



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2013 00410**

(22) Data de depozit: **28/05/2013**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28/09/2018** BOPI nr. **9/2018**

(41) Data publicării cererii:
29/08/2014 BOPI nr. **8/2014**

(73) Titular:
• **UNIVERSITATEA "LUCIAN BLAGA"
DIN SIBIU, BD. VICTORIEI NR. 10, SIBIU,
SB, RO**

(72) Inventatori:
• **OANCEA RODICA SIMONA, STR. IEZER
NR. 3, BL. 3, SC. A, AP. 3, SIBIU, SB, RO;**
• **STOIA MIHAELA, STR. NEGOI NR. 71,
SIBIU, SB, RO;**

• **OPREAN LETIȚIA, STR. FLORILOR NR. 16,
SIBIU, SB, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**S. OANCEA, C. GROSU,
"EFFECT OF VACCINUM MYRTILLUS
ANTHOCYANIN EXTRACT ON LIPID
OXIDATION IN COD LIVER OIL",
ROMANIAN BIOTECHNOLOGICAL
LETTERS, NR. 1, VOL. 18, PP. 7897-7903,
2013**

(54) **PROCEDEU DE STABILIZARE OXIDATIVĂ A ULEIULUI
DE PEȘTE PRIN ADAOSUL UNUI EXTRACT ANTOCIANIC
CRUD DIN AFINE**



RO 129691 B1

1 Invenția se referă la un procedeu de îmbunătățire a stabilității oxidative a unui ulei
bogat în acizi grași polinesaturați cu oxidabilitate crescută, precum uleiul de pește, destinat
3 uzului alimentar, prin adaosul unui extract natural hidrosolubil pe bază de antociani, obținut
din afinele de pădure. Acest procedeu de tratare a uleiului de pește cu un extract de afine
5 cu proprietăți antioxidante prezintă avantajul că prelungește termenul de valabilitate a produ-
sului utilizat ca supliment alimentar, și permite biodisponibilitatea acizilor grași omega 3
7 prezenți în produs.

 Invenția se află la intersecția dintre știința alimentelor și sănătate, asigurând o alter-
9 nativă netoxică pentru organismul uman, privind îmbunătățirea uleiurilor bogate în acizi grași
polinesaturați, prin comparație cu aditivii sintetici cu rol antioxidant care se utilizează în
11 prezent în astfel de produse.

 Invenția are importanță practică atât prin valorificarea unor plante bogate în antociani,
13 prezente în arealul nostru geografic (afine), pentru obținerea de extracte cu proprietăți multi-
funcționale, precum adăugarea în uleiul de pește, cât și prin aplicarea unor tehnologii suste-
15 nabile privind reducerea utilizării substanțelor toxice pentru producerea de compuși anti-
oxidanți.

 Uleiurile de pește sunt cunoscute drept o importantă sursă de acizi grași polinesa-
17 turați cu catenă lungă, în principal omega 3 (acidul eicosapentenoic EPA și acidul docosa-
hexenoic DHA), cu implicații deosebite în promovarea sănătății organismului, prin prevenirea
19 bolilor cardiovasculare, neurodegenerative sau a diabetului [1]. Acest fapt a condus la dez-
voltarea unei game largi și variate de formule - suplimente alimentare pe bază de ulei de
21 pește. Dezavantajul utilizării uleiului de pește în obținerea alimentelor funcționale constă în
susceptibilitatea crescută a acestuia la degradarea oxidativă. Procesele oxidative din uleiul
23 de pește contribuie nu numai la rănirea și dezvoltarea unor mirosuri neplăcute, dar și la
scăderea calității nutriționale a acestora și la formarea unor produși secundari toxici [2].
25 Acești compuși chimici sunt periculoși pentru sănătate, contribuind la distrugerea membra-
nelor celulare, accelerarea proceselor de îmbătrânire, apariția bolilor cardiovasculare și a
27 cancerului.

