea cheagurilor de sânge, stimularea fluxului sanguin, prevenirea și tratarea febrei, inflamațiile intestinale, astmul bronșic, artrita reumatoidă etc.

Se are deasemenea în vedere ca și în exemplele precedente, înlăturarea gustului amar excesiv dar cu menținerea integrală a aromelor specifice de pin. În acest scop se utilizează atât extractul propriu-zis din mlădițe de pin, cât și uleiul esențial de pin, care se obține prin extracția mugurilor de pin cu alcool etilic.

Produsul fluid în mediu hidric, prezintă în final următoarea compoziție: 0,2 – 0,5% extract din mlădițe de pin; 0,04 – 0,1% esență de muguri de pin; 0,1 – 0,5% vitamina C; 3 – 4% zahăr alb; 5 – 6% fructoză; 0,03 – 0,05% acid malic.

Extractul din mlădițe de pin se realizează în apă, încălzită la temperaturi cuprinse între 80° – 90°C timp de 15 – 18 ore, filtrare și concentrare a extractului.

## Revendicări

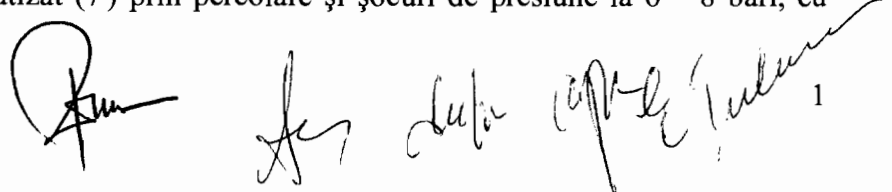
**1. „Produs aromatizant natural pentru utilizări nutraceutice în mediu hidrofil”, caracterizat prin aceea că se prezintă în stare pulverulentă cu un conținut în maltodextrine de 90 – 92%, un conținut în uleiuri esențiale din conifere de 6,8 – 7,8%, din care compuși terpenoidici 5 – 5,6%, substanțe ceroase 0,4 – 0,6%, cenușă brută 0,2 – 0,4%, cu însușiri bioprotective antioxidante, energizante și de stimulare a imunității, utilizabil la nivele de încorporare de 1:20 – 1:30 în aromatizarea de creme, sosuri, dressing-uri, aperitive dulci și sărate, umpluturi de patiserie, înghețate, alimente compozite etc.**

**2. „Produs aromatizant natural fluid”, caracterizat prin aceea că se prezintă în stare lichidă cu un conținut în alcool etilic de 75 – 80%, un conținut în uleiuri esențiale din conifere de 1,4 – 1,8%, substanțe ceroase 0,8 – 1,2%, extractive neazotate 3,4%, fenoli totali 0,4 – 1,2%, cenușă brută 0,3 – 0,4%, produsul fiind un concentrat energizant care se diluează la nivele de 1:8 – 1:25 și aromatizează produse din categoria băuturilor tonice, a cocteilurilor, a sucurilor de fructe și a unor ceaiuri și decocturi din plante medicinale cu însușiri senzoriale mai puțin atractive.**

**3. „Produs aromatizant natural pentru utilizări nutraceutice în mediu lipofilic”, caracterizat prin aceea că se prezintă în fază uleioasă, cu înalt potențial antioxidant în formațiuni celulare lipofilice, cu un conținut în ulei alimentar de 88 – 90%, un conținut în uleiuri esențiale solubilizate din resurse de conifere în uleiul alimentar de 3,5 – 4%, substanțe ceroase 0,8 – 1,1%, cenușă brută 0,05 – 0,1%, cu însușiri aromatizante bioprotective pentru preparate de carne, pește, vânat, salate picante, brânzeturi, aperitive sărate, mâncăruri compozite la nivele de 0,8 – 1,5%.**

