



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2021 00211**

(22) Data de depozit: **27/04/2021**

(41) Data publicării cererii:
28/10/2022 BOPI nr. **10/2022**

(71) Solicitant:
• **UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE
AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
DIN BUCUREȘTI, BD.MĂRĂȘTI NR.59,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **BĂDULESCU LILIANA- AURELIA,
ALEEA VALEA PRAHOVEI, NR.1A, BL.825
BIS, SC.2, ET.4, AP.64, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **STAN ANDREEA,
DRUMUL GURA FĂGETULUI, NR.56A,
ET.2, AP.19, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **BUJOR- NENIȚA OANA-CRINA,
SAT SOLEȘTI, COMUNA SOLEȘTI, VS, RO;**
• **ION VIOLETA ALEXANDRA, NR.136,
SAT LERA, COMUNA CHIOJDU, BZ, RO;**
• **DOBRIN AURORA, STR.VASILE LASCĂR,
NR.99, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **METODĂ DE LIOFILIZARE PENTRU OBTINEREA DE ADITIVI
ȘI COLORANȚI NATURALI DIN PLANTE ECOLOGICE**

(57) **Rezumat:**

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor aditivi și coloranți alimentari naturali din plante ecologice. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: recoltarea manuală a frunzelor și lăstarilor de urzică (*Urtica dioica*) și leurdă (*Allum ursinum*), spălare, uscare în aer, congelare la temperaturi de -50...-80°C, liofilizare la o depresiune de 0,4...1,0 mbari, timp de

44...70 h și mărunțirea până la forma de pulbere cu o dimensiune a particulelor de 20...1000 μm, pulberile ecologice rezultate având indicatori de calitate, proprietăți nutritive și nutraceutice ridicate pentru utilizare în compoziții de alimente funcționale.

Revendicări: 5



26

Metodă de liofilizare pentru obținerea de aditivi și coloranți naturali din plante ecologice

Prezenta invenție se referă la o metodă de liofilizare a plantelor ecologice din flora spontană precum urzica (*Urtica dioica*) și leurda (*Allium ursinum*) și la utilizarea acestora ca aditivi și coloranți alimentari naturali.

Urzica (*Urtica dioica*) este o specie de plante care apare primăvara devreme și se trece toamna târziu. Aceasta poate apărea spontan la munte, pe dealuri și la câmpie și se găsește prin grădini, livezi, pe marginea drumurilor și a apelor, sau poate fi cultivată. Urzica proaspătă este intens utilizată în domeniul medicinal, culinar, dar și cosmetic.

Leurda (*Allium ursinum*) este tot o specie de plante ce se găsește în pădurile cu soluri umede și se utilizează în alimentație pentru gustul similar cu cel al usturoiului. Aceasta se recoltează în lunile martie și aprilie prin tăierea frunzelor tinere. Consumul și utilizarea leurdei se recomandă să se facă în stare proaspătă datorită deprecierei/pierderii proprietăților nutritive și terapeutice prin uscare.

O tendință importantă în Europa, numită „doar alimentele naturale”, guvernează asupra celorlalte tendințe, cum ar fi alimentele sănătoase, alimentele funcționale, alimentele organice. Drept urmare, consumatorii solicită din ce în ce mai mult alimente care își păstrează proprietățile naturale, cum ar fi aroma, textura, culoarea, compușii bioactivi și proteinele nedenate. Ca răspuns la aceste solicitări specifice, cercetarea și industria alimentară au dezvoltat așa-numitele tehnologii de prelucrare minimală. Acestea sunt concepute pentru a limita impactul prelucrării asupra calității nutriționale și senzoriale și pentru a conserva alimentele prin utilizarea limitată sau fără utilizarea aditivilor.

Metodele termice sunt utilizate pe scară largă pentru conservarea și prepararea alimentelor. Tratamentul termic asupra produselor poate duce la anumite modificări pozitive, cum ar fi coagularea proteinelor, înmuierea texturii și formarea componentelor aromelor. Cu toate acestea, apar și modificări nedorite, cum ar fi pierderea de vitamine și minerale, pierderea aspectului proaspăt, a aromei și a texturii [2].

Metodele de conservare în procesarea minimală a alimentelor pot fi clasificate astfel [1]:

- Metode tradiționale de conservare optimizate (ex. conservarea, blanșarea, congelarea, deshidratarea și fermentarea) pentru a îmbunătăți calitatea senzorială, pentru a economisi energie și pentru asigurarea siguranței microbiologice.

- Noi tehnici de conservare delicată, cum ar fi tehnologii ce utilizează presiune înaltă, impulsuri de câmp electric, diverse tratamente termice ușoare (ex. liofilizare), tratamente microbiologice de protecție, etc.

Principalele obiective tehnologice ale deshidratării alimentelor sunt:

- Conservarea ca urmare a scăderii activității apei;
- Reducerea în greutate și volum;
- Transformarea unui aliment într-o formă mai convenabilă de depozitare, ambalare, transport și utilizare;
- Transformarea unui produs alimentar cu o aromă diferită, textură crocantă, etc., altfel spus crearea unui nou aliment.