 Sunt cunoscute procedee de îmbunătățire a stabilității oxidative a uleiurilor de pește
29 prin adăugarea unor diferiți antioxidanți, în special sintetici, precum butilhidroxianisolul
(BHA), butilhidroxitoluenul (BHT), propil galatul (PG), etoxichina și *terț*-butil hidrochinona
31 (TBHQ).

 Aceste procedee de stabilizare cu aditivi sintetici cu rol antioxidant prezintă dezavan-
33 tajul prin aceea că folosesc produși a căror prezență în produsul final determină riscuri
asupra sănătății umane, prin nivelul scăzut de toxicitate chimică sau chiar carcinogenitate.
35

 Este cunoscută utilizarea altor produși antioxidanți pentru stabilizarea oxidativă a
37 uleiurilor de pește, în special naturali lipofilici și mai puțin hidrofiliți, cei mai importanți din
punct de vedere tehnologic fiind tocoferolii, extractul de rozmarin, uleiul din semințe de
39 struguri, catechinele din ceai, acidul ascorbic, acidul citric sau amestecul de β -lactoglobulină
și pectină [3, 4, 5].

 Aceste procedee de îmbunătățire a stabilității oxidative a uleiurilor de pește prin
41 adaosul de antioxidanți naturali prezintă dezavantajul prețului de cost ridicat și eficienței
43 generale mai scăzute comparativ cu antioxidanții sintetici.

 Problema pe care o rezolvă invenția este de a valorifica materiile prime accesibile
45 pentru extragerea antocianilor precum afinele, a căror producție și în sistem de cultură a luat
amploare în România, țara noastră fiind situată în topul primelor 10 țări producătoare de
47 afine, ca alternativă fezabilă pentru a valorifica potențialul autohton, pentru obținerea unui
extract antocianic hidrosolubil care, adăugat în cantități mici uleiului de pește în prezența
49 lecitinei, să determine o bună stabilizare a acestuia împotriva degradării oxidative. Compo-
ziția astfel obținută nu creează probleme pentru sănătatea umană sau pentru mediu.

