



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2015 00631**

(22) Data de depozit: **02/09/2015**

(41) Data publicării cererii:
30/03/2017 BOPI nr. **3/2017**

(71) Solicitant:
• **MAGICNUC S.R.L.**,
STR. GENERAL CONSTANTINIDE NR. 1,
BL. 24C, SC. C, ET. 2, AP. 52, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• **ȚULUCA ELISAVETA-VALERIA**,
STR. FRAȚII FĂGĂRĂȘANU NR. 38,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;

• **SERBĂNESCU OCTAVIAN**,
STR. IZVORUL OLTULUI NR. 2, BL. 25,
SC. A, ET. 3, AP. 12, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;
• **VASILESCU-PANEA GELU**,
CALEA CRÂNGAȘI NR. 10, BL. 19A, ET. 1,
AP. 2, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• **TĂNĂSESCU DUMITRU-DAN**,
STR. GENERAL CONSTANTINIDE NR. 1,
BL. 24C, SC. C, ET. 2, AP. 52, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **PROCEDEU INTEGRAT DE DISPONIBILIZARE A
PROTEINELOR ȘI A ANTIOXIDANȚILOR HIDROFILICI DIN
SUBPRODUSE NUCIFERE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu integrat de disponibilizare nutraceutică a compușilor naturali remanenți în miezul de nucă delipidizat. Procedeu constă din aceea că șrotul de nucă rigidizat se mărunțește la 40 mesh, se condiționează prin spălare cu apă deionizată și se macerează în acid acetic alimentar de 9% într-un raport de 1:10, timp de 6...8 h, din care rezultă o fază fluidă hidroacetică care integrează antioxidant, și un reziduu insolubil care se ajustează la pH neutru, se usucă până

la o umiditate de 10% și se micronizează la dimensiuni de 15...25 μm, rezultând un concentrat proteic conținând minimum 40% proteină, care se tratează cu o soluție de NaOH 0,1 M, precipitatul fiind separat și uscat, rezultând un izolat proteic conținând 22...27% proteine din șrot.

Revendicări: 3
Figuri: 1



PROCEDEU INTEGRAT DE DISPONIBILIZARE A PROTEINELOR ȘI A ANTIOXIDANTILOR HIDROFILICI DIN SUBPRODUSE NUCIFERE

DESCRIERE

Invenția se referă la un procedeu integrat de disponibilizare nutraceutică a compuşilor naturali remanenti în miezul de nucă delipidizat, prin presarea la rece a uleiului.

Zijia Zhang, Liping Liao, în lucrarea "Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.)", Food Chemistry, 113,(2009), 160 -165., au identificat în extractele nucifere hidrofilice obținute prin solvoliza cu extractanți polari (etanol de 80%), compuși fenolici cu înaltă capacitate antioxidantă, ca de exemplu acizii parahidroxibenzoic, catechuic, vanilic și galic, precum și derivații funcționali ai acestora și propune fracționarea hidrofilică a biomasei nucifere ca sursă de obținere a unor compuși antioxidanți naturali, ca alternativă pentru antioxidanții de sinteză (E-uri), utilizați în prezent pentru protecția peroxidării grăsimilor din produse alimentare.

Pe de altă parte, **J.P.Laforet, în patentul American United States Patent No. US 6,395,261 B1 / May 28, 2002 "WALNUT SEED MEAL EXTRACT"**, prin solvaliza hidrofilică a srotului de nucă rezultat în urma presării la rece a uleiului, demonstrează că în extractul apos nucifer se cumulează compuși naturali cu potențial bioprotectiv relevant de contracarare a stresului oxidativ cauzat de radiațiile solare UVB (cu lungimi de undă de 280 – 320 nm) care pot induce mutații maligne prin afectarea acizilor nucleici (efecte genotoxice).

S-au demonstrat de asemenea însușirile extractului hidric din srotul de nucă, de inhibare a degradării rețelelor de colagen și de elastină la nivelul dermei și epidermei, precum și stimularea sintezei proteinelor, a keratinocitelor și a fibroplăstelor, și inhibarea metalo-proteinazelor, enzime care generează afecțiuni reumatismale și inflamatorii.

Compușii menționați pot fi disponibilizați din sroturile nucifere, prin solvoliza hidrofilică menajantă, iar întrucât în prezent srotul de nucă rezultat în urma presării la rece este practic utilizat exclusiv în furajare, disponibilizarea compuşilor fenolici cu beneficiile sanogene menționate, se va integra în prima etapă a procedurii previzionată, conform prezentei CBI, cu obținerea unui extract fluid nutraceutic, care va integra compușii fenolici cu potențial antioxidant.

După separarea extractului fenolic fluid din prima etapă, reziduul remanent se prelucrează în continuare pentru a obține **concentratul proteic**, utilizabil ca atare și/sau acest concentrat proteic este supus unei solubilizări ulterioare, în mediu alcalin, pentru a disponibiliza la un nivel avansat proteinele nucifere, care ulterior se vor precipita și separa în mediu acid moderat la punctual izoelectric, obținându-se **izolatul proteic**.

Proteinele nucifere prezintă o înaltă valoare nutraceutică, fiind reprezentate de un conținut echilibrat în aminoacizi esențiali. Deosebit de importantă fiind arginina, aminoacid care are un rol esențial în eliberarea energiei și în imunomodulare, constituind baza de obținere a oxidului nitric (NO), prin intermediul nitritcoxidsintazei (NOS). În srotul de nucă s-au identificat nivele ale argininei de 2-4% din totalul proteinei.

De asemenea, proteinele nucifere conțin importante cantități de lizină și histidină, precum și aminoacizii cu sulf cistină și metionină.

Disponibilizarea proteinelor din sroturile nucifere conform prezentei CBI, poate reprezenta o bază de echilibrare a balanței proteice cu aplicații în numeroase produse din categoria alimentelor funcționale și a suplimentelor alimentare, de asemenea cu utilizări farmaceutice și

cosmetice. In prezent, existand o nisa de piata extinsa pentru dietele alimentare tip Vegan, ca alternative la proteinele de origine animaliera.

Insusirile mentionate par a fi corelate cu prezenta antioxidantilor naturali , prezenti in nuci in cantitati relevante sub forma unor compusi fenolici monomerici si oligomerici.

Din miezul de nuca presat la rece, rezulta ulei nucifer la nivele de 50 – 60% din biomasa nucifera si un reziduu intens rigidizat alcatuit din macronutrienti proteici si fibre alimentare , ulei remanent 7 – 9%, in care se incorporeaza micronutrienti lipofilici, fitoestrogeni si fosfolipide, micronutrienti hidrofilici cu inalt potential antioxidant, prioritar compusi fenolici. De asemenea in srotul remanent se regasesc substante minerale, macro si micro elementele biogene, existente in miezul de nuca.

Datorita structurii intens rigidizate, concentrarii compusilor fenolici precum si a deteriorarii glicolipidelor survenite in urma presarii mecanice, srotul nucifer presat la rece prezinta un gust amar pronuntat si deseori o culoare brun intensa. Din aceste motive srotul nucifer brut este in prezent utilizat exclusiv in scopuri furajere.

Procedeul propus in prezenta CBI, vizeaza prelucrarea integrativa a srotului de nuca delipidizat in scopul obtinerii de compusi nutraceutici , cu obtinerea de proteine si fibre alimentare utilizabile in alimentatia umana si cu separarea in fractiuni distincte a compusilor fenolici hidrofilici cu inalt potential antioxidant.

Consecutiv extractiei uleiului, in srotul nucifer delipidizat, continutul in proteina bruta se mareste proportional cu nivelul de indepartare a uleiului, de asemenea continutul in fibre alimentare S.D.F. si I.D.F.

Daca in miezul de nuca ca atare, nivelul proteinei brute este de 16 – 19%, si al carbohidratilor de aproximativ 17%, dupa delipidizare, continutul in proteina bruta poate atinge valori de 40 – 44%. Spre deosebire de alte resurse oleaginoase, miezul de nuca contine amidon ca atare ,la valori minimale de aproximativ 0,2%, carbohidratii fiind reprezentati de fibre alimentare solubile si insolubile S.D.F. si I.D.F. in proportii variabile.

Compusii fenolici prezenti ca metaboliti secundari , alaturi de glicolipidele usor degradabile chiar si in conditii termice minimale, (prin frecare mecanica in timpul presarii) imprima un gust amar si tendinte intensive de imbrunare.

Prin prezenta CBI se vizeaza fractionarea srotului nucifer rigidizat si concentrarea in faza fluida a compusilor fenolici.

S-au obtinut astfel compozitii nutraceutice cu nivele variate ale continutului in proteina bruta si in fibrelor alimentare, respectiv concentrate si/sau izolate proteice precum si un concentrat fluid care integreaza compusii fenolici cu inalt potential antioxidant hidrofilic.

Procedeul previzionat in CBI de prelucrare a subproduselor nucifere, implica si actiuni fizice de micronizare care sa faciliteze un nivel ridicat de biofolosinta metabolica.

De mentionat ca din timpuri stravechi in traditiile orientale miezului de nuca i se atribuie numeroase insusiri sanogene, de fortifiere a organelor interne si de retardare a fenomenelor de imbatranire, fiind perceput ca un aliment de tip “Yang”, care potenteaza disponibilizarea energiei vitale.

STADIUL ACTUAL AL TEHNICII

Recuperarea macro si micronutrientilor rezultati sub forma de subproduse prin prelucrarea primara a bioresurselor, reprezinta o preocupare sustinuta in actualul context, sub aspectul diponibilizarii integrale a tuturor compusilor naturali din matricile vegetale, care pot reprezenta o baza complementarea de utilizare in domeniul alimentar, farmaceutic sau cosmetic.

02-09-2015

Sub aspectul recuperării macronutrienților proteici și a compusilor bioactivi, în ultimii ani s-au dezvoltat procedee diferențiate, având la baza resurse oleaginoase, prioritar seminte oleaginoase din care uleiul s-a extras prin diferite procedee, ca de exemplu presarea la rece. Deși reziduu remanent după extracția uleiului conține proteine la nivele înalte, utilizarea ca atare nu este indicată, întrucât integrează alături de proteine, compuși indesezirabili ca glicozinolați, acid fitic, acizi fenolici, respectiv compuși amari, proveniți din denaturare termică, precum și o stereostructură rigidizată compactă, cu un nivel de digestibilitate scăzut și de asemenea o colorație închisă, cu tendințe de imbrunare continuă.

Dintre procedeele elaborate și/sau îmbunătățite prin care aceste inconveniente în a utiliza direct în consumul uman proteinele din sroturile oleaginoase, elaborate și/sau îmbunătățite, pot fi reprezentative următoarele :

United States Patent No. US 7,820,226 B2 / Oct. 26, 2010 PRODUCTION OF FLAX PROTEIN ISOLATE by Brent Everett Green, Ronald W. Martens, Johann Franz Tergesen, Radka Milanova.

Procedeele presupune extracția proteinelor în soluții saline, concentrarea acestora prin procedee membranare, până la nivele de 100 -200 g/litru, diluarea proteinelor concentrate de aproximativ 10 ori, la temperatura de 15 °C, cu sedimentare, pentru a favoriza agregarea unei mase micelare, coalescente, dense, amorfe, gluten like protein micellarmass (PMM), care se concentrează de asemenea prin ultrafiltrare, cu scăderea umidității și eliminarea soluției saline utilizate pentru solubilizarea inițială. Masa micelară se poate utiliza ca atare, sau poate fi uscată prin atomizare, realizându-se un izolat proteic cu o înaltă puritate de minim 90% (Nx6,25).

Schema fluxului tehnologic, care se realizează în etape sau în flux continuu, conține următoarele utilaje :

Un utilaj de extracție în care se introduce srotul mărunțit și soluția hidrică salină de extracție a proteinelor, constituită din 0,15M NaCl, în proporție de 1 : 20. Dispersia rezultată este apoi trecută într-o instalație de filtrare în vacuum, masa reziduală neextrasă se elimină și extractul proteic este trecut într-un vas de clarificare, realizându-se o a doua operație de filtrare și de centrifugare.

