



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00558

(22) Data de depozit: 12/09/2022

(41) Data publicării cererii:
30/01/2023 BOPI nr. 1/2023

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE
MEDICO-MILITARĂ "CANTACUZINO",
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.103,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• LUPU ANDREEA-ROXANA,
ALEEA OTEȘANI, NR.3, BL.OD 52-54,
SC.B, ET.4, AP.64, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO;

• NĂȘCUȚIU ALEXANDRA- MARIA,
STR.MIHAI EMINESCU, NR.81, BL.A, ET.4,
AP.14, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
• FLOREA CARMEN-ANA- ISABELLE,
STR.CAP.IVAN ANGHELACHE, NR.5,
BL.M32, SC.1, AP.1, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;
• MATEI CORINA ȘTEFANIA,
STR.AL.I.CUZA, NR.289, SAT MĂRGINENII
DE SUS, DB, RO;
• NEGREA ȘTEFANIA-MĂDĂLINA,
SAT CEAURU NR.195, COMUNA BĂLEȘTI,
GJ, RO

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI SUPLIMENT ALIMENTAR
ANTIOXIDANT BUVABIL, PRIN AMESTECUL SUCULUI
OBTINUT DIN TREI GENOTIPURI DE ORZ ȘI ORZOAICĂ
DE TOAMNĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui supliment alimentar antioxidant buvabil prin utilizarea a trei genotipuri de orz și orzoaică de toamnă, supliment alimentar destinat menținerii și îmbunătățirii stării de sănătate. Procedeu conform invenției are următoarele etape:

1) recoltarea orzului și orzoacei când plantele au înălțimea medie de 20...25 cm, spălarea și tocarea plantelor, ambalarea masei vegetale și transportarea rapidă, în mai puțin de o oră, cu mașina frigorifică la 4...8°C către locul de procesare,

2) presarea la rece a masei vegetale pentru obținerea sucului de orz sau orzoaică verde,

3) congelarea recipientelor cu suc într-o cameră frigorifică la temperaturi de - 20°C ± 5°C,

4) decongelarea sucului urmată de centrifugarea acestuia timp de 30 min. la 2500...3000 rot/min la o temperatură de + 4°C, iar dacă supernatantul prezintă o cantitate mare de impurități se repetă centrifugarea,

5) filtrarea succesivă a supernatantului prin membrane din nitroceluloză cu dimensiunea porilor de: 1,2 μm, 0,8 μm, 0,65 μm, 0,45 μm, 0,2 μm, iar în ultima

etapă se realizează filtrarea sterilizantă în mediu steril prin membrana cu dimensiunea porilor de 0,2 μm, iar sucule rezultat se colectează în recipiente de sticlă sterile, cu controlul probelor de suc în ceea ce privește pH - ul, aspectul fizic, sterilitatea, capacitatea antioxidantă totală (CAT) și capacitatea de epurare a radicalilor liberi (ORAC),

6) amestecarea sucurilor de orz și orzoaică verde, ca produse intermediare, în vederea obținerii suplimentului alimentar antioxidant ca produs finit,

7) etichetarea sticlelor care conțin suplimentul alimentar și depozitarea acestora la o temperatură de + 5°C ± 3°C în vederea condiționării care se realizează într-un spațiu steril, dedicat și monitorizat corespunzător până la obținerea rezultatelor testelor de control, după care recipientele cu suplimentul alimentar conform se ambalează și se etichetează.

Revendicări: 3

Figuri: 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).



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. R 2022-00558
Data depozit 12-09-2022

1/12 ROM 67245/A0REȘTI
(indicativul unității militare)
INTRARE
Nr. 48798 din 12 SEP. 2022

Procedeu de obținere a unui supliment alimentar antioxidant buvabil,

prin amestecul sucului obținut din trei genotipuri de orz și orzoaică de toamnă

Descrierea invenției

Invenția se referă la procedeul de obținere a unui supliment alimentar antioxidant prin utilizarea a trei genotipuri de orz și orzoaică de toamnă, produs destinat menținerii și îmbunătățirii stării de sănătate.

Speciile reactive de oxigen (SRO), clasă de compuși chimici derivați din oxigenul molecular, stau la baza a ceea ce este considerat „paradoxul oxigenului” și anume: oxigenul este esențial pentru viața organismelor eucariote evolute dar, în același timp, este în mod inerent periculos pentru vietușoarele aerobe [1, 2]. Capacitatea SRO de a reacționa rapid cu biomolecule (proteine, lipide, acizi nucleici etc) inducând degradarea acestora și de a forma intermediari toxici care continuă și amplifică lanțul de reacții biochimice este asociată cu apariția leziunilor celulare și tisulare.

Acumularea acestor leziuni este urmată de modificări structurale și funcționale la nivelul țesuturilor și sistemelor, precum și de instalarea proceselor degenerative, inflamatorii, a tulburărilor metabolice și transformărilor neoplazice [3-5].

Organismul uman dispune de mecanisme antioxidante complexe pentru a neutraliza SRO și compusii intermediari toxici rezultați, pentru a repara leziunile celulare și tisulare produse în urma acțiunii SRO și pentru a împiedica instalarea proceselor patologice [3-5].

Cu toate acestea, expunerea susținută la o multitudine de factori exogeni și endogeni (temperaturi extreme, radiații ionizante, poluanți, microorganisme, aditivi alimentari, mediatori chimici eliberați de activitate fizică și/sau psihică intense sau insuficiente, particularități genetice, modificări asociate înaintării în vârstă etc), duce în timp la instalarea stresului oxidativ, definit ca dezechilibrul dintre acțiunea sistemică a SRO și capacitatea organismului de a contracara efectele nocive ale acestora [6-20].



Generarea SRO în structurile vii fiind un proces permanent, principala modalitate de a potența mecanismele de detoxifiere ale organismului și de a menține stresul oxidativ în limite care nu generează modificări patologice constă în aportul exogen de antioxidanți. Doza zilnică de antioxidanți trebuie corelată cu intensitatea stresului oxidativ prezent în organism și cu posibile interferențe cu tratamente specifice unor patologii existente (dacă este cazul).

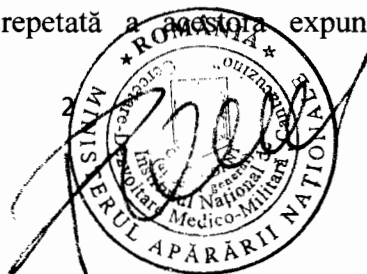
Utilizarea suplimentelor alimentare antioxidante pe bază de produse vegetale contribuie la îmbunătățirea și menținerea stării de sănătate, prin reducerea stresului oxidativ și potențarea mecanismelor fiziologice ale organismului. Majoritatea acestor produse conțin plante utilizate de sute sau chiar mii de ani în alimentația umană, pentru care există deja căi metabolice de procesare la nivel celular și tisular și al căror consum este asociat cu toxicitate inexistentă sau scăzută.

Orzul (*Hordeum vulgare* conv. *hexastichum*) și orzoaica de toamnă (*Hordeum vulgare* conv. *distichum*) reprezintă unele dintre cele mai utilizate cereale în alimentația umană. Studii recente au evidențiat conținutul ridicat în compuși antioxidanți al acestor plante și potențialul lor în îmbunătățirea și menținerea stării de sănătate, ceea ce susține utilizarea lor pe scară largă sub formă de suplimente alimentare antioxidante [21-28].

Cea mai utilizată metodă de obținere a suplimentelor alimentare constă în extragerea cu ajutorul unor solvenți a unor categorii de compuși vegetali de interes sau obținerea sucului vegetal prin presare și transformarea acestuia în pulbere prin liofilizare sau uscare prin pulverizare.

