

(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2016 00877

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

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

(71) Solicitant:
• COSFEL ACTUAL S.R.L. BUCUREȘTI,
CALEA GRIVIȚEI NT. 95-97, MANSARDA,
CAMERA M4, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B,
RO

(72) Inventatori:
• COSMULESCU SUSANA FELICIA,
STR. SERBOTA NR. 1, BL. V19, SC. 1,
AP. 159, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
• DRAGOESCU MARIUS FLORIN,
STR. STICLARI NR. 23B,
BOLDEȘTI-SCĂENI, PH, RO;

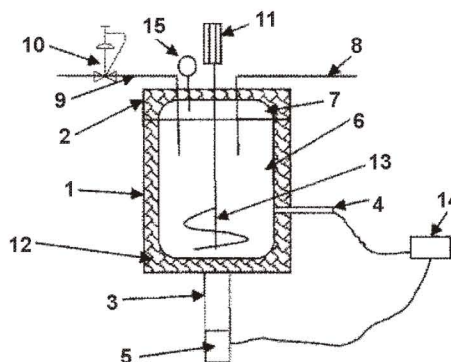
• RADU GABRIEL- LUCIAN,
ALEEA ROTUNDĂ NR.4, BL.H 6, SC.D,
AP.61, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;
• BADEA GEORGIANA ILEANA,
BD. ALEXANDRU OBREGIA NR. 24, BL. R2,
SC. A, AP. 34, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO;
• LITESCU SIMONA-CARMEN,
STR. AZURULUI NR. 1, BL. 113B, SC. 1,
ET. 7, AP. 45, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• AXINTE SORIN MIRCEA,
BD. ION MIHALACHE NR.40, BL.33B,
AP.10, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO

(54) APARAT ȘI PROCEDEU DE EXTRAȚIE ASISTATĂ
CU MICROUNDRE A β -CAROTENULUI DIN MORCOVI

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un aparat și la un procedeu de extracție a β -carotenului din morcovi. Aparatul conform invenției este format dintr-o incintă (1) metalică de formă cilindrică sau paralelipipedică, prevăzută la partea superioară cu un capac (2), la bază fiind montat un sistem de generare microundre (3 și 5), într-o incintă (1) fiind amplasat un vas (6) de extracție închis cu un capac (7) în care sunt prevăzute un ștuț (8) de alimentare cu gaz inert, un ștuț (9) de evacuare gaz, pe care este montat un retroregulator (10) cu reglaj, precum și un sistem de agitare a masei de reacție, un controler (14) de temperatură și un manometru (15) de joasă presiune. Procedeu conform invenției constă în aceea că un amestec de reacție, constituit din tăiței de morcovi, cu o umiditate remanentă de 20...35% și solvent ulei vegetal în raport 6:1...2:1, este supus extracției în câmp de microundre la o frecvență de 2450 MHz, o densitate de putere de 50...1500 W/kg un amestec de reacție, în atmosferă de azot la presiunea de 1,3...1,8 bar, rezultând extracte de morcov în ulei vegetal, având un conținut de β -caroten de 846...916 $\mu\text{g/g}$ substanță uscată.

Revendicări: 5
Figuri: 1



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).



**APARAT SI PROCEDEU DE EXTRACTIE ASISTATA CU MICROUND
A β -CAROTENULUI DIN MORCOVI**

Titular: SC COSFEL ACTUAL S.R.L., STR.GRIVITEI, NR. 95 - 97, MANȘARDA, CAMERA NR. 4, SECTOR 1, BUCUREȘTI, ROMANIA

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI Cerere de brevet de invenție Nr. a 2016 00 877 Data depozit22.11.2016.
--

Inventia de fata se refera la un aparat si un procedeu de extractie asistata cu microunde a β -carotenului din materiale vegetale (morcovi) cu umiditate controlata.

β -carotenul este un pigment organic rosu-portocaliu care este sintetizat biochimic in plante si fructe. β -carotenul este din punct de vedere chimic o hidrocarbura polinesaturata cu 40 atomi de carbon din clasa terpenoidelor (izoprenoidelor), care prezinta terminal doua cicluri beta. Din perspectiva utilitatii, β -carotenul este utilizat in industriile alimentara, cosmetica, farmaceutica, avand rol de agent antioxidant, colorant si antiinflamator. Cand este utilizat ca si colorant alimentar, β -acarotenul are codul E160a. Faptul ca produsul extras din plante poate avea diferite culori (galben, portocaliu si chiar si rosu) il recomanda ca inlocuitor al colorantilor alimentari de sinteza cu risc pentru sanatatea omului cum ar fi Tartrazina (E102), Galben FCF (E110), Eritrozina (E127) si Rosu (E129). In plus, activitatea semnificativa ca antioxidant a β -carotenului il pozitioneaza ca un inlocuitor eficace a antioxidantilor de sinteza. Principalele surse naturale de β -caroten le constituie resursele vegetale (ex. morcovii) respectiv fermentatia microbiana (ex. microalga *Dunaliella salina*). Ca urmare a structurii, β -carotenul este solubil in solventi organici, in timp ce solubilitatea in apa se obtine in conditiile emulsionarii acestuia.