Extractul proteic clarificat este pompat în instalația de ultrafiltrare prin membrane (alcatuită din 4 grupuri consecutive de ultrafiltrare), unde se realizează concentrarea proteinelor în retentat și se îndepărtează permeatul. Soluția concentrată de proteine este dirijată într-un vas de precipitare, unde este diluată cu apă rece.

Se formează o masă de proteine micelare, prin staționare în apă rece și sedimentare. Din vasul de precipitare, dispersia micelară este trecută într-un uscător prin pulverizare, pentru a obține în final izolatul proteic uscat ("Spraydryer").

Supernatantul din vasul de precipitare, este trecut cu o pompă printr-o a doua instalație de ultrafiltrare cu membrane (alcatuită din 2 unități de concentrare), pentru a produce o soluție concentrată de proteine în retentat, care este trimisă la a doua unitate de "Spraydryer", pentru a obține aditional izolat proteic uscat.

Raportul dintre srotul oleaginos, extractantul salin și parametrii de procesare utilizați, prezintă următoarele valori : 16,8 kg srot mărunțit, 336 litri de soluție 0,15 M NaCl, menținere la 13 °C, amestecul s-a agitat 60 minute, urmat de o perioadă de sedimentare de 60 minute.

S-au recuperat 190 litri extract, care a fost filtrat și decantat, după filtrarea fină au rezultat 180 litri.

S-a obținut o soluție proteică cu un conținut în proteină de 6 g/litru.

Solutia apoasa trecuta prin instalatia de concentrare cu membrane, s-a concentrate la un volum de 11 litri.

In instalatia de ultrafiltrare porii au prezentat dimensiuni de 30.000 Daltoni.

Solutiei concentrate de proteina i se adauga apa in proportie de 1 : 10, la o temperatura de 4 °C. Se formeaza imediat un precipitat alb. Precipitatul este lasat la sedimentare 16 ore, se obtine 93 litri supernatant decantat si 12 litri de precipitat vascos " Protein micellar mass – PMM", care se usuca pentru a obtine izolatul proteic cu un continut in proteina de 92%. Nivelul proteinei recuperate din proteina existenta in srot , (nivelul global) a fost de 27% gr.

Procedee prezentat anterior este dezvoltat in continuare in - **United States Patent No. US 7,989,017 B2 / Aug. 2, 2011 CANOLA PROTEIN ISOLATE FUNCTIONALITY by Shelley Hiron, W.Martens, E.Donald Murray** , cu indicarea a numeroase aplicatii alimentare a izolatului proteic cu o puritate de 100%, respectiv in bauturi, deserturi, sosuri, toppinguri, preparate de patiserie, dressinguri, inghetate, maioneze, etc.

S-au dezvoltat de asemenea procedee de disponibilizare complementara a proteinelor, bazate pe procedee enzimatice, prin care se vizeaza ruperea pe cale enzimatica a legaturilor dintre lipolizaharidele si lipoproteinele din biomasa oleaginoasa, astfel incat se mareasca atat nivelul uleiului recuperat in faza lipofilica, cat si nivelul proteinelor recuperate din faza apoasa.

Bazele conceptuale ale acestor procedee sunt prezentate de **Shao Bing Zhang, Zhang Wang, Shi Ying Xu,, in lucrarea intitulata "Optimization of the Aqueous Enzymatic Extraction of Rapeseed Oil and Protein Hydrolysates "**, **J Amer Oil Chem Soc (2007) 84 ; 97 – 105**. Se obtin concomitent atat uleiuri cat si proteinele, prin tratarea dispersiei apoase a rapitei cu carbohidraze, diferite, respectiv pectinaze, celuloaze, si beta glucanaze, in proportie de 4/1/1, la o concentratie de 2,5%, timp de procesare 4 ore. Urmeaza un nou tratament enzimatic cu proteaza alcalina(Alcalaza 2,4 L), prin care se obtine demulsificarea uleiului si eliberarea proteinelor in extractul apos. Succesiunea etapelor fiind urmatoarea : semintelor decorticate de rapita li se adauga apa in proportie de 1/3 gr/v si se fierb 5 minute, pentru a inactive enzima myrosinaza, dupa care se macina umed timp de 3 minute, pentru a obtine o dispersie uniforma. Dispersia este trecuta intr-un bioreactor , in care proportia dintre seminte si apa se stabileste la un raport de 1 : 5 gr/v, si pH-ul este ajustat la 5. Se adauga carbohidrazele in concentratie de 2,5% fata de semintele de rapita . Hidroliza enzimatica se realizeaza la 48 °C, timp de 3 ore., cu agitare de 200 rpm.

In continuare, dispersia este tratata cu enzima proteolitica alcalaza 2,4 L, la 60 °C timp de 1 ora, la un pH initial de 9,0. Dupa care dispersia se incalzeste la 90 °C timp de 10 minute, pentru a inactive enzima proteolitica.

Consecutiv etapei de hidroliza cu carbohidraze, dupa o centrifugare timp de 15 minute la 3000 rpm, rezulta o faza emulsionata, o faza apoasa si un precipitat.

Dupa tratamentul cu alcalaza 2,4 L, 1,5% g/v, se produce o demulsificare a uleiului, rezultand urmatoarele produse : ulei liber, faza emulsionata, faza apoasa, precipitat.

Nivelul uleiului liber obtinut este relevant, atat sub aspect cantitativ cat si sub aspect calitativ, cu un nivel de regasire de 89,7 -91,6%.

Proteinele s-au recuperat din faza apoasa si gradul de hidroliza s-a evaluat prin comparatie cu proteinele, cu un grad de hidroliza cuprins intre 5800 pana la 29.000 Daltoni.

Cel mai inalt nivel de regasire a uleiului , prin tratamentul cu carbohidraze s-a realizat pentru pectinaze, la valoarea de 85,9%, ceea ce semnifica ca in semintele de rapita polizaharidele care predomina sunt pectinele, iar aditional pot exista si fibre celulozice si hemicelulozice.

02 -09- 2015

Raportul dintre seminte si apa, afecteaza semnificativ nivelul uleiului demulsificat, respectiv a uleiului eliberat din matricea vegetala, fiind inefficient la dilutii mari de 1:7 – 1:8. Proportia de 1:5 substrat : apa, faciliteaza un nivel inalt al uleiului liber demulsionat.

In conditiile mentionate se obtin hidrolizate cu un continut de aproximativ 96% peptide cu o greutate moleculara mai mica de 1500 Da, in care 81% au o greutate moleculara mai mica decat 600 Da.

Aceste mici peptide au un larg potential de aplicare in alimente, cosmetice sau preparate farmaceutice.

Baza conceptuala de valorificare integrata a biomasei oleaginoase initiata in anul 2007, a fost transpusa pe scara larga la nivel industrial in cadrul procedurii BIOEXX dezvoltata de **David T Bolke in noiembrie 2011 in Canada, in lucrarea intitulata "A Return to Natural – The Elimination of Solvent Extraction from the Production of Oilseed Protein Isolates"**

Se utilizeaza presarea la rece asistata de procedee enzimatice in faza apoasa, vizand obtinerea de izolate proteice cu inalte proprietati functionale, cu nivele de solubilitate de peste 80%, cu utilizari diversificate in alimentatia umana, la preturi competitive.

Considerand ca pretul izolatelor proteice din soia se cifreaza la valori de 3,3 US \$/ 7,5 kg, iar pretul proteinelor din lapte la valori de 11- 14 US\$/kg, pretul proteinelor izolate din Canola, se poate cifra la valori de 0,94 – 1,2 US\$/kg(la nivelul anului 2011).

Se fac referiri(fara a furniza date experimentale exacte) la stravechile tehnologii practicate in China, prin care resursele sunt supuse unei extractii apoase in conditii menajante, care nu modifica culoarea proteinelor si nici nu le denatureaza structural.

Se evita limitarea extractibilitatii proteinelor si rigiditatea sroturilor care intervine in procesele obisnuite de presare la rece a resurselor oleaginoase, intrucat presarea mecanica poate genera caldura si deterioreaza structurile sensibile la tratament termic, ca de exemplu glicolipidele.

Etapele de procesare se desfasoara fara solvent organic, in prese de ulei, urmate de procedee enzimatice in care proteinele sunt izolate in faza apoasa si in final obtinerea concomitenta direct din seminte a uleiului si a izolatelor proteice.

Procedeele se aplica pe resurse oleaginoase provenite din culturi organice cu inalt nivel de sustenabilitate ambientala si cu diversificarea gamei de utilizari a proteinelor vegetale, inclusiv in alimentatia copiilor.

Claudia Pickard, Peter Fisner, Stephanie Rader, "PROTEIN PREPARATION PRODUCER FROM RAPE SEEDS, USA 0301074 A1, 8 decembrie 2011. – abordeaza problema valorificarii proteinelor din resurse oleaginoase sub forma unor **concentrate proteice**, in care nivelul proteinei remanente este 40-70%, dar care prezinta insusiri functionale de retentie a apei, de gelifiere, emulsionare si spumare similare cu a izolatelor proteice cu nivele ale proteinelor de peste 90%.

Avantajul procedurii consta in posibilitatea excluderii unor etape de procesare care necesita tehnologii cu un aport investitional mai putin accesibil, ca de exemplu concentrarea prin procedee de membrane sau prelucrarile enzimatice costisitoare la nivelul transpunerii industriale, prin complexitatea conditiilor impuse de coordonarea riguroasa a parametriilor biotehnici.

Obtinerea concentratelor proteice, necesita numai operatii de purificare a srotului, prin eliminarea compusilor indezirabili la limite acceptabile, ca de exemplu a glicozinolatilor, a acidului fitic si a fenolilor, necesitand numai operatii de solvoliza a acestora, cu remanenta integrala a proteinelor si a fibrelor alimentare.

De mentionat ca in acest caz operatiile se pot desfasura intr-o singura etapa, cu eliminarea solventului de extractie in care se cumuleaza compusii indezirabili rezultand concentratul

proteic și fibrele alimentare ca atare sub formă de dispersie, care se usuca și se maruntesc fin pentru a le mari apoi nivelul de biofosinta.

Inițial concentratele proteice vegetale s-au obținut prin extracții cu solvent izopropanol de 45%, iar ulterior prin extracții în etanol de 80%, la temperatura de 60 °C, deci exclusiv prin extracție cu solvent în scopul îndepărtării glicozinolatilor, acidului fitic și a acizilor fenolici, iar după extracția compusilor indezirabili nu a mai fost necesar un alt tratament.

S-a preferat obținerea de concentrate proteice fără eliminarea carbohidraților, dar care s-au dovedit a avea proprietăți funcționale apropiate de a izolatelor proteice, întrucât izolatele proteice propriu zise necesită un nivel foarte înalt de purificare, sunt scumpe, și complicate în a fi produse la nivel industrial.

Prin procedeul propus, deși nivelul proteinei este inferior, celui existent în izolatele proteice, proprietățile funcționale sunt în cea mai mare parte similare, dar în condițiile în care recoltarea materiei prime (a resurselor oleaginoase), decorticarea semintelor și presarea uleiului din seminte are loc în condiții corespunzătoare ca de exemplu : după recoltare, semintele se usuca la temperaturi care nu depășesc 95 °C, timp de 10 -20 minute. Conținutul în apă după uscare, să fie mai mic de 9%, preferabil 7%. Aspect important pentru a inhiba enzimele degradative ca de exemplu myrozinaza.

Decorticarea se realizează prin separarea a două fracțiuni. Fracțiunea bogată în miez și fracțiunea bogată în coji. Se utilizează fracțiunea care prezintă un conținut minimal în coji, preferabil sub 5%, gr/gr.

Temperatura pe durata presării nu trebuie să depășească 60 °C. Extracția rezidului după presarea uleiului, se realizează cu alcool apos, în care conținutul în etanol se cifrează la valoarea de 60 – 95% v/v, preferabil între 70-80% v/v.

