



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2020 00147**

(22) Data de depozit: **23/03/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/09/2021 BOPI nr. **9/2021**

(71) Solicitant:

- UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ DIN CLUJ-NAPOCA, CALEA MĂNĂȘTUR NR.3-5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- VODNAR DAN CRISTIAN, STR.REPUBLICII, NR.11A, AP.5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- MITREA LAURA, STR.ROVINE, NR. 33, BL.RO10, SC.1, AP.2, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- DULF FRANCISC VASILE, STR.LIVEZII, NR.28, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- TRIF MONICA, STR. GAROAFELOR, NR.25, APAHIDA, CJ, RO;
- SOCACI SONIA, STR.PROF. IOAN RUSU, NR.42G, AP.6, FLOREȘTI, CJ, RO;
- POP OANA LELIA, STR.PORȚILE DE FIER, NR.2, BL.B12, SC.2, AP.36, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- SIMON ELEMER, BD.1 DECEMBRIE, BL.3, SC.B, AP.16, LUDUȘ, MS, RO;

• VODNAR BIANCA EUGENIA,
STR.REPUBLICII, NR.11A, AP.5,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:

- VODNAR DAN CRISTIAN,
STR.REPUBLICII, NR.11A, AP.5,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- MITREA LAURA, STR.ROVINE, NR.33,
BL.RO10, SC.1, AP.2, CLUJ-NAPOCA, CJ,
RO;
- DULF FRANCISC VASILE, STR.LIVEZII,
NR.28, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- TRIF MONICA, STR.GAROAFELOR,
NR.25, APAHIDA, CJ, RO;
- SOCACI SONIA, STR.PROF. IOAN RUSU,
NR.42G, AP.6, FLOREȘTI, CJ, RO;
- POP OANA LELIA,
STR.PORȚILE DE FIER, NR.2, BL.B12,
SC.2, AP.36, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- SIMON ELEMER, BD.1 DECEMBRIE, BL.3,
SC.B, AP.16, LUDUȘ, MS, RO;
- VODNAR BIANCA EUGENIA,
STR.REPUBLICII, NR.11A, AP.5,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(54) **COMPOZIȚIA ȘI PROCEDEUL DE OBTINERE A ACIDULUI CITRIC BIOGENIC MICROÎNCAPSULAT**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a acidului citric biogenic microîncapsulat utilizat ca aditiv alimentar. Procedeu, conform invenției, constă în cultivarea tulpinii *Yarrowia lipolytica* ATCC20177 pentru biosinteza acidului citric (AC), izolarea și purificarea AC din mediul de cultivare și microîncapsularea AC biogenic în

matrice de maltodextrină prin tehnica uscării prin pulverizare, rezultând o pulbere stabilă de AC, extrafină cu o dimensiune a particulei de aproximativ 20 μm.

Revendicări: 2

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).



COMPOZIȚIA ȘI PROCEDEUL DE OBTINERE A ACIDULUI CITRIC BIOGENIC MICROÎNCAPSULAT

Descrierea invenției:

Această invenție face obiectul unui nou aditiv alimentar prezentat sub forma unei pulberi extrafine, constând în acid citric (AC) biogenic microîncapsulat în matrice de maltodextrină. Invenția reprezintă un tip de aditiv alimentar ce poate fi integrat cu ușurință în tehnologia de obținere a alimentelor și băuturilor ca și potențator de gust, aromatizant, stabilizator și agent de conservare. Deși AC se regăsește în concentrații mari în multe fructe, nu este economică extragerea acestuia din produsele vegetale în scop industrial. Mai mult decât atât, cererea de acid citric depășește cu mult oferta de fructe sau de citrice disponibile. În industria alimentară AC este recunoscut de către FDA (Food and Drug Administration) ca fiind GRAS (Generally Recognized As Safe) și este comercializat ca și aditiv alimentar E330.

Până în momentul actual se cunosc procedeele de obținere (atât prin sinteză chimică, cât și prin procese de fermentație cu ajutorul tulpinilor fungice precum *Penicillium* și *Aspergillus* pornind de la resurse glucidice), de purificare (prin precipitare) și de concentrare a AC, și care sunt prezentate în brevetele *US2537004A*, *US5426220A*, *US2394031A*, *US3632476*, *EP0324210A1*, *EP1096020A1*, *WO1996008459A1*, *WO1997015545A1*. De asemenea, utilizarea de AC în stare pură în produse alimentare ca și agent de conservare, antioxidare și aromatizare este prezentată în brevetele *EP0038684A1*, *EP2443942A1*, *US4818549A*, *WO2015053810A1*.

Invenția de față se prezintă ca și o pudră extrafină alcătuită din AC biogenic (biosintetizat de către tulpini de drojdii de tipul *Candida* și *Yarrowia*), în concentrație de 1% microîncapsulat în matrice de maltodextrină 40%. Invenția se adresează domeniului alimentar în scopul de a modifica percepția senzorială asupra anumitor caracteristici organoleptice cum sunt gustul sau aroma pentru anumite alimente sau băuturi care se dorește a fi dulci și cu un gust ușor acru. Prin microîncapsulare AC este protejat de posibilele reacții ce pot să apară în matricea în care este integrat. AC microîncapsulat este foarte stabil în condiții de normale depozitare. Microcapsulele de AC oferă stabilitate aromelor produselor alimentare în care este integrat, asigură protecția unor compuși bioactivi având capacitate antioxidantă, și de asemenea, acesta se dizolvă integral în medii apoase putând fi utilizat cu succes și în cadrul băuturilor.