Extractia β -carotenului se poate realiza in mod conventional prin utilizarea solventilor adecvati, acestea fiind tehnici simple si relative necostisitoare. Problemele pe care le ridica aceasta metoda conventionala consta in durata mare a extractiei care conduce la degradarea componentilor activi respectiv utilizarea unor solventi toxici cu impact negativ asupra sanatatii si asupra mediului inconjurator.

Cercetarile din ultimele doua decenii asupra extractiei compusilor naturali au condus la identificarea unor tehnici si metode inovative mai rapide si ecologice. Se cunoaste faptul ca extractia carotenoidelor se poate realiza prin tehnici ecologice utilizand microundele sau ultrasunetele. Extractia antioxidantilor asistata cu ultrasunete este aplicata pe larg datorita vitezei de extractie si a eficientei ridicate in timp ce extractia asistata cu microunde ajuta la eliberarea in scurt timp a compusilor bioactive din matricea probei, in solvent. Unul dintre aspectele limitative ale extractiei β -carotenului ca si compus termosensibil, il constituie temperatura de lucru care trebuie sa fie situata sub 65°C.

In brevetul US 5002784A1 se revendica o metoda de extractie a produsilor naturali din materiale de origine biologica utilizand un mediu de extractie combinat cu expunerea la radiatii cu microunde. Mediul de extractie este transparent la microunde (hexan, dicloroetan, etanol) si ramane la temperatura camerei in timpul iradierii. Extractiile pot avea loc in doua sau mai multe etape, cu extractanti diferiti pentru fiecare etapa. Materialul biologic este uscat si este hidratat sau rehidratat la o umiditate specificata inainte de uscare. Raportul dintre extractant si materialul biologic este cuprins in intervalul 1:1 pana la 20:1 (L/kg). Expunerea la microunde a amestecului se face pe durata a 10 pana la 100 secunde la o putere situata in domeniul 200 pana la 1000 W si o frecventa in microunde de 2000 – 30000 MHz.

Este cunoscut faptul ca materialul biologic absoarbe o parte din energia microundelor fapt ce conduce la cresterea temperaturii in material. Aceasta crestere de temperatura este mai pronuntata in materialul glandular si vascular al materialului biologic vegetal. Aceasta crestere de temperatura va determina o crestere a presiunii interne la o valoare mai mare decat capacitatea de expansiune a peretilor celulari, conducand astfel la ruperea acestora. In acest fel, substantele active de interes vor migra spre exteriorul materialului biologic si vor fi dizolvate in solvent. Problema tehnica pe care o rezolva propunerea de inventie consta in utilizarea unui procedeu de extractie asistat cu microunde a β -carotenului din morcovi, folosind un solvent adecvat. Prin aplicarea acestei metode neconventionale pentru extractia asistata cu microunde a β -carotenului in regim controlat, se obtin urmatoarele avantaje:

- extractia are loc intr-o singura etapa
- durata de extractie se reduce de la ore la zeci de minute
- extractia are loc intr-un solvent ecologic
- extractia se produce in absenta radiatiei UV
- ponderea de substanta activa in masa de produs final este de $x - x+k\%$.

Pentru extractia β -carotenului conform acestei descrieri de brevet se utilizeaza un reactor cu microunde tip multimod in regim dinamic, cu termostatare. Sistemul de generare de microunde al reactorului lucreaza in domeniul de frecventa 2,450 GHz, putand avea o densitate de putere in microunde de 15 – 3500 W/kg amestec de extractie, de preferinta intre 50 si 1500 W/kg. Durata de atingere a temperaturii de lucru este de 1 pana la de 30 minute. Pentru realizarea extractiei, se mentine amestecul la temperatura de lucru pe durata a 5 – 55 minute, in campul de microunde. Extractia se realizeaza sub atmosfera de azot.

Reactorul in care are loc extractia este confectionat din materiale transparente la microunde: sticla anorganica, cuar, teflon.