[Handwritten signatures]



Liofilizarea este o procedură de deshidratare delicată pentru a obține produse de înaltă calitate. Prin acest proces, produsul este uscat prin sublimarea apei fără ca aceasta să treacă prin faza lichidă.

În industria alimentară, interesul pentru liofilizarea comercială provine din calitatea superioară a produselor liofilizate în comparație cu alimentele deshidratate prin alte metode. Liofilizarea se efectuează la temperaturi scăzute, păstrând astfel aroma, culoarea și aspectul și minimizând daunele termice ale nutrienților sensibili la căldură. Deoarece întregul proces are loc în stare solidă sunt evitate modificări ale dimensiunilor produsului și alte tipuri de modificări structurale.

Din punct de vedere fizic, procesul de liofilizare acoperă trei faze:

- **Congelarea:** Produsul care trebuie deshidratat este congelat sub presiune atmosferică. Acest lucru se poate face fie direct în camera de liofilizare, fie într-un congelator separat. Temperatura de congelare trebuie să fie cu aproximativ 10°C sub punctul de solidificare al produsului.

- **Evacuarea:** Când produsul este suficient de congelat, se activează vidul. Presiunea din interiorul camerei de liofilizare va fi redusă la valoarea care corespunde temperaturii de congelare în conformitate cu curba presiunii vaporilor pentru gheață și apă.

- **Sublimarea:** se aplică energie termică asupra produsului, începând astfel procesul de sublimare. Datorită energiei adăugate, apa din produs este transformată în vapori de apă. Deoarece condensatorul de gheață este mult mai rece decât produsul care urmează a fi liofilizat, vaporii de apă care sunt eliberați din produs curg către acesta, unde se condensează pe bobinele condensatorului.

Odată ce apa liberă a fost extrasă din produs în timpul fazei principale de uscare, ultimele urme de apă legată vor fi, de asemenea, îndepărtate la o presiune finală cât mai mică posibil și la temperaturi mai ridicate. Vidul previne topirea gheții când se adaugă energie [3].

Liofilizarea este utilizată în special în industria medicamentelor, pentru obținerea concentrațiilor ridicate de substanțe active cu denaturarea lor minimă. Utilizarea liofilizării ca metodă de deshidratare a plantelor, fructelor și legumelor este mai puțin utilizată datorită costurilor ridicate de producție, însă produsele liofilizate prezintă o calitate superioară, oferită de proprietăților nutritive ceea ce le poate conferi statutul de alimente funcționale.

În acest scop, un studiu foarte recent [4] testează efectul liofilizării comparativ cu deshidratarea termică asupra urzicilor și spanacului. Metoda de liofilizare se realizează pe parcursul a 5 zile la o temperatură de -40°C. Probele sunt apoi mărunțite utilizând o râșniță de cafea și sunt păstrate în congelator la -4°C. Astfel, consumul de energie electrică, durata mare a procesului de liofilizare și temperatura mică utilizată pentru liofilizare **prezintă dezavantaje nutritive produselor obținute comparativ cu soluția tehnică pe care o oferă invenția.**

De asemenea, cererea de brevet/brevetul publicat în 1995, EP0687423A2·1995-12-20 [5], descrie metoda de liofilizare a leurdei și utilizarea ei în diferite produse alimentare. Metoda descrisă utilizează congelarea prealabilă a leurdei la -35°C ...-50°C, liofilizarea realizându-se la o depresiune de 4 mbar fără a specifica temperatura la sublimare și perioada de liofilizare a leurdei. Mai mult, în aplicație este specificată culoarea frunzelor liofilizate de leurdă fiind de la verde deschis până la verde pal. **Conform procedurii invenției descris mai jos se poate preciza că acesta oferă o soluție tehnică de realizare a unei metode de liofilizare a plantelor ecologice mai bună comparativ cu soluțiile oferite în studiile prezentate mai sus. Mai mult**

[Handwritten signatures]



34

pulberile obținute prin aplicarea procedurii invenției pot fi utilizate cu succes ca aditivi și coloranți naturali în produse inovative și alimente funcționale datorită concentrațiilor mari de nutrienți păstrate în urma liofilizării.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în identificarea unei metode care să permită obținerea de aditivi și coloranți naturali din urzică și leurdă ecologice prin liofilizarea lor cu menținerea culorii specifice plantelor proaspete, a proprietăților nutritive și activității antioxidante ridicate.

