



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2021 00670

(22) Data de depozit: 08/11/2021

(41) Data publicării cererii:
30/03/2022 BOPI nr. 3/2022

(71) Solicitant:

• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
ȘTIINȚE BIOLOGICE BUCUREȘTI,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR. 296,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• SANTO RAPHAEL S.R.L.,
BD.DIMITRIE POMPEIU, NR.3-5,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

• OANCEA ANCA OLGUȚA, STR.PAȘCANI,
NR.5, BL.D7, SC.E, ET.2, AP.45,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• MOLDOVAN LUCIA,
BD.CONSTRUCTORILOR NR.24, BL.19,
SC.A, AP.13, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;

• MIHAI ELENA, ALEEA FIZICIENILOR,
NR.8, BL.3D, SC.2, ET.3, AP.73, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• CIUCAN TEODORA, ALEEA CIUCEA,
NR.1, BL.P19 BIS, SC.1, PARTER, AP.02,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;
• TATIA RODICA, STR.EROU ADRIAN
FULGA NR.3, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• COROIU VIORICA,
STR.DEALUL ȚUGULEA NR.46-50, BL.12,
SC.B, AP.50, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• GHENEA ANA MARIA,
STR.HANUL ANCUȚEI, NR.3, BL.147, SC.1,
ET.2, AP.8, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• PÎRVU MIHAELA, STR.SOLDAT PETRE
M.TINA, NR.2, BL.L9B, SC.2, ET.8, AP.106,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(54) **ALIMENT FUNCȚIONAL UTILIZABIL CA ADJUVANT
ÎN DIETA HIPOCALORICĂ ȘI PROCEDEU DE OBTINERE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un aliment sub formă de baton alimentar hipoglicemic cu efecte antioxidante și prebiotice amplificate utilizat ca adjuvant în dieta hipocalorică și la un procedeu de obținere. Alimentul conform invenției este constituit din 15...35% pulbere din fructe de pădure cu un conținut de 15...20% afine, 1,5...3,5% merișor, 2,0...3,5% cătină, 2,0...3,0% coacăze negre, cu substanța uscată de minim 20%, 50...70% bază de extracție formată din sirop de malț și miere în raport de 3 : 1,5...15% semințe de chia, 0,5...1,5% sămburi de caise și alune măcinate, 1,0...2,0% glazură formată din unt de cacao, ulei de cocos și masă de cacao în raport 1: 1, 2, 0...3,0% pudră de cacao care înglobează semințele de chia și 0,001...0,005% sare de Himalaya, alimentul condiționat sub formă de batoane glazurate având următoarele valori nutriționale pentru 100g baton: 380...450 kcal valoare energetică, 20...40% glucide, 10...22% grăsimi, 4...14% fibre, 1...15% proteine și 0...0,3% sare. Procedeu conform invenției are următoarele etape:

a) obținerea amestecului format din fructe de pădure cu substanță uscată 15...30% și sare de Himalaya, macerarea acestuia timp de 24...48 ore și

uscarea la o temperatură cuprinsă între 40...45°C timp de 1...3 zile, urmată de mărunțire mecanică până la stadiul de pulbere fină,

b) extracția polifenolilor dintr-o altă șarjă de reziduu umed de fructe de pădure cu 10 volume de etanol 50...70% timp de 24...48 ore la temperatura camerei, urmată de extracția polizaharidelor cu 10 volume de apă distilată timp de 3...6 ore la 90...100°C, concentrarea la 60°C și purificarea polizaharidelor prin precipitare cu etanol 70...80%, centrifugare la 10000...15000 rpm și în final concentrare prin evaporare la 37°C,

c) înglobarea amestecului de polifenoli și polizaharide,

d) prepararea bazei de extracție,

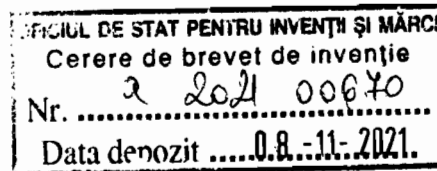
e) obținerea compoziției vâscoase,

f) porționarea compoziției sub formă de batoane, glazurare, ambalare în pungi și depozitare la temperaturi de sub 10°C.

Revendicări: 2

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, 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).





15

ALIMENT FUNCȚIONAL UTILIZABIL CA ADJUVANT ÎN DIETA HIPOCALORICĂ ȘI PROCEDEU DE OBTINERE

**Autori: Anca Oancea, Lucia Moldovan, Elena Mihai, Teodora Ciucan, Tatia Rodica,
Viorica Coroiu, Ana Maria Ghenea, Mihaela Pîrnu**

Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere al unui aliment funcțional hipocaloric cu un conținut crescut de polifenoli și polizaharide bioactive, compuși rezultați prin valorificarea superioară a reziduurilor (pomace) obținute după extracția sucului din fructe de pădure (afine, cătină, coacăze, merișor) și din semințe de chia, ingredientele bioactive fiind înglobate într-o matrice de încapsulare formată dintr-un amestec de izolat proteic din zer și inulină și procedeu de obținere a acestuia.

