



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2016 00663

(22) Data de depozit: 21/09/2016

(41) Data publicării cererii:
30/03/2018 BOPI nr. 3/2018

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI,
BD. MIHAIL KOGĂLNICEANU NR. 36-46,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE
CHIMICO-FARMACEUTICĂ - ICCF,
CALEA VITAN NR. 112, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• NICHITA CORNELIA, STR. ȘTIRBEI VODĂ
NR. 107, BL. C14, SC. 1, ET. 8, AP. 29,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;

• BĂLAN ADRIANA ELENA,
STR. FIZICIENILOR NR. 16, BL. N3, SC. 1,
ET. 2, AP. 17, MĂGURELE, IF, RO;
• CEAUS CĂTĂLIN, STR. ATOMIȘTILOR
NR. 236 BL. 17, SC. 1, ET. 1, AP. 5,
MĂGURELE, IF, RO;
• NIȚĂ SULTANA, STR. BARBAT VOIEVOD
NR. 21, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
• BAZDOACA CRISTINA MIRELA,
BD. DIMITRIE CANTEMIR NR. 13, BL. 11,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
• STAMATIN IOAN, STR. LACUL PLOPULUI
NR. 2, BL. P65, AP. 13, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) PRODUS ANTIOXIDANT VEGETAL CU APLICAȚII
ÎN COSMETICĂ, INDUSTRIA ALIMENTARĂ
ȘI FARMACEUTICĂ, ȘI PROCEDEU DE OBTINERE
A ACESTUIA

(57) Rezumat:

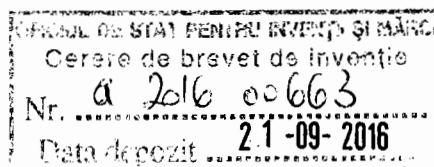
Invenția se referă la un produs antioxidant vegetal, și la un procedeu pentru obținerea acestuia, utilizat în cosmetică, industria alimentară și farmaceutică. Produsul conform invenției are un conținut de polifenoli totali de 10,86...11,96% exprimat în acid galic, flavonoide 4,23...5,43% exprimat în rutin, acizi polifenolcarboxilici 12,26...14,46% exprimat în acid cafeic, și derivați hidroxicinamici 4,12...4,86% exprimat în acid rozmarinic. Procedeu conform invenției constă în combinarea a trei fracții active selective, din specia

Rosmarinus officinalis, sub formă de pulbere, rezultate în urma procesului de ultrasonare timp de 20...60 min, la o temperatură de 20...60°C, și extracție utilizând solvent alcool etilic, apă demineralizată acidulată, respectiv, fluide supercritice, și prelucrare ulterioară, rezultând un produs având o activitate antioxidantă de 96,78...98,84%.

Revendicări: 5

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





PRODUS ANTIOXIDANT VEGETAL CU APLICATII IN COSMETICA, INDUSTRIA ALIMENTARA SI FARMACEUTICA SI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTUIA

Inventia se refera la obtinerea unui nou produs vegetal antioxidant cu rol de ingredient activ, agent de conservare si pigment, cu aplicatii directe in cosmetica, industria alimentara si farmaceutica si la procedeul de obtinere al acestuia. Produsul vegetal prezinta actiune antioxidanta semificativa si o compozitie chimica standardizata, actiune multifunctionala avand in acelasi timp rol de pigment, conservant, condiment si ingredient activ.

Produsul vegetal antioxidant are la baza principii active vegetale de tip - derivati hidroxicinamici, acizi polifenolicarboxilici, polifenoli totali si derivati flavonoidici, extrase din frunzele speciei vegetale *Rosmarinus officinalis* L.

Rosmarinus officinalis L. este o plantă lemnoasă, perenă, aparținând familiei Lamiaceae, cu frunze în formă de ace, întrebuințată în medicină, în industria parfumurilor și ca ingredient alimentar.