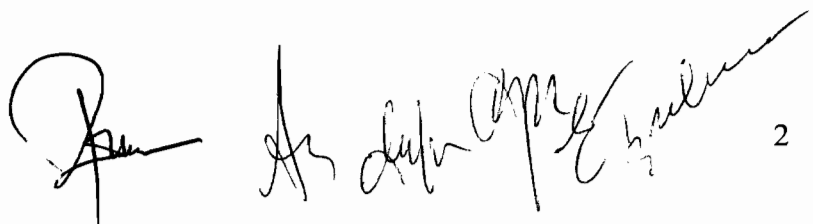
**4. „Procedeu pentru obținerea produsului definit în Revendicarea (1)” caracterizat prin aceea că biomasa din conifere este recoltată și apoi selectată în incinta (1) astfel ca diametrul ramurilor de conifere să nu depășească 0,2 – 0,5 cm, se preia de către o bandă transportoare (2), pe care se condiționează prin îndepărtarea impurităților organice și minerale, se spală prin pulverizare în instalația de spălare (3), se mărunțește în dispozitivul cu ghilotină (4) la dimensiuni de 1,2 – 2,5 cm, se trece în incinta cilindrică (5) pentru dislocarea compușilor volatili, cu aburi din instalație (6), la o presiune continuă de 1,1 – 1,2 ata, timp de 4 – 5 ore, compușii volatili se condensează în răcitorul spiralat (7) și în tancul de depozitare (8), apoi se separă de faza apoasă în separatorul centrifugal (9) și în decantorul de deshidratare (10) cu sulfat de amoniu anhidru, după care se trece în omogenizatorul cu microduze (11), se omogenizează pe un suport de maltodextrine timp de 30 minute, după care produsul pulverulent este dozat în dozatorul (12) și ambalat în bocarne de sticlă de culoare închisă, ferite de lumină, la temperatura de 4°C.**

**5. „Procedeu pentru obținerea produsului definit în Revendicarea (2)” caracterizat prin aceea că materia primă este condiționată în același fel ca în revendicarea (4) până la etapa de mărunțire primară prin dispozitivul tip ghilotină (4), apoi se trece la a doua etapă de condiționare prin uscarea în incinta de uscarea (5) cu ventilație și aer cald, la maxim 70°C, apoi la mărunțirea fină în moara coloidală pentru pulberi (6'), la dimensiuni de 40 meshi, apoi se extrage în extractorul automatizat (7') prin percolare și șocuri de presiune la 6 – 8 bari, cu**

 1

etanol de 96% v/v, la un raport de 1:4, dispersia se presează prin presa cu șnec (8') și se introduce în separatorul centrifugal (9'), extractul fluid se trece la dozatorul de lichide (10') și se ambalează în sticle de culoare închisă de 50 – 500 ml se depozitează la un loc ferit de lumină, la o temperatură controlată de +4°C.

**6. „Procedeu pentru obținerea produsului definit în Revendicarea (3)” caracterizat prin aceea că materia primă din conifere este procesată în aceleași etape ca cele descrise în revendicarea (5), până în etapa de mărunțire fină în moara coloidală pentru pulberi uscate (6") la dimensiuni de 40 meshi, după care se introduce în tancul de macerare uleioasă (7") cu ulei alimentar în proporție de 1:4 prin agitare intermitentă timp de 7 – 14 zile cu agitatorul mecanic (8"), dispersia uleioasă se presează prin presa cu șnec (9"), apoi se trece în separatorul centrifugal (10"), se decantează prima fracțiune lipofilică, iar rezidului uleios i se adaugă apă deionizată în proporție de 1:3 în rezervorul de separare (11"), cu agitare intermitentă timp de 1 oră, când are loc a doua extracție a fazei lipofilice prin antrenare cu apă, rezidul este presat prin presa cu șnec (12"), iar fracțiunea uleioasă rezultată din a doua extracție se separă din nou într-un separator centrifugal (13"), fracțiunile uleioase se reunesc în decantorul (14"), prevăzut cu sulfat de amoniu anhidru pentru deshidratarea completă a maceratului uleios, se dozează în dozatorul automat (15") și se ambalează în sticle închise la culoare, ferite de lumină, la temperatura controlată de maxim +10°C.**



Two handwritten signatures are present at the bottom of the page. The first signature is on the left, and the second is on the right. Below the second signature, the number '2' is written.

