



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00764

(22) Data de depozit: 24/11/2022

(41) Data publicării cererii:  
30/05/2024 BOPI nr. 5/2024

(71) Solicitant:  
• ASOCIAȚIA FORUMUL  
INVENTATORILOR ROMÂNI IAȘI,  
STR. SF. PETRU MOVILA NR.3, BL. L11,  
SC.III AP.3, IAȘI, IS, RO

(72) Inventatori:  
• SANDU ION, STR.SF.PETRU MOVILĂ  
NR.3, BL.L 11, SC.A, ET.3, AP.3, IAȘI, IS,  
RO;  
• FORNA NORINA CONSUELA,  
STR.MIHAIL KOGĂLNICEANU NR.2, IAȘI,  
IS, RO;

• SANDU ANDREI VICTOR, STR.PINULUI,  
NR.10, IAȘI, IS, RO;  
• STOLERIU GABRIELA, STR.PĂCURARI,  
NR.121, BL.602, SC.A, ET.2, AP.8, IAȘI, IS,  
RO;  
• SANDU IOAN GABRIEL,  
STR.PRINCIPALĂ, NR.16, VALEA ADÂNCĂ,  
COMUNA MIROSLAVA, IS, RO;  
• CHIRAZI MARIN, STR.CULTURII, NR.12,  
ARONEANU, IS, RO;  
• DUCEAC LETIȚIA DOINA, STR.NICOLINA,  
NR.1, BL.F, SC.B, ET.7, AP.27, IAȘI, IS, RO;  
• PETRESCU MARIA, STR.PĂCURARI,  
NR.121, BL.602, SC.A, AP.8, IAȘI, IS, RO

(54) PROCEDEU DE OBTINERE A CEAIURILOR AROMATE  
ȘI/SAU MEDICINALE INSTANT DIN PULBERI  
MICROÎNCAPSULATE PRIN ATOMIZARE *IN SITU*

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a ceaiurilor aromate și/sau medicinale instant din pulberi microîncapsulate prin atomizare *in situ*, utilizate în industria fitofarmaceutică și cea alimentară ca reconfortant, în prevenție și în terapia unor afecțiuni ale omului. Procedeu conform invenției are două etape: prepararea soluției concentrate de ceai simplu sau mixt obținută prin infuzie, decoct, macerare sau extracție în apă sau alcool etilic și prepararea supernatantului din fructe și/sau legume, la care se adaugă sub agitare un aditiv organic tensioactiv alimentar, format din 50% procente în greutate de cazeinat de sodiu, 25% procente în greutate proteine de soia sau de porumb și 25% procente în greutate de zahăr caramelizat, cu efect sinergic de condiționare a pulberilor fine prin microîmpachetare nanopeliculogenă *in situ*, faza fiind controlată printr-o serie de parametrii de lucru cum sunt: umiditatea plantelor uscate fin divizate la rece,

mărimea granulelor, timpul și temperatura de imersie, urmată în etapa a doua, de uscare cu un mini atomizor clasic, prin pulverizare cu o rată de aspirație variind între 70...90%, format din vasul cu ceai sau suc, ciclonul conic cu duză de purjare centrifugală, dispusă superior central, o pompă peristaltică, un sistem de încălzire în două trepte a calopurtătorului din azot gazos la 120°C și la 180°C, un tub de aspirare a gazelor reziduale prin vacuum la 400...500 mm Hg și un filtru colector de pulbere, soluția finală de ceai sau supernatant de fructe sau legume, aditivată cu substanțe pelculogene alimentare în concentrație de 3%, respectiv 5% fiind trimisă în atomizor prin duza de pulverizare cu un debit de 4 ml/min. echivalent cu 15% din rata de pompare.