RO 129691 B1

Stabilizarea oxidativă a uleiului de ficat de cod prin adăugarea unui extract antocianic din afine împreună cu lecitină de soia a făcut obiectul articolului științific “ Effect of Vaccinium myrtillus anthocyanin extract on lipid oxidation in cod liver oil ”, Romanian Biotechnological Letters , Ianuarie-Februarie 2013, vol. 18, nr. 1, pp. 7897-7903, autori S. Oancea și C. Grosu . Este însă de dorit să se optimizeze anumiți parametri operaționali, astfel încât eficiența stabilității oxidative ca urmare a adaosului de extract antocianic din afine în prezența lecitinei de soia în uleiul de pește să fie cât mai ridicată. Procedul de îmbunătățire a stabilității oxidative a uleiului de pește destinat uzului alimentar conform invenției cuprinde adăugarea la uleiul de pește de lecitină de soia împreună cu un extract antocianic crud din afine de pădure, extractul de afine fiind obținut prin macerare cu etanol 70%, peste noapte, la o temperatură de 4°C și la un raport etanol/afine de pădure de 2,5/1, urmată de filtrare și centrifugare la 4°C, extractul de afine obținut având un conținut de antociani de 303,26 mg/100 g produs, extractul antocianic fiind adăugat uleiului în proporție de 0,1% (v/m) față de ulei, iar lecitina de soia în proporție de 0,5% (m/m).	1 3 5 7 9 11 13
Prin aplicarea invenției, se obțin următoarele avantaje:	15
- obținerea de produse cu adaos de extracte naturale bioactive - o alternativă netoxică pentru organismul uman;	17
- folosirea unor materii prime accesibile pentru extragerea antocianilor;	19
- obținerea unui produs care poate fi avantajos din punct de vedere al costurilor, din următoarele raționamente: s-ar reduce cheltuielile cu importul produselor cu proprietăți similare dar, mai ales, s-ar reduce considerabil perioada de depozitare în timpul transportului pe distanțe mari (internațional);	21
- permite crearea unui produs de marcă înregistrată românească, valorificând cercetările în domeniu.	23
Caracteristicile prezentate mai sus permit designul unui produs care poate fi un supliment alimentar sau un ulei "sănătos" pentru consum, în sistem de microproducție, contribuind astfel la dezvoltarea întreprinderilor mici și mijlocii, și a întreprinderilor familiale.	25 27
Extractul antocianic hidroalcoolic obținut din afine de pădure se adaugă în asociere cu lecitină din soia, într-o cantitate extrem de mică, de 0,05...0,1% (v/m) raportată la ulei, obținându-se îmbunătățirea stabilității oxidative în timp, prin evaluarea indicelui de peroxid (Ip) și a substanțelor reactive cu acidul tiobarbituric (TBARS) comparativ cu tocoferolii sintetici (Tocomix) adăugați într-o cantitate dublă, de 0,1...0,25% (m/m) raportată la ulei.	29 31
Se dau, în continuare, exemple de realizare a invenției.	33
Exemplul 1	
Procedul de obținere a extractului antocianic din afinele de pădure constă într-o operație de mărunțire a fructelor pentru distrugerea membranelor celulare și eliberarea antocianilor vacuolari, extracția lor printr-o operație de macerare la rece (4°C) cu solvent (etanol 70%) peste noapte, urmată de filtrarea și centrifugarea la temperatura de 4°C, supernatantul obținut reprezentând extractul antocianic crud. Raportul solvent/material vegetal este de 5/1 și, respectiv, 2,5/1.	35 37 39
Exemplul 2	41
Procedul de obținere a unei forme stabilizate a uleiului de pește din ficat de cod constă într-o operație de preparare a unor micle prin combinarea uleiului de pește cu lecitină de soia adăugată în proporție de 0,5% (m/m) și un extract antocianic crud preparat din afine de pădure în etanol 70% la raport 5/1 și cu un conținut de 460,55 mg antociani/100 g produs umed, adăugat în proporție de 0,05% (v/m) față de ulei. Proba de ulei de cod investigat are un conținut de 46% acizi grași mononesaturați și de 30% acizi grași	43 45 47

RO 129691 B1

1 polinesaturați (din care 7% EPA și 9% DHA) conform informațiilor nutriționale ale producă-
torului (Lysi Hf, Reykjavik, Iceland, www.lysi.is). Pentru compararea rezultatelor se utilizează
3 probele de ulei de pește netratate (control) și probele de ulei de pește tratate cu un amestec
de tocoferoli sintetici (Tocomix) adăugați într-o cantitate de 0,25% (m/m) raportată la ulei.

5 Se urmărește procesul de oxidare prin păstrarea probelor în condiții de termostatare
la 30°C timp de 14 zile, și se evaluează cantitativ producții primari de oxidare prin
7 determinarea volumetrică a indicelui de peroxid Ip (meq/kg ulei).

9 Rezultatele obținute privind efectul antioxidant al extractului antocianic crud asupra
uleiului din ficat de cod sunt prezentate în tabelul 1:

11 *Tabelul 1*

Stabilitatea oxidativă a probelor de ulei de cod	Valoare Ip (meq/kg) pentru timp de păstrare la 30°C (zile)						
	0	1	4	7	8	11	14
Ulei de cod (control)	2,10	2,89	5,90	26,00	33,90	59,80	120,40
Ulei de cod îmbunătățit cu extract antocianic din afine de pădure	2,09	2,30	2,91	14,20	23,20	36,23	91,20
Ulei de cod îmbunătățit cu tocoferoli	2,00	2,80	5,00	18,10	29,20	73,84	132,00

19 Uleiul de cod îmbunătățit cu extractul antocianic crud din afine de pădure a prezentat
21 cele mai mici valori ale Ip (în medie $24,59 \pm 32$ meq/kg ulei), ceea ce înseamnă o stabilitate
mai mare la degradarea oxidativă. Valorile Ip au prezentat cea mai mică variabilitate (deviație
23 standard) în cazul uleiului îmbunătățit cu extractul antocianic crud din afine de pădure.