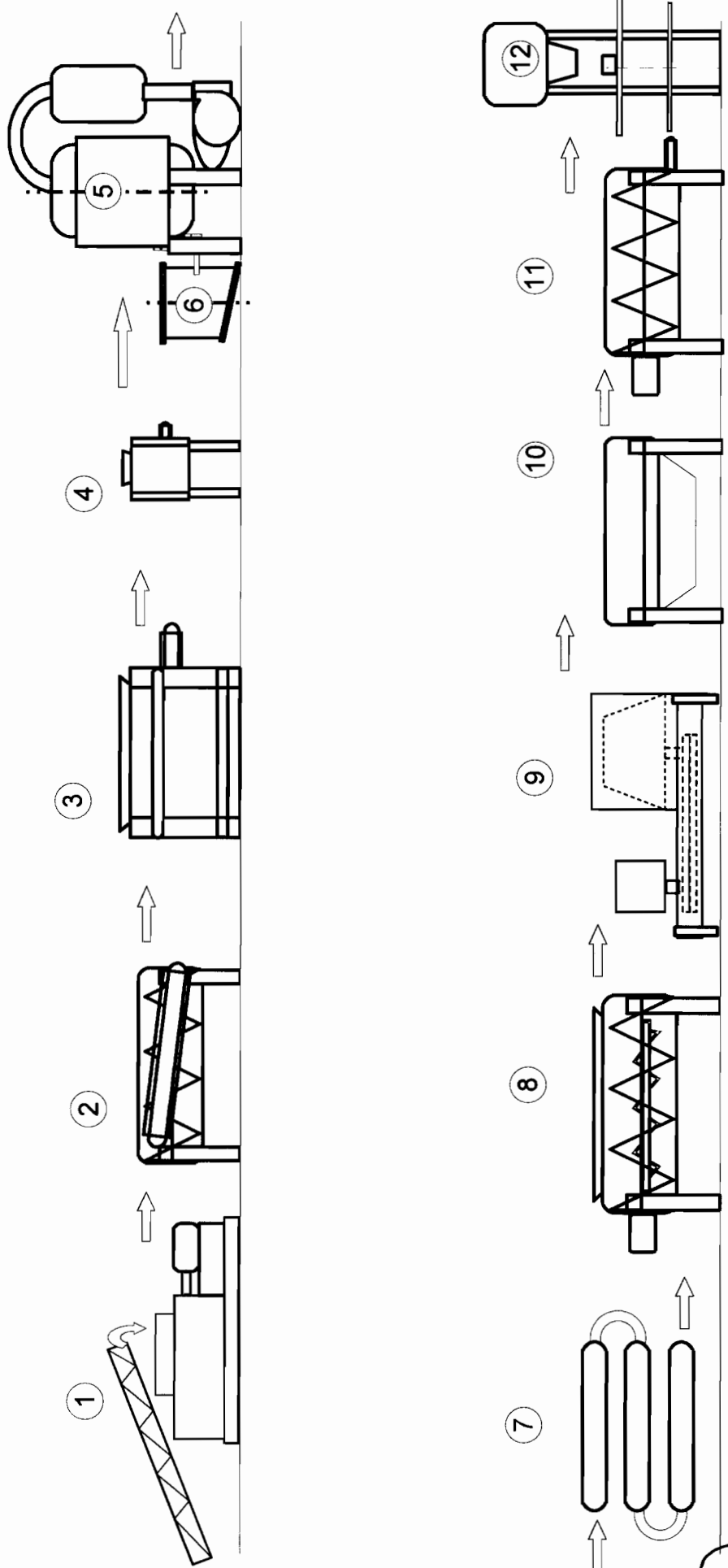


Fig. 1. LINIE TEHNOLOGICA DE OBTINEREA PRODUSULUI AROMATIZANT NATURAL PULVERULENT

*[Handwritten signature]*  
diferent  
spec