Este cunoscuta ca specia vegetala *Rosmarinus officinalis* L. se foloseste in prezent ca supliment fitoterapic cu multiple efecte terapeutice in: afectiuni digestive - dischinezie biliara, litiaza biliara, colecistita cronica, steatoza hepatica, hepatita virala, ciroza hepatica, insuficienta hepatica, tulburari metabolice - hipercolesterolemie, afectiuni neuro-psihice si stimulent al circulatiei cerebrale si a micro-circulatiei. Specia vegetala *Rosmarinus officinalis* L. (*folium*) contine un complex de compusi chimici implicati in mecanisme antioxidante, antibacteriane, cicatrizante, epitelizante.

Este cunoscuta ca părțile aeriene (*folium*) aparținând speciei *Rosmarinus officinalis* L. au o compozitie chimica bogata in uleiuri esentiale, compusi diterpenici (carnosol, acid carnosolic, rosmanol, rosmadial), triterpene (α - and β -amireanol, betulinol, acid ursolic, acid oleanolic), flavonozide (diosmetina, diosmina, derivati ai apigenolului si luteolului) acizi polifenolicarboxilici (acid rozmarinic, cafeic, gentisic, vanilic, siringic, galic) si componente anorganice care ii confera proprietati curative prin mecanismele de actiune biologice implicate si absenta toxicitatii.

Ulei esential, contine urmatoorii componentii 1,8 cineol, camfor, alfa pinene si alte monoterpene si prezinta o puternică activitate antibacteriană față de *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* și *Proteus vulgaris*.

Este cunoscuta in literatura de specialitate importanta polifenolilor, a flavonozidelor, a derivatilor hidroxicinamici si a acizilor polifenolcarboxilici ca principii active vegetale care prezinta efecte biologice specifice si indeosebi proprietati antioxidante. Exista numeroase lucrari privitoare la statusul vital antioxidant al sistemelor biologice si la procesele care insotesc instalarea stresului oxidativ, mediator al declansarii si dezvoltarii proceselor patologice (Viorica Istudor, Farmacognozie, Fitochimie, Fitoterapie, vol.II, Ed. Medicala Bucuresti 2001).

Este cunoscut un produs flavonoidic obtinut din specia vegetala *Crataegus monogyna* Jacq. cu actiune antioxidanta si rol modulator in proteomica stresului oxidativ obtinut (RO 127270/2013).

Deasemenea sunt cunoscute procedee de obtinere a derivatilor hidroxicinamici si a acizilor polifenolcarboxilici prin extractie, cum ar fi macerarea, percolarea, percolarea fractionata, diacolarea, evacolarea, extractia solid-lichid.

Produsele cunoscute si procedeele de obtinere a acestora prezinta o serie de dezavantaje cum ar fi aplicabilitatea redusa si selectiva, continut de principii active nestandardizate in cazul produselor si existenta unor aspecte legate de toxicitate si costuri ridicate in cazul procedeeilor.

Problema tehnica pe care o rezolva inventia consta in aceea ca se obtine un produs vegetal antioxidant standardizat cu rol de ingredient activ, agent de conservare si pigment si activitate antioxidanta semnificativa, printr-un procedeu special conceput care sa permita separarea avansata a fractiilor selective din extractul vegetal total.

Produsul conform inventiei este constituit prin combinarea optima a trei fractii selective obtinute din specia vegetala *Rosmarinus officinalis L.(folium)*, prin prelucrarea unui extract hidroalcoolic brut 50...80% alcool etilic (v), a unui extract apos acidulat la pH cuprins intre 2.2...2.5, ambele obtinute prin extractie solid-lichid si a unui extract brut obtinut prin extractie cu fluide supercritice utilizand ca fluid supercritic dioxidul de carbon alimentar de puritate 99.9%, la temperatura de 31.5...45°C si presiunea de 73...300 atm.

Procedeeul de obtinere a produsului vegetal antioxidant standardizat cu rol de ingredient activ, agent de conservare si pigment conform inventiei consta in combinarea a trei fractii selective RZ1:RZ2:RS3 intr-un raport de asociere, parti in greutate de 2:1:3 (m/m/m) si omogenizarea acestora prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 minute la viteza de 600... 1000 rot/min.