În ceea ce privește capacitatea antioxidantă, principalele dezavantaje de principiu ale procedeelelor de obținere a suplimentelor alimentare sub formă de pulbere sunt:

- solvenții descompun compuși macromoleculari, ducând la pierderea sau diminuarea activității acestora (efectul pentru sănătate al macromoleculei este, în unele cazuri, mai puternic decât suma efectelor moleculelor componente rezultate în urma acțiunii solvenților);
- prelucrarea materiei prime în vederea obținerii pulberii (condiții de presiune, temperatură etc) este asociată cu scăderea capacității antioxidante;
- majoritatea suplimentelor alimentare sub formă de pulbere sunt condiționate în flacoane multidoză, deschiderea și închiderea repetată a acestora expunând produsul acțiunii



oxigenului atmosferic, ceea ce duce la diminuarea rapidă a capacității antioxidante; pentru a evita degradarea rapidă a produsului, este necesară utilizarea de aditivi și/sau conservanți;

- suplimentarea acestor produse cu complexe de minerale și vitamine potențează anumite efecte benefice, dar impune precauții privind modul de utilizare, astfel încât să nu se depășească doza zilnică recomandată pentru vitamine și/sau oligoelemente și să fie luate în considerare particularitățile individuale privind starea de sănătate, predispoziții/modificări metabolice, vârstă etc.

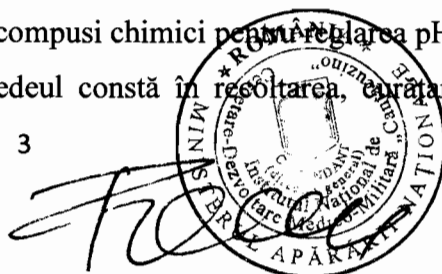
Astfel, în ceea ce privește extragerea cu ajutorul solvenților a unor compuși vegetali de interes, sunt cunoscute procedee de obținere a unor extracte vegetale preparate din plante verzi comestibile (ex. orz) și condiționate sub formă de pulbere insolubilă sau parțial solubilă în apă. Procedeele de obținere corespunzătoare brevetelor US 6022573 A și respectiv US 5876773 A constau în stoarcerea plantelor comestibile proaspete (ex. orz), transformarea sucului în pulbere (uscarea prin pulverizare sau liofilizare) și îndepartarea din pulberea uscată a componentelor solubile în apă. Compușii de interes sunt obținuți prin extracții cu solvenți organici polari și apoi folosiți drept aditivi alimentari.

Dezavantajul constă în faptul că aceste extracte vegetale ce urmează a fi utilizate ca aditivi alimentari sunt obținute prin extracție cu solvenți organici (amestec de etanol și acetonă).

Procedeul corespunzător brevetului US 5407696 A presupune presarea frunzelor de orz verde și procesarea sucului obținut prin electro-dializă pentru îndepărtarea anionilor și cationilor liberi (clor, sodiu, nitrați, care în cantități mari sunt toxici pentru om), adăugarea de dextrină și uscarea prin pulverizare în vederea obținerii unei pulberi uscate. Produsele rezultate în urma acestui procedeu de obținere au palatabilitate și stabilitate îmbunătățite.

Dezavantajul constă în multitudinea de factori (termici, fizici, chimici etc) ce pot influența etapele tehnologice și costurile ridicate ale obținerii produselor finite în condiții standardizate. În plus, există riscul scăderii în timp a capacității antioxidante sub acțiunea oxigenului atmosferic.

Procedeul de obținere a unui supliment alimentar din orz verde, care a eliminat dezavantajul utilizării de solvenți pentru extracție sau alți compuși chimici pentru reglarea pH-ului, este cel protejat prin brevetul CN 322573 A. Procedeul constă în recoltarea, curățarea și uscarea



plantelor de orz verde, obținerea sucului, uscarea și omogenizarea acestuia, sterilizarea la temperaturi înalte și condiționarea produsului finit. Dezavantajul principal constă în pierderea prin procesarea la temperaturi crescute a unor compuși biochimici cu rol antioxidant.

O serie de brevete se referă la obținerea din orz a unor băuturi sau bază pentru băuturi. Pentru a obține o anumită calitate a băuturii de interes (de obicei bere) sau o productivitate crescută, sunt utilizate plante modificate genetic, de exemplu genotipuri / soiuri care exprimă în cantități scăzute enzime cum ar fi lipoxigenaza 1 (brevet US 20190078042 A1) sau amidon sintaza III (brevet US 11266171 B2). Dezavantajul principal al utilizării plantelor modificate genetic este lipsa informațiilor necesare pentru a aprecia efectul pe termen lung (inclusiv 2-3 generații) asupra sănătății umane, al consumului produselor derivate din aceste tipuri de plante. De asemenea, nu există informații suficiente privind efectul pe termen lung asupra mediului.

Procedeul de obținere a unei băuturi sau bază pentru băuturi corespunzător brevetului US 11266171 B2 presupune prepararea unui extract apos din boabe de orz, fermentarea extractului apos cu drojdie și amestecarea extractului apos sau extractului apos fermentat cu suc (orice tip), obținându-se astfel o băutură sau o bază de bautură. Prin această metodă se pot obține băuturi cu conținut nutrițional ridicat, capacitatea antioxidantă a acestora fiind însă insuficient documentată.

În România este cunoscut un procedeu de obținere a unui extract din *Hordeum vulgare* protejat prin brevetul RO 110035 B1, (1989).

Procedeul constă în aceea că orzul verde (recoltat când plantele au 20-25 cm înălțime) este amestecat cu soluție tampon fosfat salin și centrifugat. Supernatantul rezultat este recoltat, supus reglării de pH și filtrat prin membrane cu dimensiunea porilor de 0,22μm (filtrare sterilizantă). Lichidul obținut este liofilizat, amestecat ulterior cu apă sterilă (apirogenă) și supus unei noi etape de filtrare sterilizantă.

Dezavantajele acestui procedeu includ: a) produsul intermediar obținut este liofilizat, fără a fi condiționat într-un ambalaj primar cu rol de protecție împotriva factorilor externi (oxigen, microorganisme etc), ceea ce duce la scăderea rapidă a capacității antioxidante; b) numărul mare de etape de lucru duce la o metodă de obținere costisitoare și cu numeroase surse de



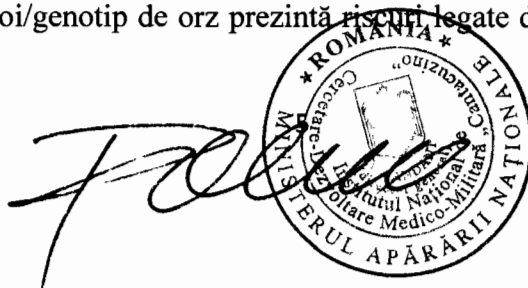
eroare; c) prin utilizarea tamponului fosfat și reglarea pH-ului se introduc în extract compuși chimici suplimentari, scăzând puritatea produsului finit.

O parte din dezavantajele acestui procedeu au fost eliminate prin utilizarea metodei de obținere descrisă în cererea de brevet de invenție nr. a **2017 00236** cu titlul „Supliment alimentar antioxidant pe bază de orz verde și procedeu de obținere a acestuia”:

- s-a obținut un produs finit cu o stabilitate crescută din punct de vedere al capacității antioxidante și cu un conținut mai bogat în aminoacizi față de produsul corespunzător brevetului RO 110035 B1 (au fost identificați nouă aminoacizi în plus și anume: serina, glicina, histidina, arginina, treonina, alanina, tirozina, leucina și triptofanul);
- a fost obținut un supliment alimentar cu puritate ridicată, fără aditivi / conservanți, cu compoziție și proprietăți similare cu cele ale sucului proaspăt de orz verde;
- procedeu de fabricație ieftin comparativ cu metoda precedentă.