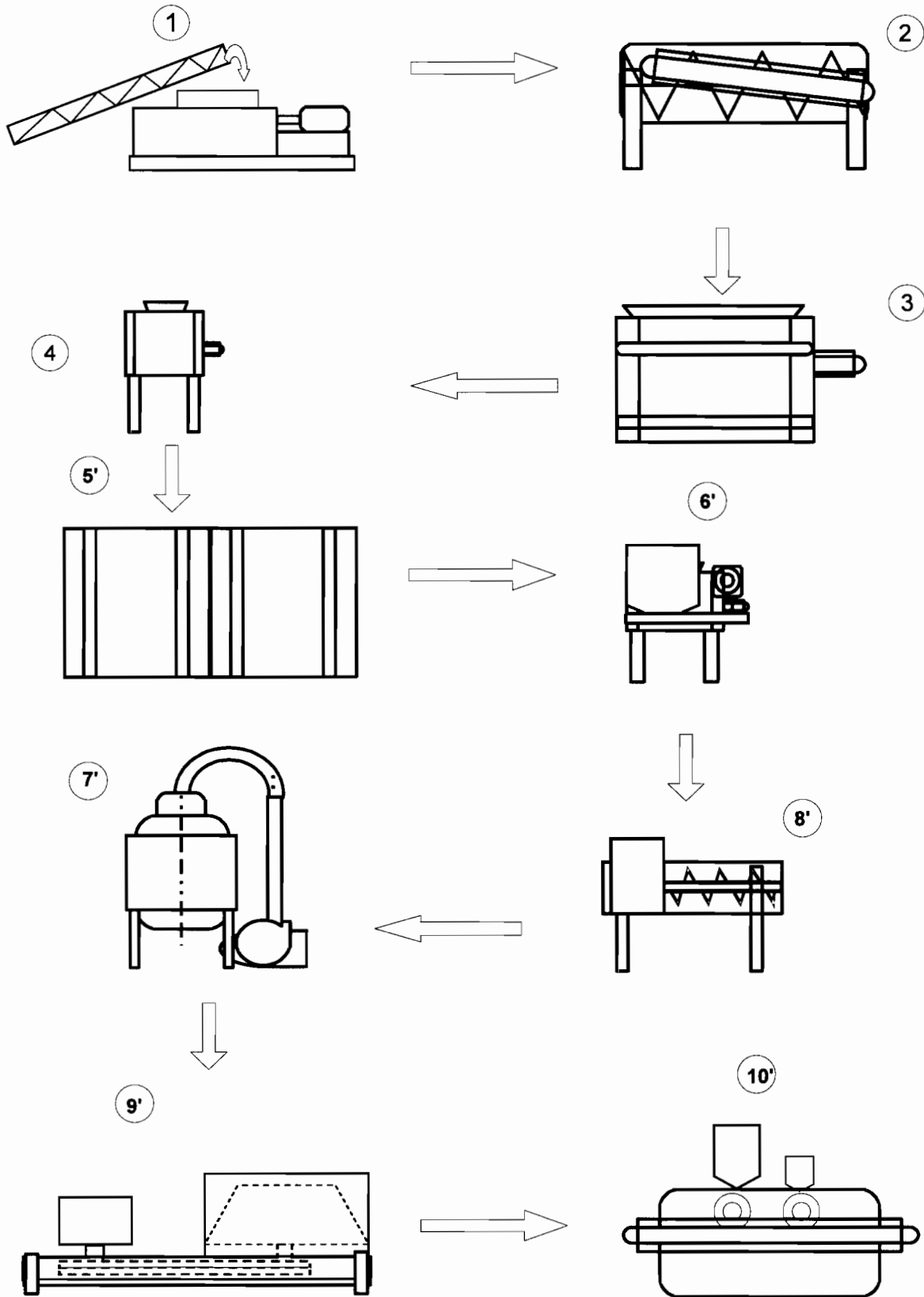


Fig. 2. LINIE TEHNOLOGICA DE OBTINERE A PRODUSULUI AROMATIZANT NATURAL FLUID

*Handwritten signature and text:*  
St. Stan  
deputat  
C. P. R.

