



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2016 00831**

(22) Data de depozit: **15/11/2016**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/04/2022** BOPI nr. **4/2022**

(41) Data publicării cererii:
30/05/2018 BOPI nr. **5/2018**

(73) Titular:
• **LABORATOARELE MEDICA S.R.L.**,
STR. FRASINULUI NR. 11, OTOPENI, IF,
RO

(72) Inventatori:
• **MORARU IONUȚ**, **STR. PETRICANI**
NR. 1R, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;

• **MORARU ANGELA**, **STR. PETRICANI**
NR. 1R, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
• **OANCEA FLORIN**, **STR. PAȘCANI NR.5,**
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
RO 130242 A0; CN 102512461 A

(54) **PROCEDEU DE CREȘTERE A BIODISPONIBILITĂȚII**
INGREDIENTELOR ACTIVE DIN MATERIALUL VEGETAL
CU UN CONȚINUT RIDICAT DE SILICIU



RO 132524 B1

1 Prezenta invenție se referă la un procedeu de creștere a biodisponibilității ingre-
2 dientelor active din materialul vegetal cu un conținut ridicat de siliciu, în special tărâțe de
3 grâu sau de ovăz, borhot de orz de la fabricarea berii și polen (colectat) de albine.

4 Sunt cunoscute diferite procedee de creștere a biodisponibilității ingredientelor active
5 din materialul vegetal cu un conținut ridicat de siliciu. Tărâțele de grâu conțin diferite ingre-
6 diente active cu efecte benefice asupra sănătății umane: fibre alimentare (beta-glucani,
7 arabinoxilani, pectine etc.) alchilresorcinol, acid ferulic, lignani, steroli (Pruckler et al., 2014).
8 Compuși bioactivi similari se regăsesc și în tărâțele de ovăz sau în borhotul de orz
9 (Bartłomiej et al., 2012). Polenul de albine are un conținut foarte ridicat de compuși bioactivi -
10 vitamine, minerale, acizi grași esențiali, carotenoizi, flavonoide (Denisow and Denisow-
11 Pietrzyk, 2016; Mărgăoan et al., 2014).

12 Siliciul solubil, sub formă de acid silicic, H_4SiO_4 , este și el un ingredient biologic activ,
13 cu rol semnificativ în re-echilibrarea modificărilor patofiziologice și asigurarea unei stări
14 optime de sănătate (Farooq and Dietz, 2015; Jurkic et al., 2013). Biodisponibilitatea acestor
15 compuși este redusă, întrucât sunt incluși în structuri care au o foarte redusă digestibilitate.
16 Pereți celulari lignocelulozici din tărâțele de grâu reduc biodisponibilitatea ingredientelor
17 active, în special a celor care sunt legate covalent de acestea, cum sunt de exemplu acizii
18 fenolici/acidul ferulic (Laddomada et al., 2015). Sporopolenina, biopolimerul care constituie
19 baza exinei, stratul exterior al polenului, este unul din compușii naturali cu cea mai redusă
20 biodegradabilitate (Dominguez et al., 1999).

21 Majoritatea procedeele cunoscute implică creșterea biodisponibilității compușilor
22 activi din materialul vegetal prin bioprocetare, tratamente enzimatică și/sau de fermentare
23 cu diferite microorganisme, eventual precedate de tratamente mecanice prin care se transmit
24 forțe de forfecare mari, destinate fragilizării structurilor parietale. Ingredientele active din
25 tărâțele de cereale, acid ferulic și arabinoxilani, au fost eliberate din matricea lignocelulozică
26 printr-un procedeu în care extrudarea a fost urmată de un tratament enzimatic, cu celulaze
27 și hemicelulaze (Brevet **US 6558930**).