Procedeu corespunzător cererii de brevet de invenție nr. a **2017 00236** constă în recoltarea orzului (plante tinere, 20-25cm înălțime), spălarea și tocarea acestora, urmată de ambalarea în saci de maxim 10kg și congelarea materialului vegetal. După cel puțin 6 luni, orzul este decongelat lent și presat cu ajutorul unei prese hidraulice. Ulterior, sucul de orz este centrifugat în vederea degrosării și supernatantul este păstrat până a doua zi în camera frigorifică. În faza următoare, sucul de orz verde este supus unei serii de filtrări succesive prin membrane de nitroceluloză cu dimensiuni ale porilor de 1,2 μ m, 0,8 μ m, 0,65 μ m, 0,45 μ m, 0,2 μ m. Ulterior se realizează filtrarea sterilizantă (prin membrane cu dimensiunea porilor de 0,2 μ m) în mediu steril (hotă cu flux laminar). Produsul intermediar astfel obținut este testat din punct de vedere al sterilității, pH-ului, activității de tip superoxid dismutază și activității de tip peroxidază. Produsul conform este condiționat steril în fiole de sticlă de 5mL, produsul finit fiind și el supus setului de analize menționat anterior.

Principalul dezavantaj al produsului obținut conform procedurii descris în cererea de brevet de invenție nr. a 2017 00236 este următorul: calitatea produsului final (obținut dintr-un singur soi de orz) depinde de calitatea materiei prime care, la rândul său poate suferi variații semnificative de la un an la altul, în funcție de condițiile de mediu și sol [27]. În plus, utilizarea unui singur soi/genotip de orz prezintă riscuri legate de disponibilitatea și calitatea

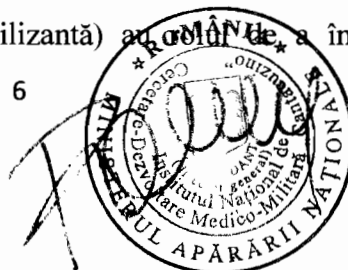


semințelor ce urmează a fi însămânțate, evoluția plantelor în funcție de condițiile de mediu și de sol și, cel mai important, riscuri legate de calitatea materiei prime.

Problema tehnică rezolvată de prezenta invenție constă în stabilirea unui procedeu de obținere a unui supliment alimentar antioxidant pe bază de orz și orzoaică de toamnă care permite reducerea variațiilor capacității antioxidante datorate, la rândul lor, variațiilor în calitatea materiei prime (dependentă de calitatea solului, condițiile meteorologice, densitatea și uniformitatea însămânțării etc).

Procedeul de obținere conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- un management îmbunătățit al obținerii și utilizării materiei prime;
- procedeul de obținere descris mai jos permite reducerea semnificativă a spațiului necesar pentru depozitarea la -20°C a materialului necesar pentru obținerea de suc de orz verde, reducerea semnificativă a costurilor asociate acestei depozitări și posibilitatea prelucrării sucului de orz în regim continuu, nefiind impusă o anumită perioadă de stocare la temperaturi scăzute;
- congelarea rapidă a sucului obținut după presare și păstrarea la temperaturi scăzute ($-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$) sunt asociate cu o mai bună stabilitate a compușilor biochimici, în timp ce temperatura crescută este asociată cu degradarea acestora. De asemenea, variațiile repetate de temperatură (caracteristice mediului natural) induc modificări ale moleculelor și de cele mai multe ori degradarea acestora. Congelarea reduce atât metabolismul celulelor plantei (existente încă în suc obținut prin presare), cât și cel al eventualelor microorganisme asociate plantelor de orz, scăzând și capacitatea acestora de a degrada compușii bioactivi (inclusiv aminoacizi) prezenți în orzul verde. De asemenea, temperaturile scăzute favorizează depunerea mineralelor și a altor compuși din suc, ceea ce ușurează prelucrarea ulterioară prin centrifugare și filtrări succesive;
- spălarea materialului vegetal poate elimina toate microorganismele prezente pe suprafața plantelor de orz sau orzoaică, iar presarea la rece nu reduce încărcătura microbiană. Stocarea sucului de orz la temperaturi scăzute și filtrările ulterioare decongelării (mai ales filtrarea sterilizantă) au rolul de a împiedica dezvoltarea



bacteriilor în timpul stocării și de a elimina componentele bacteriene din produsul intermediar și produsul finit;

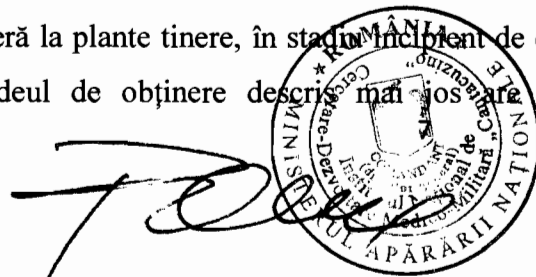
- filtrările succesive (mai ales filtrarea sterilizantă) au atât rol de degrosizare a sucului de orz și/sau orzoaică de toamnă, cât și de eliminare a bacteriilor care, pentru procesele metabolice proprii, ar putea utiliza o parte din aminoacizii existenți în sucul obținut, fenomen care influențează calitatea produsului finit (supliment alimentar antioxidant);
- în vederea realizării conformității cu atingerea unor parametri funcționali, calitativi și cantitativi ai procesului de obținere, pe parcursul său se realizează secvențe de controale active. Deciziile luate în urma analizei rezultatelor testelor de control permit eficientizarea etapelor tehnologice, reducerea costurilor prin eliminarea prelucrării, încă din primele etape, a loturilor cu șanse mari de a da rezultate neconforme;
- produsul obținut este 100% natural, fără aditivi și/sau conservanți.

Se dau în continuare câte un exemplu de realizare pentru procedeul de obținere a suplimentului alimentar pe bază de orz și orzoaică de toamnă, pentru metodologia de control asociată procesului de obținere și respectiv pentru suplimentul alimentar obținut prin procedeul descris, în legătură și cu figurile 1 și 2 care reprezintă:

Fig. 1- Etapele principale ale procedeului de obținere a unui supliment alimentar antioxidant buvabil, prin amestecul sucului obținut din trei genotipuri de orz și orzoaică de toamnă.

Fig. 2- Metodologie de control corespunzătoare procedeului de obținere a unui supliment alimentar antioxidant buvabil, prin amestecul sucului obținut din trei genotipuri de orz și orzoaică de toamnă.

Materia primă pentru obținerea unui supliment alimentar antioxidant prin procedeul propus de noi este reprezentată de orz (*Hordeum vulgare* conv. *hexastichum*) și orzoaică de toamnă (*Hordeum vulgare* conv. *distichum*). În prezenta invenție, formularea „orz sau orzoaică verde” se referă la plante tinere, în stadiu incipient de dezvoltare, cu înălțimea medie de 20-25cm. Procedeul de obținere descris mai jos are ca rezultat un supliment alimentar



antioxidant buvabil, care este procesat în tubul digestiv în mod similar altor alimente și este bine tolerat de organism, ceea ce scade la un nivel nesemnificativ posibilitatea apariției unor reacții adverse.

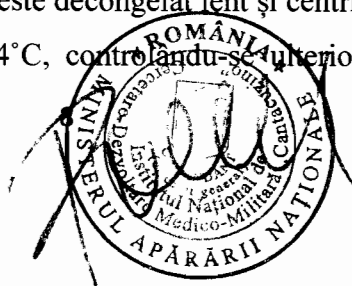
Procedeul de obținere a suplimentului alimentar antioxidant conform invenției conține etape menite să păstreze cât mai mult din compușii antioxidanți prezenți în plante și să ducă la obținerea unui produs finit cu variații cât mai mici ale capacității antioxidante de la un an la altul, astfel încât produsul finit să fie cât mai apropiat din punct de vedere calitativ de suc proaspăt de orz și orzoaică verde. În acest scop, imediat după recoltare și tocare, masa de orz verde este transformată în suc care este congelat și prelucrat ulterior în vederea degrosizării și sterilizării prin filtrare, produsul finit este steril și este condiționat în recipiente monodoză din plastic sau fiole de sticlă, ceea ce împiedică degradarea chimică și/sau microbiologică a suplimentului alimentar antioxidant. Procedeul de obținere (Fig. 1) este asociat cu etape de control (intermediare și finale) (Fig. 2), astfel încât materia primă să poată fi procesată în mod optim pentru obținerea unui supliment alimentar antioxidant la standardele dorite (capacitate antioxidantă în intervalul de acceptabilitate stabilit, sterilitate, pH), iar loturile neconforme să fie identificate din timp și eliminate, ceea ce duce la eficientizarea procesului tehnologic și scăderea costurilor asociate acestuia.