Procedul conform invenției oferă o soluție tehnică de realizare a unei metode de liofilizare pentru obținerea aditivilor și coloranților naturali din plante ecologice și constă în următoarele etape:

- a) Recoltarea manuală pe vreme uscată a frunzelor și lăstarilor, prin tăiere, nu smulgere înainte de perioada de înflorire,
- b) Așezarea frunzelor și lăstarilor în lădițe de plastic sau carton fără a le tasa, și ferite de razele soarelui,
- c) Încărcarea lădițelor în mijlocul de transport,
- d) Transportarea la depozit a lădițelor cu frunze și lăstari cu vehicule izoterme, în cel mult 24h de la recoltare,
- e) Descărcarea și recepția lădițelor cu frunze și lăstari din mijlocul de transport,
- f) Spălarea frunzelor și lăstarilor cu apă de la robinet în 2-5 repetiții în funcție de încărcătură (praf, nisip, etc),
- g) Zvântarea în aer a frunzelor și lăstarilor ecologici pentru maxim 1-2 ore,
- h) Cântărirea și ambalarea a 25-50 g, frunze și lăstari ecologici, în caserole cu capac cu volum total de 500 g,
- i) Congelarea imediată pentru minim 24 h la temperaturi scăzute cuprinse între -24°C...-80°C,
- j) Răcirea rafturilor liofilizatorului la -24°C...-80°C cu 2-5 ore înainte de liofilizare,
- k) Pornirea liofilizatorului și setarea programului de lucru care începe cu încălzirea pompei de vid pentru 15-20 minute,
- l) Închiderea valvelor de presiune și de evacuare apă,
- m) Introducerea rafturilor răcite în primele minute (maxim 15) de la pornirea programului de lucru,
- n) Îndepărtarea capacului și introducerea caserolelor în liofilizator în maxim 20 minute de la pornirea programului de lucru,
- o) Închiderea etanșă a liofilizatorului,
- p) Liofilizarea principală la o depresiune 0,4-1,0 mbar pentru o perioadă de 44-70 ore, temperatura raftului la sublimare între 0-25°C, temperatura din camera de condensare de -55°C....-85°C,
- q) Cântărirea caserolelor cu probe după liofilizare,
- r) Mărunțirea lor la 7000-9000 rpm timp de 5-20 secunde până la forma de pulbere cu dimensiunea particulelor între 20 μm și 1000 μm,
- s) Ambalarea pulberilor ecologice în tuburi sau pungi cu zip din plastic,
- t) Depozitarea acestora în loc uscat, ferit de căldură și umezeală până la 2-3 ani,
- u) Utilizarea pulberilor ecologice ca aditivi și coloranți alimentari naturali în produse inovative și alimente funcționale.

[Handwritten signatures and initials]



Metoda de liofilizare a plantelor ecologice prezintă următoarele avantaje:

- respectă normele în vigoare cu privire la păstrarea și procesarea plantelor precizate în Regulamentul (UE) 2018/848 al Parlamentului European și al Consiliului din 30 mai 2018 privind producția ecologică și etichetarea produselor ecologice și de abrogare a Regulamentului (CE) nr. 834/2007 al Consiliului [6];

- datorită evaporării apei din celule, concentrează substanțele bioactive ale plantelor ecologice contribuind la creșterea activității antioxidante ale pulberilor obținute comparativ cu valorile înregistrate imediat după recoltare, cu diferențe de peste 300% la substanță uscată totală, 200% la conținutul de acid ascorbic, 1000% la conținutul în polifenoli totali, 1500% la flavonoide și peste 2500% la activitatea antioxidantă.

Se prezintă în continuare 2 exemple de realizare a invenției, utilizând liofilizarea plantelor ecologice.

Exemplele descrise se bazează pe rezultatele experimentale obținute de noi pe parcursul realizării procesului de liofilizare, păstrării și utilizării pulberilor din plante ecologice; aceste date sunt prezentate sintetic în Tabelul nr. 1, Tabelul nr. 2, Tabelul nr. 3, Tabelul nr. 4, Tabelul nr. 5 și Tabelul nr. 6.

Exemplul 1. Metoda de liofilizare pentru obținerea aditivilor și coloranților naturali din urzică ecologică constă în următoarele etape:

- a) Recoltarea manuală pe vreme uscată a frunzelor și lăstarilor tineri, când plantele au înălțimea de 10-15 cm, prin tăiere, nu smulgere înainte de perioada de înflorire,
- b) Așezarea frunzelor și lăstarilor în lădițe de plastic sau carton fără a le tasa și ferite de razele soarelui,
- c) Încărcarea lădițelor în mijlocul de transport,
- d) Transportarea la depozit a lădițelor cu frunze și lăstari cu vehicule izoterme, în cel mult 24h de la recoltare,
- e) Descărcarea și recepția lădițelor cu frunze și lăstari din mijlocul de transport,
- f) Spălarea frunzelor și lăstarilor cu apă de la robinet în 2-5 repetiții în funcție de încărcătură (praf, nisip, etc),
- g) Zvântarea în aer a frunzelor și lăstarilor de urzică maxim 1-2 ore,
- h) Cântărirea și ambalarea a 30 ± 5 g, frunze și lăstari de urzică congelați, în caserole cu capac cu volum total de 500 g,
- i) Congelarea imediată pentru minim 24 h la temperaturi scăzute de $-80 \pm 5^\circ\text{C}$,
- j) Răcirea rafturilor liofilizatorului la $-80 \pm 5^\circ\text{C}$ cu 2-5 ore înainte de liofilizare,
- k) Pornirea liofilizatorului și setarea programului de lucru care începe cu încălzirea pompei de vid pentru 20 minute,
- l) Închiderea valvelor de presiune și de evacuare apă,
- m) Introducerea rafturilor răcite în primele minute (maxim 15) de la pornirea programului de lucru,
- n) Îndepărtarea capacului și introducerea caserolelor în liofilizator în maxim 20 minute de la pornirea programului de lucru,
- o) Închiderea etanșă a liofilizatorului,