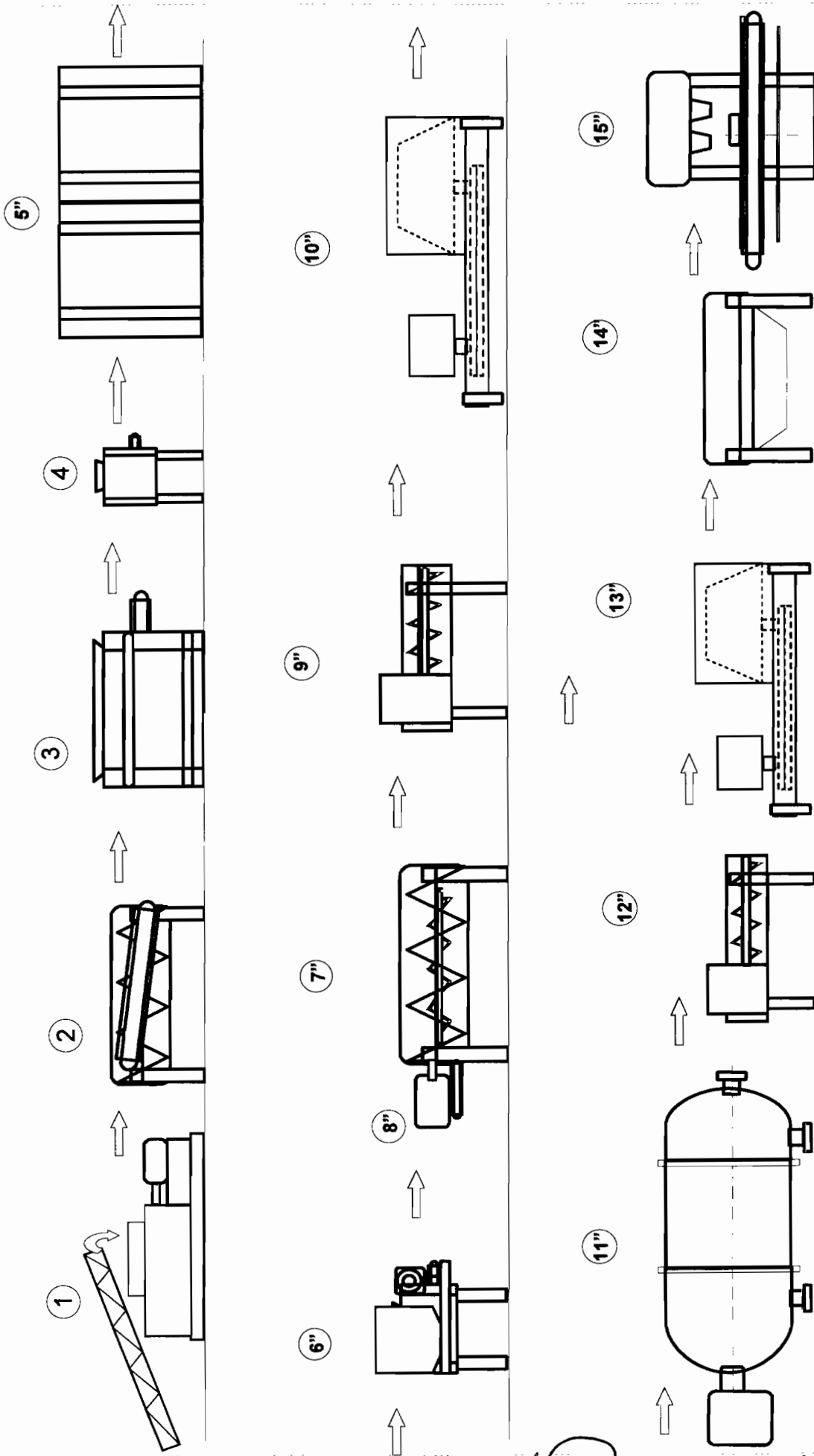


Fig. 3. LINIE TEHNOLOGICA DE OBTINEREA PRODUSULUI AROMATIZANT NATURAL LIPOFIL

*Handwritten signature and text:*  
A. Anis...  
...  
...