În faza 1 se recoltează orzul sau orzoaica verde (aprilie – mai), când plantele au înălțimea medie de 20-25cm (cu cât înălțimea plantelor este mai mare, cu atât prelucrarea lor este mai dificilă). Ulterior plantele sunt spălate și tocate (se obțin fragmente de 2-3cm), iar masa de orz sau orzoaică verde este ambalată în saci PVC (aprox. 10 kg/sac) care sunt transportați rapid (sub 1 oră) cu mașina frigorifică (temp 4-8°C) la locul în care se vor realiza etapele următoare de prelucrare.

În faza 2 se realizează presarea masei de orz sau orzoaică verde cu ajutorul unui echipament ce asigură presarea la rece, obținându-se suc de orz sau orzoaică verde.

În faza 3 recipientele cu suc de orz sau orzoaică verde sunt congelate într-o cameră frigorifică (temp: $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) dedicată.

În faza 4 suc de orz sau orzoaică verde este decongelat lent și centrifugat timp de 30 minute la 2500-3000 rpm și temperatura de $+4^{\circ}\text{C}$, controlându-se ulterior pH-ul supernatantului



astfel încât, dacă valorile obținute nu se încadrează în intervalul 5,0-7,0, sucul de orz sau orzoaică se aruncă; în cazul în care supernatantul prezintă o cantitate mare de impurități, care ar putea compromite realizarea fazei 5, centrifugarea se repetă.

În faza 5 supernatantul rezultat în urma centrifugării este supus unor filtrări succesive prin membrane filtrante din nitroceluloză, într-o ordine dată de dimensiunea porilor: 1,2 μ m, 0,8 μ m, 0,65 μ m, 0,45 μ m, 0,2 μ m cu efectuarea controlului integrității filtrului; ultima etapă a acestei faze constă în realizarea filtrării sterilizante în mediu steril, prin membrana filtrantă de nitroceluloză, cu dimensiunea porilor de 0,2 μ m, seria de suc rezultat colectându-se în recipiente de sticlă cu filet, autoclavate în prealabil la 121°C, 1 atm, 30 minute și recoltându-se steril, în hota cu flux laminar, probe suc steril pentru control: pH, aspect fizic, sterilitate, capacitate antioxidantă totală (CAT) și capacitate de epurare a radicalilor peroxil (ORAC), timpul de obținere a rezultatelor pentru sterilitate fiind de 14 zile, iar determinarea capacității antioxidante totale (CAT) și a capacității de epurare a radicalilor peroxil (ORAC) făcându-se prin metode cunoscute (Total Antioxidant Capacity – kit comercial potrivit pentru testarea produselor vegetale și Oxygen Radicals Absorbance Capacity (ORAC)) [27, 28].

În faza 6, pe baza rezultatelor testelor privind capacitatea antioxidantă efectuate în etapa anterioară, se realizează amestecul de sucuri de orz și orzoaică verde (produse intermediare) în vederea obținerii suplimentului alimentar antioxidant – produs finit.

În faza 7 recipientul de sticlă ce conține supliment alimentar antioxidant steril este etichetat și depozitat la temperatura de +5°C \pm 3°C, în vederea condiționării care se realizează într-un spațiu steril, dedicat și monitorizat corespunzător, utilizându-se recipiente monodoză din plastic sau fiole de sticlă farmaceutice, transparente, sterile, volum minim 5mL, închise etanș sau ermetic iar probele sunt supuse controlului (pH, aspect fizic, sterilitate, capacitate antioxidantă totală (CAT), capacitate de epurare a radicalilor peroxil (ORAC)), astfel încât suplimentul este stocat în camera frigorifică la temperatura de +5°C \pm 3°C până la obținerea rezultatelor testelor de control, ulterior, recipientele cu supliment alimentar antioxidant conform se etichetează și se pun în ambalajul secundar (cutia de carton personalizată și etichetată în cazul condiționării în recipient monodoză din plastic, folii de plastic PVC în cazul condiționării în fiole de sticlă), eventual terțiar (cutia de carton personalizată și etichetată, în cazul condiționării în fiole de sticlă) care se depozitează la temperatura de +5°C \pm 3°C.



Rezultă Supliment alimentar antioxidant – produs finit, steril, condiționat în recipiente monodoză din plastic (închise etanș sau ermetic) sau fiole de sticlă, cu volum de minim 5mL. Recipientele monodoză sau fiolele cu suplimentul alimentar antioxidant se controlează vizual și se elimină cele care nu corespund.

Probe de Supliment alimentar antioxidant sunt supuse controlului (pH, aspect fizic, sterilitate, Capacitate antioxidantă totală (CAT) și Capacitate de epurare a radicalilor peroxil (ORAC)). Suplimentul alimentar antioxidant se stochează în camera frigorifică la temperatura de $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ până la obținerea rezultatelor testelor de control (14 zile).

După etapa de control, recipientele care îndeplinesc condițiile de acceptabilitate se etichetează și se pun în cutii de carton personalizate pentru acest produs (ambalaj secundar). În cazul condiționării în fiole de sticlă, acestea se pun în folii de plastic PVC, pentru 10 fiole (ambalaj secundar) și apoi în cutii de carton personalizate pentru acest produs (ambalaj terțiar).

Cutiile cu Supliment alimentar antioxidant se depozitează la temperatura de $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Necesitatea condiționării în recipiente rezistente la factori externi (în special impermeabile pentru oxigenul din aerul atmosferic) a fost demonstrată în studiile noastre anterioare, realizate pe suplimentul alimentar ce face subiectul cererii de brevet de invenție nr. **a 2017 00236**. Condiționarea în recipiente permeabile pentru moleculele de oxigen duce la diminuarea rapidă (4 luni) a capacității de epurare a radicalilor peroxil. Păstrarea suplimentului alimentar antioxidant la temperatura camerei ($20-25^{\circ}\text{C}$) este asociată cu scăderea capacității de epurare a radicalilor peroxil și implicit, a capacității antioxidante totale [42].

Metodologia de control, conform invenției, combină monitorizarea continuă a procesului tehnologic în scopul asigurării unei calități corespunzătoare a suplimentului alimentar antioxidant produs cu două etape de ajustare a contribuției fiecărui soi/genotip de orz sau orzoaică de toamnă în produsul finit.

Metodologia de control, conform invenției, parcurge șapte faze, corespunzătoare fazelor procedurii de obținere).



În faza 1 se măsoară înălțimea medie a plantelor prin eșantionare stratificată, considerându-se că aria cultivată poate fi împărțită în zone care diferă între ele prin ritmul de creștere a plantelor, dar în interiorul cărora plantele au aproximativ aceeași înălțime. În plus, se urmărește aspectul fizic al plantelor, evitându-se recoltarea celor cu aspect nesănătos (modificări ale culorii, texturii și grosimii frunzelor, apariția mucegaiurilor etc). În această fază sunt stabilite zonele și ordinea în care se va face recoltarea plantelor de orz sau orzoaică de toamnă, permițând etapizarea recoltării (într-o perioadă de câteva zile) astfel încât materia prima să corespundă cerințelor procedurii de obținere a suplimentului alimentar antioxidant.