Această metodă diferă de obținerea izolatelor proteice prin aceea că izolatele proteice sunt extrase din matricea fibroasă și ulterior sunt recuperate din soluția de extracție prin precipitare. După extracția compusilor indezirabili, alcoolul este îndepărat, preferabil utilizând vacuumul, la o temperatură de max. 60 °C, ulterior concentratul proteic este uscat, regimul de uscare depinzând de conținutul rezidual în apă. Ulterior preparatul este marunțit sub formă de pulbere fină, pentru a-i mari nivelul de biofosinta sub aspectul proprietăților funcționale

Concentratul proteic poate fi utilizat ca aditiv alimentar. Se prezintă sub formă unor colorații galbuie cu un nivel înalt de înlăturare a compusilor indezirabili. Conținutul în proteină brută variază între 40 – 70%.; Conținutul în fibre celulozice 3-20% ; Conținutul total în fibre alimentare "Total dietary fibers" – 20 – 40% ;Grasime max.6% ; Acizi fenolici max 0,5% ;Lignina max. 1%.

Conținutul în acizi fenolici și în compuși indezirabili este net inferior celui din srotul inițial.

Disponibilizarea proteinelor cu bune însușiri funcționale din subprodusele oleaginoase reprezintă o preocupare permanentă a nutriționiștilor. Astfel, în cadrul celui de-al treilea congres EstEuropean de Alimentație, susținut la Brașov în 20-23 mai 2015, **autorii Tamara Nosaenko, Valeriy Mank Anastasiya Lebid, în lucrarea "The content of phenolic substances and sunflower protein functionality", obțin izolate proteice la pH-uri diferențiate de 6,5 – 11,0 și proteine parțial hidrolizate cu proteaze.**

Fenolii identificați sunt reprezentați de acizii fenolcarboxilici clorogenic și cafeic, care sunt îndepărtați prin extracții succesive din srotul de floarea soarelui cu soluții etanolice de 70% v/v , pentru a minimiza nivelul fenolilor remanenti și a evita imbrunarea proteinelor extrase.

Se obțin produse proteice cu o bună capacitate de emulsionare , culoarea nu influențează proprietățile funcționale.

02 -09- 2015

Se prefera preparatele proteice obtinute prin hidroliza enzimatica partiala care prezinta proprietati functionale mai bune si coloratii mai deschise.

Necesitatea echilibrarii balantei proteice deficitare a determinat extinderea procedeeleor de extractie a proteinelor din diverse resurse vegetale si din alte sortimente de leguminoase decat soia.

In brevetul United States Patent No. US 8,309,159 B1 / Nov. 13, 2012, de autorii Martin Lotz, Gerold Eggengoor, cu titlul "PROCESS FOR OBTAINING LEGUME PROTEIN FRACTIONS OF MODERATE MOLECULAR WEIGHT , LEGUME PROTEIN FRACTIONS AND USE THEREOF", se prezinta un procedeu de fractionare a leguminoaselor cu obtinerea de proteine cu greutate molecular medie.

Se are in vedere obtinerea a doua fractiuni proteice din leguminoase precum mazarea, fasolea, lupinul, respective a unor fractiuni proteice cu o greutate moleculara mai mare decat 14 kD si a unei fractiuni cu greutate moleculara cuprinse intre 116 si 600 kD, cu urmatoarele etape de procesare : a.Obtinerea fractiunii fluide din sucular prin faramitarea boabelor de leguminoase, cu un eventual adaos de apa, la valori ale pH-ului cuprinse intre 2-10, cu o durata variabila a timpului de macerare, de la 10 minute la cateva ore. Dispersia se preseaza si se centrifugheaza, reziduul se separa si supernatantul fluid este utilizat pentru izolarea proteinelor.; b.pH-ul solutiei se ajusteaza la valori ale pH-ului cuprinse intre 4,0 – 6,0, la temperaturi de 50 – 85 °C. se obtine un precipitat la punctul izoelectric, care se separa mecanic prin decantare/centrifugare. c.Proteinele precipitate se purifica prin spalare cu apa, pentru a obtine un izolat cu un continut in proteina mai mare de 85%. Cantitatea de apa de spalare este aceeaasi sau de 2 ori mai mare decat produsul existent in decantorul centrifugal.Procesul se desfasoara in doua etape si in doua decantoare.Rezulta o prima fractiune proteica precipitate, care se separa in decantorul centrifugal si un supernatant fluid. Supernatantul fluid este incalzit la 80 °C si pH-ul acestuia se ajusteaza la un nivel de pH apropiat de 5,0. Are loc precipitarea fractiunii cu greutate moleculara medie, care se separa in decantor. Ca exemplificari privitoare la randamente, rezulta ca din 50 kg mazare decorticata rezulta 2,5 kg sediment proteic si 5 kg de proteine cu greutate medie, ambele cu umiditate de 7%. Deci in final rezulta in total 7,5 kg proteine, cu un randament aproximativ de 15%. Alte leguminoase ca de exemplu lintea, constituie in prezent o sursa atractiva din punctual de vedere al obtinerii de izolate proteice.Fractiunea 1, 100-600 kD, fractiunea 2 , 14 – 97 kD.Proteinele din mazare se pot utiliza ca agent de emulsionare, fara efecte alergice(hipoalergic), in sosuri si salate, in patiserie, pentru supe - crème de legume, ca substraturi cu inalt nivel proteic.Alte leguminoase ca de exemplu lintea, constituie in prezent o resursa atractiva din punctual de vedere al obtinerii de izolate proteice.

Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on protein structure and functionality ; M.jarpa Parra, F.Bamdad, Y.Wang, Z.Tian, F.Temelli, Jay Han, L.Chen, Food Science and Technology, 57, (2014), 461 – 469 Se evidentiaza parametrii tehnologici sub aspectul randamentelor si al functionalitatii de obtinere a izolatului proteic din linte.Lintea, cu un continut in proteina bruta variabil, intre 20,6 si 34%, alcatuita din proteine cu greutate moleculara cuprinse intre 50 – 80 kD, prioritar globuline, cu o buna digestibilitate, se proceseaza cu evaluarea randamentelor prin aplicarea metodologiei defnita ca " Response Surface Methodology ". Prin aceasta metoda, s-a stabilit ca parametrii optimali sunt reprezentati de un nivel al pH-ului de 9 unitati pH, raportul intre substrat si solvent este de 1:10, rezultand o cantitate de extract proteic de 14,5% cu un nivel de puritate al proteinei de 82%, extractia realizandu-se la 22 °C, timp de 1 ora. Mediul alcalin se realizeaza cu solutii diluate de NaOH. Extractia la nivele mai ridicate ale pH-ului (peste 10 unitati pH) poate avea repercursiuni

negative asupra functionalitatii proteinelor. Lintea este imersata in apa distilata si pH-ul 9,0 se stabileste cu solutie 0,1 M de NaOH. Dupa extractie, fractiunea insolubila se indeparteaza prin centrifugare la 8500 rpm, timp de 15 minute, la 23 °C. Supernatantul a fost ajustat la pH egal cu 4,2, cu 0,1 moli /litru HCl, s-a lasat peste noapte la precipitare, la 4 °C, dupa care amestecul a fost centrifugat la 1590 rpm, timp de 30 minute. Precipitatul proteic se separa de faza fluida si se usuca apoi in vid, sub forma pulverulenta. S-au initiat procedee de valorificare a compusilor naturali antioxidanti, din subproduse oleaginoase fluide, sub forma de dispersii sau sub forma fluida, respectiv a unor subproduse provenite din prelucrarea extractiva a fructelor de palmier, sau a altor plante ierboase sau arboricole, dupa extractia uleiurilor.

United States Patent No. US 8,309,145 B2 / Nov. 13, 2012 TREATMENT OF VEGETATION LIQUORS DERIVED FROM OIL-BEARING FRUIT by Ravigadevi Sambanthamurthi, Yew Ai Tan, Kalyana Sundram. Procedeeul implica indepartarea partilor solide a reziduurilor oleaginoase, a coloizilor si a compusilor cu greutate moleculara mare din fractiunile fluide vegetale si in final obtinerea unei fractiuni apoase, care contine fitochimicale cu potential antioxidant, ca de exemplu flavonoide, acizi fenolici si hidroxiacizi. Compusii fenolici izolati pot fi integrati in bauturi, produse alimentare tonice, suplimente alimentare, aditivi antioxidanti, cosmetice, sapunuri, sampoane, detergenti, sau produse medicinale.

(1) Un prim exemplu se refera la dispersii oleaginoase (vegetation liquor) care se autoclaveaza la 120 °C, timp de 15 minute, dupa care se adauga apa in proportie de 3 : 1.

Dispersia se filtreaza si apoi se centrifugeaza, pentru a obtine un permeat cu greutate moleculara mai mica, de 10000 D. Supernatantul apos contine compusi fenolici bioactivi, care se extrag cu acetat de etil. Anterior, pH-ul solutiei apoase se ajusteaza la pH egal cu 7,0, prin adaugare de NaOH, si apoi la pH egal cu 2,0, prin adaos de HCl.

(2) Dispersiile uleioase fluide se autoclaveaza la 120 °C, timp de 40 minute, si apoi se filtreaza. Filtratul este colectat si apoi este pompat intr-o instalatie de ultrafiltrare, continand membrane cu dimensiuni ale porilor adecvate separarii unor molecule cu o greutate moleculara mai mica de 10000 D. Fractiunea apoasa este prelucrata identic ca in exemplul (1), obtinandu-se acizi fenolici si flavonoide, prin extractie cu acetat de etil.

In general, din subprodusele mentionate se obtin 3 fractiuni ; fractiunea uleioasa, care contine acizi grasi liberi, fractiunea coloidala, care contine substante proteice si fractiunea apoasa, in care se gasesc substante minerale (fier, fosfor, calciu, magneziu) si flavonoide respectiv : catechina, catechingalat, epicatechina, epigalocatechina, epigalocatechingalat, quercitina. De asemenea, acizi fenolici. cafeic, protocatechuic, vanilic, ferulic, clorogenic, galic, syringic, cumaric, tanic. Se mai pot regasi si hidroxiacizii citric, ascorbic, lactic, glicolic, fumaric, tartaric, salicilic.

Prin utilizarea de membrane filtrante cu dimensiunea porilor de 3000 D, se pot obtine si proteine cu un nivel de puritate corespunzator unor aplicatii diferite. Fractiunea apoasa in care se gasesc compusii bioactivi din categoria flavonoidelor, a acizilor fenolici, si a hidroxiacizilor, se usuca preferabil prin uscare menajanta "Freeze Drying". Media continutului in flavonoide din solutia apoasa este de aproximativ 40000 ppm / kg produs procesat. Din fractiunea apoasa, prin concentrare si uscare, se pot obtine substantele pure. Spre deosebire de numeroasele preocupari privitoare la extractia si /sau concentrarea proteinelor din resursele oleaginoase provenite din seminte, pana in prezent exista putine referiri privitoare la procesarea subproduselor rezultate in urma obtinerii uleiului din miezul de nuca.

In brevetul United States Patent No. US 6,395,261 B1 / May 28, 2002, intitulat WALNUT SEED MEAL EXTRACT by Jean Pierre Laforet, se prezinta un procedeu de

extractie in mediu exclusiv hidric cu utilizari cosmetice si dermatologice. Extractul s-a obtinut prin macerarea rezidului delipidizat din miezul de nuca in apa, urmat de concentrarea extractului apos.

Anterior publicarii brevetului mentionat, se indica utilizari empirice traditionale ale extractelor provenite din srotul de nuca in compozitii cosmetice pentru spalatul parului ca atare sau in combinatii cu extracte alcoolice si cu salicilati. Se consemneaza deasemenea extracte din scoarte si radacini de nuc cu proprietati germicide. Extractele mentionate contin cantitati variabile de naftochinone (juglona) utilizate si ca coloranti pentru par.