28 **RO 130242 A0** se referă la un procedeu de valorificare complexă a materialului
29 vegetal cu un conținut ridicat de siliciu, prin care se valorifică integral diferitele ingrediente
30 active pentru produse cosmetice sau farmaceutice, aditivi alimentari sau furajeri, suplimente
31 nutritive, produse pentru stimularea și/sau protecția plantelor cultivate, materii prime pentru
32 diverse noi biomateriale și fertilizanți/amelioratori de sol.

33 Cererea de brevet **CN 102512461 A** dezvăluie un procedeu de extracție a unor
34 compuși cu siliciu din *Equisetum*, care implică solubilizarea cu apă fierbinte, purificare prin
35 trecere pe coloană cu rășini macroporoase, ultrafiltrarea soluției pre-purificate, urmată de
36 concentrare și uscare prin pulverizare. Astfel procedee sunt destinate însă exclusiv extracției
37 bio-siliciului și nu urmăresc creșterea biodisponibilității și a altor ingrediente active prezente
38 în materialul vegetal supus procesării.

39 Cererea de brevet **CN 103039709 A** prezintă un procedeu de preparare a polenului
40 de albine care constă în următoarele etape: înlăturarea impurităților, sterilizare, spargerea
41 mecanică a pereților celulari, hidroliză enzimatică.

42 Brevetul **US 9179687 B2** descrie fermentarea unei suspensii lichide de tărâțe
43 delipidizate, eventual ultrasonicate, cu 5% drojdii *Saccharomyces cerevisiae* și/sau
44 *Saccharomyces fibuligera*. Supernatantul culturii de drojdie pe tărâțe, care conține proteine,
45 polifenoli, oligozaharide și arabinoză, este amestecat cu microorganisme prebiotice din
genurile *Lactobacillus* și *Bifidus*.

RO 132524 B1

Brevetul **RU 2538635 C2** revendică un procedeu de prelucrare a polenului care implică extragerea polenului cu bioxid de carbon supercritic, separarea extractului lipidic, diluarea cu apă a polenului delipidizat, hidroliză în prezența enzimei Distizym Protacide Extra, separarea și uscarea părții solide, filtrarea părții lichide și prezervarea acesteia prin adăugare de sorbat de potasiu și benzoat de sodiu.

Cererea de brevet **KR 20050024872 A** se referă la un procedeu de fermentare a polenului. Polenul este măcinat, sterilizat, suspendat în apă și apoi fermentat cu *Lactobacillus rhamnosus* SNTP01, urmat de o refermentare a filtratului culturii cu *Saccharomyces cerevisiae*.

Documentul **US 8945642 B2** dezvăluie un procedeu de creștere a valorii nutritive a târâțelor stabilizate, prin ameliorarea biodisponibilității și ponderii ingredientelor active, ca urmare a unor tratamente enzimatiche combinate, cu β -glucanaze, proteaze termostabile și α -amilaze termostabile. Compoziția rezultată, în care sunt nivele ridicate și cu biodisponibilitate mărită de γ -orizanol, inozitol, acid ferulic, tocotrienoli și fitosteroli, a fost folosită în cadrul brevetului **US 9192180 B2** pentru a se realiza un produs destinat reducerii rezistenței la insulină, specifică sindromului metabolic.

Cererea de brevet **DE 102010022994 A1** protejează procedeu de creștere a biodisponibilității ingredientelor active din polen alcătuit din următoarele etape: înlăturarea impurităților prin spălare cu apă, omogenizarea la înaltă presiune a granulelor de polen, sterilizarea omogenatului, fermentarea în condiții microaerofile cu tulpini de *Streptococcus* sau *Saccharomyces*. Produsul de fermentare rezultat prin utilizarea tulpinilor bacteriene *Streptococcus* este sterilizat prin ultrafiltrare, concentrat până la consistența unui sirop, și utilizat pentru aditivarea diferitelor alimente. Produsul de fermentare rezultat prin utilizarea tulpinilor de drojdie *Saccharomyces* este centrifugat și pasteurizat, fiind comercializat ca o băutură ușor alcoolizată.