[Handwritten signatures]



- p) Liofilizarea principală la o depresiune $0,500 \pm 0,050$ mbar pentru o perioadă de 44-45ore, temperatura raftului la sublimare $1 \pm 0,5^\circ\text{C}$, temperatura din camera de condensare - $55 \pm 5^\circ\text{C}$,
- q) Cântărirea caserolelor cu probe după liofilizare,
- r) Mărunțirea lor la 9000 rpm, timp de maxim 16 secunde, până la forma de pulbere cu dimensiunea particulelor între 20-200 μm pentru minim 50% din cantitatea măcinată,
- s) Ambalarea pulberilor în tuburi sau pungi cu zip,
- t) Depozitarea acestora în loc uscat, ferit de căldură și umezeală până la 2-3 ani,
- u) Utilizarea pulberilor ecologice ca aditivi și coloranți alimentari naturali în produse inovative și alimente funcționale.

Efectul tehnic nou realizat prin procedeul revendicat prin brevet este evidențiat de rezultatele experimentale comparative ale probelor de urzici expuse în Tabelul nr. 1, Tabelul nr. 2 și Tabelul nr. 3. Pentru urzică comparația se face cu lotul martor de urzică ecologică proaspătă analizată imediat după recepție.

Rezultatele obținute pentru indicatorii de calitate ai urzicilor ecologice sunt centralizate în Tabelul nr. 1, Tabelul nr. 2 și Tabelul nr. 3.

Tabelul nr.1. Efectul aplicării metodei revendicate asupra indicatorilor de calitate ai urzicilor ecologice conform exemplului nr. 1

Proba	Tipul de procesare	pH	Aciditatea totală titrabilă (mg acid malic/100 g produs)	Substanța uscată totală (%)	Conținutul de acidul ascorbic (mg/100 g produs)	Polifenoli totali (mg GAE/100 g produs)	Activitatea antioxidantă (mM equiv Trolox/ 100 g produs)	Conținutul total de flavonoide (mg echiv. catechin/100g produs)
Urzici	Proaspete	$6,69 \pm 0,16$	$0,17 \pm 0,01$	$23,72 \pm 0,99$	$42,76 \pm 4,65$	$62,92 \pm 3,59$	$0,258 \pm 0,05$	$183,48 \pm 3,07$
	Liofilizate	$6,88 \pm 0,15$	$1,49 \pm 0,10$	$97,96 \pm 0,64$	$131,41 \pm 13,14$	$900,86 \pm 7,33$	$7,743 \pm 0,42$	$3116,42 \pm 69,0$

Rezultatele obținute de pulberile realizate prin metoda de liofilizare definită de condițiile revendicate, demonstrează că pulberile de urzică ecologică liofilizată au obținut valori foarte bune ale indicatorilor de calitate comparativ cu cele ale frunzelor și lăstarilor de urzică din proaspăt recoltate: pH $6,88$ v/s $6,69$; aciditate totală titrabilă $1,49$ v/s $0,17$; substanța uscată totală $97,96$ v/s $23,72$; conținutul în acid ascorbic $131,41$ v/s $42,76$; conținutul în polifenoli totali $900,86$ v/s $62,92$; activitatea antioxidantă $7,743$ v/s $0,258$ și conținutul total de flavonoide $3116,42$ v/s $183,48$.

Conținutul de vitamina C crește cu aproximativ 3,1 ori în pulberile liofilizate de urzică, comparativ cu cele proaspete. Se poate afirma că tehnica de liofilizare aplicată menține o concentrație ridicată de substanțe bioactive în pulberi astfel că poate fi luată în considerare pentru obținerea de alimente funcționale.

Conținutul total de polifenoli obținut în pulberile liofilizate de urzică a crescut de 14,3 ori comparativ cu probele proaspete. Astfel, se poate afirma că și din perspectiva acestui parametru liofilizarea poate fi recomandată ca tehnica de deshidratare ce prezervă compușii de interes și conferă pulberilor obținute proprietăți funcționale. Mai mult conținutul ridicat de polifenoli din pulberile de urzică pot avea și proprietăți antioxidante apreciabile.

[Handwritten signatures]



Activitatea antioxidantă a pulberilor de urzică liofilizate este de 30 ori mai mare decât a extractului obținut în probele proaspete. Acest parametru este extrem de important pentru caracterizarea pulberilor bioactive, conferindu-le acestora proprietăți nutritive și indicații de utilizare în compoziția unor produse alimentare cu valoare adăugată.