Unul dintre scopurile prezentei invenții a fost de a alătura două matrici alimentare (AC și maltodextrină) în formula unei singure pudre extrafine, în vederea înlocuirii numărului ridicat de aditivi și îndulcitori artificiali care se adaugă în diferite produse alimentare. Așadar, prin încorporarea de AC biogenic microîncapsulat în produse alimentare nu mai este necesară adăugarea de îndulcitori artificiali cum sunt aspartamul, ciclamatul, zaharina sau sucraloza datorită maltodextrinei care încapsulează AC și care are gustul dulce. În aceeași măsură AC microîncapsulat protejează matricea alimentară împotriva oxidării și a degradării compușilor bioactivi conținuți de aceasta, iar odată consumat AC biogenic acționează ca și agent antioxidant la nivelul diferitelor organe. AC microîncapsulat prelungește durata de viață a produselor alimentare ce îl conțin îndeplinind rolul de agent conservant, atât a celor cu păstrare la temperaturi normale (20°C), cât și a celor ce necesită temperaturi de refrigerare (4°C) sau congelare (-20°C). AC microîncapsulat în maltodextrină poate fi ușor integrat în deserturi de tipul jeleurilor, acesta având rol stabilizant asupra rețelelor polimerice.

Originalitatea invenției se datorează aspectului sub care este formulat AC biogenic, și anume sub formă de microsferă acoperite de maltodextrină care îi oferă un grad ridicat de stabilitate în timp atât pe perioada depozitării, cât și în matricile în care urmează a fi încorporat.

Modul de obtinere a AC biogenic microîncapsulat în matrice de maltodextrină:

AC este un acid organic cu largă aplicabilitate în diferite domenii (industria alimentară, industria farmaceutică, producerea de cosmetice), și poate fi obținut atât prin sinteză chimică, cât și prin mijloace biologice. AC este foarte stabil la temperaturi înalte de până la 345 °C, aspect ce îl califică atât pentru integrarea în matrici alimentare care urmează a fi procesate termic, cât și pentru procesul de microîncapsulare ce se realizează la temperaturi ridicate nefiindu-i alterată stabilitatea.

Etaplele principale care au dus la concretizarea prezentei invenții au fost următoarele: (a) selectarea tulpinii microbiene producătoare de AC, (b) cultivarea tulpinii selectate în vederea biosintezei de AC, (c) izolarea și purificarea AC din mediul de cultivare, și (d) microîncapsularea AC biogenic în matrice de maltodextrină prin tehnica uscării prin pulverizare.

(a) În urma studiului de literatură aprofundat s-a ales spre cultivare tulpina *Yarrowia lipolytica* ATCC 20177 datorită abilității sale de a produce AC în mod natural, și datorită creșterii rapide și eficiente a acestei tulpini.

(b) AC biogenic a fost obținut prin fermentarea glucozei de către tulpina *Y. lipolytica*. Procesul de fermentație s-a realizat pe parcursul a 7 zile în interiorul unui bioreactor în condiții controlate de temperatură, pH și aerare astfel încât să se obțină concentrația maximă de AC biogenic.

(c) La finalul procesului de fermentație biomasa celulară a fost îndepărtată, iar mediu de cultură a fost supusă unui protocol de purificare. AC biogenic obținut se prezintă sub forma unei soluții cristalizate ușor incoloră.

(d) AC obținut a fost microîncapsulat în matrice de maltodextrină prin tehnica uscării prin pulverizare, metodă denumită și atomizare, sau *spray-drying*. Atomizarea a presupus pulverizarea unui volum de 100ml soluție de maltodextrină 40% și AC 1% perfect omogenizată la o presiune de aprox. 4 bari și temperatura de 140 °C, rezultând o pulbere extrafină cu o dimensiune a particulei de aprox. 20μm. Această etapă face obiectul prezentei invenții datorită faptului că matricea aleasă (maltodextrină 40%) și concentrația de AC încorporată (1%) oferă stabilitate produsului final obținut pe o perioadă îndelungată de timp.

Avantajele utilizării prezentei invenții:

- utilizat sub formă de pulbere, AC poate fi ușor integrat în matrici alimentare solide;
- gradul ridicat de dizolvare al AC microîncapsulat îl face mult accesibil diferitelor tipuri de băuturi;
- fiind formulat sub formă atomizată, AC este mult mai stabil în condiții de depozitare, și în același timp posedă o eliberare controlată în matricile în care este încorporat;

Revendicări:

1. Compoziția pudrei de acid citric biogenic microîncapsulat **caracterizat prin faptul că** acesta se obține prin atomizarea unei soluții de 1% AC în maltodextrină 40%, prin aplicarea tehnicii de spray-drying.
2. Procedeul de obținere a pudrei de AC biogenic microîncapsulat **caracterizat prin aceea că** AC este produs în urma unor procese biotehnologice care implică utilizarea unei drojdii de *Yarrowia lipolytica* ATCC 20177 cu potențial de a converti glucoza în AC. Acidul citric obținut în urma fermentației este cuantificat, extras și purificat din mediul de cultură, urmând a fi supus procesului de atomizare (spray-drying) în vederea formulării pudrei de AC biogenic. Pudra obținută se împachetează și se depozitează până la utilizarea ulterioară a acesteia în matrici alimentare ca și aditiv.