Toate aceste procedee descrise mai sus nu includ etape prin care să se realizeze o creștere a biodisponibilității (bio)siliciului din structurile parietale. Sunt cunoscute procedee prin care se realizează o extracție specifică din materialul vegetal. Brevetul francez **FR 2610253 B1** se referă la un procedeu de obținere a unui extract standardizat, care conține siliciu biogen, provenit din *Equisetum arvense*, caracterizat prin conținutul său în siliciu și prin prezenta complexe $\text{Si}(\text{OR})_4$ și $\text{Si}(\text{OR})_5$, în care radicalul organic R poate fi un catecol, o flavonă, o zaharidă, un acid organic, o vitamină - vitamina C etc.

Siliciul depus în cantități semnificative în diferitele structuri parietale vegetale, pereți celulari vegetali (Guerriero et al., 2016) sau exină (Schmid et al., 1996), crește semnificativ rezistența acestora la biodegradare/digestie enzimatică (Reynolds et al., 2009). Eliberarea bio-siliciului din astfel de structuri parietale care îl conțin determină labilizarea acestora și facilitează eliberarea ingredientelor active. Altfel spus, (bio)disponibilizarea bio-siliciului din structurile parietale este asociată creșterii biodisponibilității ingrediente active închise în respectivele structuri parietale.

În structurile parietale, matrici lignocelulozice sau exină în care predomină sporopolenina, biosiliciul se regăsește în special sub formă de bioxid de siliciu parțial hidratat, $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (Guerriero et al. 2016, Schmid et al., 1996). Această silice amorfă este similară într-o oarecare măsură opalului și rezultă prin reacția de policondensare a acidului silicic, H_4SiO_4 . Din această silice amorfă eliberarea acidului silicic este facilitată, printre altele, de acizi organici (Sokolova, 2013). Procesele de solubilizare a bio-silicei trebuie înșă asociate unor procese de inhibare a policondensării acidului silicic format prin solubilizare. La concentrații care trec de 1 mM acidul silicic are tendința de a polimeriza/policondensa, reformând soluri și geluri de bioxid de siliciu parțial hidratat (Mavredaki et al., 2005).

RO 132524 B1

1 Autorii au găsit că o serie de ingrediente din infuzia de ceai verde, cum sunt de
exemplu teonina, polifenolii/catechinele și flavonoli, au o acțiune de eliberare a bio-siliciului
3 din materialul vegetal, datorită acțiunii de complexare a acidului silicic. Această acțiune de
complexare a acidului silicic eliberat din biosilicea amorfă de către ingredientele din infuzia
5 de ceai verde este eficientă chiar și în condițiile menținerii concentrației de acid silicic la nivel
micromolar, peste pragul la care se declanșează reacțiile de (auto)poli-condensare.

7 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a dezvolta un procedeu bio-
tehnologic prin care să se realizeze o eliberare treptată a bio-siliciului din structurile parietale,
9 din matrici extracelulare lignocelulozice și din exină, fără re-precipitarea acestuia, și prin care
să faciliteze disponibilizarea ulterioară a altor ingrediente active.

11 Este un alt scop al acestei invenții de a prezenta un procedeu prin care să se
realizeze o sinergizare a acțiunii fiziologice a ingredientelor bio-active, (bio)disponibilizate
13 din materialul vegetal bogat în siliciu, prin producerea, în timpul etapelor de bioprosesare,
a unor ingrediente bio-active complementare celor eliberate din materialele vegetale supuse
15 prelucrării.