Procedeeul de obtinere a celor trei fractii selective este urmatorul:

- Fractia selectiva RZ1 care se prezinta sub forma de pulbere de culoare galbena si consistenta fina este rezultata in urma procesului de ultrasonare timp de 30...60 minute, la o temperatura cuprinsa intre de 20...50°C a specie *Rosmarinus officinalis L. (folium)* uscata si macinata, urmat de: extractia clasica solid - lichid, utilizand solvent alcool etilic 50...80%(v), in raport material vegetal: solvent = 1:10...1:20 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 2...4 h, in 2...4 cicluri extractive, stationarea la temperatura scazuta de 4 °C, filtrarea la vid pe hartie de filtru industrial, decolorarea cu carbune active 1%, reunirea filtratelor si prelucrarea acestora prin concentrare la vid, precipitarea extractului sub agitare, stationare la temperatura de 4 °C, centrifugare, filtrare, spalare, esorare si uscare la temperatura camerei.
- Fractia selectiva RZ2 care se prezinta sub forma de pulbere de culoare galben pal si consistenta fina este rezultata in urma procesului de ultrasonare timp de 20...40 minute, la o temperatura cuprinsa intre de 20...60°C a specie *Rosmarinus officinalis L. (folium)* uscata si macinata, urmat de: extractia clasica solid - lichid, utilizand solvent apa demineralizata acidulata la pH cuprins intre 2.2...2.5, in raport material vegetal: solvent = 1:15...1:20 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 3...4h, in 2...4 cicluri extractive, stationarea la temperatura scazuta de 4 °C, filtrarea la vid pe hartie de filtru industrial, decolorarea cu carbune activ 1%, reunirea filtratelor si prelucrarea acestora prin concentrare la vid, precipitarea extractului sub agitare cu acetat de etil, stationare la tempetatura de 4 °C, centrifugare, filtrare, spalare, esorare si uscare la temperatura camerei.

- Fractia selectiva RS3 care se prezinta sub forma de pulbere de culoare galben deschis este rezultata in urma procesului de ultrasonare in prezenta de alcool etilic 50% (v), timp de 20...35 minute, la o temperatura cuprinsa intre de 20...40°C a specie *Rosmarinus officinalis* L. (*folium*) uscata si macinata, urmat de: extractia cu fluide supercritice utilizand ca fluid dioxidul de carbon alimentar de puritate 99.9%, adus in stare supercritica la temperatura de 31.5...45°C si presiunea de 73...300 atm si cosolvent alcool etilic 50% (v), in raport materie vegetala uscata: cosolvent 1:1(m/v), timp de 40...60 minute, urmate de procesul de prelucrarea prin concentrare, uscare si omogenizare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 10...15 de minute la viteza de 200...300 rot/min.

Procedeul conform inventiei inlatura dezavantajele produselor cunoscute prin aceea ca are un continut standardizat de polifenoli totali 10.86...11.96% exprimat in acid galic, flavonoide 4.23...5.43 %, exprimat in rutin, acizi polifenolicarboxilici 12.26...14.46 % exprimat in acid cafeic si derivati hidroxicinamici exprimat in acid rozmarinic cuprins intre 4.12...4.86 %, si o activitate antioxidanta ridicata, determinata prin tehnica de chemiluminescenta, cu valori cuprinse intre 96, 78...98,84%.

Procedeul conform inventiei inlatura dezavantajele procedeelor cunoscute prin aceea ca inainte de etapa de extractie solid - lichid materialul vegetal uscat si maruntit se ultrasoneaza timp de 20...60 minute, la o temperatura cuprinsa intre de 20...60°C, apoi extractia are loc timp de 2...4h, la temperatura de reflux a solventului, dupa care, extractul se raceste la temperatura de +4°C, se filtreaza la vid pe hartie de filtru industriala si se decoloreaza cu carbune activ 1 %, aplicand intre 2-4 cicluri extractive, urmat de etapele de prelucrare care cuprind: concentrarea la vid la rapoarte cuprinse intre 1:4...1:10 v/v la o temperatura de 30...45°C, precipitarea extractului concentrat sub agitare, la un raport de 1:2...1:4 v/v, stationare la temperatura de +4°C si centrifugarea la o turatie de 6000 rot/min, timp de 30 de minute, filtrarea, spalarea si esorarea cu acetona si alcool etilic, rezultand doua fractii selective.