Etapele procesului de extractie conform descrierii de brevet sunt:

- (1) aducerea materialului biologic într-o formă divizată;
- (2) uscarea controlată a materialului biologic divizat;
- (3) asigurarea prezentei unei componente dispersate, care absoarbe radiația de microunde;
- (4) contactarea materialului biologic subdivizat cu un agent de extractie transparent sau parțial transparent la microunde;
- (5) expunerea amestecului de extractie, sub agitare, la acțiunea microundelor;
- (6) separarea materialului rezidual.

Materialul biologic (morcovii) este adusă într-o formă divizată sub forma de taitei utilizând un razator toculator. Materialul biologic astfel divizat este supus unei liofilizări controlate astfel încât umiditatea remanentă să fie situată în domeniul 10 – 40%, de preferință între 20 și 35%. Ca agent de extractie a β -carotenului se utilizează trigliceride naturale cu constantă dielectrică la 20°C având valoarea situată în intervalul 2,1 și 4,6, de preferință situată în intervalul 2,3 și 3,2. Raportul masic dintre extractant (solvent) și materialul biologic este situat în intervalul 10:1 până la 1:1, de preferință între 6:1 și 2:1. Omogenizarea amestecului se realizează utilizând un agitator elicoidal, viteza de agitare fiind în domeniul 1 la 80 rpm, de preferință în intervalul 5 la 30 rpm. Utilizarea agitării amestecului asigură atât o bună contactare a materialului biologic cu solventul cât și omogenizarea temperaturii în masa amestecului. Expunerea amestecului la microunde presupune două perioade de timp:

- perioada de încălzire, în care amestecul este adus la temperatura de operare; pentru această etapă, durata este cuprinsă între 5 și 35 minute, de preferință între 20 și 30 minute;
- perioada de extractie propriu-zisă, când are loc menținerea în regim izoterm a amestecului; pentru această etapă, durata este cuprinsă între 10 și 40 minute, de preferință între 20 și 35 minute.

Separarea fazei extrase de materialul rezidual se face prin filtrare sau centrifugare.

În continuare este descris echipamentul utilizat pentru extracția asistată cu microunde. Camera de reacție conform invenției presupune o încălț metalică realizată din metal (otel inoxidabil, aluminiu, fier) utilizată ca aplicator de microunde. Se da în continuare un exemplu de realizare a extractorului cu microunde în legătură și cu figura Fig. 1 care reprezintă vederea de ansamblu a aparatului de extractie asistată cu microunde.

Aparatul este format din încălț metalică **1** de formă cilindrică sau paralelipiped dreptunghic prevăzută la partea superioară cu un capac **2** care se montează pe încălț. Pe fundul încălței este prevăzut un gol tehnologic pentru montarea ghidului de undă **3** iar în

lateral este montat un termometru in infrarosu 4 pentru masurarea temperaturilor din vasul de reactie. La celalalt capat al ghidului de unda 3 este montat un magnetron 5, ce lucreaza la frecventa de 2450 MHz, impreuna cu transformatorul aferent. In incinta metalica este amplasat vasul de extractie 6 inchis cu un capac 7, ambele fiind realizate din material transparent la microunde. Capacul vasului de extractie are un stut de alimentare cu gaz inert 8, o evacuare a gazului din vas 9 care are montat un retroregulator cu reglaj 10. Pe capacul 7 mai este montat un sistem de agitare a masei de extractie constituit dintr-un motor electric 11 si agitator elicoidal 12. Sistemul este prevazut sa lucreze la diferite turatii, fiind prevazut cu un convertizor de frecventa. Asigurarea izolarii termice a vasului de extractive se realizeaza prin utilizarea unui material termoizolator transparent la microunde 13 care umple spatial liber dintre vas si incinta metalica. Ca material termoizolant transparent la microunde se poate folosi vata mineral din alumina, alumina cu zirconie sau alte material oxidice refractare sub diferite forme: vata, blocuri, panouri. Temperatura in masa de extractive este reglata cu ajutorul unui controler de temperatura 14, cu posibilitatea de a opera in diferite regimuri termice. Pentru monitorizarea presiunii de operare este montat pe capacul reactorului un manometru de joasa presiune 15.

In continuare se prezinta doua exemple de extractie a β -carotenului conform inventiei si rezultatele determinarii continutului in principii active ale probelor de extract de morcov, exprimat ca si continut in principiu activ pe unitate de masa de material vegetal.

Exemplul 1. Extractia β -carotenului in camp de microunde.