Autorii lucrarii mentionate anterior, au evidentiat ca izolatele din srotul de nuca prezinta numeroase proprietati avantajoase in urma extractiei hidrice, urmata de o etapa de concentrare.

Extractia srotului nucifer poate include operatii de macerare, percolare, extractie cu microunde sau cu ultrasunete. Este preferabil ca extractia sa fie realizata la temperatura camerei, pentru a nu afecta compusii bioactivi. Timpul de extractie este dependent de procedeele de extractie a uleiului de nuca, utilizate anterior obtinerii srotului nucifer.

Proportia dintre srot si solventul apos este dependenta de echilibrul dintre cantitatea de solvent necesara pentru a se realiza o extractie eficienta si timpul necesar pentru a indeparta solventul. Proportia rezonabila s-a stabilit a fi intre 1/99 si 20/80. S-a gasit ca raportul 5/95 este o varianta convenabila, temperatura avantajoasa este de 3 – 10 °C, cea mai avantajoasa fiind in jur de 4 °C.

O temperatura mai joasa poate forma ghiata, o temperatura mai ridicata poate minimiza compusii bioactivi. Timpul optimal de extrcatie este de 20 ore. Pentru obtinerea extractului sub forma de pulbere este necesara o uscare menajanta "Freeze Drying".

O proprietate foarte importanta este capacitatea extractului din srotul nucifer de a proteja pielea de oxidarea intracelulara cauzata de stresul oxidativ consecutiv expunerii la radiatiile solare de tip UVB.

De mentionat demonstrarea de catre aplicanti a efectului de inhibare a modulatorilor epidermici de catre extractele din srotul de nuca cu efect de stopare a proceselor inflamatorii, respectiv reducerea sintezei oxidului nitric (NO) si a factorului proinflamator TNF-ALFA. Insusirile mentionate justifica utilizarea extractului nucifer in produse cosmetice, cu efecte bioprotective fata de stresul ambiental cauzat de poluantii chimici si alergeni.

S-au identificat si efecte de retardare a fenomenelor de imbatranire a pielii, prin stimularea sintezei keratinocitelor in epiderma si a fibroplastelor in derma cu inhibarea enzimelor care pot provoca denaturarea colagenului . se combat astfel fenomenele de senescenta si formarea de riduri.

Cu trecerea timpului, se poate produce degenerarea retelelor de colagen si de eelastina, cu descrsterea continutului in glucozaminoglicani, in particular cu a acidului hialuronic. Aceste modificari se datoreaza descresterii capacitatii fibroplastelor de a sintetiza matrixul extracelular si a dezechilibrului unor proteinaze, mai ales a Metaloproteinazei. Aceste fenomene pot fi inhibitate prin aplicarea extractelor provenite din sroturi nucifere. Extractul poate fi realizat in mediu exclusiv hidric, la un raport de 5/95, temperatura de extractie preferata fiind de 4 °C. Produsul pulverulent este preferabil a se obtine prin procedeul " Freeze Drying".

S-a demonstrat ca la nivele de 10 pana la 250 µg/ml din extractul nucifer pot fi obtinute efecte benefice de bioprotectie celulara fata de radiatiile solare UVB , de asemenea efecte antiinflamatoare si de retardare a imbatranirii la nivelul pielii, prin inhibarea degenerarii retelelor de colagen si de elastina, cu mentinerea integrala in piele a acidului hialuronic.

Studiile pe culturi celulare au evidentiat potentialul extractului hidric din srotul nucifer de crestere a proteinelor celulare in special al keratinocitelor la doze minimale de 0,1 mg/ml – 0,25 mg/ml.

Se remarca un efect relevant de incorporare a aminoacidului leucina in proteinele sintetizate de fibroplastele umane.

In compozitiile cosmetice bioprotective se utilizeaza solutiile hidrice obtinute prin extractia srotului nucifer consecutiv operatiilor de concentrare menajanta. Dozele utilizate se integreaza in limitele de 10 -40 g/l solvent, preferabil 30 g/l.

In practica se utilizeaza compozitii continand intre 0,5 pana la 10%, avantajos intre 2- 6 % in greutate, din solutia extrasa conform inventiei.

Compozitiile cosmetice pot fi creme, geluri, microemulsii cu utilizari in tratamentele de antiimbatranire a pielii si de bioprotectie fata de stresul ambiental in special fata de radiatiile UVB.

In cremele antiimbatranire, doze de 30 g/l

Concluzionand, avantajele utilizarii extractelor hidrice din srotul nucifer se pot concretiza prin urmatoarele activitati bioprotective :

Stimularea sintezei proteinelor in particular ale celulelor dermei si epidermei ;

Insusiri antiimbatranire, antiriduri ;

Contributii nu numai la imbatranirea intrinseca, ci si la stimularea metabolismului celular

Insusiri antiinflamatoare fata de stresul ambiental, in particular fata de radiatiile UV.

Operatiile de concentrare a extractului initial pot fi realizate prin aplicarea procedului de osmoza in faza reversa. Compozitiile cosmetice pot contine 0,5 – 10% din extractul concentrat. Compozitiile cosmetice pot contine aditivi de integrare in proportii de 90 – 99,5%. In aceeasi arie de interes a valorificarii de subproduse, se vizeaza optimizarea substratului obtinut prin procesarea invelisurilor exterioare ale bananelor (“unripe”). Se aplica pretratamente cu acizi organici, respectiv cu acizii citric, lactic, ascorbic, acetic, benzoic, fumaric si sorbic. Acest pretratament imbunatateste proprietatile fizice si functionale precum si activitatea antioxidanta a compusilor fenolici.

(12) Effect of organic acid pretreatment on some physical, functional, and antioxidant properties of flour obtained from three unripe banana cultivars. ; Tonna A. Anyasai, Afam I.O. Jideani, Godwin R.A. Mchau, Accepted Manuscript, Food Chemistry, 09.2014 Invelisurile exterioare ale bananelor contin carbohidrati indigestibili, amidon rezistent la hidroliza , fibre alimentare si polifenoli si se prelucreaza pentru a obtine o faina cu indice glicemic scazut, cu utilizari fitoterapeutice in produse antidiabetice si de prevenire a cancerului de colon. Se utilizeaza ca un substituent pentru faina de grau. In prezent consumul acestui produs din cojile de banane s-a extins rapid la nivel global, sub forma pulverulenta. Pretratamentul cu acizi organici s-a dovedit ca inhiba imbrunarea enzimatica si dezvoltarea microorganismelor. Pretratamentele se realizeaza pe substraturile maruntite la dimensiuni de 4 mm si se pretrateaza cu acizii organici mentionati la concentratii de 10 -20 g/l , timp de 10 minute. Se remarca o deschidere a culorii substratului, care se atribuie efectului de antiimbrunare a acizilor organici. Dupa pretratament materialul se usuca in vid la temperatura de 70 °C, timp de 12 ore, si in final produsul uscat se marunteste pentru a obtine un concentrat pulverulent (UBF “unripe banana flour”) Sub aspectul proprietatilor functionale si al culorii, cele mai bune rezultate s-au obtinut cu acidul ascorbic. Pretratamentele cu acizi organici maresc cantitatea de fenoli totali , la valori cuprinse intre 1081 pana la 1130 mg echivalenti acid galic / 100 grame substanta uscata, consecutiv pretratamentelor cu acizi organici la concentratii de 10 -

20 grame/litru. Produsul final "UBF" se considera eficient si din punctual de vedere al continutului in polifenoli cu efecte antioxidante, care pot reduce incidenta afectiunilor degenerative. In prezent, asistam la o crestere a interesului pentru prelucrarea de subproduse din categoria invelisurilor exterioare ale grauntelor cerealiere, respectiv coji, pleava si tarate, intrucat concentratia in compusi bioactivi a acestor structuri vegetale exterioare, este mult mai mare comparativ cu a cerealelor decorticate. Pe de alta parte, invelisurile exterioare sunt intens rigidizate, astfel ca accesul la principiile active este limitat in cazul unei maruntiri obisnuite. Se practica procedee fizice avansate de micronizare pentru a remedia acest aspect.

In lucrarea "**Effect of micronization technology on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from buckwheat hulls ; Fengmei Zhu, Bin Du, Runfeng Li, Jun Li, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 3 (2014), 30 -34**", se aplica procedee de maruntire ultrafina la presiuni inalte de 70 MPa (7000 atm), cu prelucrare in flux de aer (Airflow pulverization instrument QLM-80K Shangyu), cu obtinerea de particule cu dimensiuni submicronice. Aceasta prelucrare prin micronizare creste considerabil nivelul fenolilor totali disponibilizati din subprodusele de hrisca , proprietatile functionale de retentie a apei si uleiului precum si capacitatea antioxidanta bioprotectiva.

Concluzionand, micronizarea aplicata comparativ cu maruntirea obisnuita la 40 Mesh poate reprezenta o modalitate complementara de optimizare a insusirilor fitoterapeutice si in cazul altor subproduse care integreaza in componenta lor compusi fenolici cu potential antioxidant(ca de exemplu subprodusele nucifere dupa delipidizare).

Un domeniu cu certa perspectiva de extindere, este reprezentat de productia alimentelor functionale care integreaza polipeptide biologice active, provenite din proteinele alimentare prin procesare cu metode integrate. Aceste structuri oligomerice poseda numeroase insusiri sanogene, respectiv potential hipertensiv, antioxidant, antiinflamator si hipocolesterolemic. S-a dovedit eficienta deopotrieva fitoterapeutica si profitabila sub aspect economic, de obtinere a oligopeptidelor biologice active, din resurse mai convenabile decat proteinele animale, prin combinarea de procedee fizice avansate cu procedee enzimatice. Substraturile naturale pot fi reprezentate de resurse proteice de origine vegetala, mai ieftine si libere de alergeni, ca de exemplu boabele de linte. Procedeele combina tratamentele la presiuni foarte inalte, de ordinul sutelor de MPa cu tratamentele enzimatice cu proteaze alcaline, la pH egal cu 8,0.

Un astfel de procedee avansat este prezentat in lucrarea "**High – pressure improves enzymatic proteolysis and the release of peptides with angiotensin I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities from lentil proteins, P. Garcia-Mora, E. Penas, J. Frias, R. Gomez C. Martinez-Villaluenga, Food Chemistry, 171 (2015) 224 – 232.**" S-a vizat obtinerea de polipeptide oligomerice cu o greutate moleculara mai mica de 3 kDa din linte, cu efecte de inhibare a enzimei de conversie a Angiotensinei (ACE – EC .3.4.15), enzima care este un regulator principal al tensiunii sanguine, cu implicatii strategice in tratamentul hipertensiunii si al afectiunilor cardiovasculare. S-au obtinut hidrolizate peptidice bioactive, prin asocierea presiunilor hidrostatice(HP) de ordinul a 500 MPa, cu enzimele proteolitice Alcalaza 2,4 L, Savinaza 16kNDUGr, Protamax(1,5 Au/g) si Corolaza – AB ENZYMES GmbH Darmstadt, Germania. Boabele de linte maruntite la 60 Mesh, s-au suspendat in apa la un raport de 1 : 10 gr/vol si apoi pH-ul s-a ajustat la 8 unitati pH. Suspensia s-a agitat la 20 °C timp de 1 ora, dupa care suspensia proteica de 2% gr/v s-a supus hidrolizei enzimatice la un raport al substratului de 0,1 unitati Anson / mg de proteina solubila. Tratamentul cu presiune inalta(HP) de pana la 500 MPa s-a mentinut stationar timp de 15 minute.

02 -09- 2015

S-au obtinut polipeptide cu capacitate biologica inalta, evidentiata prin nivelul insusirilor antioxidante si al capacitatii de inhibare a enzimei ACE.

S-au remarcat variantele hidrolizate enzimatic cu "Savinaza" si procesate cu HP, la 300 MPa, cu nivel inalt de inhibitie a enzimei AC si activitatii antioxidante obtinute intr-un timp relativ scurt, de 15 minute, expunere la presiunile mentionate.