Conținutul total de flavonoide din pulberile de urzică liofilizate a crescut de 16,98 ori comparativ cu probele proaspete, contribuind astfel la creșterea valorii nutriționale a pudrelor obținute.

Tabelul nr.2. Efectul aplicării metodei revendicate asupra conținutului de pigmenți la urzicile ecologice conform exemplului nr. 1

Proba	Tipul de procesare	Clorofila a (mg/100 g produs)	Clorofila b (mg/100 g produs)	Clorofila totală (mg/100 g produs)	Carotenoizi (mg/100 g produs)
Urzici	Proaspete	99,73 ±5,85	55,84 ±8,59	155,58 ±13,57	30,03 ±2,30
	Liofilizate	520,67 ±8,21	198,11 ±1,98	718,78 ±12,70	1938,95 ±10,80

Din rezultatele obținute se poate remarca faptul că metoda de liofilizare menține un conținut ridicat de pigmenți clorofilieni, ceea ce se va regăsi în parametrii de culoare atât pentru pulberi, cât mai ales pentru produsele alimentare inovative, știut fiind faptul că în prezența oxigenului și în timpul prelucrării materialului vegetal proaspăt clorofila se poate oxida ușor, brunificându-se, cu pierderea culorii caracteristice. Metoda de deshidratare prin liofilizare poate fi recomandată pentru astfel de tipuri de probe deoarece se mențin proprietățile de culoare specifice materialului vegetal proaspăt, în acest caz culoare verde caracteristică.

În cazul conținutului de pigmenți carotenoizi, concentrația acestora crește de 64,6 ori mai mult decât în probele proaspete, ceea ce contribuie la creșterea valorii nutriționale a acestor tipuri de pulberi și valorizarea materialului vegetal utilizat, precum și la valoarea activității antioxidante.

În concluzie, din punct de vedere al conținutului de pigmenți clorofilieni și carotenoizi, liofilizarea poate reprezenta tehnica de deshidratare cea mai recomandată pentru obținerea unor pulberi utilizabile în calitate de coloranți alimentari, cu proprietăți nutriționale îmbunătățite.

Tabelul nr.3. Efectul aplicării metodei revendicate asupra conținutului de elemente minerale al urzicilor ecologice conform exemplului nr. 1

Proba	Tipul de procesare	Na (mg/kg)	Mg (g/kg)	K (g/kg)	Ca (g/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Mo (mg/kg)
Urzici	Proaspete	34,81	0,471	0,743	4,947	23,55	7,53	2,52	4,40	0,38
	Liofilizate	143,79	1,945	3,069	20,435	97,28	31,09	10,41	18,19	1,57

Rezultatele obținute de pulberile realizate prin metoda de liofilizare definită de condițiile revendicate, demonstrează că pulberile de urzică ecologică liofilizată au obținut valori foarte bune ale conținutului de elemente minerale comparativ cu cele ale frunzelor și lăstarilor de urzică din proaspăt recoltate: Na 143,79 v/s 34,81; Mg 1,945 v/s 0,471; K 3,069 v/s 0,743; Ca 20,435 v/s 4,947; Fe 97,28 v/s 23,55; Mn 31,09 v/s 7,53; Cu 10,41 v/s 2,52; Zn 18,19 v/s 4,40 și Mo 1,57 v/s 0,38.

[Handwritten signatures]



Probele de urzică au un conținut ridicat de elemente minerale, atât macroelemente (Ca, K, Mg), cât și microelemente (Fe, Mn, Mo, Zn) ceea ce le recomandă ca aditivi alimentari/coloranți ce pot crește valoarea nutrițională a produselor inovative în care sunt incluse.

Lipsa metalelor grele, o caracteristică esențială pentru produsele ecologice, confirmă valoarea deosebită a pulberii obținută din frunze și lăstari tineri de urzică liofilizată și poate fi utilizată în produse alimentare ecologice.

În concluzie, pulberea de urzică ecologică obținută prin liofilizarea definită de condițiile revendicate, poate fi recomandată atât ca aditiv alimentar, cât și colorant natural deoarece sunt menținute proprietățile nutritive precum conținutul elemente minerale, clorofila, conținutul de acid ascorbic, conținutul de polifenoli totali, de flavonoide totale și activitatea antioxidantă ridicate.

Datele experimentale de mai sus demonstrează existența unui efect tehnic nou apărut în urma aplicării tehnologiei revendicate prin prezentul brevet.