Revendicări: 5

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. ....	a 2022 00764
Data depozit .....	24-11-2022

26

## International Patent Classification

F26B-005/08; A23C-009/16; A23F-000/00; A23F-003/00; A23F-003/06; A23F-003/14; A23F-003/16; A23F-003/18; A23F-003/26; A23F-003/30; A23F-003/32; A23F-003/34; A23F-003/40; A23F-005/40; A61K-035/78; A23L-000/00; A23L-002/00; A23L-002/02; A23L-002/38; A23L-002/39; A23P-001/06;

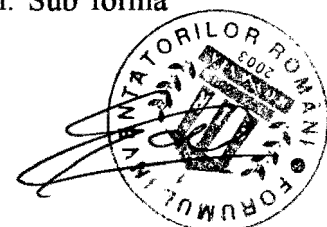
### PROCEDEU DE OBTINERE A CEAIURILOR AROMATE ȘI/SAU MEDICINALE INSTANT DIN PULBERI MICROÎNCAPSULATE PRIN ATOMIZARE IN SITU

Invenția se referă la un procedeu de obținere a ceaiurilor aromate și/sau medicinale instant din pulberi microîncapsulate prin atomizare in situ, care se utilizează în industria fitofarmaceutică și cea alimentară, având multiple aplicații: ca reconfortant, în prevenție și în terapia unor afecțiuni ale omului.

Farmacopeea internațională a plantelor medicinale este impresionantă, peste 20.000 de specii folosite în scopuri medicinale, care în prezent sunt studiate pentru a obține noi date științifice și practice, în raport cu cele empirice tradiționale [1]. Dintre acestea între 200 și 250 de specii sunt utilizate comercial [2], iar dintre plantele medicinale 0,7% sunt aromatice ale căror principii active sunt constituite în principal din uleiuri esențiale, mai mult sau mai puțin volatile. Din flora spontană din România și cele din import, amintim: menta (*Mentha piperata*), mușețelul (*Matricaria chamomilla L.*), salvia (*Salvia officinalis*), iasomia (*Jasminum officinalis* și *Jasminum grandiflorum*), levănțica sau lavanda (*Lavandula officinalis*), rozmarinul (*Rosmarinus officinalis*) busuiocul (*Ocimum basilicum*), cimbrul (*Thymus vulgaris*), flori de tei (*Tilia argentea*), ceai verde/negru (*Camellia sinensis*) oregano (*Origanum vulgare*), măghiranul (*Origanum majorana* sau *Majorana hortensis*), calendula (*Calendula officinalis*), arpagicul (*Allium schoenoprasum*), tarhonul (*Artemisia dracunculus L.*), cardamonul (*Elettaria cardamonum*), ghimbirul (*Zingiber officinale*) și altele, implicate în obținere de ceaiuri aromate, dar și medicinale [3-5].

În prezent, în cadrul industriei băuturilor, există două categorii, băuturi alcoolice și cele nealcoolice. În cele din urmă, există băuturi răcoritoare pe bază de apă îndulcită și sucuri de fructe, respectiv ca mixturi pentru industria cafelei și ceaiului. În categoria ceaiului, există ceai negru/verde, ceaiuri din plante/fructe (infuzii), decocturi, macerate și tincturi.

Se cunosc diverse scopuri în utilizarea plantelor aromatice și cele medicinale, dar principala lor formă de consum este cea proaspătă, deshidratată, atomizată și ca extract. Acestea sunt consumate proaspete sau uscate, pentru uz culinar sau medicinal. Sub formă



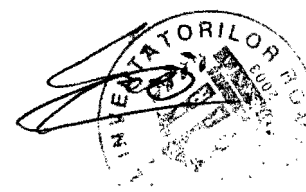
procesată, ca de exemplu: pulberi/pudrete fin divizate mecanic sau atomizate din extracte sau soluții concentrate din plante aromatice sau medicinale, obținute prin infuzie, decocturi, macerate din plante deshidratate sau dispersii de extracte apoase sau alcoolice din mixturi de plante, fructe și legume, care sunt folosite pentru pentru uz alimentar, ca atare sub formă de ceai tradițional, pentru condimentare sau aromatizare organoleptică la diverse preparate și băuturi și respectiv pentru uz medical sub forma ceaiurilor din plante medicinale,

Deci, în implicațiile practice din industria alimentară, cosmetică și farmaceutică, acestea sunt utilizate ca ingrediente de origine naturală folosite ca atare sub formă de pulberi fin divizate sau atomizate din extracte sau ca infuzii/decocturi și extracte apoase sau alcoolice (tincturi) [6].