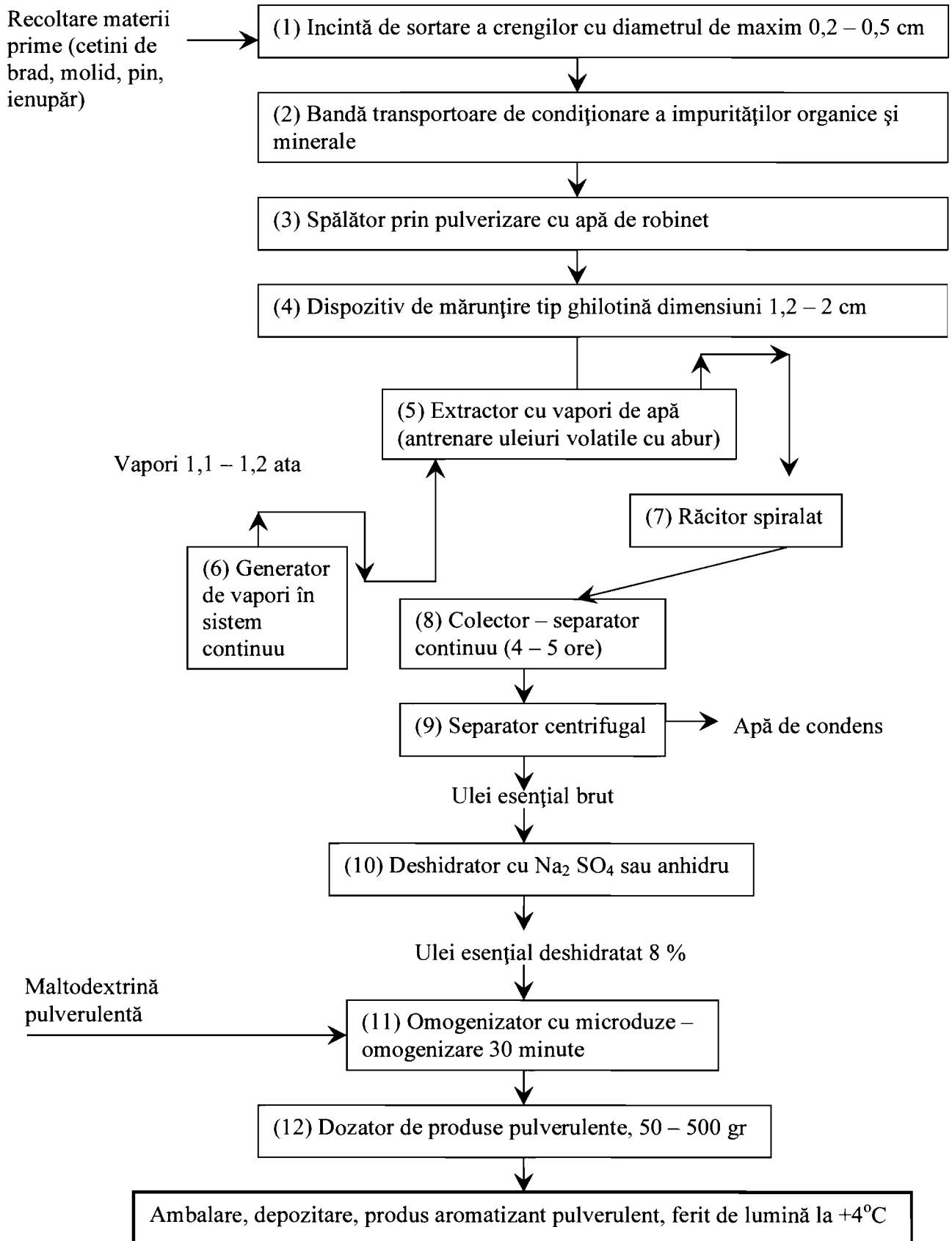


Fig. 4. Schemă tehnologică de obținere a produsului AROMATIZANT NATURAL PULVERULENT