Produsul, conform invenției, se prezintă sub formă de baton alimentar hipoglicemic și are efecte antioxidante și prebiotice amplificate, ceea ce-i conferă un potențial aplicativ ridicat ca adjuvant în dieta hipocalorică.

Obezitatea este o problemă gravă de sănătate publică a secolului XXI și reprezintă o cauză importantă de morbiditate și mortalitate atât la adulți cât și la adolescenți și copii (**Engin A, *Adv Exp Med Biol*, 2017, 960: 1-17**). Pe lângă scăderea calității vieții și a speranței de viață, obezitatea determină un risc crescut de boli cronice precum diabetul de tip 2, bolile cardiovasculare, hipertensiunea, astmul bronșic, bolile de stomac și ficat, bolile articulare și anumite tipuri de cancer (**Lauby-Secretan et al, *Eng J Med* 2016, 375(8): 794-798**). De asemenea, pentru societate în ansamblu, această patologie implică direct și indirect costuri care impun o povară asupra sistemului de sănătate și al resurselor sociale. La nivel mondial, în 2016, peste 39% din adulți erau supraponderali iar dintre aceștia 13% erau obezi. Statisticile arată că țara noastră ocupa locul 3 în Europa în clasamentul supraponderalilor, atât la adulți cât și la copii. Conform OMS unul din patru copii români suferă de obezitate, ceea ce îngrijorează pe specialiști deoarece problemele de greutate apărute la o vârstă fragedă afectează atât dezvoltarea fizică cât și cea emoțională care sunt asociate cu boli grave precum cele de inimă, rinichi sau diabet (**Cimpeanu O et al, *Health, Sports & Rehabilitation Medicine*, 2019, 20(1), 26-31**). Prin



urmare, este un interes considerabil să se dezvolte noi produse alimentare funcționale benefice sănătății umane.

Se cunoaște că efectele benefice ale alimentelor funcționale asupra sănătății sunt datorate unor compuși biologic activi cu roluri fiziologice în organism. Având în vedere tendințele actuale de folosire a alimentelor integrale, fortificate și îmbunătățite care oferă beneficii de sănătate atunci când sunt consumate, s-au intensificat cercetările privind identificarea compușilor biologic activi de origine vegetală și animală care reduc riscul de apariție a unor boli cronice precum ateroscleroza, diabetul, hipertensiunea arterială, infarctul de miocard, etc. Cea mai investigată clasă de biocompuneți o reprezintă acizii grași esențiali omega 3 cu beneficii în boli cardio-vasculare, artrita reumatoidă, având și proprietăți neuroprotective (fiind esențiali pentru funcționarea creierului și creșterea fluidității membranelor neuronale) (brevet **US 10 856 564 B2**). O altă clasă o reprezintă probioticele care sunt microorganisme vii, în general bacterii (ex. *Lactobacillus acidophilus*), care au influență pozitivă asupra tractului digestiv și urinar, stimulează funcția sistemului imun, reduce colesterolul și hipertensiunea. Prebioticele (inulină, oligozaharide) sunt bogate în fibre insolubile care favorizează creșterea în intestinul gros a bacteriilor cu efecte benefice și inhibă creșterea bacteriilor potențial nocive (*Escherichia coli*). Grăsimile din semințele de plante conțin steroli și glicozide, care sunt constituenți ai structurii membranelor celulare cu acțiune benefică asupra sănătății.

În literatura brevetelor sunt prezentate o serie de compoziții de alimente funcționale care conțin unul sau mai mulți compuși descriși mai sus. Brevetul **CA 2739440C/2018** descrie o metodă de extracție a acizilor grași polinesaturați omega 3, cunoscuți ca acizi grași esențiali ce nu se sintetizează de către organisme și trebuie administrați prin alimentație, din biomasă umedă de microalge. De asemenea, în brevetul **US 10 856 564 B /2019** se prezintă o emulsie ce conține acizi grași omega-3 stabilizată prin înglobare într-o rețea cristalină de derivați de celuloză, concepută pentru a prezenta o stabilitate și biodisponibilitate mai mare și rezistență la acțiunea enzimelor gastrice în scopul utilizării în compoziția suplimentelor nutritive și a unor medicamente.

Studii anterioare privind metodele de tratament și prevenție a diabetului zaharat și a altor boli metabolice au evaluat efectul unui extract de fructe de palmier, genul *Elaeis*,



în tratarea diabetului la șoareci cu niveluri ridicate de glicemie. Concluzia studiilor a fost că în urma administrării acestui extract la animale s-a redus considerabil progresia diabetului, evidențiat prin scăderea glicemiei și a parametrilor lipidici, efecte datorate compușilor fenolici prezenți în extract care au acționat ca antioxidanți puternici protejând celulele pancreatice de speciile reactive de oxigen (Brevet **US 8 071 143 B2/ 2011**).