Exemplul 2. Metoda de liofilizare pentru obținerea aditivilor și coloranților naturali din leurdă ecologică constă în următoarele etape:

- a) Recoltarea manuală pe vreme uscată a frunzelor, prin tăiere, nu smulgere înainte de perioada de înflorire,
- b) Așezarea frunzelor de leurdă ecologică în lădițe de plastic sau carton fără a le tasa, ferite de razele soarelui,
- c) Încărcarea lădițelor în mijlocul de transport,
- d) Transportarea la depozit a lădițelor cu frunze de leurdă ecologică cu vehicule izoterme, în cel mult 24h de la recoltare,
- e) Descărcarea și recepția lădițelor cu frunze de leurdă ecologică din mijlocul de transport,
- f) Spălarea frunzelor de leurdă ecologică cu apă de la robinet în 2-5 repetiții în funcție de încărcătură (praf, nisip, etc),
- g) Zvântarea în aer a frunzelor de leurdă ecologică pentru maxim 1-2 ore,
- h) Cântărirea și ambalarea a 30 ± 1 g, frunze de leurdă ecologică, în caserole cu capac cu volum total de 500 g,
- i) Congelarea imediată pentru minim 24 h la temperaturi scăzute de $-80 \pm 5^\circ\text{C}$,
- j) Răcirea rafturilor liofilizatorului la $-80 \pm 5^\circ\text{C}$ cu 2-5 ore înainte de liofilizare,
- k) Pornirea liofilizatorului și setarea programului de lucru care începe cu încălzirea pompei de vid pentru 20 minute,
- l) Închiderea valvelor de presiune și de evacuare apă,
- m) Introducerea rafturilor răcite în primele minute (maxim 15) de la pornirea programului de lucru,
- n) Îndepărtarea capacului și introducerea caserolelor în liofilizator în maxim 20 minute de la pornirea programului de lucru,
- o) Închiderea etanșă a liofilizatorului,
- p) Liofilizarea principală la o depresiune $0,500 \pm 0,020$ mbari pentru o perioadă de 44-45ore, temperatura raftului la sublimare $1 \pm 0,5^\circ\text{C}$, temperatura din camera de condensare $-55 \pm 5^\circ\text{C}$,
- q) Cântărirea caserolelor cu probele liofilizate,

[Handwritten signatures and initials]



- r) Mărunțirea lor la 9000 rpm, timp de maxim 16 secunde, până la forma de pulbere cu dimensiunea particulelor între 20-200 μm pentru minim 50% din cantitatea măcinată,
- s) Ambalarea pulberilor în tuburi sau pungi cu zip din plastic,
- t) Depozitarea acestora în loc uscat, ferit de căldură și umezeală până la 2-3 ani,
- u) Utilizarea pulberilor ecologice ca aditivi și coloranți alimentari naturali în produse inovative și alimente funcționale.

Efectul tehnic nou realizat prin procedeul revendicat prin brevet este evidențiat de rezultatele experimentale comparative ale probelor de leurdă expuse în Tabelul nr. 4, Tabelul nr. 5 și Tabelul nr. 6. Pentru urzică comparația se face cu lotul martor de urzică ecologică proaspătă analizată imediat după recepție.

Pentru leurdă comparația se face cu lotul martor de leurdă ecologică uscată natural analizat imediat după finalizare procesului de uscare. Pulberile de leurdă au fost obținute din aceleași loturi cu cele prezentate ca loturi martor.

Rezultatele obținute pentru indicatorii de calitate ai leurdei ecologice sunt centralizate în Tabelul nr. 4, Tabelul nr. 5 și Tabelul nr. 6.

Tabelul nr. 4. Efectul aplicării metodei revendicate asupra indicatorilor de calitate ai leurdei ecologice conform exemplului nr. 2

Proba	Tipul de procesare	pH	Aciditatea totală titrabilă (mg acid malic/100 g produs)	Substanța uscată totală (%)	Conținutul de acid ascorbic (mg/100 g produs)	Polifenoli totali (mg GAE/100 g produs)	Activitatea antioxidantă (mM equiv Trolox/ 100 g produs)	Conținutul total de flavonoide (mg echiv. catechin/100g produs)
Leurdă	Uscată natural	5,45 \pm 0,06	3,00 \pm 0,19	90,80 \pm 0,70	13,14 \pm 0,23	665,46 \pm 9,17	1,873 \pm 0,133	124,73 \pm 5,73
	Liofilizată	5,38 \pm 0,02	2,14 \pm 0,03	94,04 \pm 0,24	178,38 \pm 1,59	516,09 \pm 42,7	1,161 \pm 0,056	107,01 \pm 2,72

Rezultatele obținute de pulberile realizate prin metoda de liofilizare definită de condițiile revendicate, demonstrează că pulberile de leurdă ecologică liofilizată au obținut valori foarte bune ale indicatorilor de calitate comparativ cu cele ale pulberilor de leurdă uscată natural: pH 5,38 v/s 5,45; aciditate totală titrabilă 2,14 v/s 3,00; substanța uscată totală 94,04 v/s 90,80; conținutul în acid ascorbic 178,38 v/s 13,14; conținutul în polifenoli totali 516,09 v/s 665,46; activitatea antioxidantă 1,161 v/s 1,873 și conținutul total de flavonoide 107,01 v/s 124,73.

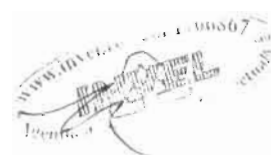
Conținutul de vitamina C este mai mare cu 13,57 ori în pulberile liofilizate de leurdă, comparativ cu cele obținute din leurda uscată natural. Se poate afirma că tehnica de liofilizare aplicată menține o concentrație ridicată de substanțe bioactive în pulberi astfel că poate fi luată în considerare pentru obținerea de alimente funcționale.