Procedeu conform invenției este alcătuit din următoarele etape:

17 - umectarea peste noapte a materialului vegetal cu un conținut ridicat de siliciu în apă
distilată, în proporție de 1 parte material vegetal la 1 parte apă distilată;

19 - sterilizarea materialului vegetal umed prin trei cicluri repetate, de încălzire la
72-75°C timp de 25-30 min și răcire la temperatura camerei timp de 6 h;

21 - adăugarea aseptică peste materialul vegetal sterilizat a unei infuzii de ceai verde,
obținută prin extragere timp de 10 min a 50 g de frunze de ceai în 1000 ml de apă fierbinte,
23 de 90-95°C, în raport de 1 parte material vegetal inițial la 3 părți infuzie de ceai verde;

25 - adăugarea aseptică a unei soluții de 25-30% zaharuri fermentescibile, peste
materialul vegetal cu infuzie de ceai verde, până la atingerea unei concentrații finale de 5-7%
zaharuri fermentescibile;

27 - inocularea aseptică cu o colonie simbiotică de drojdii și bacterii, SCOBY, și
incubarea la temperatura camerei, în condiții de microaerofilie, timp de 8-10 zile;

29 - omogenizarea la înaltă presiune a culturii SCOBY, a materialului vegetal și a
biopeliculei de nanoceluloză cu microorganisme SCOBY, 10 cicluri la 100 MPa, urmată de
31 omogenizarea cu maltodextrină în proporție de 1 parte material vegetal fermentat la 1 parte
maltodextrină, 15 cicluri la 100 MPa;

33 - uscarea prin pulverizare a omogenatului rezultat, la o temperatură de intrare de 120-
140°C și la o temperatură de ieșire de 70-75°C.

Procedeu conform invenției prezintă următoarele avantaje:

35 - fragilizează structurile parietale din materialul vegetal supus procesării, prin elibe-
rarea treptată a bio-siliciului din respectivele structuri, sub acțiunea combinată a fermenților
37 și a acizilor organici, produși de microorganismele SCOBY;

39 - inhibarea reacției de policondensare a acidului silicic, care ar duce la refacerea bio-
siliciului amorf în structurile parietale, datorită reacțiilor de complexare a acidului silicic de
41 către compușii aromatici/polifenolici și de către derivații de aminoacizi/teonină, prezenți în
infuzia de ceai verde;

43 - eliberarea compușilor activi din diferitele structuri care îi conțin prin omogenizare
la înaltă presiune, care este favorizată de fragilizarea structurilor parietale din materialul
45 vegetal supus procesării;

47 - sinergizarea acțiunii ingredientelor active din materialul vegetal supus procesării de
către compușii fiziologic activi produși de microorganismele SCOBY prin fermentarea infuziei
de ceai verde cu zaharuri fermentescibile, ca de exemplu, nanoceluloza care acționează

RO 132524 B1

similar fibrelor vegetale prebiotice; compuși postbiotici produși de microorganismele prebiotice SCOPY, care favorizează acțiunea fibrelor prebiotice; peptide și polifenoli antioxidanți, cu efecte complementare acidului ferulic, lignanilor și flavonoizilor; vitamine liposolubile și steroli care amplifică acțiunea fiziologică a compușilor bioactivi lipofili din materialul vegetal supus procesării.

În continuare se prezintă exemple de realizare care ilustrează invenția fără a o limita.