In hidrolizate s-au obtinut aminoacizii bioactivi ca : alanina, valina, leucina, si fenilalanina, la carbonul terminal ; toti acesti aminoacizi fiind considerati ca reziduul tinta pentru situsul catalitic al acestei enzime.

Privitor la interrelatiile structura-activitate antioxidanta, tirozina si triptofanul sunt considerate ca fiind principalii responsabili pentru activitatea antioxidanta a peptidelor. Fractiunea peptidica cu cea mai inalta concentratie de peptide si cu greutatea moleculara mai mica decat 3 KDa, prezinta si cel mai inalt nivel de inhibitie asupra enzimei ACE.

Enzima de conversie a ACE " Angiotensin converting enzyme" reprezinta unul din principalii reglatori ai presiunii sanguine prin urmare, inhibitia acestei enzime, reprezinta o strategie pentru reglarea presiunii sanguine si o corelare cu afectiunile cardiovasculare.

In prezent, s-a evidentiata legatura hipertensiunii cu stresul oxidativ care afecteaza functiile celulare, reduce nivelul de biofosinta al oxidului nitric endotelial si maresete oxidarea lipoproteinelor cu densitate mica.

Alimentele functionale contin proteine bioactive si peptide, prin care s-a demonstrat minimizarea factorilor de risc fata de afectiunile cardiovasculare. Polipeptidele biologic active eliberate din proteinele alimentare poseda proprietati bioactive antiobezogene, antioxidante, antiinflamatoare si antihipercolesterolemice. Din acest motiv exista un mare interes de a produce hidrolizate functionale continand peptide bioactive. Acest gen de produse va putea fi obtinut si prin prelucrarea proteinelor nucifere in a caror componenta s-au evidentiata aminoacizii cu potential implicatii in inhibarea ACE.

PROBLEMELE TEHNICE CARE TREBUIE REZOLVATE

PROBLEMA TEHNICA PE CARE ISI PROPUNE SA O REZOLVE INVENTIA : este de a asigura obtinerea unor produse nutraceutice de tip nucifer in urmatoarea succesiune a procesarii integrate :

Extract nutraceutic hidroacetic cu potential antioxidant

Concentrat proteic nucifer cu un continut in proteina(Nx6,25) de 38 – 40%

Izolot proteic nucifer cu nivel ridicat de biofosinta metabolica, cu un continut in proteina (Nx6,25) de minim 65 – 70%.

SOLUTIA TEHNICA in aceasta problema consta in prelucrarea integrata a srotului nucifer rezultat in urma extractiei uleiului din miezul de nuca, in etapele de conditionare si purificare a subprodusului oleaginos, precum si in parametrii tehnologici optimizati si anume in **Prepararea extractului nutraceutic** hidroacetic din srotul de nuca delipidizat, prin conditionarea srotului maruntit la 40 Mesh, cu indepartarea impuritatilor reprezentate de compusii cu inceput de caramelizare, cu gust amar, prin spalari cu apa deionizata la un raport de 1 : 10, timp de 60 minute, in 2 reprize consecutive, separarea reziduului spalat prin filtrare si apoi macerarea acestuia in otet alimentar de 9%, timp de 6 – 8 ore, separarea supernatantului fluid care apoi se lasa la sedimentare la 4 – 8 °C, pentru depunerea suspensiilor fine, timp de 2 ore, dupa care se decanteaza si se filtreaza obtinand un extract fluid cu un continut in fenoli totali, exprimat in Echiv de acizi galic, de 2000 – 2100 mg/litru, cu un continut in fibre solubile S.D.F de 0,1 – 0,2 g/l si micronutrienti minerali solubili in mediu acetic la nivele variabile. In extractul nutraceutic hidroacetic, prin determinari HPLC – MS, s-au identificat compusi antioxidanti de

tipul acizilor fenolcarbozilixi, respectiv acizii para cumaric, galic, ferulic si elagic, si flavonoida Kaempherol. De asemenea pirogalolul. Prin cromatografie GC – MS, s-au identificat compusii mai volatili, respectiv aldehida vanilica, p-Menth- 4-en-3-one, Furylcarbinol, Diizobutilphtalat, Histrene. “**Produsul Extract fluid nutraceutic cu potential antioxidant** “ prezinta un miros aromatic caracteristic de nuci , o culoare slab galbuie si constituie un substrat de obtinere a oteturilor aromatice.

a.Prepararea concentratului proteic nucifer Reziduul remanent consecutiv macerarii acetice, se trateaza in 2 etape succesive cu apa deionizata, la un raport de 1 : 6, 1 : 10, pentru a indeparta otetul remanent. Durata de spalare 15 minute. Dupa care supernatantul apos se indeparteaza prin filtrare si reziduul se usuca menajant in uscatorul cu trepte de temperatura si ventilatie cu aer cald, pana la o umiditate de maximum 10%. Concentratul obtinut prin uscare este constituit din proteine nucifere si din carbohidrati functionali care sunt reprezentati de fibrele alimentare la nivele de 30-40%.Continutul in proteina bruta al concentratului proteic(Nx6,25) este de minim 38 – 40%, prezentand avantajul ca prin operatii exclusive de spalare, nivelul proteinei regasite, comparativ cu proteina din srotul initial, se situeaza la valori de minim 50%. Concentratul nucifer nu contine carbohidrati amidonosi, astfel incat reprezinta un substrat nutraceutic cu indice glicemic scazut, utilizabil in alimente functionale destinate diabeticilor si celor cu afectiuni cardiovasculare.

b.Preparea izolatului proteic nuciferConcentratul proteic neutralizat umed sau deshidratat, se solubilizeaza in mediu alcalin cu o solutie de 0,1 M NaOH, timp de 2-3 ore, la un raport de 1 : 10, la intuneric, la temperatura mediului ambiant, cu agitare lenta.Supernatantul in care s-au solubilizat proteinele nucifere se separa de reziduu si se precipita cu otet alimentar de 9%, la un pH egal cu 3,2 -4,0. Dispersia se lasa la sedimentare timp de 6- 8 ore, pentru consolidarea miceliilor proteice, dupa care sedimentul proteic se separa prin filtrare si se usuca in uscatorul cu trepte de temperatura si ventilatia cu aer cald.Rezulta precipitatul proteic cu continutul in proteina (Nx6,25) de minim 65 -70%. Intrucat prin operatiile succesive de solubilizare au loc pierderi, randamentele de regasire in izolatul proteic fata de proteina din srot se situeaza la valori de 22-27%.Izolatele proteice pot prezenta utilizari diversificate ca resurse de echilibrare a deficitului proteic dar si pentru proprietatile functionale ale acestora, ca de exemplu capacitatea de retentie a apei si a uleiului, capacitatile de spumare, gelifiere si de emulsionare. Sunt preferate in dietele tip Vegan, ca alternative la proteinele de origine animaliera.

EXEMPLU Srotul de nuca obtinut prin presarea la rece a miezului de nuca, cu un continut in proteina bruta de 42,2-47,5% , un continut in carbohidrati oligomerici de 37,7% - 42,5% si un continut in ulei remanent de 7 – 9%, se marunteste la dimensiuni de 40 Mesh.Produsul pulverulent se imerseaza in apa deionizata in proportie de 1 : 10 si se agita, timp de 60 minute. Se separa reziduul nucifer de apele de spalare in care s-au solubilizat compusii secundari termolabili care pot rezulta in urma procesarii mecanice a miezului de nuca, ca de exemplu glicolipidele si monozaharidele cu inceput de caramelizare.Acesti compusi pot imprima un gust amar si in contact cu aerul prezinta tendinte de imbrunare. Repetarea operatiei de spalare cu apa deionizata poate indeparta in cea mai mare parte acesti compusi indezirabili.Substratul nucifer rezultat in urma indepartarii apelor de spalare, se imerseaza la un raport de 1 : 10 in otet alimentar de 9%, dispersia se agita cu intermitenta si se mentine la extractie la temperatura mediului ambiant timp de 6 – 8 ore.Urmeaza separarea fazei fluide hidroacetice de substratul nucifer remanent, in care prin extractie in mediu acid moderat, s-a produs solubilizarea compusilor fenolici. Se obtine un produs fluid cu un nivel al fenolilor totali de 2000 – 2100 mg/litru echivalent acid galic.

In extractul fluid, prin analize HPLC - MS, s-au identificat compusi antioxidanti de tipul acizilor fenolcarboxilici, respectiv acizii paracumaric, galic, ferulic si elagic, precum si flavonoida Kaempferol. De asemenea pirogalolul.

Prin cromatografie GC-MS, s-au identificat compusi mai volatili, respectiv alchida vanilica, p-menth-4-en -3one, Furylcarbinol, Diizobutilftalat, Histrene. Extractul acetic prezinta caractere senzoriale superioare, intrucat in faza hidrofilica se regasesc si aromele specifice de nuca

De asemenea, fibre solubile S.D.F. la nivele de 0,1 – 0,2 g/litru (identificate gravimetric prin precipitare cu izopropanol in raport de 1 : 1).

In extractul acetic, se solubilizeaza partial si substantele minerale existente in miezul de nuca la nivele variabile, depinzand de soiurile de nuci si de caracteristicile pedoclimatice ale arealului din care provin nucile.

Deci la concentratii medii, prin continutul in compusi fenolici cu inalta capacitate antioxidanta, fibre solubile S.D.F., substante minerale si arome nucifere caracteristice, extractul hidroacetic . reprezinta un produs fluid individualizat ca atare si constituie prima fractiune a procesarii integrative care se va ambala in sticle de culoare bruna de 250 – 50 ml, cu denumirea generica de **“ Extract nutraceutic hidroacetic nucifer cu potential antioxidant”**

In continuare, dupa separarea extractului hidroacetic, reziduul din care s-au indepartat compusii fenolici, se imerseaza din nou in apa deionizata la un raport de 1 : 6 – 1 : 10, in 2 etape succesive, pentru a elimina otetul si a obtine un reziduu nucifer la pH neutru.

Durata de imersare in apa deionizata pentru a indeparta mediul acid este de 15 minute pentru fiecare etapa. Reziduul umed neutralizat, se usuca in uscatorul cu trepte de temperatura si cu ventilatie cu aer cald, pana la umiditatea de maxim 10%.

Dupa uscare, pentru a mari nivelul de biofolosinta a concentratului nucifer, produsul poate fi micronizat la dimensiuni de 15 – 25 microni, in moara coloidala uscata, obtinandu-se o pulbere fina, bej-galbuie, constituita din proteine si carbohidrati functionali in proportii variabile. Continutul in proteine poate reprezenta variatii, cu nivele de minim 38 -40% (Nx6,25).

Prin continutul inalt in proteina, minimizarea nivelului compusilor fenolici cu tendinte de imbrunare si stabilizarea prin uscare menajanta, substratul nucifer pulverulent reprezinta al doilea produs obtinut prin procesarea integrata. Se va ambala in borcane de sticla bruna, de capacitate conform destinatiilor de utilizare, de 500 – 2000 grame, cu denumirea de :

“Concentrat proteic nucifer” – produs natural cu indice glicemic scazut cu utilizari in dietele antidiabetice, in prevenirea cancerului de colon si ca bioprotectiv cardiovascular.

Nivelul de regasire al proteinei (cu utilizari alimentare) reprezinta minimum 50% din totalul proteinei nucifere procesate.

In stare umeda sau deshidratata dupa neutralizare, concentratul proteic nucifer constituie baza de obtinere a izolatului proteic prin solubilizare alcalina.

Produsul se solubilizeaza in proportie de 1 : 10, cu o solutie de 0,1 M NaOH, timp de 2-3 ore, la intuneric, la temperatura mediului ambiant, cu agitare lenta.

Faza fluida in care s-au solubilizat proteinele nucifere se separa din reziduul epuizat. In supernatantul fluid se adauga otet alimentar de 9%, pentru a realize un pH de 3,2 – 4,0 unitati pH.