De asemenea, au fost descrise diferite compoziții ce contin compuși bioactivi naturali sau de sinteză cu efect hipoglicemic. Astfel, brevetul **AU 2011201268 B2 / 2011** se referă la o compoziție care previne obezitatea și are la bază un amestec de extracte de plante (*Melissa officinalis*, *Artemisia capillaris* și *Mori folium*) în diferite rapoarte de combinare, obținute prin extracție în apă sau cu solvenți organici. Compoziția acestui amestec de extracte bogată în flavonoide, glicozide, hormoni, acizi fenolici, administrată șoarecilor cu obezitate indusă, a indicat reducerea greutateii lor corporale, scăderea nivelului colesterolului și a glucozei din sânge. Brevetul **US 8 029 832 B2/ 2011** protejează o compoziție pe bază de derivați de chinone terpenice izolați din extracte de rădăcini de salvie (*Salvia miltiorrhiza*) cu efect de îmbunătățire a activității metabolice. Activitatea de inhibare a diferențierii adipocitelor s-a demonstrat prin testarea *in vitro* a acțiunii acestei compoziții asupra celulelor preadipocite 3T3-L1 și F442. Brevetul **US 8 999 423 B2/ 2015** prezintă o compoziție energizantă pe bază de cazeină micelară, care se consumă pe cale orală și are aplicații în nutriția vârstnicilor și a pacienților cu carențe nutriționale. În brevetul **US 0223589A1/2019** este protejat un produs nutrițional pe bază de fructe (papaya, piersici, ananas, banane, cireșe, prune uscate, mere și portocale) bogate în flavonoide, fibre solubile și micronutrienți cu efect antiinflamator, imunostimulator, antioxidant și benefic pentru digestie.

Formulări ale unor suplimente alimentare administrate persoanelor cu diabet sau cu risc de a dezvolta aceasta boală au fost prezentate și în cererea de brevet **US 0000930 A1/2019**. Componentele esențiale ale acestor preparate sunt: proteine din mazăre, cânepă, orz, anghinare și semințe de chia, fosfolipide, vitamine, extract de turmeric, metionină, compuși bogați în magneziu, seleniu, ginseng, amestec de enzime, etc. În urma administrării suplimentelor alimentare pe cale orală la subiecți umani s-a evidențiat



reducerea semnificativă a valorilor unor markeri biologici cum ar fi hemoglobina glicozilată, colesterolul total, trigliceridele și homocisteina.

În ultimele decenii, s-au acumulat dovezi care demonstrează că polifenolii (flavonoide, acizi fenolici) și polizaharidele izolate din plante și/sau fructe prezintă activități antioxidante, antimicrobiene, antiinflamatoare și prebiotice. Datorită multitudinii de beneficii pentru sănătate, polifenolii sunt o sursă adecvată pentru aplicații în industria alimentară funcțională, suplimentele alimentare sau industria cosmetică. Cu toate acestea, polifenolii sunt extrem de instabili atunci când sunt expuși la condiții diferite, cum ar fi lumina, căldura sau pH-ul ridicat (**Oliver S, *Polimer Chemistry*, 2016, 56(10), 1630-1639**). În plus, mulți polifenoli au o caracteristică de solubilitate slabă în soluții apoase utilizate în industria alimentară, nutraceutică sau cosmetică. Această caracteristică reprezintă un dezavantaj tehnologic și restricționează încorporarea polifenolilor în multe produse funcționale alimentare/nutraceutice. Astringența este o altă proprietate specifică a polifenolilor care limitează utilizarea acestora pentru a îmbogăți alimentele funcționale. Polifenolii precipită proteine salivare, în special alfa amilaza salivară și generează un gust neplăcut și efect de uscare a dinților și a limbii. Cu toate acestea, funcția de inhibare a alfa amilazei este benefică în cazul tratamentului de susținere a diabetului de tip 2 și a altor disfuncții metabolice (**Xiao J et al, *Current Medicinal Chemistry*, 2015,22(1): 23-38**). O altă limitare a utilizării polifenolilor în compoziția alimentelor funcționale este legată de bariera gastrică creată de modificări ale structurii acestor compuși care afectează absorbția și bioactivitatea lor (**Alminger M et al, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, 13(4): 413-436**). Prin urmare, este un interes considerabil să se dezvolte sisteme de încapsulare a polifenolilor pentru a depăși aceste probleme legate de utilizarea lor. Printre cele mai recente sisteme de încapsulare dezvoltate sunt cele bazate pe diferite tipuri de biopolimeri (**Zhang L, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019,1-15**)