Exemplul 1

Într-un balon de sticlă termorezistentă de 5 L se aduc 500 g de polen (colectat) de albine, peste care se adaugă sub agitare lentă, cu o baghetă de sticlă, 500 ml apă. Se lasă la temperatura camerei timp de 2 h, amestecând din 10 în 10 min. Se încălzește pe baie de apă termostată și cu agitare (Lab Companion 37 L, Cole Parmer, Vernon Hills, SUA), până la temperatura de 75°C, unde se menține timp de 25 min. Se răcește la temperatura camerei timp de 6 h și apoi se repetă ciclurile de încălzire/menținere/răcire de încă 2 ori. După realizarea celor 3 cicluri de încălzire/răcire (tindalizare), prin care se distrug formele vegetative de microorganisme, inclusiv cele care se formează din propagulele termorezistente în timpul procesului de răcire, balonul se astupă cu dop de vată. Se adaugă aseptice 1500 ml de infuzie de ceai verde fierbinte, obținută prin extragerea timp de 10 min a 75 g de frunze de ceai în 1500 ml de apă fierbinte, de 90-95°C. Peste cele 2500 g de amestec infuzie de ceai verde/polen se adaugă aseptice 625 ml sbl,uție,de 25% glucoză, cu atingerea unei concentrații finale de 5% fermentescibile. Se răcește amestecul de polen, infuzie de ceai verde și soluție de zaharuri fermentescibile și se inoculează aseptice cu o colonie simbiotică de drojdii și bacterii, SCOPY, și se incubă la temperatura camerei, în condiții de microaerofilie, timp de 10 zile. După terminarea perioadei de cultivare, cultura de SCOPY, materialului vegetal și biopelicula de bioceluloză cu microorganisme SCOPY, se omogenizează la înaltă presiune, într-un omogenizator cu piston, GEA Niro Soavi Arriete NS2006 (GEA Niro Soavi, Parma, Italia) prevăzut cu o valvă tip „muchie de cuțit”, 10 cicluri la 100 Mpa. Peste omogenatul de cultură și material vegetal se adaugă 500 g de maltodextrină, și se reomogenizează, 15 cicluri la 100 Mpa. Suspensia fluidă rezultată (omogenată) este uscată prin pulverizare, la o temperatură de intrare de 120-140°C și la o temperatură de ieșire de 70-75°C, folosind un atomizor Mobile Minor™ (GEA Niro, Copenhaga, Danemarca).

În produsul rezultat se determină siliciul solubil, flavonoidele totale și polifenolii totali, activitatea antioxidantă, acidul ferulic, liber și total, acidul butiric, fibrele prebiotice totale. Siliciul solubil s-a determinat colorimetric cu acid molidenic (Coradin et al., 2004). Conținutul de flavonoide totale și de polifenoli totali s-a determinat folosind reactiv Folin-Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Germania) și o curbă etalon de acid galic (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, SUA). Conținutul de flavonoide totale s-a determinat după inițierea policondensării acestora cu formaldehidă (Merck) și separarea prin filtrare a precipitatului format prin policondensare. În filtratul obținut după separarea precipitatului de flavonoide policondensate s-au determinat din nou polifenolii totali non-flavonoidici, cu reactiv Folin-Ciocalteu, flavonoidele totale fiind calculate ca diferență (Komes et al., 2011). Activitatea antioxidantă a fost determinată ca echivalent trolox, prin determinarea capacității de stingere a radicalilor liberi cationici ABTS [acid 2,2' azinobis-(3-etilbenziazolin-6-sulphonic)]. (Re et al., 1999). Acidul ferulic liber și total a fost determinat prin cromatografie de înaltă presiune și detector matrice de diode (Mattila and Kumpulainen, 2002). Acidul butiric a fost determinat după acidifiere și extracție cu dietileter prin cromatografie de înaltă presiune și detector UV (De Baere et al., 2013). Fibrele prebiotice totale s-au analizat enzimatic - gravimetric, cu un kit Megazyme (McCleary et al., 2010). Ca probă martor (de referință) a fost utilizat același tip de polen (colectat) de albine folosit inițial, considerându-se un raport de diluare a polenului prin procedeul aplicat de 2,5 ori.

RO 132524 B1

1 Rezultatele sunt prezentate în tabelul 1 de mai jos. Aceste rezultate demonstrează
2 că prin procedeul de fermentație a polenului (colectat) de albine cu consortii SCOPY,
3 conform procedurii descris mai sus, are loc o disponibilizare a ingredientelor active, inclusiv
4 a siliciului/acidului silicic, care se regăsește complexat, peste nivelul de concentrație la care
5 în mod uzual se produc reacții de policondensare.