Procedeul conform inventiei inlatura dezavantajele procedeelor cunoscute prin aceea ca inainte de etapa de extractie cu fluide supercritice materialul vegetal uscat si maruntit se ultrasoneaza in prezenta cosolventului alcool etilic 50%(v), timp de 20...35 minute, la o temperatura cuprinsa intre de 20...40°C, apoi extractia are loc timp de 40...60 min, utilizand ca fluid dioxidul de carbon alimentar de puritate 99.9%, in stare supercritica la temperatura de 31.5...45°C si presiunea de 73...300 atm si utilizand adaus de cosolvent alcool etilic 50%(v), in raport materie vegetala uscata: cosolvent 1:1(m/v), urmata de procesul de prelucrarea prin concentrare, uscare si omogenizare.

Procedeul conform inventiei inlatura dezavantajele procedeelor cunoscute prin aceea ca se obtine un produs vegetal antioxidant standardizat cu rol de ingredient activ, agent de conservare si pigment prin combinarea optima si omogenizarea a trei fractii selective RZ1:RZ2:RS3 prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 minute la viteza de 600... 1000 rot/min.

Avantajele produsului vegetal antioxidant standardizat cu rol de ingredient activ, agent de conservare si pigment, conform inventiei constau in aceea ca:

- prezinta activitate antioxidanta foarte ridicata si utilizare versatila si multifunctionala, putand fi folosit concomitent ca antioxidant, agent de conservare, pigment si ingredient activ cu proprietati terapeutice pentru combaterea efectele induse de stresul oxidativ.

- prezenta caracteristici optime de conditionare in produse terapeutice de uz topic destinate terapiei in diferitelor afectiuni, inclusiv cele dermato-cosmetice.

- este practic netoxic fiind obtinut prin procedee extractive nepoluante si solventi lipsiti de toxicitate.

Avantajele procedeeului de obtinerea a produsului vegetal antioxidant standardizat cu rol de ingredient activ, agent de conservare si pigment conform inventiei, constau in aceea ca produsul este obtinut din specia vegetala *Rosmarinus officinalis* L. (*folium*), printr-o tehnologie extractiva nepoluanta, economica, rapida, eficienta si flexibila care conduce la obtinerea unui nou produs vegetal cu inalt potential antioxidant si terapeutic. Rezultatele testarii caracteristicilor antioxidante ale produsului vegetal antioxidant standardizat realizat in urma elaborării procedeeului, permit utilizarea concomitenta ca agent de conservare, pigment alimentar si cosmetic, ingredient activ si supliment alimentar cu proprietati terapeutice.

Se prezinta in continuare un exemplu de realizare a inventiei.

Obtinere fractiei selective RZ1

Extractie vegetala

Mod de lucru:

Materialul vegetal 250 g/proba, uscat si maruntit conform Farmacopeei, se extrage in solvent alcool etilic: apa demineralizata =1:1 (v/v)...4:1 (v/v) raportul material vegetal: solvent avand valori cuprinse intre 1:10 (m/v) ...1:20 (m/v).

Inainte de a fi supus procesului de extractie solid-lichid, amestecul material vegetal-solvent este ultrasonat timp de 30...60 minute, la temperatura cuprinsa intre de 20...50°C.

Timpul de extractie este de 2...4 h, la temperatura de reflux a solventului. Extractul se raceste la temperatura de +4°C si se filtreaza pe hartie de filtru industriala.

Filtratul obtinut se supune operatiei de decolorare cu carbune activ 1 %.

Prelucrarea extractelor vegetale

Solutiile hidroalcoolice obtinute in urma celor 2...4 cicluri de extractie, dupa operatia de filtrare si decolorare se reunesc si se supun concentrarii la vid in rapoarte de concentrare diferite cuprinse intre 1:5...1:10 (v/v), fata de filtratul total, pana la obtinerea unui extract concentrat de culoare galben brun. Operatia de concentrare se realizeaza la temperatura de 30...45°C, utilizand un rotovapor tip Buchi B-480, prevazut cu baie de apa termostata. Extractul concentrat este precipitat sub agitare, in apa demineralizata acidulata, la un raport extract concentrat/apa demineralizata acidulata de 1:2...1:4 (v/v).