Problema tehnică pe care o rezolvă alimentul funcțional **conform invenției** constă în obținerea unui produs stabil și complex pentru dieta hipocalorică, condiționat sub formă de baton alimentar hipoglicemic, conținând polifenoli și polizaharide, compuși bioactivi izolați din subproduse de fructe de pădure (afine, merișor, cătină și coacăze negre) în



amestec cu semințe de chia, sâmburi de caise și alune, care prezintă proprietăți biologice emergente, respectiv un grad ridicat de biodisponibilitate și efect antioxidant amplificat. În plus, sunt eliminate dezavantajele de mai sus deoarece polifenolii și polizaharidele din compoziția produsului pot fi înglobați într-o matrice de microîncapsulare pe bază de proteine din zer și inulină în scopul îmbunătățirii stabilității lor fizico-chimice, a caracteristicilor biologice și a gustului astrigent al polifenolilor. Procedul de obținere al acestor compuși activi își propune în principal valorificarea superioară a unor reziduuri generate de industria alimentară contribuind astfel la atenuarea poluării mediului.

Batonul hipocaloric, conform invenției constă în: 15...35% pulbere din fructe de pădure (ce conține 15...20% afine, 1,5...3,5% merișor, 2,0...3,5% cătină, 2,0...3,0% coacăze negre) cu substanță uscată de minim 20%, 50...70 % bază de extracție formată din sirop de malț și miere, în raport de combinare de 3:1 (g/g), 5...15% semințe de chia, 0,5...1,5% sâmburi de caise și alune măcinate, 1,0...2,0% glazură formată din unt de cacao, ulei de cocos și masă de cacao, raport de combinare 1:1:1 (g/g/g), 2,0...3,0% pudră de cacao care înglobează semințele de chia și 0,001...0,005% sare de Himalaya. Compoziția poate fi îmbogățită cu 5...10% amestec de polifenoli și polizaharide în raport de 5:1 (g/g), extras din pulberea de fructe de pădure și apoi înglobat într-o matrice de microîncapsulare obținută din amestecarea a 2 părți izolat proteic din zer și 1 parte inulină, iar raportul dintre amestecul polifenoli/polizaharide și matricea de microîncapsulare a fost de 2:1 g/g.

Compoziția este condiționată sub formă de batoane glazurate și prezintă următoarele valori nutriționale per 100g baton: 380...450 kcal valoare energetică, 20...40% glucide, 10...22% grăsimi, 4...14% fibre, 1...15 % proteine și 0...0,3% sare.

Batonul, conform invenției este util în prevenirea bolilor metabolice precum diabetul, menținerea nivelului de zahăr în sange la persoanele cu risc de a dezvolta această boală, reducerea necesității de administrare a insulinei la persoanele diagnosticate cu aceasta boală.

Procedul de obținere al acestui produs, conform invenției, constă în următoarele:



- a. obținerea amestecului format din reziduu umed de fructe de pădure (afine, cătină, coacăze, merișor) cu substanță uscată de 15...30% și sare de Himalaya, macerarea acestuia timp de 24...48 ore, urmată de uscare la temperatura de 40... 45°C, timp de 1...3 zile și mărunțire mecanică sub formă de pulbere fină;
- b. extracția polifenolilor dintr-o altă șarjă de reziduu umed de fructe de pădure cu 10 volume de etanol 50...70% timp de 24...48 ore la temperatura camerei, urmată de extracția polizaharidelor cu 10 volume de apă distilată la temperatura de 90... 100°C, timp de 3...6 ore, concentrarea la 60°C și purificarea polizaharidelor prin precipitare cu etanol 70...80%, centrifugare la 10000...15000 rpm și în final concentrare prin evaporare la 37°C;
- c. înglobarea unui amestec de polifenoli și polizaharide în raport de 2:1...5:1 într-o matrice de microîncapsulare, obținută în urma amestecării unui izolat proteic total din zer și inulină în raport de combinare de 2:1 g/g, prin agitare timp de 24 ore la 40...50°C, urmată de coacervarea amestecului la pH 4...5 și uscarea prin liofilizare timp de 48...72 ore;
- d. prepararea bazei de extracție formată din sirop de malț și miere de albine în raport de 3:1 g/g, prin omogenizarea amestecului la temperatura de 28...32°C;
- e. obținerea compoziției vâscoase prin introducerea în baza de extracție a amestecului de pulbere din fructe de pădure, cu/fără amestecul de polifenoli și polizaharide microîncapsulat, sămburi de caise și alune măcinate, semințe de chia și omogenizarea lor la temperatura de 20...30° C, timp de 6...8 ore;
- f. porționarea compoziției sub formă de batoane cu dimensiuni de 10x5x1...1,5 cm și greutate de 40...60g, urmată de depozitarea acestora la temperatura sub 10°C, minim 24 de ore;
- g. formarea unei glazuri prin amestecarea de unt de cacao, ulei de cocos și masă de cacao, în părți de greutate egale;
- h. prepararea unui amestec de pudră de cacao și semințe de chia, în raport de combinare de 20:1...50:1 g/g;
- i. imersarea batoanelor, aduse de la cameră de frig, inițial prin glazură și apoi prin amestecul de pudră de cacao și semințe de chia;



j. ambalarea în condiții controlate (în vid) a batoanelor glazurate în pungi speciale și depozitarea acestora la temperaturi sub 10° C.