7 *Creșterea biodisponibilității ingredientelor active din polenul (colectat) de albine prin 8 aplicarea procedurii conform invenției*

9 *Tabelul 1*

| 11 | Ingredient activ | Polen de albine (inițial) | Polen procesat conform invenției* |
|----|--|------------------------------|--------------------------------------|
| 12 | Siliciu solubil (acid silicic), mg/100 g | 54,72 | 194,2 |
| 13 | Flavonoide totale, % | 1,97 | 3,51 |
| 14 | Polifenoli totali,% | 1,42 | 2,67 |
| 15 | Activitate antioxidantă, mmol trolox/g | 1,342 | 2,165 |
| 16 | Acid ferulic, mg/g | | |
| 17 | Liber | 0,25 | 0,52 |
| 18 | Total | 0,35 | 0,54 |
| 19 | Acid butiric, mg/g | nedetectabil | 0,12 |
| 20 | Fibre prebiotice totale,% | 7,2 | 8,16 |

21 *Raportat la cantitatea de polen inițial supusă procedurii

23 **Exemplul 2**

24 Se lucrează ca în exemplul 1, cu următoarele diferențe. Se folosesc 500 g tărâțe de
25 grâu. Tindalizarea se realizează prin trei cicluri repetate de încălzire la 72°C, timp de 30 min.
26 Se adaugă 783 ml de soluție sirop de fructoză-glucoză 30% pentru atingerea unei
27 concentrații finale de 7%.

28 S-au efectuat analize pentru aceleași ingrediente active ca în exemplul 1. Datele din
29 tabelul 2 demonstrează o creștere a biodisponibilității ingredientelor active din tărâțele de
30 grâu.

31 *Creșterea biodisponibilității ingredientelor active din tărâțe de grâu prin aplicarea 32 procedurii conform invenției*

33 *Tabelul 2*

| 35 | Ingredient activ | Tărâțe de grâu (inițial) | Tărâțe de grâu procesate conform invenției* |
|----|--|--------------------------|--|
| 36 | Siliciu solubil (acid silicic), mg/100 g | 7,24 | 22,2 |
| 37 | Flavonoide totale, mg/kg | 319 | 653 |
| 38 | Polifenoli totali, g/kg | 1,25 | 3,15 |
| 39 | Activitate antioxidantă, mmol trolox/kg | 318 | 953 |
| 40 | Acid ferulic, mg/g | | |
| 41 | | | |

Tabelul 2 (continuare)

| Ingredient activ | Tărâțe de grâu (inițial) | Tărâțe de grâu procesate conform invenției* |
|-------------------------|--------------------------|---|
| Liber | 1,53 | 2,84 |
| Total | 5,26 | 5,34 |
| Acid butiric, mg/g | nedeptabil | 0,16 |
| Fibre prebiotice totale | 44,2 | 46,7 |

*Raportat la cantitatea de tărâțe de grâu inițial supusă procedurii

Exemplul 3

Se lucrează ca în exemplul 2, numai că se folosesc 500 g tărâțe de ovăz. S-au efectuat analize pentru aceleași ingrediente active ca în exemplele de mai sus. Datele din tabelul 3 demonstrează o creștere a biodisponibilității ingredientelor active din tărâțele de ovăz.

Creșterea biodisponibilității ingredientelor active din tărâțe de ovăz prin aplicarea procedurii conform invenției

Tabelul 3

| Ingredient activ | Tărâțe de ovăz (inițial) | Tărâțe de ovăz procesate conform invenției* |
|--|--------------------------|---|
| Siliciu solubil (acid silicic), mg/100 g | 23,47 | 48,12 |
| Flavonoide totale, mg/kg | 533 | 1051 |
| Polifenoli totali, mg/kg | 754 | 1573 |
| Activitate antioxidantă, mmol trolox/kg | 424 | 882 |
| Acid ferulic, mg/g | | |
| Liber | 14,72 | 58,84 |
| Total | 102,2 | 105,3 |
| Acid butiric, mg/g | nedeptabil | 0,18 |
| Fibre prebiotice totale | 17,2 | 18,6 |