Intr-un aparat de extractie conform descrierii din inventie se pun in vasul de extractie 300 g taiteti de morcovi cu umiditatea de 26 %. Proba de taitei de morcovi a fost pastrata la temperatura de -18°C . Peste taiteii de morcovi se adauga 1200 g ulei de floarea soarelui degumat, cu un continut in acizi liberi de 0,10%. Dupa montarea capacului la vasul de extractie se monteaza capacul incintei metalice. Se porneste agitarea cu o viteza de 25 rpm. Agitarea functioneaza pe intreaga durata a procesului. Se alimenteaza vasul de extractie cu azot gazos. Se purjeaza de 3 pana la 6 ori gazele din vasul de extractie tinand retroregulatorul pe pozitia deschis. Se inchide retroregulatorul si se realizeaza o presiune de 1,5 bar. Dupa setarea controlerului de temperatura la valoarea de 35°C , se porneste incalzirea cu microunde utilizand o densitate de putere de 426 W/kg. Dupa 26 de minute, temperatura amestecului de extractie atinge valoarea setata. Amestecul de extractie este mentinut izoterm timp de 30 minute, utilizand un temporizator. Dupa perioada de extractie, se opreste sistemul de agitare si

se elibereaza presiunea din vasul de extractie. Se demonteaza capacul de la incinta respectiv capacul vasului de extractie si se filtreaza gradual utilizand un filtru de ulei cu cartus filtrant.

Exemplul 2. Extractia β -carotenului in camp de microunde.

Intr-un aparat de extractie conform descrierii din inventie se pun in vasul de extractie 300 g taitei de morcovi cu umiditatea de 26 %. Proba de taitei de morcovi a fost pastrata la temperatura de -18°C . Peste taiteii de morcovi se adauga 1200 g ulei de floarea soarelui degumat, cu un continut in acizi liberi de 0,10%. Dupa montarea capacului la vasul de extractie se monteaza capacul incintei metalice. Se porneste agitarea cu o viteza de 25 rpm. Agitarea functioneaza pe intreaga durata a procesului. Se alimenteaza vasul de extractie cu azot gazos. Se purjeaza de 3 pana la 6 ori gazele din vasul de extractie tinand retroregulatorul pe pozitia deschis. Se inchide retroregulatorul si se realizeaza o presiune de 1,4 bar. Dupa setarea controlerului de temperatura la valoarea de 35°C , se porneste incalzirea cu microunde cu gradient termic controlat, utilizand o densitate de putere de 200 W/kg. Dupa 30 de minute, temperatura amestecului de extractie atinge valoarea setata. Amestecul de extractie este mentinut izoterm timp de 30 minute, utilizand un temporizator. Dupa perioada de extractie, se opreste sistemul de agitare si se elibereaza presiunea din vasul de extractie. Se demonteaza capacul de la incinta respectiv capacul vasului de extractie si se filtreaza gradual utilizand un filtru de ulei cu cartus filtrant.

Exemplul 3.

Din extractele obtinute conform exemplelor 1 si 2 au fost prelevate probe care au fost analizate pentru determinarea continutului de β -caroten. Analizele s-au efectuat pe un sistem UFLC Prominence Shimadzu cu următoarele componente: pompe LC-20AD SP Shimadzu, degazor Shimadzu DGU-20A5-Degasser, detector Shimadzu SPD-M20A Diode Array Detector, CTO-20AC Column Oven, software LCMS solution, coloană Kromasil C18, 5 μm , 250 x 4.6 mm. Faza mobilă a fost filtrată printr-o membrană CHROMAFIL® 0-20/25 PTFE 0,22 μm și sonicată cu ajutorul unei băi de ultrasunete TRANSSONIC 460/H pentru eliminarea aerului dizolvat în soluție. Probele au fost filtrate prin filtre Millex Syringe Driven Filter Unit, 0,22 μm (Millipore) înainte de a fi injectate în aparat. Probele, extract de carotenoide in ulei vegetal, inaintea injectiei sunt diluate corespunzator in clorura de metilen.

Parametrii de operare ai sistemului cromatografic au fost: o faza mobila din doua componente, A - acetonitril (ACN) și B - metanol: clorura de metilen (MeOH : CH_2Cl_2), 50:50, v:v) elutie izocratica, A:B (40:60, v:v) cu un debit al fazei mobile de 0,8mL/min.

Experimentele au fost realizate la temperatura constantă de 300C în celula detectorului. Volumul de injecție folosit a fost de 20 μ L iar detecția specifică a analiților de interes s-a realizat la următoarele lungimi de undă: $\lambda_{\max} = 449$ nm – luteină, $\lambda_{\max} = 456$ nm – β -caroten, $\lambda_{\max} = 476$ nm – licopen.