Prin aplicarea prezentei invenții se obțin următoarele avantaje:

- procedeul descris constituie o metodă optimă de obținere a batonului hipocaloric prin valorificarea superioară a unor reziduuri de fructe de pădure (afine, coacăze, cătină, merișor), reziduu care necesită măsuri speciale de depozitare (uscarea sau predare ca deșeu la centre specializate) existând riscul să fermenteze;
- produsul obținut conform procedurii prezentat este o combinație optimă, cu proprietăți emergente, de polifenoli și polizaharide din fructe de pădure și semințe de chia și este utilizat ca adjuvant pentru dieta hipocalorică;
- produsul are un efect antioxidant sinergic conținând atât polifenolii și polizaharidele existente în sursele folosite cât și o matrice de microîncapsulare pe bază de izolat proteic din zer și inulină, care înglobează amestecul sinergic cu acțiune antioxidantă determinând rezistența la digestia gastrică, dar care se eliberează în timpul digestiei intestinale având și efect prebiotic;
- compoziția obținută conține în formula sa componente naturale (flavonoide, acizi fenolici, polizaharide) care protejază organismul împotriva degenerării ca urmare a diminuării stresului oxidativ și asigură un efect probiotic la nivelul digestiei intestinale;
- amestecul de polifenoli și polizaharide are efect de inhibare a alfa-amilazei ceea ce îmbunătățește efectul benefic în sindromul metabolic, respectiv în cazul diabetului de tip 2;
- produsul prezintă stabilitate în timp deoarece polifenolii și polizaharidele sunt microîncapsulați în matrici proteice care maschează gustul astringent al polifenolilor și previn degradarea acestora în diferite condiții, cum ar fi lumina, căldura sau pH-ul ridicat;
- procedeul de obținere este simplu și fezabil, nu necesită echipamente complexe.

Reziduu umed de fructe de pădure (afin, merișor, cătină, coacăze negre) care conține pulpa acestor fructe, semințe și coji este un produs bogat în polifenoli, polizaharide, fibre, vitamine (A, C, complex B, etc.), minerale. **Polifenolii și polizaharidele** sunt bogate în antioxidanți, care au rol de stopare a procesului de oxidare al celulelor din organism și de



neutralizare a radicalilor liberi. Compușii sunt utili împotriva îmbătrânirii premature și de multe ori chiar împotriva apariției celulelor canceroase. Polizaharidele nedigerabile (de obicei cele asociate cu peretele celular al plantei) sunt bine cunoscute pentru efectele lor prebiotice, stimulând dezvoltarea microorganismelor benefice ale sistemului digestiv. Polifenolii au fost și ei recent incluși printre prebiotice inhibând creșterea bacteriilor nocive.

Sâmburii de caise și alune sunt surse cu conținut mare de: proteine, vitamine (A, C, E și B), săruri minerale (calciu, fier, fosfor, potasiu, magneziu), betacaroten și acizi grași nesaturați (Omega 3 și 9), prezintă proprietăți antioxidante, anti-inflamatoare și antitumorale și sunt cunoscute pentru efectul lor de scădere a colesterolului. **Semințele de chia** sunt bogate în proteine (14% din conținutul semințelor este proteină), ceea ce le face ideale pentru persoanele ce consumă foarte puțină carne sau deloc. Contribuie la menținerea greutății optime a organismului și sunt o sursă excelentă de energie pentru sportivi și pentru cei care practică activități fizice. Carbohidrații din semințele de chia sunt fibre benefice care constituie 40% din greutatea lor, cunoscute prin acțiunea benefică asupra sistemului digestiv, efect de scădere a colesterolului și de reducere a cancerului de colon. Tot fibrele sunt responsabile pentru scăderea nivelului de zahăr din sânge, deci a bolilor metabolice de tipul diabetului. **Sarea neagră de Himalaya** conține sulf organic care în mod sinergic cu celelalte ingrediente mărește absorbția nutrienților în organism. De asemenea, acest component accelerează metabolismul și stimulează arderea grăsimilor astfel încât determină o reducere naturală și eficientă a greutății corporale nedorite. **Uleiul de cocos** este un ulei vegetal deosebit de valoros în curele de slăbire și în reducerea riscului de obezitate la copii, deoarece ajută digestia și reglează metabolismul. În plus acesta favorizează cicatrizarea ulcerului gastro-duodenal, susține imunitatea și previne bolile cardiovasculare. **Cacaoa** este bogată în flavonoide cu efect benefic în diminuarea stresului oxidativ și protejarea neuronilor împotriva degenerării și demenței.



4

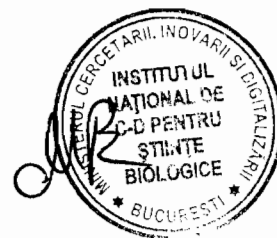
Prezenta propunere de invenție se evidențiază prin două exemple de obținere a compoziției naturale utilă în dieta hipocalorică:

Exemplul 1.