Procesul de agitare se realizeaza cu un agitator tip Multimixer MM1000 Biosan, timp de 15...30 de minute la viteza de 150... 300 rot/min. Suspensia obtinuta se mentine la temperatura scazuta 4°C timp de 24...72 h dupa care se supune operatiei de centrifugare la temperatura de 4°C, timp de 30 de minute la turatie de 6000 rot/min. In urma procesului de centrifugare realizat cu centrifuga tip EBA 20 R (Hettich-Germania) prevazuta cu sistem de racire, se produce separarea unui precipitat obtinut prin filtrare la vid.

Precipitatul obtinut in urma operatiei de filtrare se usuca la temperatura camerei, se spala succesiv cu acetona si alcool etilic si apoi se lasa la esorat in alcool etilic. Operatia de spalare se repeta de trei ori dupa care se obtine o pulbere de culoare galbena care este pulverizata pana la consistenta foarte fina prin ultra-mixare, cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 3...5 de minute la viteza de 1000 rot/min. Astfel, se obtine fractia selectiva RZ1 cu un continut de de polifenoli totali 8.46...10.43% exprimat in acid galic, flavonoide 2.31...4.11%, exprimat in rutin, acizi polifenolicarboxilici 12.72...14.96% exprimat in acid cafeic si derivatilor hidroxicinamici exprimat in acid rozmarinic cuprins intre 2.84...3.76 %,

Obtinere fractiei selective RZ2

Extractie vegetala

Mod de lucru:

Materialul vegetal 250 g/proba, uscat si maruntit conform Farmacopeei, se extrage in solvent apa demineralizata acidulata, raportul material vegetal: solvent avand valori cuprinse intre 1:15 (m/v)...1:20 (m/v).

Inainte de a fi supus procesului de extractie solid-lichid, amestecul material vegetal-solvent este ultrasonat timp de 20...40 minute, la temperatura cuprinsa intre de 20...60°C.

Timpul de extractie este de 3...4 h, la temperatura de reflux a solventului. Extractul se raceste la temperatura de +4°C si se filtreaza pe hartie de filtru industriala.

Filtratul obtinut se supune operatiei de decolorare cu carbune activ 1 %.

Prelucrarea extractelor vegetale

Solutiile apoase obtinute in urma celor 2...4 cicluri de extractie, dupa operatia de filtrare si decolorare se reunesc si se supun concentrarii la vid in rapoarte de concentrare diferite cuprinse intre 1:4...1:8 (v/v), fata de filtratul total, pana la obtinerea unui extract concentrat de culoare galbena. Operatia de concentrare se realizeaza la temperatura de 30... 40°C, utilizand un rotovapor tip Buchi B-480, prevazut cu baie de apa termostata. Extractul concentrat este precipitat sub agitare, in acetat de etil, la un raport extract concentrat/ solvent de precipitare de 1:2...1:4 (v/v).

Procesul de agitare se realizeaza cu un agitator tip Multimixer MM1000 Biosan, timp de 20...30 de minute la viteza de 150...200 rot/min. Suspensia obtinuta se mentine la temperatura scazuta 4°C timp de 48...72 h dupa care se supune operatiei de centrifugare la temperatura de 4°C, timp de 30 de minute la turatie de 6000 rot/min. In urma procesului de centrifugare relizat cu centrifuga tip EBA 20 R (Hettich-Germania) - prevazuta cu sistem de racire, se produce separarea unui precipitat obtinut prin filtrare la vid. Precipitatul obtinut in urma operatiei de filtrare se usuca la temperatura camerei, se spala succesiv cu acetona si alcool etilic si apoi se lasa la esorat in alcool etilic. Operatia de spalare se repeta de trei ori dupa care se obtine o pulbere de culoare galbena care este pulverizata pana la consistenta foarte fina prin ultra-mixare, cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...6 de minute la viteza de 1000 rot/min.