*Handwritten signature and notes:*  
 A. Ștefan  
 E. Ștefan  
 după ope

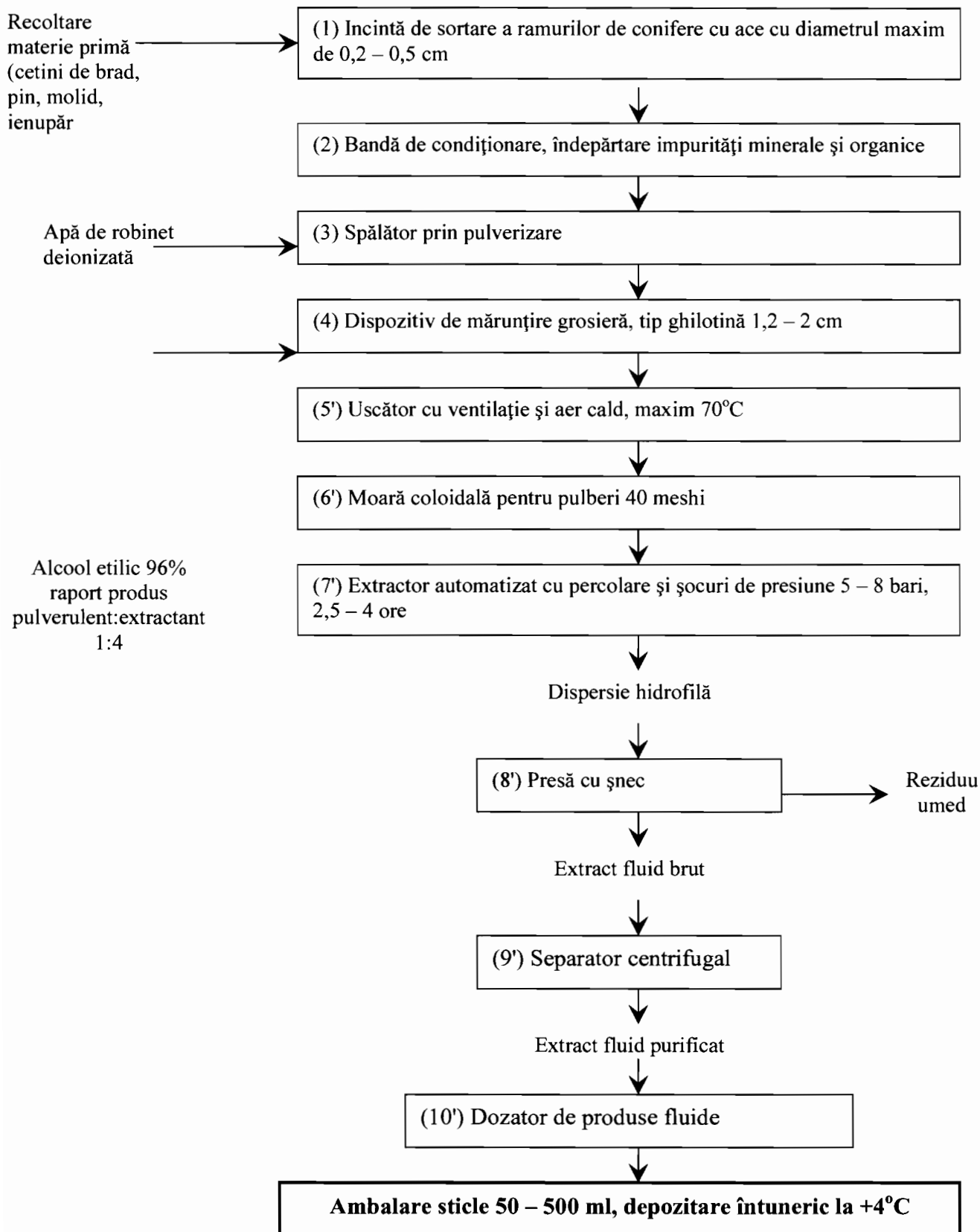
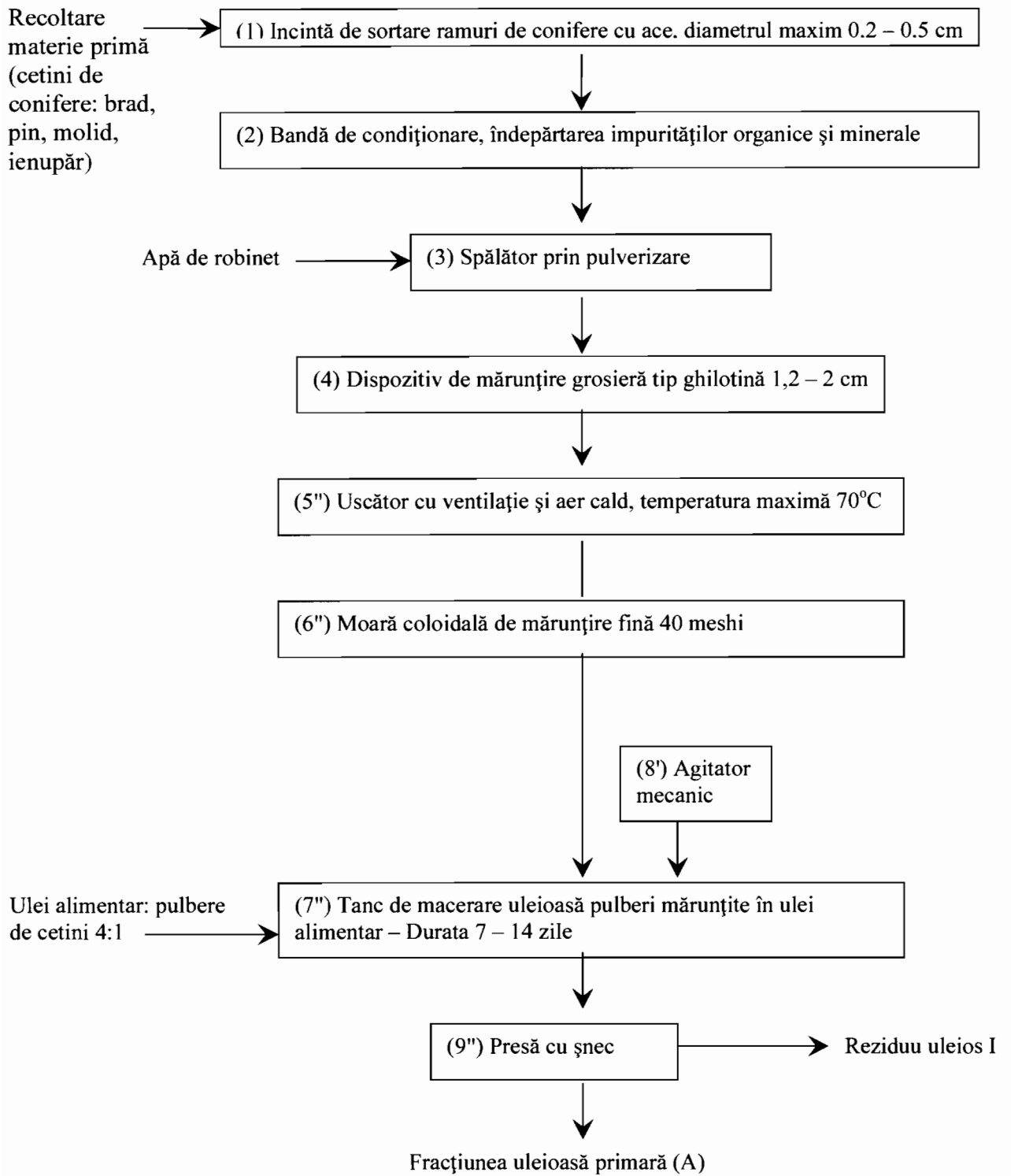
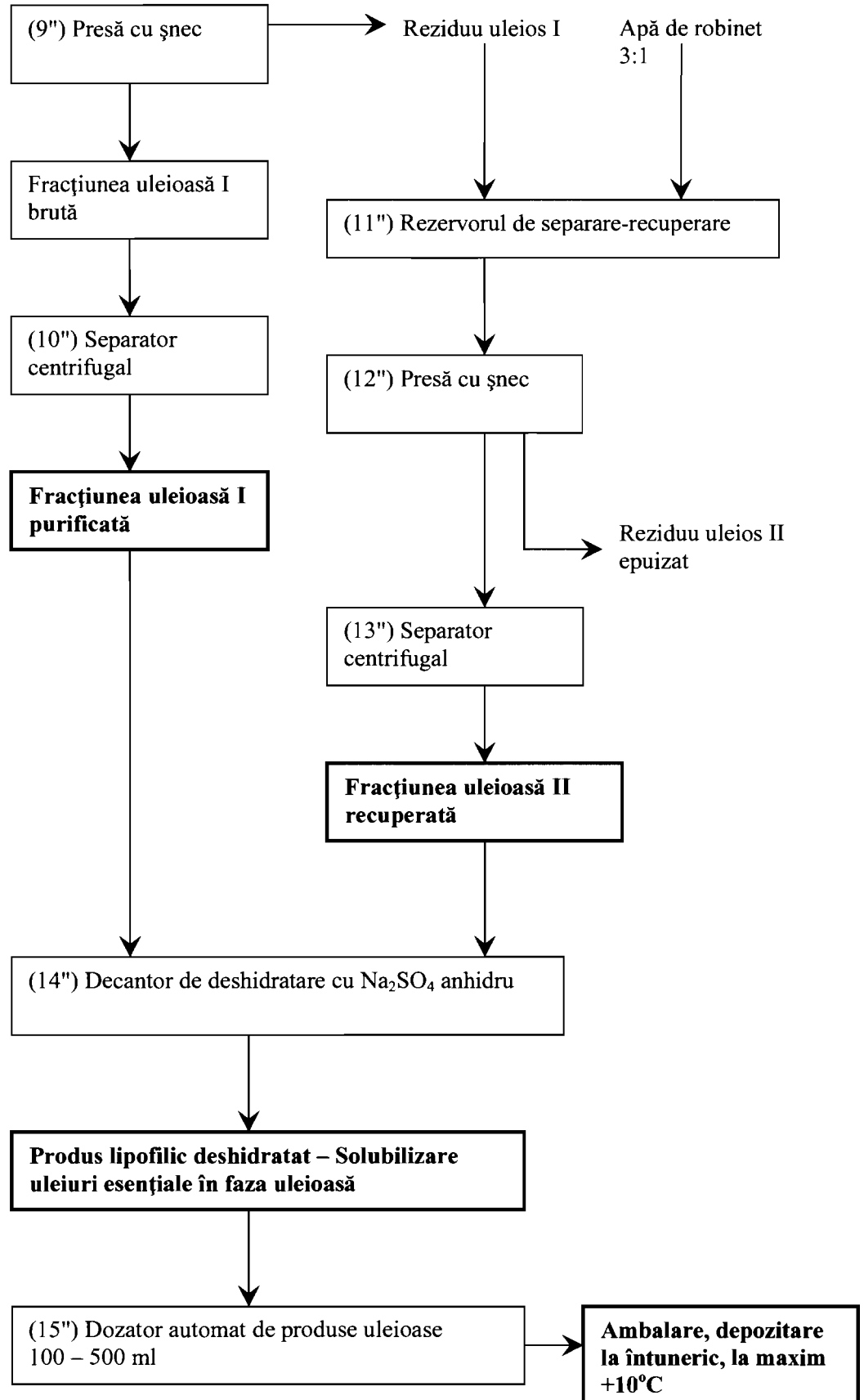


Fig. 5. Schemă tehnologică de obținere a produsului AROMATIZANT NATURAL FLUID

*[Handwritten signature and notes]*



*[Handwritten signature]*



**Fig. 6. Schemă tehnologică de obținere a produsului AROMATIZANT NATURAL LIPOFILIC**

*Handwritten signature and initials at the bottom of the page.*