Printr-un procedeu tehnologic, larg răspândit astăzi în lume, plantele, după recoltare și triere se spală și se usucă până la deshidratare, apoi se granulează fin, se condiționează și se ambalează, după care se păstrează până în momentul folosirii lor prin dizolvare în apă caldă sau chiar rece. Tot în industria farmaceutică se prepară capsule, gelule, soluții injectabile și alte produse, în compoziția cărora intră extracte totale sau substanțe active pure de origine vegetală.

Dintre formele utilizate, cel mai des, se remarcă infuziile și decocturile, ca ceaiuri din plante aromate și/sau medicinale și alte băuturi asemănătoare al cărui produs are o conotație medicinală. Astfel, ceaiurile din plante sunt o „băutură medicinală rezultată din fierberea ușoară a uneia sau mai multor ierburi și a altor ingrediente în apă clocotită”, în schimb, infuziile sunt băuturi obținute din diverse fructe sau ierburi aromatice uscate prin extracția principiilor biologic active solubile în apă la o temperatură mai mare decât temperatura camerei și mai mică decât punctul lor de fierbere, iar decocturile prin fierbere la temperatura de 100°C, timp mai mare de 5 minute, în funcție de volatilitatea principiilor active conținute [4, 5].

Ceaiurile pe bază de plante medicinale și aromate au drept scop multiple implicații, dintre care trei sunt foarte importante industrial: băuturi calde reconfortante, cele cu efect preventiv și/sau terapeutic, având în toate cazurile beneficii pentru sănătatea omului. În ciuda numeroaselor aplicații, dintre care unele deosebite, acceptarea pe piață a produselor de această natură, i se opun trei factori: procesarea prin operații complexe, timpul de pregătire a ceaiului (mai mult sau mai puțin 5 minute) și pliculețe de ceai, care aduc după sine o serie de dezavantaje [7]. Ultimele sunt de obicei fabricate din materiale celulozice (hârtie sau textile țesute și nețesute), cu un procent de nailon de calitate alimentară sau polietilentereftalat (PET) [8]. În majoritatea cazurilor, în procesul de obținere a ceaiului, plantele sunt utilizate în mod obișnuit în „pliculețe de ceai” pentru a face infuzii (tizane) sau decocturi, în principal cu scop medicinal [9-12].



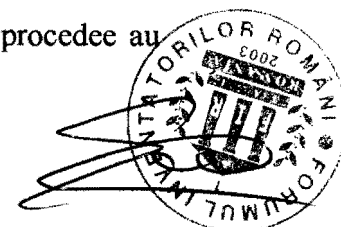
Utilizarea acestor săculețe sau pungi mici pentru încapsulare fabricate din materiale filtrante inerte bioactiv (hârtie microporoasă, suporturi textile țesute sau nețesute din fire subțiri de bumbac sau de in) și biodegradabile, face ca timpul de pregătire/procesare să fie relativ lung, generează deșeuri și există o mare probabilitate de a ingera microplastice și nanoplastice. Cele care au inserții din fire polimerice au o rată mare de biodegradare.