Astfel, se obtine fractia selectiva RZ2 cu un continut de de polifenoli totali 8.73...10.96% exprimat in acid galic, flavonoide 3.96...5.22%, exprimat in rutin, acizi

polifenolicarboxilici 12.81...14.20% exprimat in acid cafeic si derivatilor hidroxicinamici exprimat in acid rozmarinic cuprins intre 3.81...4.62 %.

Obtinere fractiei selective RS3

Extractie vegetala

Mod de lucru:

Materialul vegetal 250 g/proba, uscat si maruntit conform Farmacopeei, este supus extractiei cu fluide supercritice.

Inainte de a fi supus procesului de extractie cu fluide supercritice, amestecul material vegetal-solvent este ultrasonat in prezenta cosolventului alcool etilic 50%(v), timp de 20...35 minute, la o temperatura cuprinsa intre de 20...40°C, apoi extractia are loc timp de 40... 60 min, utilizand ca fluid dioxidul de carbon alimentar de puritate 99.9%, in stare supercritica la temperatura de 31.5...45°C si presiunea de 73...300 atm si utilizand adaus de cosolvent alcool etilic 50%(v), in raport materie vegetala uscata: cosolvent 1:1(m/v), urmata de procesul de prelucrare.

Prelucrarea extractului vegetal

Extractul brut obtinut in urma extractiei cu CO₂ supercritic, se supune concentrarii la vid in raport de concentrare 1:1 (v/v), fata de extractul initial. Operatia de concentrare se realizeaza la temperatura de 30... 40°C, utilizand un rotovapor tip Buchi B-480, prevazut cu baie de apa termostata. Extractul concentrat este uscat la temperatura camerei si adus in stare de pulbere fina de culoare galbena, prin omogenizare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 10...15 de minute la viteza de 200...300 rot/min.

Astfel, se obtine fractia selectiva RS3 cu un continut de polifenoli totali 9.31...11.98% exprimat in acid galic, flavonoide 4.93...5.87%, exprimat in rutin, acizi polifenolicarboxilici 14.79...14.83% exprimat in acid cafeic si derivatilor hidroxicinamici exprimat in acid rozmarinic cuprins intre 4.87...4.92 %.

Obtinere produsului vegetal antioxidant

Produsul vegetal antioxidant standardizat cu rol de ingredient activ, agent de conservare si pigment se obtine prin combinarea a trei fractii selective RZ1:RZ2:RS3 intr-un raport de asociere, parti in greutate de 2:1:3 (m/m/m) si omogenizarea acestora prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 de minute la viteza de 600...1000 rot/min.

Produsul vegetal antioxidant prezinta un continut standardizat de polifenoli totali 10.86...11.96% exprimat in acid galic, flavonoide 4.23...5.43 %, exprimat in rutin, acizi polifenolicarboxilici 12.26...14.46% exprimat in acid cafeic si derivatilor hidroxicinamici exprimat in acid rozmarinic cuprins intre 4.12...4.86 %, si o activitate antioxidanta ridicata determinata prin tehnica de chemiluminescenta in sistem generator luminol-H₂O₂, la pH = 8.4, cu valori cuprinse intre 96, 78...98,84%.

REVENDICARI

1. Produsul vegetal antioxidant standardizat, **caracterizat prin aceea ca**, are un continut de polifenoli totali 10.86...11.96% exprimat in acid galic, flavonoide 4.23...5.43%, exprimat in rutin, acizi polifenolicarboxilici 12.26...14.46 % exprimat in acid cafeic si derivatilor hidroxicinamici exprimat in acid rozmarinic cuprins intre 4.12...4.86%.

2. Produsul vegetal antioxidant standardizat, conform revendicarii 1, **caracterizat prin aceea ca**, prezinta o activitate antioxidanta cuprinsa intre 96, 78...98,84%.