*Raportat la cantitatea de tărâțe de ovăz inițial supusă procedurii

Exemplul 4

Se lucrează ca în exemplul 2, numai că se folosesc 500 g borhot de orz de la fabricarea berii. S-au efectuat analize pentru aceleași ingrediente active ca în exemplele de mai sus. Datele din tabelul 4 demonstrează o creștere a biodisponibilității ingredientelor active din borhotul de orz de la fabricarea berii.

RO 132524 B1

Creșterea biodisponibilității ingredientelor active din borhotul de orz
de la fabricarea berii prin aplicarea procedurii conform invenției

Tabelul 4

| Ingredient activ | Borhot de orz de la fabricarea berii procesate (inițial) | Borhot de orz de la fabricarea berii procesate conform invenției* |
|--|--|---|
| Siliciu solubil (acid silicic), mg/100 g | 32,72 | 67,48 |
| Flavonoide totale, mg/kg | 427 | 873 |
| Polifenoli totali, mg/kg | 982 | 1780 |
| Activitate antioxidantă, mmol trolox/kg | 234 | 637 |
| Acid ferulic, mg/g | | |
| Liber | 21,35 | 46,72 |
| Total | 98,2 | 97,3 |
| Acid butiric, mg/g | nedeclabil | 0,18 |
| Fibre prebiotice totale | 42,3 | 44,8 |

*Raportat la cantitatea de Borhot de orz de la fabricarea berii inițial supus procedurii

Bibliografie

Bartłomiej S., Justyna R.-K., and Ewa, N. (2012). *Bioactive compounds in cereal grains-occurrence, structure, technological significance and nutritional benefits-a review*. Food science and technology international 18, 559-568.

Coradin T., Eglin D., and Livage J., (2004). *The silicomolybdic acid spectrophotometric method and its application to silicate/biopolymer interaction studies*. Journal of Spectroscopy 18, 567-576.

De Baere S., Eeckhaut V., Steppe M., De Maesschalck C., De Backer P., Van Immerseel F., and Croubels, S. (2013). *Development of a HPLC-UV method for the quantitative determination of four short-chain fatty acids and lactic acid produced by intestinal bacteria during in vitro fermentation*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis 80, 107-115.

Denisow B., and Denisow-Pietrzyk M. (2016). *Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review*. Journal of the Science of Food and Agriculture, n/a-n/a.

Dominguez E., Mercado A.J., Quesada A.M., and Heredia A. (1999). *Pollen sporopollenin: degradation and structural elucidation*. Sexual Plant Reproduction 12, 171-178.

Farooq M.A., and Dietz K.J. (2015). *Silicon as Versatile Player in Plant and Human Biology: Overlooked and Poorly Understood*. Frontiers in Plant Science. 6, 14.

Jurkic L.M., Ceganec I., Pavelic S.K., and Pavelic K. (2013). *Biological and therapeutic effects of ortho-silicic acid and some ortho-silicic acid-releasing compounds: New perspectives for therapy*. Nutrition & Metabolism 10, 2-2.

Komes D., Belscak-Cvitanovic A., Horzic D., Rusak G., Likic S., and Berendika, M. (2011).