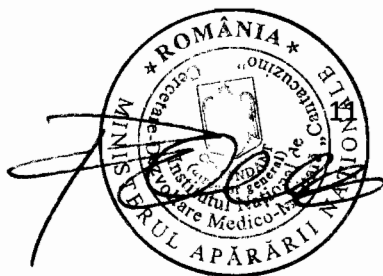
În plus, la stabilirea cantității recoltate din fiecare soi/genotip de orz sau orzoaică de toamnă contribuie în mod semnificativ rezultatele obținute pentru testele de control din faza 2.

Tot în această fază se controlează și presiunea aplicată pentru obținerea sucului astfel încât valorile acesteia să se mențină la o valoare relativ constantă și suficientă pentru realizarea în condiții optime a acestei etape din fluxul tehnologic.

În faza 2 sucul de orz sau orzoaică verde este evaluat din punct de vedere al aspectului fizic, pH-ului și capacității antioxidante măsurate prin metodele CAT și ORAC. Culoarea sucului obținut poate varia de la verde intens la cafeniu roșcat. O culoare gălbuie indică o calitate foarte slabă a sucului și/sau o contaminare bacteriană semnificativă, caz în care se evită procesarea ulterioară a lotului respectiv.

Modificarea pH-ului poate indica existența unei contaminări bacteriene. Dacă pH-ul nu se încadrează în intervalul 5,0 – 7,0, sucul de orz sau orzoaică verde se aruncă.

Valorile privind capacitatea antioxidantă corespunzătoare fiecărui soi/genotip de orz sau orzoaică de toamnă trebuie să se încadreze între limitele de acceptabilitate stabilite. Valorile obținute permit identificarea soiurilor / genotipurilor cu capacitatea antioxidantă cea mai slabă, respectiv cea mai crescută și permit ajustarea cantităților de plante recoltate, astfel încât să se obțină un produs finit cu calitate cât mai bună și materia primă să fie utilizată corespunzător prin obținerea unei cantități mai mari de suc din lotul cel mai bun în acel an. Unul din avantajele acestei abordări constă în faptul că, în cazul unor cantități suficiente, sucul din lotul cel mai bun poate fi utilizat dacă acesta își păstrează proprietățile, iar soiul respectiv, datorită condițiilor meteo și de sol, în al doilea an a dus la obținerea unui suc de calitate mai slabă.



În plus, în faza 2 se stabilește compoziția teoretică a amestecului corespunzător produsului intermediar, varianta ce urmează a fi validată sau nu, pe baza rezultatelor testelor de control din faza 6.

Ținând cont că etapele de prelucrare sunt identice pentru toate genotipurile / soiurile de orz sau orzoaică de toamnă utilizate, această stabilire a amestecului corespunzător produsului intermediar pe baza evaluării capacității antioxidante a sucului obținut din cele trei genotipuri / soiuri îndeplinește rolul unei acțiuni corective în cadrul procesului tehnologic reducând la minim influența „verigii celei mai slabe”.

În faza 3 este monitorizată temperatura de stocare a sucului de orz sau orzoaică verde. Stocarea sucului de orz la $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ reduce semnificativ șansele de creștere bacteriană. Conform directivelor europene și cerințelor US Food and Drug Administration, produsele alimentare destinate consumului uman trebuie stocate la temperaturi de -18°C sau mai joase, deviația maximă admisă în timpul transportului (deci pe termen scurt) fiind de 3°C [29, 30]. Ținând cont că există diferențe între temperatura în incintă și temperatura în interiorul produsului (sucul de orz sau orzoaică verde), se va evita păstrarea sucului pe termen lung la temperaturi aflate spre limita superioară a intervalului de acceptabilitate (-15°C).

În faza 4 se urmărește aspectul sucului decongelat lent, loturile care au o culoare gălbuie nefiind prelucrate mai departe. După centrifugare se măsoară pH-ul lichidului. Dacă pH-ul nu se încadrează în intervalul 5,0 – 7,0, sucul de orz sau orzoaică verde se aruncă.

În faza 5 se realizează filtrările sterilizante. Este verificată permanent integritatea filtrelor. Ruperea filtrelor compromite etapa de filtrare corespunzătoare și se impune înlocuirea filtrelor (cu filtre având aceeași dimensiune a porilor) și refiltrarea sucului deja procesat.

Sucul obținut în urma filtrărilor succesive este supus testelor privind aspectul fizic, pH-ul, sterilitatea și capacitatea antioxidantă măsurată prin metodele CAT și ORAC. Rezultatele obținute permit sau nu procesarea ulterioară a sucului obținut. În plus, pe baza rezultatelor privind capacitatea antioxidantă este stabilită formula definitivă a amestecului de suc de orz și orzoaică de toamnă ce va constitui produsul intermediar. După cel puțin un an de la pornirea producției pilot, în stabilirea formulei amestecului final pot fi luate în considerare și diagramele de control realizate pe baza valorilor obținute atât în anii precedenți cât și în anul respectiv, precum și rezultatele studiilor de stabilitate.



În faza 6, după realizarea amestecului, produsul intermediar este supus aceleiași baterii de teste ca în etapa anterioară, criteriile de acceptabilitate fiind aceleași. Loturile nesterile sau cu valori ale pH-ului în afara intervalului de acceptabilitate vor fi eliminate. De asemenea, recipientele cu lichid tulbure vor fi eliminate.

În timp, deși lichidul se păstrează clar, este posibilă apariția unor depuneri în recipientele cu suc, fără a fi însă afectată calitatea produsului finit.

În faza 7, în urma condiționării este obținut produsul finit – supliment alimentar antioxidant care, la rândul său este supus testelor privind aspectul fizic, pH-ul, sterilitatea și capacitatea antioxidantă evaluate prin metodele CAT și ORAC. În plus, se realizează controlul vizual al recipientului și este evaluat volumul extractibil.

Realizarea unui amestec de sucuri de orz sau orzoaică verde, pe baza datelor privind capacitatea antioxidantă are rolul obținerii unui produs de calitate cât mai bună prin reducerea influenței „verigii celei mai slabe” (soiul / genotipul cu capacitatea antioxidantă cea mai mică”. Nu sunt luate în considerare soiurile / genotipurile din care, în anul respectiv, s-a obținut suc cu capacitate antioxidantă sub limita inferioară a intervalului de acceptabilitate.

Comparativ cu metodologia de control utilizată pentru obținerea produsului corespunzător cererii de brevet de invenție nr. **a 2017 00236**, per total, metodologia de control corespunzătoare invenției asigură un mai bun management al riscurilor asociate procedurii de obținere a suplimentului alimentar antioxidant pe bază de orz și/ sau orzoaică de toamnă.

Un exemplu de supliment alimentar antioxidant (prototip) obținut conform procedurii corespunzătoare invenției rezultă prin amestecul sucurilor obținute din două genotipuri din recolta anului 2022 (notate G1 și G2) și soiul de orz Ametist (notat cu Am). Produsul testat conține volume egale din cele trei tipuri de suc vegetal.

Capacitatea antioxidantă totală a fost evaluată utilizând un kit comercial potrivit pentru testarea produselor vegetale, respectând indicațiile producătorului. Detaliile protocolului de lucru utilizat în laboratorul nostru pentru metoda ORAC au fost descrise în articolele publicate în 2013 și 2015 [27, 28]. Probele au fost prelucrate cel puțin în triplicat pentru fiecare variantă, fiind luate în considerare și raportate la curba standard cele cu coeficient de



variație $CV \leq 10\%$. Au fost luate în considerare doar acele experimente pentru care curba standard a fost caracterizată printr-un coeficient de corelație ≥ 0.95 . Standardul utilizat este reprezentat de Trolox (acid 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic), analog hidrosolubil al vitaminei E, iar rezultatele sunt exprimate în echivalenți de Trolox ($\text{nmol}/\mu\text{L}$). Ambele metode (CAT și ORAC) sunt acceptate la nivel internațional pentru testarea capacității antioxidante a alimentelor și produselor vegetale (inclusiv a suplimentelor alimentare).