3. Procedeu de obtinere a produsului vegetal antioxidant standardizat, prin extractie solid-lichid si extractie cu fluide supercritice si etape ulterioare de prelucrare **caracterizat prin aceea ca**, inainte de etapa de extractie, se ultrasoneaza materialul vegetal uscat si maruntit timp de 20...60 minute, la o temperatura cuprinsa intre 20...40°C, are loc apoi extractia, timp de 2...4h, la temperatura de reflux a solventului, dupa care, se raceste extractul la temperatura de +4°C, se filtreaza si se decoloreaza cu carbune activ 1 %, aplicand intre 2-4 cicluri extractive, dupa care se realizeaza etapele de prelucrare care cuprind: concentrarea la vid la rapoarte cuprinse intre 1:4...1:10 v/v la o temperatura de 40...60°C, precipitarea extractului concentrat sub agitare cu diferiti solventi a un raport de 1:4...1:10 v/v, stationarea la temperatura de +4°C si centrifugarea la o turatie de 6000 rot/min, timp de 30 de minute, si apoi filtrarea, spalarea si esorarea cu acetona si alcool etilic, uscarea, omogenizarea rezultand un produsului vegetal antioxidant standardizat.

4. Procedeu, conform revendicarii 3, **caracterizat prin aceea ca**, produsului vegetal antioxidant standardizat cu rol de ingredient activ, agent de conservare si pigment se obtine prin combinarea fractiilor selective RZ1, RZ2, RS3 intr-un raport de asociere, parti in greutate de 2:1:3 = RZ1:RZ2:RS3 si omogenizare prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 de minute la viteza de 600...1000 rot/min a fractiilor selective:

RZ1 care se prezinta sub forma de pulbere de culoare galbena si consistenta fina rezultata in urma procesului de ultrasonare timp de 30...60 minute, la o temperatura cuprinsa intre de 20...50°C a specie *Rosmarinus officinalis* L. (*folium*) uscata si macinata, urmat de: extractia clasica solid - lichid, utilizand solvent alcool etilic 50...80%(v), in raport material vegetal:solvent = 1:10...1:20 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 2...4 h, in 2...4 cicluri extractive, stationarea la temperatura scazuta de 4 °C, filtrarea la vid pe hartie de filtru industrială, decolorarea cu carbune

active 1%, reunirea filtratelor si prelucrarea acestora prin concentrare la vid, precipitarea extractului sub agitare, stationare la temperatura de 4°C, centrifugare, filtrare, spalare, esorare si uscare la temperature camerei.

RZ2 care se prezinta sub forma de pulbere de culoare galben pal si consistenta fina rezultata in urma procesului de ultrasonare timp de 20...40 minute, la o temperatura cuprinsa intre de 20...60°C a specie *Rosmarinus officinalis* L. (*folium*) uscata si macinata, urmat de: extractia clasica solid - lichid, utilizand solvent apa demineralizata acidulata la pH cuprins intre 2.2...2.5, in raport material vegetal: solvent = 1:15...1:20 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 3...4 h, in 2...4 cicluri extractive, stationarea la temperatura scazuta de 4 °C, filtrarea la vid pe hartie de filtru industrială, decolorarea cu carbune activ 1%, reunirea filtratelor si prelucrarea acestora prin concentrare la vid, precipitarea extractului sub agitare cu acetat de etil, stationare la temperatura de 4 °C, centrifugare, filtrare, spalare, esorare si uscare la temperatura camerei.

RS3 care se prezinta sub forma de pulbere de culoare galben deschis rezultata in urma procesului de ultrasonare in prezenta de cosolvent, timp de 20...35 minute, la o temperatura cuprinsa intre de 20...40°C a specie *Rosmarinus officinalis* L. (*folium*) uscata si macinata, urmat extractia cu fluide supercritice si procesul de prelucrarea prin concentrare, uscare si omogenizare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 10...15 de minute la viteza de 200...300 rot/min.

5. Procedeu, conform revendicarii 3, **caracterizat prin aceea ca**, la extractia cu fluide supercritice se utilizeaza dioxidul de carbon alimentar de puritate 99.9%, in stare supercritica la temperatura de 31.5...45°C si presiunea de 73...300 atm si adaus de cosolvent alcool etilic 50%(v), in raport materie vegetala uscata: cosolvent 1:1(m/v) timp de 40... 60 min.