25 Evoluția în timp a Ip arată o creștere foarte mică pentru uleiul de cod îmbunătățit cu
extractul antocianic crud din afine de pădure (39,23%), comparativ cu creșterea valorii la
uleiul de cod îmbunătățit cu tocoferoli și, respectiv, uleiul de cod netratat (180%, respectiv
27 150%) în ziua a patra, după care urmează ritmuri de creștere asemănătoare ale valorilor Ip
29 pentru toate cele 3 tipuri de ulei (intervalul de timp 4...14 zile). Prin urmare, uleiul îmbunătățit
cu extractul antocianic crud din afine de pădure prezintă oxidabilitatea cea mai redusă în
primele patru zile de păstrare la 30°C.

31 **Exemplul 3**

33 Procedul de obținere a unei forme stabilizate a uleiului de pește din ficat de cod con-
stă într-o operație de preparare a unor micle prin combinarea uleiului de pește cu lecitină
de soia adăugată în proporție de 0,5% (m/m) și un extract antocianic crud de afine de pădure
35 în etanol 70% la un raport de 2,5/1 și cu un conținut de 303,26 mg antociani/100 g produs
umed, adăugat în proporție de 0,1% (v/m) față de ulei. Pentru compararea rezultatelor se
37 utilizează probele de ulei de pește netratate și probele de ulei de pește tratate cu un amestec
de tocoferoli sintetici (Tocomix) adăugați într-o cantitate de 0,1% (m/m) raportată la ulei.

39 Se urmărește procesul de oxidare, prin păstrarea probelor în condiții de termostatare
la 30°C timp de 7 zile, și se evaluează cantitativ producții primari de oxidare prin determinarea
41 volumetrică a indicelui de peroxid Ip (meq/kg ulei) și producții secundari de oxidare prin
determinarea spectrofotometrică a substanțelor reactive cu acidul tiobarbituric TBARS (meq.
43 malonaldehidă/g ulei).

45 Rezultatele obținute privind efectul antioxidant al extractului antocianic crud asupra
uleiului din ficat de cod sunt prezentate în tabelele 2 și 3:

Tabelul 2

Stabilitatea oxidativă a probelor de ulei de cod	Valoare Ip (meq/kg) pentru timp de păstrare la 30°C (zile)						
	0	1	2	3	4	5	7
Ulei de cod (control)	1,75	2,24	5,22	8,26	19,75	27,52	64,59
Ulei de cod îmbunătățit cu extract antocianic din afine de pădure	1,74	2,00	3,49	7,59	11,23	18,01	34,17
Ulei de cod îmbunătățit cu tocoferoli	2,00	2,01	4,00	8,51	13,47	34,36	61,28

Tabelul 3

Stabilitatea oxidativă a probelor de ulei de cod	Valoare TBARS (mg malonaldehidă/g) pentru timp de păstrare la 30°C (zile)		
	0	3	7
Ulei de cod (control)	1,71	1,82	3,05
Ulei de cod îmbunătățit cu extract antocianic din afine de pădure	1,49	1,50	2,24
Ulei de cod îmbunătățit cu tocoferoli	1,46	1,54	2,43

Evoluția în timp a parametrilor Ip și TBARS arată o creștere foarte mică în cazul uleiului de cod îmbunătățit cu extractul antocianic crud din afine de pădure (în medie valori de $11,18 \pm 11,69$ meq/kg ulei, respectiv $1,74 \pm 0,43$ mg malonaldehidă/g ulei). Ritmul de creștere în timp a valorilor Ip este asemănător pentru toate probele de ulei de cod până în ziua a treia, după care valoarea Ip a uleiului îmbunătățit cu extractul antocianic din afine de pădure are o creștere mai lentă, comparativ cu celelalte două tipuri de ulei. Ritmul de creștere în timp a valorilor TBARS până în ziua a treia este cel mai mic pentru uleiul îmbunătățit cu extractul antocianic din afine de pădure, după care valoarea TBARS crește în același ritm pentru toate cele trei probe de ulei.