Are loc o precipitare rapida, proteinele se depun la partea inferioara iar partea superioara este reprezentata de un fluid cu o coloratie galbena.

Produsul ce contine proteinele dispersate se lasa sa sedimenteze timp de 6 – 8 ore, pentru consolidarea miceliilor proteice, dupa care lichidul care cumuleaza o a doua fractiune de

compusi fenolici hidrofilici, care nu s-au separat complet prin fractionarea acetica initiala, se separa de precipitatul proteic prin filtrare. Sedimentul proteic se usuca menajant in uscatorul cu trepte de temperatura si ventilatie cu aer cald, pana la un nivel al umiditatii de maxim 10% si dupa caz ,se marunteste din nou pentru a obtine un produs pulverulent.

Prin operatiile de conditionare si solvoliza alcalina, s-a realizat o separare de carbohidrati oligomerici, care au fost retinuti in reziduul insolubil separat in urma extractiei alcaline a proteinelor nucifere.

Produsul final obtinut ,prezinta un continut in proteina (Nx6,25) de minim 60 -70%. Poate fi ambalat in borcane de sticla bruna cu capacitate de 250 – 1000 grame, sub denumirea de **"Izolot proteic nucifer"**, cu un nivel echilibrat in aminoacizi esentiali arginina, lizina, histidina, cistina si metionina.

Utilizari in suplimente alimentare si alimente functionale si de asemenea in dietele de tip Vegan. Nivelul de regasire al proteinei fata de proteina existenta in srotul initial se cifreaza la valori de 22 -27%. Izolatul proteic nucifer, alaturi de utilizarile alimentare, constituie un aditiv valoros pentru produse farmaceutice si cosmetice.

Avantajele procedurii previzionat conform CBI

- 1.Dezvoltarea tehnologiilor integrate de recuperare a compusilor naturali cu potential sanogen din subproduse reziduale nevalorificate in prezent(srot nucifer delipidizat)
- 2.Optimizarea procedurilor de recuperare a proteinelor din subproduse cu textura rigidizata.
- 3.Separarea si concentrarea compusilor bioactivi din subproduse detinatoare de antioxidanti naturali, fara utilizarea solventilor nemiscibili cu apa.

Comparativ cu (11) **United States Patent No. US 8,309,145 B2 / Nov. 13, 2012**

TREATMENT OF VEGETATION LIQUORS DERIVED FROM OIL-BEARING FRUIT by Ravigadevi Sambanthamurthi, Yew Ai Tan, Kalyana Sundram

- 4.Aplicarea de fluxuri tehnologice cu utilaje accesibile investitional la nivelul unor IMM-uri.
- 5.Separarea si disponibilizarea structurilor proteice ca alternativa accesibila la procedeele de separare prin membrane de ultrafiltrare.

(3). **United States Patent No. US 7,820,226 B2 / Oct. 26, 2010**

PRODUCTION OF FLAX PROTEIN ISOLATE by Brent Everett Green, Ronald W. Martens, Johann Franz Tergesen, Radka Milanova.

6. Fractionarea bioresurselor reziduale oleaginoase ca alternativa la procedeele enzimaticice cu alcalaze si carbohidraze.

(5) **Optimization of the Aqueous Enzymatic Extraction of Rapeseed Oil and Protein Hydrolysates : Shao Bing Zhang, Zhang Wang, Shi Ying Xu, J Amer Oil Chem Soc (2007) 84 ; 97 – 105**

7. Obtinerea de concentrate proteice cu un continut in proteina de 38 -40 %(Nx6,25), exclusiv prin operatii de conditionare si solvoliza in mediu acid moderat.

8. Optimizarea nivelului de biofosinta al concentratelor proteice prin micronizarea la dimensiuni de 15 -25 microni, fara aplicarea presiunilor foarte inalte.

(13).**Effect of micronization technology on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from buckwheat hulls ; Fengmei Zhu, Bin Du, Runfeng Li, Jun Li, Biocatalysis and Agricultural Biotevhnology 3 (2014), 30 -34**

(14).**P.GarciaMora E. Penas, F.Frias, High pressure improves enzymatic proteolysis and the release of peptides with angiotensin I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities from lentil proteins, Food Chemistry, 2014**

02-09-2015

9. Obținerea de izolate proteice prin solvoliza alcalina a concentratului proteic nucifer, rezultând un conținut în proteina de minim 60 -70% (Nx6,25) și prin precipitarea proteinelor solubilizate în mediu acid moderat, respectiv otet alimentar de 9%.

10. Oportunități de diversificare a utilizării produselor nucifere consecutiv aplicării procedurii integrate, în alcătuirea de suplimente alimentare și alimente funcționale.

11. Extinderea utilizării concentratului proteic nucifer cu 38 -40% proteina și 20 – 40% fibre alimentare funcționale, ca produs cu indice glicemic scăzut, cu obținerea de produse antidiabetice, de prevenire a cancerului de colon și a afecțiunilor cardio-vasculare, **similitudini cu produsul UBF.**

(12). **Effect of organic acid pretreatment on some physical, functional, and antioxidant properties of flour obtained from three unripe banana cultivars. ; Tonna A. Anyasai, Afam I.O. Jideani, Godwin R.A. Mchau, Accepted Manuscript, Food Chemistry, 09.2014**

12. Extinderea utilizării concentratului și izolatului proteic nucifer în rețeturile de tip Vegan ca alternativă la proteinele de origine animalieră.

Rezumativ din sroturile nucifere delipidizate care până în prezent sunt valorificate exclusiv ca furaje, ca urmare a procesării previzionate conform CBI, s-au obținut extracte nutraceutice hidroacetice cu un conținut relevant în compuși naturali antioxidanți și concentrate și izolate proteice nucifere cu un nivel convenabil de proteine.

Obținerea acestor produse s-a realizat fără a necesita aplicarea tehnologiilor de ultrafiltrare prin membrane și fără aplicarea de procedee enzimaticе, care prezintă dificultăți în menținerea parametrilor de procesare biotehnică la nivel industrial.

Fluxurile tehnologice pot fi realizate prin achiziția unor utilaje cu nivele investitoriale accesibile unor IMM-uri.

În perspectivă, actualul procedeu previzionat în prezenta CBI, deschide paliere de interes în realizarea de alimente funcționale conforme cu tendințele gastronomiei moderne.

În obținerea produselor nucifere, conform CBI, s-au luat în considerare aspecte specifice ale componentei matrixului nucifer, care s-au evidențiat pe parcursul experimentelor, comparativ cu alte subproduse oleaginoase rezultate prin procesarea la rece a uleiurilor

O primă referință vizează categoriile de compuși care necesită îndepărtarea din biomasa oleaginoasă reziduală întrucât acești compuși indezirabili imprimă însușiri nedorite în produsul final.

Sroturile din resursele oleaginoase, de tipul semintelor de rapita, floarea soarelui, dovleac, în etc prezintă ca și compuși indezirabili glicozinolați, acid fitic și catități variabile de fenoli. Fenolii în general sunt reprezentați în aceste resurse în cantități mai mici ca în sroturile nucifere, fiind reprezentați de compuși ca acidul sinapic și de acidul clorogenic.

Pe de altă parte, un mare avantaj în obținerea de produse nutraceutice din sroturile nucifere, este prezenta minimală a amidonului, la valori de max.0,2%. Carbohidrații fiind reprezentați de fibre alimentare funcționale, solubile și insolubile S.D.F. și I.D.F. a căror prezenta este necesară în alimentație și care conferă produselor finite (prioritar concentratelor proteice) un indice glicemic redus. Acest aspect poate fi deosebit de important în constituirea de produse alimentare funcționale, antidiabetice, de prevenire a cancerului de colon și de prevenire a bolilor cardiovasculare.

De asemenea s-a remarcat în operațiile de extracție solubilizarea și precipitarea proteinelor, comportarea substratului nucifer este diferită de a altor categorii de sroturi.

O solubilizare avansata, necesita un minim al pH-ului de 10,5 unitati pH. Precipitarea solubilizatorilor proteice se realizeaza de asemenea la valori scazute ale pH-ului, 3,2- 4,0 unitati pH, dar prezinta avantajul unor precipitate cu separare rapida si neta de supernatantul fluid. Foarte important este si faptul ca solubilizarea compusilor fenolici sa poate fi realizata in mediu acid moderat, de exemplu cu otet alimentar de 9%.

Comparativ cu etanolul, considerat ca solubilizantul de baza al compusilor fenolici, prin utilizarea otetului alimentar de 9%, se poate obtine un nivel de solubilizare al fenolilor de circa 67,7%, comparativ cu o solutie etanolica de 50%.

Acest aspect poate fi deosebit de important din punct de vedere economic, intrucat se poate obtine un extract fenolic integrat intr-un produs alimentar traditional, respectiv otetul de 9%, care poate constitui astfel o baza de obtinere a oteturilor aromatice si nu necesita operatii de distilare, ca in cazul extractiilor cu alcool etilic

DESCRIEREA DETALIATA A INVENTIEI

In obtinerea produselor nucifere, conform CBI, s-au luat in considerare aspecte specifice ale componentei matrixului nucifer, care s-au evidentiat pe parcursul experimentelor, comparativ cu alte subproduse oleaginoase rezultate prin procesarea la rece a uleiurilor .

O prima referire vizeaza categoriile de compusi care necesita indepartarea din biomasa oleaginoasa reziduala, intrucat acesti compusi indezirabili imprima insusiri nedorite in produsul final.

Sroturile din resursele oleaginoase, de tipul semintelor de rapita, floara soarelui, dovleac, in etc prezinta ca si compusi indezirabili glicozinolati, acid fitic si catitati variabile de fenoli. Fenolii in general sunt reprezentati in aceste resurse in cantitati mai mici ca in sroturile nucifere, fiind reprezentati de compusi ca acidul sinapic si de acidul clorogenic.

Pe de alta parte, un mare avantaj in obtinerea de produse nutraceutice din sroturile nucifere, este prezenta minimala a amidonului, la valori de max.0,2%. Carbohidratii fiind reprezentati de fibre alimentare functionale, solubile si insolubile S.D.F. si I.D.F. a caror prezenta este necesara in alimentatie si care confera produselor finite (prioritar concentratelor proteice) un indice glicemic redus.. Acest aspect poate fi deosebit de important in constituirea de produse alimentare functionale, antidiabetice, de prevenire a cancerului de colon si de prevenire a bolilor cardiovasculare.

De asemenea s-a remarcat in operatiile de extractie, solubilizare si precipitare a proteinelor, comportarea diferita a substraturilor nucifere fata de a altor categorii de sroturi.

O solubilizare avansata, necesita un minim al pH-ului de 10,5 unitati pH. Precipitarea solubilizatorilor proteice se realizeaza de asemenea la valori scazute ale pH-ului, 3,2- 4,0 unitati pH, dar prezinta avantajul unor precipitate cu separare rapida si neta de supernatantul fluid. Foarte important este si faptul ca solubilizarea compusilor fenolici sa poate fi realizata in mediu acid moderat, de exemplu cu otet alimentar de 9%.

Comparativ cu etanolul, considerat ca solubilizantul de baza al compusilor fenolici, prin utilizarea otetului alimentar de 9%, se poate obtine un nivel de solubilizare al fenolilor de circa 67,7%, comparativ cu o solutie etanolica de 50%.

Acest aspect poate fi deosebit de important din punct de vedere economic, intrucat se poate obtine un extract fenolic integrat intr-un produs alimentar traditional, respectiv otetul de 9%, care poate constitui astfel o baza de obtinere a oteturilor aromatice si nu necesita operatii de distilare, ca in cazul extractiilor cu alcool etilic

Se vizeaza obtinerea de produse nucifere integrate etapelor de procesare previzionate cu urmatoarea succesiune a operatiilor de prelucrare :

a. Prepararea extractului nutraceutic hidroacetic din srotul nucifer delipidizat prin conditionarea srotului cu structura rigidizata rezultat din presarea la rece a miezului de nuca, care se marunteste la dimensiuni de 40 Mesh si se spala cu apa deionizata, la un raport de 1 : 10, pe o durata de 60 minute, pentru a indeparta prin solubilizare in mediu hidrofilic , eventualii compusi de degradare care pot apare consecutiv frecarii mecanice in procesul de presare a miezului de nuca.