Pentru a obține 1000g compoziție naturală condiționată ca batoane, se asociază 200g amestec de pulbere din fructe de pădure ce conține afine, merișor, cătină și coacăze negre în raport de greutate 10:2:1:1,5 (g/g/g), cu substanța uscată de 25,6%, 80g amestec de polifenoli și polizaharide în raport masic de 5:1, microîncapsulat într-o matrice de izolat proteic din zer și inulină (2:1,g/g), iar raportul dintre amestecul polifenoli/polizaharide și matricea de microîncapsulare a fost de 2:1(g/g), 540g bază de extracție formată din sirop de malț și miere, în raport de combinare de 3:1(g/g), 120g semințe de chia, 15g sâmburi de caise și alune măcinate, 15g glazură formată din unt de cacao, ulei de cocos și masă de cacao, în raport de combinare 1:1:1(g/g/g), 29,96g pudră de cacao care înglobează 5% semințele de chia și 0,04g sare de Himalaya. Compoziția condiționată sub formă de batoane glazurate prezintă următoarele valori nutriționale per 100g baton: 428 kcal valoare energetică, 20,5% glucide, 14,8% grăsimi, 4% fibre, 10,8% proteine și 0,22% sare.

Procedeul de obținere al compoziției hipocalorice a constat în mai multe etape. Într-o primă etapă, într-un vas de inox de 10l prevăzut cu agitator se introduc 1000g reziduu umed de fructe de pădure cu o substanță uscată de 25,6 %, peste care se adaugă 0,04g sare de Himalaya. După înglobarea sării în reziduu umed de fructe de pădure, amestecul obținut se menține la macerare timp de 24 ore, la temperatura camerei, apoi se usucă într-un deshidrator timp de 24 ore, la o temperatura de 40°C. Amestecul deshidratat se marunțește prin râșnire obținând astfel o pulbere fină care se păstrează la rece.

Separat, într-un vas de sticlă de 15l se introduc 500g reziduu umed de fructe de pădure cu o substanță uscată de 25% în vederea extracției polifenolilor și polizaharidelor. Polifenolii se extrag prin tratarea materialului vegetal cu 5000ml etanol 70% prin agitare continuă timp de 24 ore la temperatura camerei. După filtrare, extractul se usucă prin concentrare la temperatura de 37°C. Din reziduu vegetal rezultat de la extracția polifenolilor se izolează polizaharidele prin tratarea acestuia cu 10 volume apă distilată, la temperatura de 100°C, timp de 3 ore, folosind un echipament Soxhlet. Extractul total de



polizaharide obținut se filtrează, se concentrează la rotavapor la temperatura de 60°C și se precipită cu o soluție de etanol 75%. După centrifugare la 12.000 rpm, la temperatura camerei, timp de 10 minute, supernatantul se îndepărtează iar precipitatul polizaharidic se concentrează prin evaporare peste noapte la 37°C.

Componentele astfel extrase se amestecă într-un omogenizator, la temperatura camerei în raport de combinare polifenoli:polizaharide de 5:1(g/g). O cantitate de 53g din acest amestec se înglobează în 27g matrice de microîncapsulare care se prepară separat într-un vas de inox prevăzut cu agitare, prin amestecarea a 18g izolat proteic total din zer cu 9g inulină, la temperatura camerei. Includerea amestecului de polifenoli și polizaharide în matricea de microîncapsulare se realizează prin agitare continuă la o turație de 150 rpm, timp de 24 ore și temperatura de 40°C. Amestecul obținut se supune procesului de coacervare prin scaderea pH-ului soluției la valoarea de 4,4 folosind o soluție de HCl 0,1M și apoi se usucă prin liofilizare la o temperatură de înghețare de – 40 grade C, presiune de 0,10 mBar, timp de 48 ore.

Într-un malaxor cu temperatură programată, se prepară baza de extracție formată din 405g sirop de malt și 135g miere de albine, prin omogenizarea continuă a amestecului, la temperatura de 30°C. Peste acest amestec se introduc pe rând celelalte ingrediente: pulberea de reziduu de fructe de pădure care conține și sarea de Himalaya, pudra de polifenoli și polizaharide microîncapsulați, semințele de chia, sâmburii de caise și alune măcinate, care se omogenizează continuu la temperatura camerei, timp de 6 ore iar apoi compoziția obținută se depozitează la camera de frig.