Exemplul 4

Procedeele de obținere a unei forme stabilizate a uleiului de pește din ficat de cod constă într-o operație de preparare a unor micle prin combinarea uleiului de pește cu lecitină de soia adăugată în proporție de 0,5% (m/m) și un extract antocianic de afine de pădure în etanol 70% la un raport de 5/1, și cu un conținut de 460,55 mg antociani/100 g produs umed, adăugat în proporție de 0,05% (v/m) față de ulei. Pentru compararea rezultatelor se utilizează probele de ulei de pește netratate (control). Probele de ulei de cod au fost păstrate în condiții răcoroase până în momentul analizei, pornindu-se de la valoarea Ip de 41,2 meq/kg ulei.

Se urmărește efectul adaosului de extract antocianic din afine de pădure prin păstrarea uleiului de cod în condiții comerciale (depozite răcoroase, 15...17°C) timp de 42 de zile.

Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 4:

Tabelul 4

Stabilitatea oxidativă a probelor de ulei de cod	Valoare Ip (meq/kg) pentru timp de păstrare în loc răcoros (zile)				
	0	8	21	34	42
Ulei de cod (control)	41,20	65,34	117,20	209,60	245,60
Ulei de cod îmbunătățit cu extract antocianic din afine de pădure	41,63	61,35	94,40	114,86	127,20

RO 129691 B1

1 Așa cum rezultă din tabel, se asigură o îmbunătățire a stabilității uleiului de cod în
condiții de depozitare la temperaturi de 15...17°C, prin adaosul unui extract antocianic crud
3 din afine de pădure, comparativ cu proba de ulei de cod netratat.

5 Uleiul de pește îmbunătățit cu un extract antocianic din afine de pădure are oxida-
bilitatea cea mai mică în toate cele 3 experimente. Rezultatele celor 3 experimente realizate
in vitro demonstrează că extractul natural de antociani adăugat în cantități foarte mici conferă
7 uleiului de pește o bună stabilitate oxidativă, comparabilă cu cea a antioxidanților sintetici
adăugați în concentrații mai mari, la temperatura de 30°C, în condiții păstrare de scurtă
9 durată (7...14 zile), precum și o stabilitate mai bună prin depozitare de lungă durată (42 zile),
la temperaturi de 15...17°C.

11

Bibliografie

13 1. Connor W. E., *Importance of n-3 fatty acids in health and disease*, Am. J. Clin.
Nutr. 71, 171 S-175S, 2000.

15 2. Frankel E.N., *Lipid Oxidation*, E.N. FRANKEL, ed., The Oily Press, Dundee,
Scotland, 1998.

17 3. Kulås E., Ackman R.G., *Different tocopherols and the relationship between two*
methods for determination of primary oxidation products in fish oil, J. Agric. Food Chem., 49,
19 1724-1729, 2001.

21 4. A. O'Sullivan, A. Mayr, N.B. Shawa, S.C. Murphy, J.P. Kerry, *Use of natural*
antioxidants to stabilize fish oil systems, Journal of Aquatic Food Production Technology,
14(3), 75-94, 2005.

23 5. Katsuda M.S., McClements D.J., Miglioranza L.H.S., Decker E.A., *Physical and*
oxidative stability of fish oil-in-water emulsions stabilized with beta-lactoglobulin and pectin,
25 Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56, 5926-5931, 2008.