Pentru cele doua exemple ale aplicarii extractiei asistate de microunde rezultatele obtinute raportate ca si continut de β -caroten pe gram de substanta uscata (taitei morcov uscata) si eficienta antioxidanta determinata prin metoda ORAC (Cao G, Alessio HM, Cutler RG (1993). "Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants". Free Radic. Biol. Med. 14 (3): 303–11. doi:10.1016/0891-5849(93)90027; Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL (2001). "Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe". J. Agric. Food Chem. 49 (10): 4619–26. doi:10.1021/jf010586o) sunt date in tabelul 1.

Tabel 1. Continutul de β -caroten si eficienta antioxidanta a extractelor de morcov in ulei vegetal obtinute prin procedeul de extractie asistata de microunde

Proba (tip extractie)	Continut β -caroten (μ g/g substanta uscata)	Eficienta antioxidanta ORAC, μ mol/g
Exemplul 1	916,05	561,81
Exemplul 2	846,04	636,08

Dupa cum se observa, ambele procedee conduc la obtinere unui continut ridicat de caroten, in timp scurt de extractie, cu mentinerea unei eficiente antioxidante satisfacatoare.

REVENDICARI

1. Aparat de extractie asistata cu microunde a componentelor active din materiale vegetale, caracterizat prin aceea ca:

a) este alcatuit dintr-o incinta metalica de forma cilindrica sau paralelipiped dreptunghica cu rol de cavitatea rezonatoare in care se amplaseaza un extractor confectionat din material transparent la microunde cum ar fi sticla borosilicica, cuar sau teflon

b) este echipat cu un sistem de generare microunde cu frecventa de 2450 MHz constituit dintr-un ghid de unda, magnetron si transformator de putere; sistemul generator de microunde este montat in partea inferioara a incintei metalice, injectarea de microunde in incinta avand loc printr-o gaura tehnologica practicata in peretele incintei metalice;

c) pe capacul vasului de extractie sunt montate un stut de alimentare cu gaz inert, un stut de evacuare gaze pe care este montat un retroregulator cu reglaj, un manometru, sistem de agitare cu viteza controlata constituit din motor electric, convertizor de frecventa, agitator elicoidal;

d) izolarea termica a vasului de extractie se realizeaza cu material termoizolant transparent la microunde pe baza de alumina sau alumina si zirconie sau alte materiale oxidice refractare, sub diferite forme ca vata, blocuri, panouri, .

2. Procedeu de extractie a β -carotenului din morcovi utilizand un aparat conform revendicarii 1 caracterizat prin aceea ca:

a) se realizeaza in camp de microunde la o frecventa de 2450 MHz si la un nivel de densitate de putere de microunde de 15...3500 W/kg amestec de reactie, de preferinta intre 50 si 1500 W/kg amestec de reactie;

b) se utilizeaza ca agent de extractie a β -carotenului trigliceride naturale cu constanta dielectrica la 20°C avand valoarea situata in intervalul 2,1 si 4,6, de preferinta situata in intervalul 2,3 si 3,2, raportul masic dintre extractant (solvent) si materialul biologic fiind situat in intervalul 10:1 pana la 1:1, de preferinta intre 6:1 si 2:1.

3. Procedeu conform revendicarilor 1 si 2 caracterizat prin aceea ca extractia β -carotenului are loc sub atmosfera de azot la presiunea de 1,1...2,5 bar, de preferinta 1,3...1,8 bar.

4. Procedeu conform revendicarilor 1, 2 si 3 caracterizat prin aceea ca perioada de incalzire a amestecului pentru extractie se realizeaza in camp de microunde, cu gradient controlat, in 5...35 minute, de preferinta intre 20...30 minute, iar perioada de extractie are loc izoterm in camp de microunde cu actiune intermitenta pe durata a 10...40 minute, de preferinta 20...35 minute.

5. Procedeu conform revendicarilor 1, 2, 3 si 4 caracterizat prin aceea ca materialul biologic este adus sub forma divizata sub forma de taitei si supus unei liofilizari controlate cu o umiditate remanenta situate in domeniul 10 ... 40%, de preferinta intre 20 ... 35%.

Fig. 1. Aparat de extractie asistat cu microunde

1. Incinta metalica de forma cilindrica, 2. Capac, 3. Fereastra pentru montarea ghidului de unda, 4. Termometru in infraros, 5. Magnetron, 6. Vas de extractive, 7. Capac, 8. Stut de alimentare cu gaz inert, 9. Evacuare a gazului din vas, 10. Retroregulator cu reglaj, 11. Motor electric, 12. Agitator elicoidal, 13. Termoizolator transparent la microunde, 14. Controler de temperature, 15. Manometru de joasa presiune.