Valorile corespunzătoare capacității antioxidante măsurate prin metodele CAT și ORAC sunt prezentate în Tabelul nr. 1:

Conținutul probei testate	Capacitatea antioxidantă totală (CAT) – $\text{nmol}/\mu\text{L}$		Capacitatea de epurare a radicalilor peroxil – $\text{nmol}/\mu\text{L}$
	-PM	+PM	
G1	26,55	25,3	22,65
G2	26	26,95	27,5
Am	25,12	22,53	6,91
G1+G2+Am	20,79	21,13	25,14

Tabelul nr.1. Capacitatea antioxidantă totală (CAT) și capacitatea de epurare a radicalilor peroxil măsurată prin metoda ORAC corespunzătoare sucurilor obținute din cele trei genotipuri individuale și amestecului celor trei tipuri de suc vegetal. Prescurtarea PM se referă la reactivul “protein mask”.

În tabelul de mai sus, pentru CAT au fost precizate valorile corespunzătoare probelor netratate, respectiv tratate cu “protein mask” (PM), reactiv care previne reducerea ionului de Cu^{2+} de către proteinele ce se găsesc în probă, făcând astfel posibilă evaluarea activității antioxidante a moleculelor mici. Diferențele ne semnificative dintre valorile obținute pentru probele netratate cu PM și valorile corespunzătoare probelor tratate cu PM evidențiază faptul că proprietățile antioxidante ale sucurilor obținute (inclusiv ale amestecului) se datorează compușilor cu greutate moleculară mică, nu compușilor cu molecule mari, cum ar fi



proteinele. Toate probele (genotipuri individuale și amestec) prezintă valori apropiate ale capacității antioxidante totale.

În ceea ce privește capacitatea de epurare a radicalilor peroxil (măsurată prin metoda ORAC), se poate observa că orzul Ametist prezintă o valoare semnificativ mai mică decât valorile pentru G1 și G2. Cu toate acestea, capacitatea de epurare a radicalilor peroxil corespunzătoare amestecului este apropiată de valoarea maximă obținută (corespunzătoare G2). În acest caz, orzul Ametist reprezintă „veriga cea mai slabă”. Obținerea unei capacități cât mai mare de epurare a radicalilor peroxil este importantă, acest tip de radicali liberi fiind responsabili pentru degradarea oxidativă a proteinelor, componente esențiale ale structurilor celulare [31].

Rezultatele privind capacitatea antioxidantă a suplimentului alimentar obținut prin metoda propusă de noi susțin efectul benefic al produsului în îmbunătățirea și menținerea stării de sănătate, contribuind la detoxifierea organismului și putând fi folosit în condiții de stres, efort fizic și psihic.

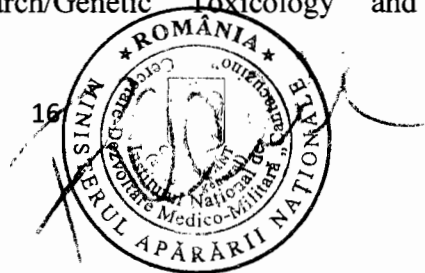
Avantajele soluțiilor propuse de brevet au în vedere următoarele:

- un management îmbunătățit al obținerii și utilizării materiei prime;
- stabilirea unui process tehnologic eficient, cu costuri reduse comparativ cu procedeele de obținere a sucului de orz verde utilizate în prezent;
- metodologie de control ce permite un management îmbunătățit al riscurilor asociate procesului tehnologic și obținerea unui produs a cărui capacitate antioxidantă depinde în mai mică măsură (comparativ cu produsele existente pe piață) de variațiile anuale ale calității materiei prime. În plus, utilizarea unor metode acceptate pe scară largă la nivel internațional pentru testarea suplimentelor alimentare de origine vegetală susține recunoașterea calității produsului conform cerințelor naționale și internaționale în vigoare.
- Supliment alimentar antioxidant pe bază de orz și orzoaică de toamnă, 100% natural, fără aditivi și/sau conservanți, util pentru îmbunătățirea și menținerea stării de sănătate.



Referințe bibliografice

1. KJ Davies, 1995, Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp.*, 61:1-31. doi: 10.1042/bss0610001. PMID: 8660387.
2. B Halliwell, Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life, *Plant Physiology*, Volume 141, Issue 2, June 2006, Pages 312–322, <https://doi.org/10.1104/pp.106.077073>
3. CR Reczek, NS Chandel, 2017, The Two Faces of Reactive Oxygen Species in Cancer, *Annual Review of Cancer Biology*, vol 1: 79-98, doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-041916-065808
4. SK Bardaweel, M Gul, M Alzweiri, A Ishaqat, HA ALSalamat, RM Bashatwah, 2018, Reactive Oxygen Species: the Dual Role in Physiological and Pathological Conditions of the Human Body. *Eurasian Journal of Medicine* 50(3):193-201. doi: 10.5152/eurasianjmed.2018.17397
5. J Checa, JM Aran, 2020, Reactive Oxygen Species: Drivers of Physiological and Pathological Processes. *Journal of Inflammation Research*, 13: 1057–1073. <https://doi.org/10.2147/JIR.S275595>
6. Szumiel I, 2015, Ionizing radiation-induced oxidative stress, epigenetic changes and genomic instability. The pivotal role of mitochondria, *International Journal of Radiation Biology*, 91(1): 32 pages
7. E I. Azzam, J-P Jay-Gerin, D Pain, 2012, Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury, *Cancer Lett.* 31; 327(0): 48–60.
8. T Debevec, G P. Millet, V Pialoux, 2017, Hypoxia-Induced Oxidative Stress Modulation with Physical Activity, *Front. Physiol.* 8:84, doi: 10.3389/fphys.2017.00084
9. FJ Kelly, 2003, Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects, *Occupational and Environmental Medicine*; 60:612-616.
10. R Franco, R Sánchez-Olea, E M. Reyes-Reyes, M I. Panayiotidis, 2009, Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: Ménage à Trois, *Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674 (1-2), 3-22
11. S Mena, A Ortega, JM Estrela, 2009, Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674 (1-2): 36–44



12. RD Novaes, AL Teixeira, AS de Miranda, 2019, Oxidative Stress in Microbial Diseases: Pathogen, Host and Therapeutics., *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 8159562, 3 pag;
13. FC Camini, CC da Silva Caetano, LT Almeida et al, 2017, Implications of oxidative stress on viral pathogenesis, *Arch Virol*, 162:907-917, doi.org/10.1007/s00705-016-3187-y
14. EI Medina-Reyes, C Rodríguez-Ibarra, A Déciga-Alcaraz, D Díaz-Urbina, YI Chirino, J Pedraza-Chaverri, 2020, Food additives containing nanoparticles induce gastrotoxicity, hepatotoxicity and alterations in animal behavior: The unknown role of oxidative stress. *Food Chem Toxicol.*, Dec;146:111814. doi: 10.1016/j.fct.2020.111814. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33068655.
15. Y Minamiyama, S Takemura, H Ichikawa. 2021, Food additive-induced oxidative stress in rat male reproductive organs and hippocampus. *Arch Biochem Biophys.*, Apr 15;701:108810. doi: 10.1016/j.abb.2021.108810. Epub 2021 Feb 16. PMID: 33600787.
16. S Salim, 2014, Oxidative Stress and Psychological Disorders, *Current Neuropharmacology*, 12, 140-147
17. K Fisher-Wellman, RJ Bloomer, 2009, Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history, *Dynamic Medicine*, 8:1 doi:10.1186/1476-5918-8-1
18. J Takaki, 2013, Associations of Job Stress Indicators with Oxidative Biomarkers in Japanese Men and Women, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 10, 6662-6671;
19. B. Poljsak, I. Milisav, 2013, Cap 14.Aging, Oxidative Stress and Antioxidants, Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants, Ed. J A. Morales-González, InTech, ISBN 978-953-51-1123-8
20. D-F Dai, YA Chiao, D J Marcinek, H H Szeto³, PS Rabinovitch, 2014, Mitochondrial oxidative stress in aging and healthspan, *Longevity & Healthspan*, 3:6
21. L Lahouar, A El Arem, F Ghrairi, H Chahdoura, H Ben Salem, M El Felah, L Achour, 2014, Phytochemical content and antioxidant properties of diverse varieties of whole barley (*Hordeum vulgare* L.) grown in Tunisia. *Food Chem.*, Feb 15;145:578-83. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.08.102. Epub 2013 Sep 5. PMID: 24128517.
22. MN Maillard, MH Soum, P Boivin, C Berset, 1996, Antioxidant Activity of Barley and Malt: Relationship with Phenolic Content. *LWT - Food Science and Technology*; 29(3):238-244;