Compusii cu inceput de caramelizare imprima un gust amar, cu tendinte de imbrunare, si pot fi reprezentati de glicolipidele termosensibile si de zaharurile monoizice.

Apele de spalare se indeparteaza prin filtrare iar reziduul umed se supune operatiei de maceare cu otet alimentar de 9%, in proportie de 1 : 10, la temperatura mediului ambiant, timp de 6 -8 ore, dupa care faza hidroacetica in care s-au solubilizat compusii fenolici se separa din nou din srotul remanent.

Supernatantul fluid se lasa la sedimentare timp de 4 ore, la rece, la temperaturi cuprinse intre 4 – 8 °C pentru a separa eventualele depuneri fine si apoi se decanteaza, rezultand un produs cu miros caracteristic de nuca si culoare slab galbuie, cu un continut in fenoli totali exprimat in echivalenti de acid galic de 2000 – 2100 mg/litru.

In extractul fluid nutraceutic hidroacetic s-au identificat prin analize GC-MS compusi antioxidanti de tipul acizilor fenol carboxilici, respectiv acizii para cumaric, galic, ferulic si elagic precum si flavonoida Kaempherol. De asemenea, pirogolalolul. Prin cromatografie GC-MS s-au identificat compusi mai volatili, respective aldehida vanilica, p-Menth-4-en-3one, Furylcabinol, Diizobutilftalat, Histren, etc.

Extractul acetic prezinta caracteristici senzoriale atractive intrucat se regasesc si aromele caracteristice de nuca. In extractul hidroacetic se regasesc de asemenea si fibre solubile S.D.F. la nivele de 0,1 – 0,2 g/l (identificate gravimetric prin precipitare cu izopropanol in raport de 1 : 1). De asemenea, se regasesc si substantele minerale existente in miezul de nuca, in concentratii care depend de caracteristicile diferitelor soiuri nucifere.

Prin aceasta componenta complexa, extractul hidroacetic se integreaza conceptului de “Produs fluid nutraceutic cu potential antioxidant”.

b. Prepararea concentratului proteic nucifer se realizeaza prin conditionarea reziduului remanent rezultat in urma macerarii acetice a srotului nucifer. Reziduului remanent i se adauga apa deionizata, la un raport de 1 : 6 - 1 : 10, in doua etape de spalare consecutive pentru a indeparta otetul alimentar remanent. Durata de spalare cu agitare intermitenta este de 15 minute si se realizeaza in 2 etape consecutive, pana la obtinerea unui pH in domeniul neutru.

Reziduul umed neutralizat se separa prin filtrare de apele de spalare si se usuca menajant in uscatorul cu trepte graduale de temperatura, prin ventilatie cu aer cald, pana la obtinerea unui produs cu umiditate de maximum 10%. Se obtine un substrat nutraceutic in a carui componenta, alaturi de proteine, se regasesc fibre alimentare constituite din carbohidrati functionali, in proportii variabile, de 30 -40 % si un continut in proteina bruta (Nx6,25) de minim 38 -40%.

Concentratul proteic deshidratat poate fi facultativ supus operatiei de micronizare in moara coloidala uscata, pentru a microniza dimensiunea particulelor , la 25 -30 micrometri. Micronizarea confera insusiri functionale superioare si diversificarea utilizarilor in produse compozite.

Nivelul de regasire al proteinelor, comparativ cu proteinele existente in srotul nucifer, se cifreaza la valori de minim 50%.

c. Prepararea izolatului proteic nucifer.

Concentratul proteic ca atare, umed, dupa neutralizare si concentrare, se prelucreaza prin solvoliza alcalina pentru a obtine izolatul proteic. Se realizeaza o maceare prin imersarea in

solutie de NaOH 0,1 M de puritate adecvata utilizarilor alimentare, la un raport de 1 : 10 , la temperatura mediului ambiant, pe o durata de 2-3 ore, cu agitare lenta. Urmeaza separarea fazei fluide in care s-au solubilizat proteinele nucifere din reziduul remanent, prin filtrare sau centrifugare. Extractul alcalin fluid se precipita cu otet alimentar de 9% la un pH de 3,2 – 4,0. Are loc o precipitare rapida cu depunerea unui precipitat masiv si separarea unei faze fluide cu o coloratie galbuie.

Dispersia proteica se lasa la sedimentare pentru a concentra miceliile proteice, timp de 6 – 8 ore, la intuneric, la temperatura de +4 °C., dupa care sedimentul proteic se separa de supernatantul in care a avut loc o a doua solubilizare a compusilor fenolici, care nu au fost indepartati complet din biomasa nucifera, in prima etapa de procesare cu otet alimentar.

Se obtine izolatul proteic nucifer cu un continut in proteina(Nx6,25) de minim 65 -70% (Nx6,25) cu un nivel ridicat de biofosofinta metabolica si nutritionala, prin continutul inalt in aminoacizi esentiali, prioritar arginina, precum si lizina, histidina, si aminoacizii cu sulf, metionina si cistina.

Randamentul de regasire a proteinelor nucifere din totalul proteinelor existente in srot se cifreaza la valori de 22 – 27%.

ETAPE DE PROCESARE

ETAPA I

Srotul de nuca delipidizat se introduce in utilajul de maruntire (1), si se marunteste la dimensiuni medii de 40 Mesh. – Rezulta srotul maruntit.

Etapa II.

Srotul maruntit se introduce in apa deionizata la un raport de 1 : 10, in vasul de limpezire-conditionare (2), pentru indepartarea compusilor indezirabili(glicolipide si zaharuri, cu inceput de caramelizare), dupa care dispersia apoasa se separa in filtrul (3), rezultand srotul conditionat umed si apele uzate cu impuritati.

Etapa III.

Srotul cu o umiditate de 60 – 65% este trecut la macerare cu otetul alimentar de 9%, la un raport de 1 : 10, timp de 6 – 8 ore, la temperatura mediului ambiant, in vasul de macerare (4). In continuare este trecut la o a doua operatie de filtrare-separare (3'), rezultand srotul nucifer umed purificat de fenoli si **produsul 1 Extractul nutraceutic hidroacetic**, cu potential antioxidant, care se colecteaza in vasul de depozitare (5) destinat pastrarii produsului I anterior ambalarii.

Etapa IV.

Srotul umed se separa de otetul alimentar remanent de 9%, prin adaugare in 2 etape consecutive, de apa deionizata, la un raport de ! : 6, 1 : 10, timp de 15 minute, pentru ambele etape, in vasul de neutralizare (6), pana la un pH neutru de 6,4 -7,0.

Urmeaza o alta separare prin filtrare (3 ''), rezultand apele de spalare slab acide si srotul neutralizate umed.

Etapa V.

Srotul umed cu o umiditate de 60 -65%, se trece in uscatorul cu trepte de temperatura si ventilatie cu aer cald (7).

Rezulta srotul deshidratat cu o umiditate de max.10%

Etapa a VI-a

Srotul deshidratat se trece in moara coloidala uscata (8),unde se micronizeaza la dimensiuni de 15 -25 micrometri.

Rezulta **produsul 2. “ Concentrat proteic nucifer** , cu un continut in proteina bruta de minm 38 – 40%, fibre alimentare functionale 40%, fibre celulozice 2 – 3%.

Etapa a VII-a

Concentratul proteic se solubilizeaza in vasul de solubilizare (9), cu o solutie de NaOH 0,1 M, La un raport de 1 : 10, pe o durata de 2-3 ore, la temperatura mediului ambient.

Urmeaza o noua separare prin filtrare (3'''), din care rezulta un reziduu insolubil si solubilizatul proteic alcalin

Etapa aVIII - a

Solubilizatul proteic alcalin se precipita cu acid acetic de 9% la un pH de 3,2 -4,0, in vasul de precipitare (10), rezultand un sediment proteic si un supernatant in care s-au solubilizat complementar compusii fenolici care nu au fost complet solubilizati in faza extractie acetica.

In vasul de precipitare (10) se lasa la sedimentare timp de 6 – 8 ore, la 4 °C, pentru a facilita formarea miceliilor proteice, dupa care urmeaza o alta operatie de separare prin filtrare (3'''), a sedimentului proteic de faza fluida.

Etapa aIX - a

Sedimentul proteic cu o umiditate de 60-70%, separat de faza fluida, se trece la uscatorul in trepte si ventilatie cu aer cald, unde se usuca pana la o umiditate de max.10%.

Rezulta **produsul 3 Izolat proteic nucifer**, cu un continut in proteina de minimum 65 – 70% (Nx6,25) si cu un nivel de regasire a proteinei fata de proteina din srot de 22-27%.

Utilaje

1. Moara cu potential de maruntire mediu – 40 Mesch
2. Vas de conditionare-limpezire primara a srotului nucifer
3. Utilaj de separare-filtrare(operatii de filtrare-separare) (3', 3'', 3''', 3''''')
4. Vas de macerare hidroacetica
5. Vas de depozitare a **produsului I**. Extract nutraceutic hidroacetic cu potential antioxidant
6. Vas de neutralizarea srotului purificat de compusii fenolici
7. Uscator cu aer cald si ventilatie in trepte de temperatura.
8. Moara coloidala uscata pentru micronizare la dimensiuni de 15-25 microni. **Produs II**
Concentrat proteic nucifer pulverulent cu indice glicemic scazut si continut in proteina de minim 38 40 %.
9. Vas de solubilizare a concentratului proteic pentru a obtine izolatul proteic
10. Vas de precipitare a proteinelor la pH 3,2 – 4,0, de asemenea pentru sedimentare la temperatura de + 4 °C. (7') – Instalatie de uscare a sedimentului proteic umed cu imiditate maxime de 10% **Produs III** Izolat proteic nucifer cu 65 – 70% proteina (Nx6,25), nivel de recuperare a proteinei din srotul initial de 22-27%.
11. Utilaje de ambalare, etichetare a produselor I, II si III.

SCHEMA GENERALA DE PROCESARE

Srot nucifer delipidizat in urma procesarii la rece a uleiului de nuca, ca baza de obtinere a produselor 1, 2, 3 cu urmatoarea compozitie medie :

Proteina 42 – 47%

Carbohidrati functionali 37 – 42%, I.D.F. si S.D.F.

Fibre solubile S.D.F. 0,1 – 0,4%

Ulei remanent 7 -9% - antioxidanti lipofilici

Compusi fenolici antioxidanti hidrofili

Substante minerale caracteristice biomasei nucifere

Maruntire la 40 Mesh

Utilaj Moara cu nivel de maruntire mediu(1).

02-09-2015

Srot nucifer maruntit
Se prelucreaza cu apa deionizata 1 : 10
Agitare lenta 60 minute, in vasul de amestecare (2)
Separare – filtrare – filtru (3) ; Rezulta ape uzate 1.

Srot nucifer limpezit
Umiditate 60-65%
Se prelucreaza cu otet alimentar de 9%, raport 1 : 10

Macerarea acetica 6-8 ore, in vasul de macerare (4).
Separare – filtrare Filtru (3')

Srot nucifer purificat de fenoli
Produs I
Extract nutraceutic hidroacetic
Fenoli totali 2000 – 2100 mg/ml ; fibre solubile 0,1 – 0,2 g/l
Substante minerale
Se proceseaza cu apa deionizata 1 6 – 1 : 10, in 2 etape consecutive

Vas de depozitare al produsului I – (5)
Neutralizarea otetului la pH 6,4 in doua etape consecutive, a 15 minute, in vasul de neutralizare (6).
Filtrare – separare (3'')
Rezulta ape de spalare uzate 2.