Materialele plastice, datorită inerției lor chimice și durabilității, au perioade de degradare lungi, de până la sute de ani [13], aspecte care conduc la un management defectuos al deșeurilor. Consumul ridicat al acestor băuturi poartă cu sine o producție mare de deșeuri care sunt greu de eliminat. În primul rând, ele pot ajunge în gropile de gunoi, ceea ce contribuie la încălzirea globală și contaminarea solului și a apei din jur. De asemenea, pot fi incinerate ceea ce produce poluanți din aer, cum ar fi hidrocarburile aromatice policiclice, dioxinele și altele [14]. Mai mult, utilizarea acestui tip de ambalaj în industria băuturilor aromatice, ca subproduse uzate nerecirculate se pot descompune în micro și nano particole polimerice, ceea ce face detectarea și cuantificarea acestora foarte complexă. Deoarece apa folosită pentru prepararea infuziilor sau a ceaiurilor din plante trebuie să aibă o temperatură în jur de 95°C sau mai mare, plasticul prezent în pungi se poate degrada termic, chiar cele de calitate alimentară, eliberând astfel substanțe toxice, atunci când sunt încălzite peste 40°C. Studii au arătat că o pliculețe de ceai din plastic în apă încălzită la 95°C eliberează aproximativ 11,6 miliarde microparticole polimerice și 3,1 trilioane de nanoparticole polimerice într-o singură ceașcă de băutură. S-a estimat că consumul anual de microplastice variază între 39.000 și 52.000 particulele în funcție de sex și vârstă [15].

Marea preocupare în ceea ce privește microplasticele constă în faptul că particulele consumate pot ajunge în sistem gastrointestinal prin alimente contaminate, care poate provoca un efect inflamator, cu permeabilitate crescută și cu modificări ale compoziției microbiene a intestinelor. Aceste particule pot fi absorbite de intestin, fenomen care depinde de aderența la mucoasa gastrointestinală unde aderența ridicată crește clearance-ul acestora [16].

Mai mult, în cazul utilizării amestecurilor de pulberi din plante uscate, este greu de elaborat un procedeu unitar din procesele graduale de prelucrare a plantelor și de realizare a unor formulări cu cele mai bune sinergii de amestecare, cu proprietăți scontate, apoi este anevoios de determinat concentrația în principii active pentru fiecare plantă și de stabilit raportul optim de amestecare. De asemenea, este foarte dificil de controlat și monitorizat variația *umidității*, *solubilității* și a *densității în vrac* a pulberilor după încapsulare.

Cel mai des, ceaiurile din plante uscate se prepară direct, prin imersarea pudretelor de plante fin divizate în apă încălzită la o anumită temperatură [17, 18]. Aceste procedee au



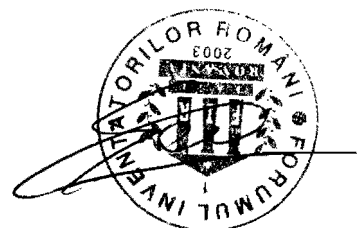
dezavantajul perioadelor mari încălzire, lipsa controlului temperaturii de fierbere și a dozajului privind cantitatea de pudretă/volumul de apă, alături de reziduurile de plante utilizate.

Se cunoaște, de asemenea, utilizarea în prepararea ceaiului a pastilelor sau foliilor din pudrete atomizate, comprimate și încapsulate cu o peliculă de adeziv comestibil, foarte solubil în apă [19].

Fiind sub formă de pastilă sau folie de ceai instant, aceasta necesită prelucrarea pudreței pentru o masă și volum impus, deci procedeul necesită implicarea unui dispozitiv suplimentar de dozare și presare, care să ofere caracteristici dimensionale ce permit la dizolvare în apă caldă sau rece realizarea raportului optim pastilă (folie)/volum de apă, în corelație cu cerințele consumatorului.

Cel mai apropiat brevet de invenția noastră este procedeul de obținere a ceaiului instant din pudrete atomizate încapsulate, care sunt redată în invenția [20]. Acestea, pe lângă infuzii, decocturi, macerate sau extracte concentrate din plante aromate, necesită după atomizare, pentru realizarea stabilizării termice, climatice și fotochimice a unor operații de condiționare, iar pentru îmbunătățirea solubilității și conservabilității în condiții normale de păstrare, folosirea unor aditivi organici comestibili (netoxici), cum ar fi: lapte praf integral, pudră fină de zahăr din trestie, pudră de lactoză, celuloză microcristalină, pudră de cardamom încapsulat și pudră maltodextrină, care să nu interacioneze cu pulberea instant de ceai și să nu le modifice caracteristicile organoleptice și reologice la utilizare.