Se porționează compoziția rece sub formă de batoane cu dimensiuni de 10x5x1cm și greutate de 50g cu ajutorul unui dispozitiv de divizare în atmosferă controlată și apoi se depozitează la temperatura sub 10°C, minim 24 de ore. Separat, într-un vas de inox se prepară glazura prin amestecarea untului de cacao cu ulei de cocos și masa de cacao în raport masic de 1:1:1. De asemenea, separat într-un omogenizator se prepară un amestec de pudră de cacao cu semințe de chia prin care se trece produsul final. Apoi se realizează imersarea batoanelor, aduse de la camera de frig, inițial prin trecerea acestora prin glazură și apoi prin amestecul compus din pudra de cacao și semințe de chia, după care

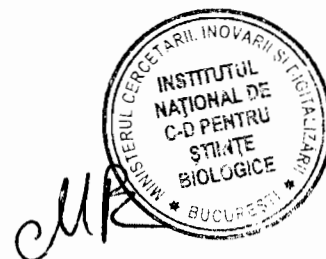


batoanele glazurate se ambalează în condiții controlate prin vidare în pungi speciale și se depozitează la temperaturi sub 10°C .

Exemplul 2.

Pentru a obține 1000g compoziție naturală condiționată ca batoane, se asociază 250g amestec de pulbere din fructe de pădure ce conține afine, merișor, cătină și coacăze negre în raport de greutate 10:1:1,5:1,2 (g/g/g), cu substanța uscată de 23,5%, 600g bază de extracție formată din sirop de malț și miere, în raport de combinare de 3:1(g/g), 100g semințe de chia, 10g sâmburi de caise și alune măcinate, 15g glazură formată din unt de cacao, ulei de cocos și masă de cacao, în raport de combinare 1:1:1(g/g/g), 24,95g pudră de cacao care înglobează 2% semințele de chia și 0,05g sare de Himalaya. Compoziția condiționată sub formă de batoane glazurate prezintă următoarele valori nutriționale per 100g baton: 405 kcal valoare energetică, 35,4% glucide, 15,7% grăsimi, 8% fibre, 3% proteine și 0,15% sare.

Etape de obținere și mărunțire a pulberii de amestec format din reziduu de fructe de pădure și sare de Himalaya precum și cea de preparare a bazei de extracție s-au realizat conform procedurii prezentat la exemplul 1. Procedura de obținere, prezentat în exemplul 2, diferă prin aceea că se elimină etapa de extracție a polifenolilor și polizaharidelor precum și cea de înglobare a acestor compuși biologic activi în matricea de microîncapsulare și încapsulare. Prepararea compoziției vâscoase se face prin introducerea în baza de extracție, formată din 450g sirop de malț și 150g miere de albine, a 250g pulbere din fructe de pădure, 100g semințe de chia și 10g sâmburi de caise și alune măcinate. Amestecul se formează prin omogenizare continuă într-un malaxor la temperatura de 28°C, timp de 28 ore, după care compoziția obținută se depozitează la rece. Se porționează apoi compoziția rece sub formă de batoane cu dimensiuni de 10x5x1,5 cm și greutate de 55g, cu ajutorul unui dispozitiv de divizare în atmosferă controlată, după care se depozitează la rece, timp de 36 ore. Separat, în vase de inox diferite, se prepară 15g de glazură prin amestecarea a 5g unt de cacao cu 5g ulei de cocos și 5g masă de cacao precum și 24,95g amestec de pudră de cacao și semințe de



chia. Etapa de imersare a batoanelor în glazură și în pudra de cacao precum și ambalarea batoanelor glazurate se realizează conform exemplului 1.

Batonul alimentar hipoglucidic, obținut conform exemplelor de mai sus, a fost analizat din punct de vedere fizico-chimic și biologic. Din punct de vedere fizico-chimic, s-a determinat conținutul total de polifenoli prin metoda Folin-Ciocalteu și conținutul de polizaharide prin metoda spectrofotometrică cu antronă. Rezultatele determinărilor făcute pentru mai multe loturi de batoane obținute conform exemplelor prezentate, au arătat că valorile conținutului total de polifenoli au variat între 15 % și 30 % iar procentul de polizaharide s-a situat în intervalul 3-10 %, în funcție de compoziția produsului.

Din punct de vedere biologic, s-a testat biocompatibilitatea batoanelor glazurate obținute, conform exemplelor de mai sus, pe modele experimentale *in vitro*. În vederea evaluării efectului lor citotoxic s-a utilizat o linie celulară stabilizată de celule intestinale Caco-2 și s-au investigat viabilitatea celulelor (colorație Hoechst), proliferarea (testul Roșu Neutru), aderarea și morfologia acestora (colorație Giemsa) în prezența probelor de batoane. Rezultatele obținute au demonstrat că după 48 ore de cultivare a celulelor, toate variantele de batoane hipocalorice realizate conform exemplelor de mai sus sunt necitotoxice, favorizând viabilitatea, proliferarea și aderarea celulelor. De asemenea, evaluarea morfologiei celulelor prin microscopie optică a arătat că aceasta a rămas nemodificată fiind caracteristică fenotipului celulelor intestinale Caco-2.