Srot nucifer neutralizat
Umiditate 60 -65 %
Uscare in uscatorul cu trepte de temperatura si cu ventilatie cu aer cald. Utilajul nr.(7).

Srot deshidratat
Umiditate max 10%
Micronizare in moara coloidala uscata la 15 -25 microni. – Utilajul nr. (8)

Produs II. – Concentrat proteic cu minim 38 -40% proteina,
Contine 40% carbohidrati functionali, fibre alimentare I.D.F.
Fibre celulozice
Nivel de regasire al proteinei din proteina introdusa la prelucrare minim 50%

Dupa obtinerea produsului concentrate proteic nucifer, urmeaza etapele complementare de obtinere a izolatului proteic nucifer cu urmatoarea succesiune de operatii .

Concentratul proteic nucifer umed sau deshidratat se proceseaza in continuare cu solutie de NaOH 0,1 M la raportul de 1 : 10

Solubilizare alcalina 2 – 3 ore, in vasul de solvoliza alcalina (9).

Separare – filtrare (3''')

Rezulta reziduul nucifer insolubil

Solubilizat proteic fluid

Se prelucreaza cu otet alimentar de 9%

Utilaj vas de precipitare-sedimentare (10)

Precipitare la pH egal cu 3,2 – 4,0.

Sedimentare la 4 °C, timp de 6 – 8 ore

Separare – filtrare (3''''')

Rezulta ape uzate cu fenoli reziduali.

Sediment proteic cu 60 -70 % umiditate

Uscare pe uscatorul in trepte cu ventilatie si aer cald (7')

Produs III Izolat proteic cu umiditate de maxim 10% , proteina minim 65 – 70% (Nx6,25)

Randament de regasire fata de proteina din srotul nucifer introdusa la prelucrare 22 – 27%.

PROCEDEU INTEGRAT DE DISPONIBILIZARE A PROTEINELOR SI A ANTIOXIDANTILOR HIDROFILICI DIN SUBPRODUSE NUCIFERE

REVENDICARE I

Procedeu de obtinere a **“Extractului nutraceutic hidroacetic cu potential antioxidant”** caracterizat prin aceea ca srotul nucifer rezultat in urma presarii la rece a uleiului de nuca cu textura intens rigidizata, se marunteste la dimensiuni de 40Mesh in moara cu nivel mediu de maruntire (1), se introduce in vasul de conditionare – limpezire(2), cu apa deionizata, la un raport de 1 : 10, se agita lent timp de 60 minute, pentru a indeparta compusii indezirabili care imprima gustul amar, reprezentati de glicolipidele si monozaharidele sensibile termic, care pot prezenta un inceput de caramelizare in urma frecarii mecanice pe parcursul operatiei de presare a miezului de nuca si apoi apele de spalare uzate se indeparteaza prin filtrare in filtrul (3), rezultand un srot nucifer purificat cu o umiditate de 65 – 70%, care se introduce in vasul de macerare acetica (4), unde se lasa la macerat 6 – 8 ore, cu otet alimentar de 9%, la un raport de 1 :10, la temperatura mediului ambiant, cu agitare intermitenta, dupa care faza fluida se separa din nou prin filtrare in filtrul (3’), extractul acetic rezultat din srotul nucifer din care au fost solubilizati compusii fenolici hidrofilici, fibrele alimentare solubile S.D.F., partial compusii cu aroma specifica de nuca si substantele minerale solubile din miezul de nuca reprezinta un produs fluid cu insusiri antioxidante cu un continut in fenoli totali de 2000 – 2100 echivalenti acid galic, reprezentati de acidul paracumaric, ferulic, galic, clorogenic, Kaempferol, de unii compusi mai volatili ca de exemplu aldehida vanilica, para-Menth-4-en-3one, Furylcarbinol, Diizobutilftalat, Histren, etc., de asemenea de fibre solubile S.D.F. 0,1 – 0,2 g/litru, se colecteaza intr-un recipient de depozitare (5) la intuneric la o temperatura de maxim 25 °C, reprezentand o baza de obtinere a diverselor oteturi aromatice, de bauturi tonice cu potential antioxidant hidrofilic, sau ca baza de asezonare a preparatelor compozite la nivele de 1,5 – 5% intrucat prezinta insusiri senzoriale atractive datorate aromelor nucifere, precum si insusiri sanogene datorita capacitatilor bioprotective de inhibare a radiatiilor UVB si a speciilor radicalice poluante R.O.S. si N.O.S.

PROCEDEU INTEGRAT DE DISPONIBILIZARE A PROTEINELOR SI A ANTIOXIDANTILOR HIDROFILICI DIN SUBPRODUSE NUCIFERE

REVENDICARE II

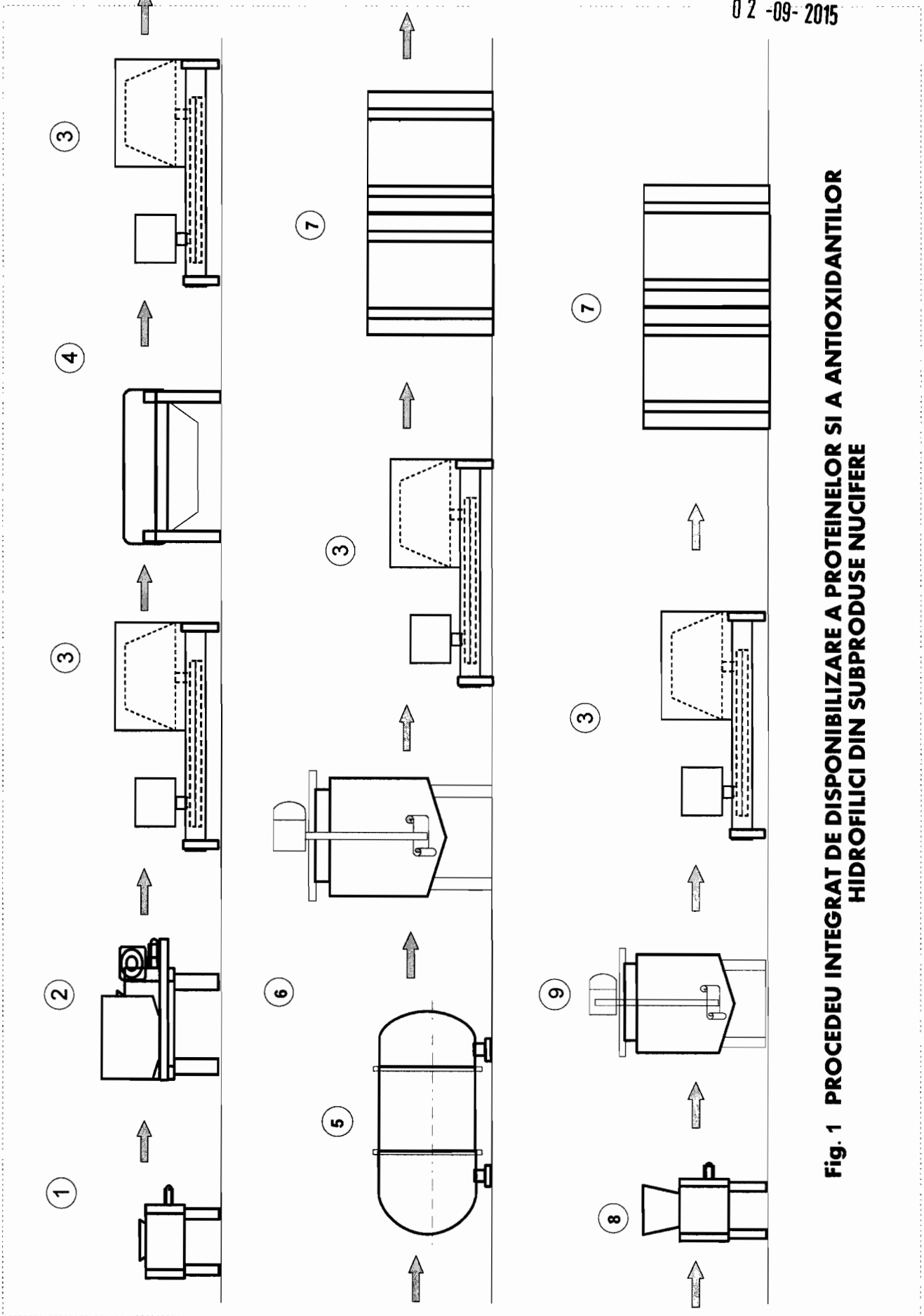
Procedeu de obtinere a **Concentratului proteic nucifer**, caracterizat prin aceea ca srotul hidroacetic nucifer remanent obtinut prin macerarea cu otet alimentar de 9% se neutralizeaza prin spalare cu apa deionizata in doua etape consecutive, cu volume de apa de 1 : 6 - 1 : 10, pentru a indeparta otetul remanent din srot, in reprize a cate 15 minute fiecare, in vasul de neutralizare (6), pana la obtinerea unui pH neutru de 6,4 -7 upH, dupa care srotul neutralizat se separa de apele de spalare uzate slab acide, rezultand srotul nucifer neutralizat prin separare in filtrul (3'') cu o umiditate de 65 – 70%, dupa care srotul nucifer umed se usuca menajant in uscatorul cu trepte de temperatura si ventilatie cu aer cald (7), pana la un nivel al umiditatii de maxim 10%, urmat de operatia de micronizare la dimensiuni de 15-25 microni, in moara coloidala uscata (8), rezultand concentratul proteic nucifer cu un continut in proteina de 40% (Nx6,25), un continut in carbohidrati functionali prioritar fibre alimentare I.D.F. de 38 – 40% si fibre celulozice la un nivel variabil, prezentand un indice glicemic scazut si un continut echilibrat in aminoacizi esentiali arginina, lizina, histidina, cistina si metionina, insusiri anticolesterolemice, antiobezogene, cu potential de constituire a unor suplimente alimentare si/sau a unor alimente functionale fitoterapeutice, antidiabetice, de prevenire a cancerului de colon si a afectiunilor cardiovasculare.

PROCEDEU INTEGRAT DE DISPONIBILIZARE A PROTEINELOR SI A ANTIOXIDANTILOR HIDROFILICI DIN SUBPRODUSE NUCIFERE

REVEDICARE III

Procedeu de obtinere a **“izolatului proteic nucifer”**, caracterizat prin aceea ca produsul concentrat proteic nucifer, umed, deshidratat sau micronizat, se prelucreaza pentru a solubiliza efectiv proteinele, prin imersarea in vasul de solubilizare (9), cu o solutie de 0,1 M NaOH, la un raport de 1 : 10, la intuneric, la temperatura mediului ambiant, preferabil nu mai mare de 25 °C timp de 2 – 3 ore, cu agitare lenta, dupa care dispersia se separa in filtrul (3’’’), rezultand un reziduu nucifer epuizat si un solubilizat proteic care se trece in vasul de precipitare (10), unde se precipita proteinele nucifere la un pH de 3,2 – 4,0 si se lasa la sedimentare 6 -8 ore, pentru consolidarea depunerii miceliilor proteice la temperatura de 4 °C, dupa care sedimentul proteic se separa din nou in filtrul (3’’’’), rezultand ape uzate in care s-au solubilizat complementar si compusii fenolici reziduali care nu s-au solubilizat complet in etapa fractionarii acetice, si sedimentul proteic cu o umiditate de 65 -70%, care se usuca menajant in uscatorul cu ventilatie si aer cald in trepte de temperatura (7’’), produsul obtinut se trece la instalatia de dozare si etichetare (11), avand insusiri tonifiante, prin continutul in proteina de minim 65 – 70% (Nx6,25), un nivel inalt de biofolosinta metabolica si utilizari preferentiale in alcatuirea de produse alimentare de tip Vegan, cu utilizari extinse ca alternativa pentru proteinele de origine animaliera.

02-09-2015



**Fig. 1 PROCEDU INTEGRAT DE DISPONIBILIZARE A PROTEINELOR SI A ANTIOXIDANTILOR
HIDROFILICI DIN SUBPRODUSE NUCIFERE**