Ca instalație de atomizare a dispersiilor concentrate de ceai și respectiv pentru microîncapsularea in situ a pudretelor cu nanopeliculogene de condiționare s-au folosit sistemele prezentate în invențiile [21-28], care au fost optimizate constructiv și funcțional pentru a realiza in situ pudretele microîncapsulate cu peliculogene de protecție. Acestea au la bază un uscător centrifugal cu pulverizare pentru produse alimentare sub formă de pudrete fine, care are un separator tip ciclon al cărui capăt superior este conectat la partea centrală a dispozitivului o conductă cu sac de filtrare la capăt, conectată la un ventilator de aspirație, prevăzut cu sisteme de purificare a aerului și o cameră de uscare cubică sau cilindrică, o duză de pulverizare prin purjare și un sistem de încălzire a aerului calopurtător pentru uscare. Aceste sisteme au o configurație complexă și necesită o serie de procese termice și hidrodinamice, cu parametri de funcționare bine determinați prin implicarea unor aparate și dispozitive amplasate extern. De asemenea, au dezavantajul ca pot fi utilizate doar pentru un singur tip de plante, în funcție de concentrația și temperatura de volatilizare a principiilor active, respectiv de natura și concentrația aditivilor de microîncapsulare in situ.



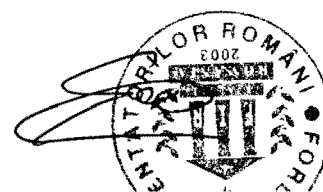
Se știe că soluția concentrată ce urmează să fie atomizată, trebuie să includă pe lângă principiile active din diferite esențe de ceai aromat sau medicinal și un aditiv organic netoxic, cu efect tensioactiv de microîncapsulare prin peliculizare in situ, sub formă de soluție, emulsie, gel sau suspensie [29-31]. Ca aditiv pentru condiționarea micropulberilor prin peliculizare in situ în procesul de atomizare a ceaiurilor concentrate se folosesc carbohidrații precum: amidonul hidrolizat, maltodextrinele, ciclodextrină sau dextrină aciclică - mediu polimerizată, sirop de porumb, proteina de fasole, soia sau grâu, lauril sulfat, carboximetilceluloză etc. [32-35].

Aceștia au dezavantajul că la dizolvarea instant a pulberilor de ceai, în apă rece sau caldă, prin aducții formați la condiționarea prin peliculizare in situ, micșorează solubilitatea și nu oferă o bună conservabilitate în timpul păstrării pentru perioade mai mari de 10 zile, înainte de utilizare. Mai mult, au proprietăți interfaciale slabe, din care cauză trebuie modificate chimic pentru a le îmbunătăți proprietățile și activitate de suprafață.

*Scopul invenției* constă în obținerea ceaiurilor aromate sau medicinale, cu solubilizare instant în apă rece sau caldă, folosite ca supliment alimentar, sub formă de pulberi condiționate in situ prin microîncapsulare cu peliculogele organice naturale, obținute prin atomizare, folosind un dispozitiv structural-funcțional simplu, care se pretează la orice tip de plantă, ca atare sau sub formă de amestec, indiferent de natura și concentrație principiilor active volatile și respectiv, oricare ar fi natura și concentrația aditivilor organici tensioactivi pentru peliculizare și care să nu afecteze organoleptic și reologic pulberea instant prin microîncapsulare.