RO 132524 B1

| | |
|---|----|
| Phenolic composition and antioxidant properties of some traditionally used medicinal plants affected by the extraction time and hydrolysis. <i>Phytochemical analysis</i> 22, 172-180. | 1 |
| Laddomada B., Caretto S., and Mita G. (2015). <i>Wheat Bran Phenolic Acids: Bioavailability and Stability in Whole Wheat-Based Foods</i> . <i>Molecules</i> 20, 15666-15685. | 3 |
| Mattila, P., and Kumpulainen, J. (2002). Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection. <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> 50, 3660-3667. | 5 |
| Mavredaki E., Neofotistou E., and Demadis K.D. (2005). <i>Inhibition and Dissolution as Dual Mitigation Approaches for Colloidal Silica Fouling and Deposition in Process Water Systems: Functional Synergies</i> . <i>Industrial & Engineering Chemistry Research</i> 44, 7019-7026. | 9 |
| Mărgăoan R., Mărghitaş L.A., Dezmiorean D.S., Dulf F.V., Bunea A., Socaci SA, and Bobiş, O. (2014). <i>Predominant and Secondary Pollen Botanical Origins Influence the Carotenoid and Fatty Acid Profile in Fresh Honeybee-Collected Pollen</i> . <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> 62, 6306-6316. | 11 |
| McCleary B.V., De Vries J.W., Rader J.I., Cohen G., Prosky L, Mugford D.C., Champ, M., and Okuma, K. (2010). <i>Determination of total dietary fiber (CODEX definition) by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: collaborative study</i> . <i>Journal of AOAC International</i> 93, 221-233. | 13 |
| Pruckler M., Siebenhandl-Ehn, S., Apprich S., Holtinger S., Haas C, Schmid E., and Kneifel, W. (2014). <i>Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization</i> . <i>LWT - Food Science and Technology</i> 56, 211-2-21. | 15 |
| Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., and Rice-Evans C. (1999). <i>Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay</i> . <i>Free radical biology and medicine</i> 26, 1231-1237. | 17 |
| Reynolds O.L., Keeping M.G., and Meyer J.H. (2009). <i>Silicon-augmented resistance of plants to herbivorous insects: a review</i> . <i>Annals of Applied Biology</i> 155, 171-186. | 19 |
| Sokolova T.A. (2013). <i>The destruction of quartz, amorphous silica minerals, and feldspars in model experiments and in soils: Possible mechanisms, rates, and diagnostics (the analysis of literature)</i> . <i>Eurasian Soil Science</i> 46, 91-105. | 21 |
| | 23 |
| | 25 |
| | 27 |
| | 29 |

RO 132524 B1

1

Revendicare

3

Procedeu de creștere a biodisponibilității ingredientelor active din materialul vegetal cu un conținut ridicat în siliciu, **caracterizat prin aceea că**, este alcătuit din următoarele etape: umectarea peste noapte a materialului vegetal cu un conținut ridicat de siliciu în apă distilată, în proporție de 1 parte material vegetal la 1 partea apă distilată; sterilizarea materialului vegetal umed prin trei cicluri repetate, de încălzire la 72...75°C timp de 25...30 min și răcire la temperatura camerei timp de 6 h; adăugarea aseptică peste materialul vegetal sterilizat a unei infuzii de ceai verde, obținută prin extragere timp de 10 min a 50 g de frunze de ceai în 1000 ml de apă fierbinte, de 90...95°C, în raport de 1 parte material vegetal inițial la 3 părți infuzie de ceai verde; adăugarea aseptică a unei soluții de 25...30% zaharuri fermentescibile, peste materialul vegetal cu infuzie de ceai verde, până la atingerea unei concentrații finale de 5...7% zaharuri fermentescibile; inocularea aseptică cu o colonie simbiotică de drojdii și bacterii, SCOBY, și incubarea la temperatura camerei, în condiții de microaerofilie, timp de 8...10 zile; omogenizarea la înaltă presiune a culturii SCOBY, a materialului vegetal și a biopeliculei de nanoceluloză cu microorganisme SCOBY, 10 cicluri la 100 MPa, urmată de omogenizarea cu maltodextrină în proporție de 1 parte material vegetal fermentat la 1 parte maltodextrină, 15 cicluri la 100 MPa; uscarea prin pulverizare a omogenatului rezultat, la o temperatură de intrare de 120...140°C și la o temperatură de ieșire de 70...75°C.

5

7

9

11

13

15

17

19



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 174/2022