23. M Omwamba, Q Hu. 2010, Antioxidant activity in LUPU and CREMER 81 barley (*Hordeum Vulgare L.*) grains roasted in a microwave oven under conditions optimized using response surface methodology, *J Food Sci.*; 75(1):C66-73, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01426.x., PubMed PMID:20492152;
24. M Dvořáková, M Douanier, M Jurková, V Kellner, P Dostálek, 2008, Comparison of Antioxidant Activity of Barley (*Hordeum vulgare L.*) and Malt Extracts with the Content of Free Phenolic Compounds Measured by High Performance Liquid Chromatography Coupled with CoulArray Detector. *Journal of the Institute of Brewing*, 114:150–159;
25. M Popescu, T Danciu, E Danciu, G Ivopol, S Manea, 2011, Natural Antioxidants, Free-radical scavengers and Minerals in fresh juices and Vegetables, *Rev Chim (Bucharest)*, 62:8;
26. S Gul , N Ahmend, N Kifl, QT Uddin, NB Tahir, A Hussain et al., 2014, Multiple pathways are responsible for Anti-inflammatory and Cardiovascular Activities of *Hordeum vulgare*, *Journal of Translational Medicine*, 12:316;
27. AR Lupu, L Cremer, G Ionescu, G Szegli, A Herold, M Cristea, 2013, The peroxy scavenger activity of the vegetal product Natural SOD measured using ORAC method, *Romanian Biotechnological Letters*, 18(4): 8511-8520;
28. AR Lupu, L Cremer, 2015, Study to establish the acceptance range for peroxy radical scavenger capacity of Natural SOD, *Romanian Archives for Microbiology and Immunology*, 74(3-4):91-98;
29. <https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/are-you-storing-food-safely>, accesat în data de 10.09.2022;
30. <https://eur-lex.europa.eu/EN/legal-content/summary/quick-frozen-food.html>, accesat în data de 10.09.2022;
31. C López-Alarcón, A Arenas, E Lissi, E Silva, 2014, The role of protein-derived free radicals as intermediaries of oxidative processes. *Biomolecular Concepts*, 5(2), 119-130. <https://doi.org/10.1515/bmc-2014-0004>



Revendicări

1. Procedeu de obținere a suplimentului alimentar pe bază de orz și orzoaică de toamnă, caracterizat prin aceea că se parcurg următoarele faze:

Faza 1 - recoltarea orzului și orzoaicei când plantele au înălțimea medie de 20-25cm, spălarea și tocarea plantelor, ambalarea masei vegetale și transportarea rapidă a acestora (sub 1 oră) cu mașina frigorifică (temperature de 4-8°C) la locul în care se vor realiza etapele următoare de prelucrare;

Faza 2 - presarea masei de orz sau orzoaică verde cu ajutorul unui echipament ce asigură presarea la rece, obținându-se sucul de orz sau orzoaică verde;

Faza 3 - congelarea recipientelor cu suc de orz sau orzoaică verde într-o cameră frigorifică dedicată, la temperaturi de $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$;

Faza 4 - decongelarea sucului de orz sau orzoaică verde urmată de centrifugarea sucului timp de 30 minute la 2500-3000 rpm și temperatură de $+4^{\circ}\text{C}$; în cazul în care supernatantul prezintă o cantitate mare de impurități, care ar putea compromite realizarea fazei 5, se repetă centrifugarea;

Faza 5 - supunerea supernatantului rezultat în urma centrifugării la filtrări succesive prin membrane filtrante din nitroceluloză, într-o ordine dată de dimensiunea porilor: 1,2 μm , 0,8 μm , 0,65 μm , 0,45 μm , 0,2 μm ; în ultima etapă a acestei faze se realizează filtrarea sterilizantă în mediu steril, prin membrana filtrantă de nitroceluloză, cu dimensiunea porilor de 0,2 μm , seria de suc rezultat colectându-se în recipiente de sticlă sterile; probe suc steril pentru control: pH, aspect fizic, sterilitate, capacitate antioxidantă totală (CAT) și capacitate de epurare a radicalilor peroxil (ORAC);

Faza 6 - realizarea amestecului de sucuri de orz și orzoaică verde (produse intermediare) în vederea obținerii suplimentului alimentar antioxidant – produs finit;

Faza 7 - etichetarea recipientului de sticlă ce conține supliment alimentar antioxidant steril și depozitarea la temperatura de $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, în vederea condiționării care se realizează într-un spațiu steril, dedicat și monitorizat corespunzător, utilizându-se recipiente monodoză din plastic sau fiole de sticlă farmaceutice, transparente, sterile, volum minim 5mL; probele sunt supuse controlului (pH, aspect fizic, sterilitate, capacitate antioxidantă totală (CAT),



capacitate de epurare a radicalilor peroxil (ORAC)), suplimentul este stocat în camera frigorifică la temperatura de $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ până la obținerea rezultatelor testelor de control, ulterior, recipientele cu supliment alimentar antioxidant conform se etichetează și se pun în ambalajul secundar (cutia de carton personalizată și etichetată în cazul condiționării în recipient monodoză din plastic, folii de plastic PVC în cazul condiționării în fiole de sticlă), eventual terțiar (cutia de carton personalizată și etichetată, în cazul condiționării în fiole de sticlă) care se depozitează la temperatura de $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

2. Metodologie de control asociată procedurii descris în revendicarea nr 1, care combină monitorizarea continuă a parametrilor critici ai procesului tehnologic în scopul asigurării unei calități corespunzătoare a suplimentului alimentar antioxidant produs, cu două etape de ajustare a contribuției fiecărui soi/genotip de orz sau orzoaică de toamnă în produsul finit.

Evaluarea capacității antioxidante a sucului proaspăt permite identificarea soiurilor / genotipurilor cu capacitatea antioxidantă cea mai slabă, respectiv cea mai crescută și ajustarea cantităților de plante recoltate, astfel încât să se obțină un produs finit cu calitate cât mai bună și materia primă să fie utilizată corespunzător prin obținerea unei cantități mai mari de suc din lotul cel mai bun în anul respectiv. În plus, rezultatele obținute permit stabilirea primei variante a amestecului de sucuri de orz și orzoaică de toamnă. Această formulă va fi folosită ca atare sau îmbunătățită, în funcție de rezultatele testelor de control (în special capacitate antioxidantă) corespunzătoare sucurilor vegetale sterile ce vor intra în componența produsului intermediar și a produsului finit.

3. Supliment alimentar antioxidant pe bază de orz și orzoaică de toamnă, obținut prin procedeul descris în revendicarea nr 1, caracterizat prin aceea că, în scopul îndeplinirii rolului benefic pentru organismul uman, prezintă o capacitate antioxidantă totală de cel puțin 20 echivalenți Trolox ($\text{nmol}/\mu\text{L}$) măsurată cu ajutorul unui kit standardizat potrivit pentru testarea produselor vegetale și o capacitate de epurare a radicalilor peroxil de cel puțin 5 echivalenți Trolox ($\text{nmol}/\mu\text{L}$) măsurată prin metoda ORAC (Oxygen Radicals Absorbance Capacity).