Pentru determinarea efectului antioxidant al probelor s-a realizat un model experimental *in vitro* în care celulele intestinale Caco-2 au fost tratate cu H_2O_2 , cunoscut ca agent oxidant puternic. După 48 ore de pretratament cu probele de baton hipocaloric, celulele au fost tratate cu $100 \mu M H_2O_2$ în mediu proaspăt de cultură, timp de 1 h, după care a fost determinată viabilitatea celulară prin tehnica Roșu Neutru. Rezultatele obținute au arătat că celulele pre-tratate cu probele testate au prezentat o viabilitate celulară cu cel puțin 20% mai mare comparativ cu controlul tratat doar cu H_2O_2 . În concluzie, batoanele glazurate pot reprezenta o sursă de compuși direcționați în colon și ser care să exercite efecte biologice benefice la nivel celular.



REVEDICĂRI

1. Batonul alimentar hipoglucidic cu efecte antioxidante și prebiotice amplificate, destinat ca adjuvant în dieta hipocalorică conform invenției, **caracterizat prin aceea că** este constituit din: 15...35% pulbere din fructe de pădure (ce conține 15...20% afine, 1,5...3,5% merișor, 2,0...3,5% cătină, 2,0...3,0% coacăze negre) cu substanța uscată de minim 20%, 50...70 % bază de extracție formată din sirop de malț și miere, în raport de combinare de 3:1 (g/g), 5...15% semințe de chia, 0,5...1,5% sâmburi de caise și alune măcinate, 1,0...2,0% glazură formată din unt de cacao, ulei de cocos și masă de cacao, raport de combinare 1:1:1 (g/g/g), 2,0...3,0% pudră de cacao care înglobează semințele de chia și 0,001...0,005% sare de Himalaya. Compoziția batonului poate fi îmbogățită cu 5...10% amestec de polifenoli și polizaharide în raport de 5:1 (g/g), extras din pulberea de fructe de pădure și apoi înglobat într-o matrice de microîncapsulare obținută din amestecarea a 2 părți izolat proteic din zer și 1 parte inulină, iar raportul dintre amestecul polifenoli/polizaharide și matricea de microîncapsulare a fost de 2:1 g/g. Produsul condiționat sub formă de batoane glazurate prezintă următoarele valori nutriționale per 100g baton: 380...450 kcal valoare energetică, 20...40% glucide, 10...22% grăsimi, 4...14% fibre, 1...15 % proteine și 0...0,3% sare.

2. Procedul de obținere al produsului conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** are la bază următoarele etape: **(a)** obținerea amestecului format din reziduu umed de fructe de pădure (afine, cătină, coacăze, merișor) cu substanța uscată de 15...30% și sare de Himalaya, macerarea acestuia timp de 24...48 ore, urmată de uscare la temperatura de 40... 45°C, timp de 1...3 zile și mărunțire mecanică sub forma de pulbere fină; **(b)** extracția polifenolilor dintr-o altă șarjă de reziduu umed de fructe de pădure cu 10 volume de etanol 50...70% timp de 24...48 ore la temperatura camerei, urmată de extracția polizaharidelor cu 10 volume de apă distilată la temperatura de 90... 100°C, timp de 3...6 ore, concentrarea la 60°C și purificarea polizaharidelor prin precipitare cu etanol 70...80%, centrifugare la 10000...15000 rpm și în final concentrare prin evaporare la 37°C; **(c)** înglobarea unui amestec de polifenoli și polizaharide în raport de 2:1...5:1 într-o matrice de microîncapsulare, obținută în urma amestecării unui izolat proteic total din zer și inulină în raport de combinare de 2:1 g/g, prin agitare timp de 24 ore la 40...50°C,



urmată de coacervarea amestecului la pH 4...5 și uscarea prin liofilizare timp de 48...72 ore; **(d)** prepararea bazei de extracție formată din sirop de malț și miere de albine în raport de 3:1 g/g, prin omogenizarea amestecului la temperatura de 28...32°C; **(e)** obținerea compoziției vâscoase prin introducerea în baza de extracție a amestecului de pulbere din fructe de pădure, cu/ fara amestecul de polifenoli și polizaharide microîncapsulat, sâmburi de caise și alune măcinate, semințe de chia și omogenizarea lor la temperatura de 20...30° C, timp de 6...8 ore; **(f)** porționarea compoziției sub formă de batoane cu dimensiuni de 10x5x1...1,5 cm și greutate de 40...60g, urmată de depozitarea acestora la temperatură sub 10°C, minim 24 de ore; **(g)** formarea unei glazuri prin amestecarea de unt de cacao, ulei de cocos și masă de cacao, în părți de greutate egale; **(h)** prepararea unui amestec de pudră de cacao și semințe de chia, în raport de combinare de 20:1...50:1 g/g; **(i)** imersarea batoanelor, aduse de la camera de frig, inițial prin glazură și apoi prin amestecul de pudră de cacao și semințe de chia; **(j)** ambalarea în condiții controlate (în vid) a batoanelor glazurate în pungi speciale și depozitarea acestora la temperaturi sub 10° C.