Tabelul nr.5. Efectul aplicării metodei revendicate asupra conținutului de pigmenți la leurda ecologică conform exemplului nr. 2

Proba	Tipul de procesare	Clorofila a (mg/100 g produs)	Clorofila b (mg/100 g produs)	Clorofila totală (mg/100 g produs)	Carotenoizi (mg/100 g produs)
Urzică	Liofilizată	520,67 \pm 8,21	198,11 \pm 1,98	718,78 \pm 12,70	1938,95 \pm 10,80
Leurdă	Liofilizată	506,16 \pm 2,15	185,14 \pm 4,52	691,29 \pm 6,64	1930,86 \pm 1,56

Din rezultatele obținute se poate remarca faptul că metoda de liofilizare menține un conținut ridicat de pigmenți clorofilieni și în pulberile obținute din leurdă, similar cu cel observat

[Handwritten signatures]



în pulberile de urzică, ceea ce se va regăsi în parametrii de culoare atât pentru pulberi, cât și pentru produsele alimentare inovative. Metoda de deshidratare prin liofilizare poate fi recomandată pentru astfel de tipuri de probe deoarece se mențin proprietățile de culoare specifice materialului vegetal proaspăt, în acest caz culoare verde caracteristică.

În cazul conținutului de pigmenți carotenoizi, concentrația acestora înregistrează valori similare cu cele obținute de pulberile de urzică ceea ce contribuie la creșterea valorii nutriționale a acestor tipuri de pulberi și valorizarea materialului vegetal utilizat, precum și la valoarea activității antioxidante.

În concluzie, din punct de vedere al conținutului de pigmenți clorofilieni și carotenoizi, liofilizarea poate reprezenta tehnica de deshidratare cea mai recomandată pentru obținerea unor pulberi utilizabile în calitate de coloranți alimentari, cu proprietăți nutriționale îmbunătățite.

Tabelul nr.6. Efectul aplicării metodei revendicate asupra conținutului de elemente minerale al leurdă ecologice conform exemplului nr. 2

Proba	Tipul de procesare	Na (mg/kg)	Mg (g/kg)	K (g/kg)	Ca (g/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Mo (mg/kg)
Leurdă	Uscată natural	14,01	0,208	3,710	0,815	23,95	3,87	1,13	2,69	0,14
	Liofilizată	100,24	1,488	26,544	5,830	171,38	27,73	8,08	19,25	1,00

Rezultatele obținute de pulberile realizate prin metoda de liofilizare definită de condițiile revendicate, demonstrează că pulberile de leurdă ecologică liofilizată au obținut valori foarte bune ale conținutului de elemente minerale comparativ cu cele ale frunzelor de leurdă uscată natural: Na 100,24 v/s 14,01; Mg 1,488 v/s 0,208; K 26,544 v/s 3,710; Ca 5,830 v/s ,815; Fe 171,38 v/s 23,95; Mn 27,73 v/s 3,87; Cu 8,08 v/s 1,13; Zn 19,25 v/s 2,69 și Mo 1,00 v/s 0,14.

Pulberile de leurdă liofilizată au un conținut ridicat de elemente minerale, atât macroelemente (Ca, K, Mg), cât și microelemente (Fe, Mn, Mo, Zn) ceea ce le recomandă ca aditivi alimentari/coloranți ce pot crește valoarea nutrițională a produselor inovative în care sunt incluse.

Lipsa metalelor grele, o caracteristică esențială pentru produsele ecologice, confirmă valoarea deosebită a pulberei obținută din frunze de leurdă liofilizată și poate fi utilizată în produse alimentare ecologice.

În concluzie, pulberea de leurdă ecologică obținută prin liofilizarea definită de condițiile revendicate, poate fi recomandată atât ca aditiv alimentar, cât și colorant natural deoarece sunt menținute proprietățile nutritive precum conținutul în acid ascorbic, elemente minerale și clorofila, care imprimă culoarea verde intens.

Datele experimentale de mai sus demonstrează existența unui efect tehnic nou apărut în urma aplicării tehnologiei revendicate prin prezentul brevet.