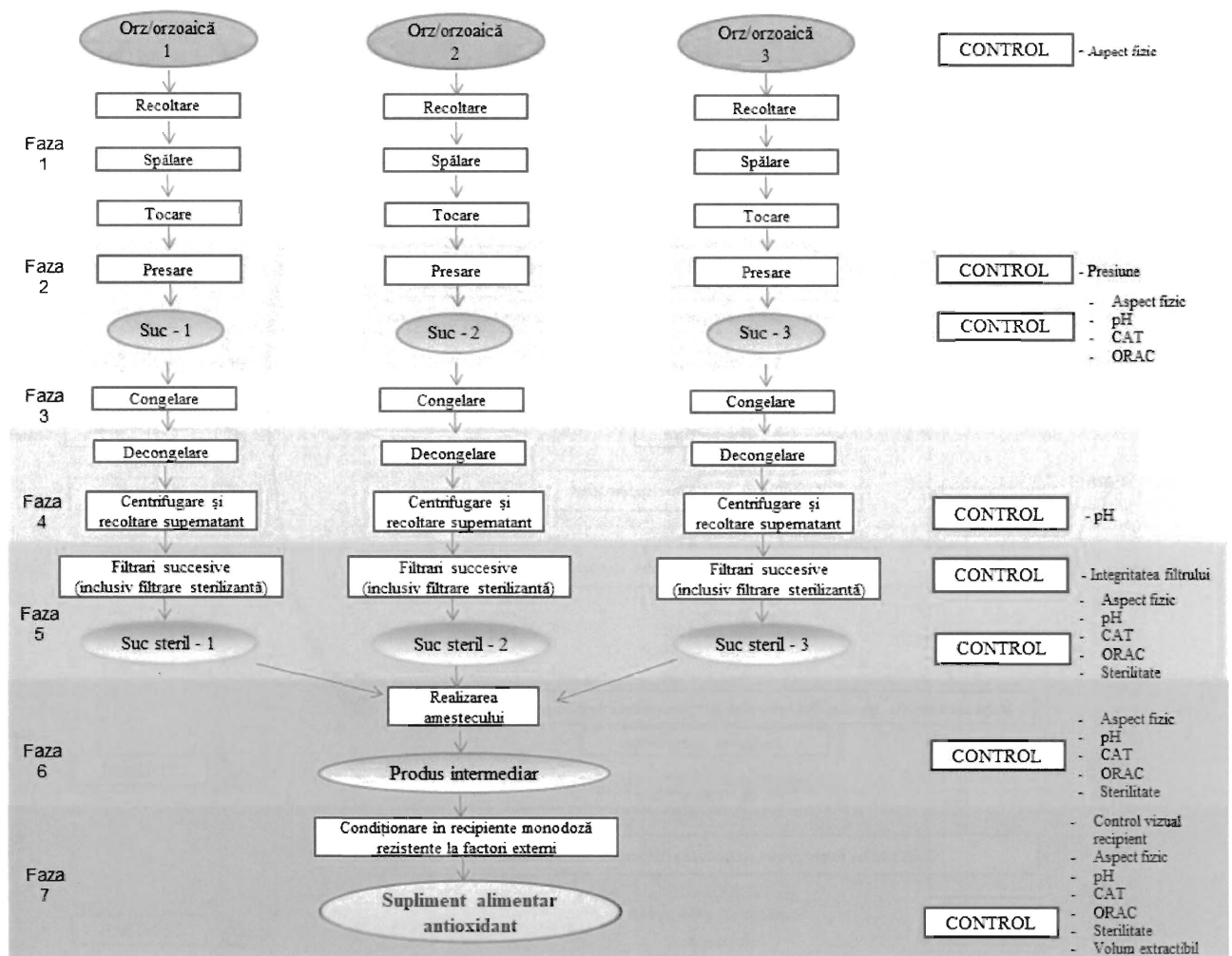


Fig. 1. Etapele principale ale procedurii de obținere a unui supliment alimentar antioxidant buvabil, prin amestecul sucului obținut din trei genotipuri de orz și orzoaică de toamnă.



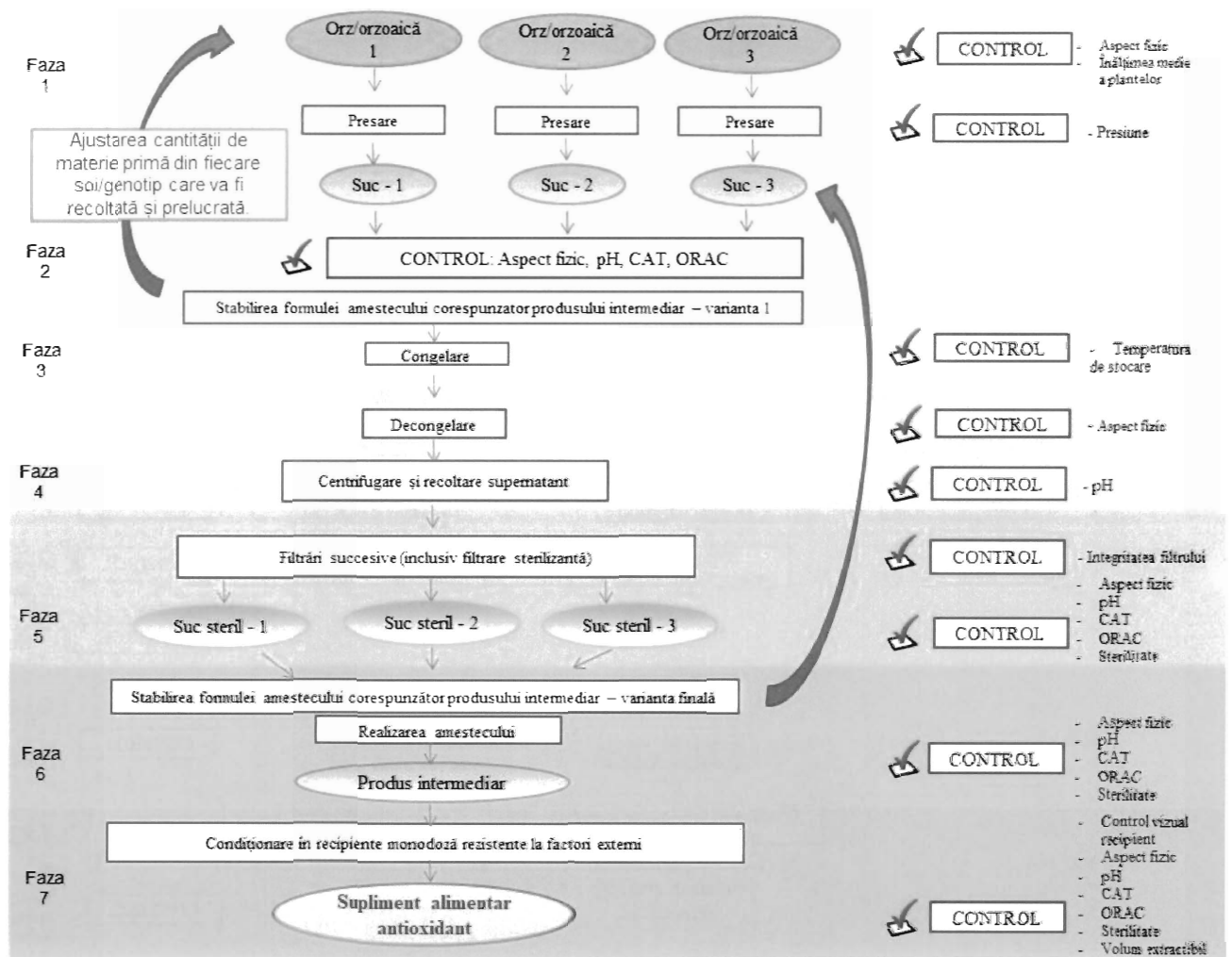


Fig. 2. Metodologie de control corespunzătoare procedurii de obținere a unui supliment alimentar antioxidant buvabil, prin amestecul sucului obținut din trei genotipuri de orz și orzoaică de toamnă.