RO 129691 B1

Revendicare

1

Procedeu de îmbunătățire a stabilității oxidative a uleiului de pește destinat uzului alimentar prin adăugare la uleiul de pește de lecitină de soia împreună cu un extract antocianic crud din afine de pădure, extractul de afine fiind obținut prin macerare cu etanol 70%, peste noapte, la o temperatură de 4°C, urmată de filtrare și centrifugare la 4°C, **caracterizat prin aceea că** în etapa de macerare se utilizează un raport etanol/afine de pădure de 2,5/1, extractul de afine obținut și adăugat uleiului având un conținut de antociani de 303,26 mg/100 g produs și prin aceea că extractul de afine se adaugă în proporție de 0,1% (v/m) față de ulei, iar lecitina de soia în proporție de 0,5% (m/m).

3

5

7

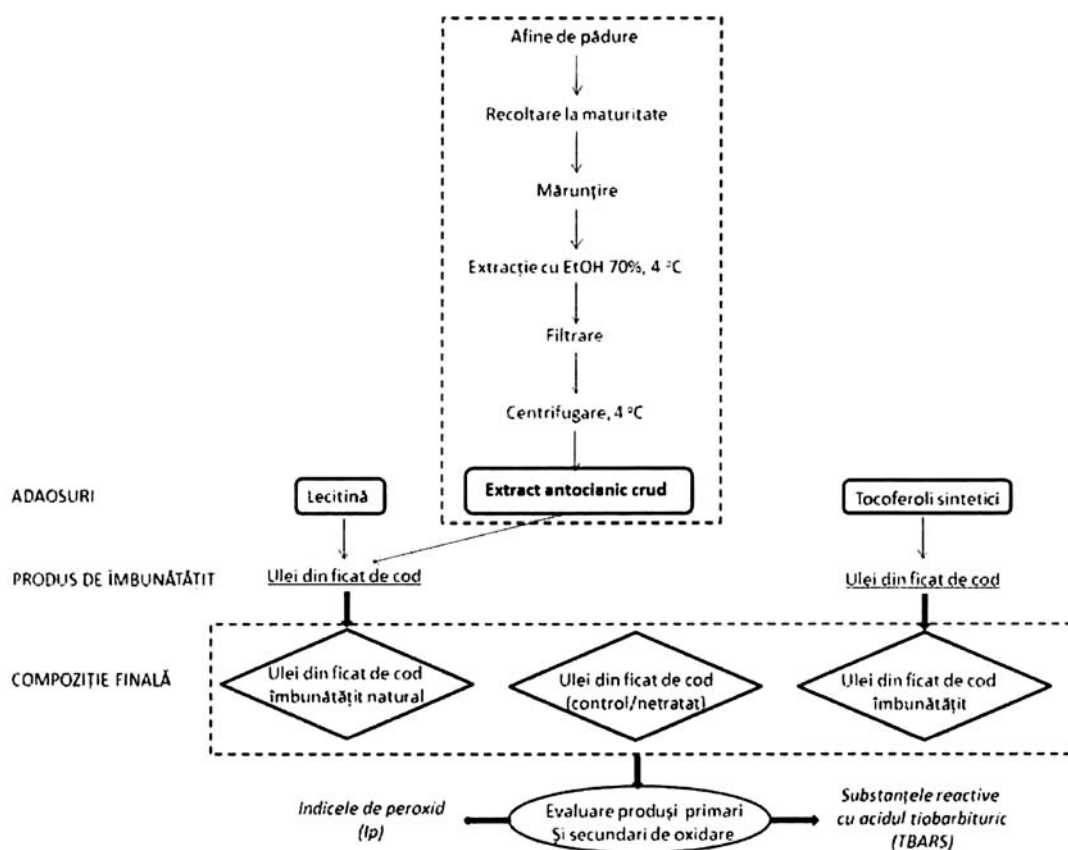
9

(51) Int.Cl.

A23D 9/06 (2006.01),

A23L 3/3472 (2006.01),

C11B 5/00 (2006.01)



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
 Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
 sub comanda nr. 437/2018