[Handwritten signatures]



27

Metodă de liofilizare pentru obținerea de aditivi și coloranți naturali din plante ecologice

REVENDICĂRI

1. Metodă de liofilizare pentru obținerea de aditivi și coloranți naturali din plante ecologice, de exemplu din leurda și urzica, constituită din următoarele etape: a) Recoltarea manuală pe vreme uscată a frunzelor și lăstarilor, prin tăiere, nu smulgere înainte de perioada de înflorire, b) Așezarea frunzelor și lăstarilor în lădițe de plastic sau carton fără a le tasa, și ferite de razele soarelui, c) Încărcarea lădițelor în mijlocul de transport, d) Transportarea la depozit a lădițelor cu frunze și lăstari cu vehicule izoterme, în cel mult 24h de la recoltare, e) Descărcarea și recepția lădițelor cu frunze și lăstari din mijlocul de transport, f) Spălarea frunzelor și lăstarilor cu apă de la robinet în 2-5 repetiții în funcție de încărcătură (praf, nisip, etc), g) Zvântarea în aer a frunzelor și lăstarilor ecologici pentru maxim 1-2 ore, h) Cântărirea și ambalarea a 25-50 g, frunze și lăstari ecologici, în caserole cu capac cu volum total de 500 g, i) Congelarea imediată pentru minim 24 h la temperaturi scăzute cuprinse între -24°C...-80°C, j) Răcirea rafturilor liofilizatorului la -24°C...-80°C cu 2-5 ore înainte de liofilizare, k) Pornirea liofilizatorului și setarea programului de lucru care începe cu încălzirea pompei de vid pentru 15-20 minute, l) Închiderea valvelor de presiune și de evacuare apă, m) Introducerea rafturilor răcite în primele minute (maxim 15) de la pornirea programului de lucru, n) Îndepărtarea capacului și introducerea caserolelor în liofilizator în maxim 20 minute de la pornirea programului de lucru, o) Închiderea etanșă a liofilizatorului, p) Liofilizarea principală la o depresiune 0,4-1,0 mbar pentru o perioadă de 44-70 ore, temperatura raftului la sublimare între 0-25°C, temperatura din camera de condensare de -55°C...-85°C, q) Cântărirea caserolelor cu probe după liofilizare, r) Mărunțirea lor la 7000-9000 rpm timp de 5-20 secunde până la forma de pulbere cu dimensiunea particulelor între 20 μm și 1000 μm, s) Ambalarea pulberilor ecologice în tuburi sau pungi cu zip din plastic, t) Depozitarea acestora în loc uscat, ferit de căldură și umezeală până la 2-3 ani, u) Utilizarea pulberilor ecologice ca aditivi și coloranți alimentari naturali în produse inovative și alimente funcționale.

2. Produsul realizat în urma aplicării metodei liofilizare din revendicarea 1 plantelor de urzica, având orice formă fizică, de exemplu dar nu numai de pulbere de urzică cu conținutul de substanță uscată totală de 97,96±0,64%; **compoziția nutrițională** de 131,41 ±13,14 mg/100 g produs pentru acidul ascorbic; 900,86 ±7,33 mg GAE/100 g produs pentru conținutul de polifenoli totali; 3116,42 ±69,0 mg echiv. catechin/100g produs pentru conținutul de flavonoide totale; 7,743 ±0,42 mM equiv Trolox/ 100 g produs pentru activitatea antioxidantă; 718,78 ±12,70 mg/100 g produs pentru clorofila totală; 1938,95 ±10,80 mg/100 g produs pentru carotenoizi și un **conținut de elemente minerale** de 143,79 mg/kg pentru Na; 1,945 g/kg pentru Mg, 3,069 g/kg pentru K; 20,435 g/kg pentru Ca; 97,28 mg/kg pentru Fe; 31,09 mg/kg pentru Mn; 10,41 mg/kg pentru Cu; 18,19 mg/kg pentru Zn; 1,57 mg/kg pentru Mo.

3. Produsul realizat în urma aplicării metodei de liofilizare din revendicarea 1 plantelor de leurdă, având orice formă fizică, de exemplu de pulbere de leurdă cu conținutul de substanță uscată totală de 94,04±0,24%; **compoziția nutrițională** de 178,38 ±1,59 mg/100 g produs pentru acidul ascorbic; 516,09 ±42,7 mg GAE/100 g produs pentru conținutul de polifenoli totali; 107,01 ±2,72 mg echiv. catechin/100g produs pentru conținutul de flavonoide totale; 1,161 ±0,056 mM equiv Trolox/ 100 g produs pentru activitatea antioxidantă; 691,29 ±6,64 mg/100 g produs pentru clorofila totală; 1930,86 ±1,56 mg/100 g produs pentru carotenoizi și un **conținut de elemente minerale** de 100,24 mg/kg pentru Na; 1,488 g/kg pentru Mg, 26,544 g/kg pentru K; 5,830 g/kg pentru Ca; 171,38 mg/kg pentru Fe; 27,73 mg/kg pentru Mn; 8,08 mg/kg pentru Cu; 19,25 mg/kg pentru Zn; 1,00 mg/kg pentru Mo.

4. Utilizarea produsului pulbere de urzică obținut conform metodei de liofilizare din revendicarea 1 și revendicării de produs 2 în scopul realizării de suplimente nutriționale, de alimente funcționale, de aditivi și coloranți alimentari ecologici.

5. Utilizarea produsului pulbere de leurdă realizat conform metodei de liofilizare din revendicarea 1 și revendicării de produs 3, în scopul realizării de suplimente nutriționale, de alimente funcționale, de aditivi alimentari și coloranți alimentari ecologici.

[Handwritten signatures]