*Problema pe care o rezolvă invenția* constă în microîncapsularea in situ a pulberilor uscate prin atomizarea soluțiilor din ceaiuri concentrate, folosind plante uscate și/sau sucuri stoarse din fructe sau legume, ca atare sau în amestec, alături de un amestec sinergic de aditivi alimentari cu efect peliculegen nanostructural.

Invenția înlătură dezavantajele aratate mai sus, **prin aceea că**, în vederea obținerii prin atomizare a unei pulberi fine microîncapsulate de ceai sau suc instant, procedeul constă în două etape de lucru: prepararea soluției concentrate de ceai simplu sau mixt obținută, în funcție de plantele aromate sau medicinale luate în lucru, prin: infuzie, decoct, macerare sau extracție în apă sau alcool etilic și respectiv, prepararea supernatantului din fructe și/sau legume, la care sub agitare se adaugă un aditiv organic tensioactiv, alimentar (netoxic), format din: cazeinat de sodiu 50%, proteine de soia (sau porumb) 25% și zahăr caramelizat 25%, cu efect sinergic de condiționare a pulberilor fine prin microîmpachetare peliculogenă in situ, faza fiind controlată printr-o serie de parametri de lucru, cum sunt: umiditatea plantelor uscate, fin divizate la rece,



mărimea granulelor, timpul și temperatura de imersie, urmată în etapa a doua de uscare cu un mini atomizor prin pulverizare (BÜCHI® B-290®) cu o rată de aspirație variind între 70 și 90%, format din: vasul cu ceai sau suc, ciclonul conic cu duză de purjare centrifugală, dispusă central superior, pompă peristaltică, sistem de încălzire în două trepte (la 120°C și 180°C) a calopurtătorului din azot gazos, tubul de aspirare a gazelor reziduale prin vacuum la 400...500 mm Hg, un filtru și un colector de pulbere. Soluția finală de ceai sau supernatant de fructe și/sau legume, aditivat cu substanțe pelculogene alimentare în concentrație de 3%, respectiv de 5%, este trimisă în atomizor prin duza de pulverizare cu un debit de 4 mL/min (echivalent cu 15% din rata de pompare).

Prin aplicare procedeul prezintă o serie de avantaje, dintre care se menționează:

- permite utilizarea atât a ceaiurilor concentrate obținute prin infuzie, decoct, macerare și extracție din plante uscate aromate sau medicinale, cât și a supernatantelor din sucuri stoarse din fructe sau legume coapte, centrifugate;
- se utilizează aditivi alimentari tensioactivi cu efect sinergic în procesul de microîncapsulare prin pelculizare, care nu afectează organoleptic pulberea fină de ceai instant și nici solubilitatea în apă rece sau caldă;
- mențin sau păstrează caracteristicile chimice, senzoriale și nutriționale ale ceaiului instant, care se utilizează ca un supliment alimentar bine tolerat indiferent de vârstă sau sex;
- ceaiul instant sub formă de pulberi fine condiționate prin microîncapsulare pelculogenă este un supliment alimentar comestibil, sănătos și benefic și are o funcție sporită de îngrijire a sănătății;
- înainte de utilizare, sunt minimizate efectele oxigenului și ale luminii la păstrare pentru perioade de până la 6 luni;
- nu se utilizează conservați, care ar afecta negativ starea de sănătate;
- costul de procesare este relativ scăzut și timpul de fabricare este scurt;
- componenți volatili din pulberile fine de ceai instant sunt simplu de determinat, de asemenea, eliberarea lor la nivelul salivei, sucului gastric și cel intestinal este ușor de evidențiat;
- procedeul este rapid, continuu, simplu și economic, de asemenea, este reproductibil și ușor de scalat, spre deosebire de alte procedee de obținere a pulberilor fine, care necesită un consum mai mare energie;
- se realizează pierderi minime de particule uscate pe pereții tuburilor și recipientelor instalației de atomizare;



- procedeul permite să se aplice în corelație cu caracteristicile principiilor active: solubilitate, sensibilitate la căldură, natura și proprietățile materialului pentru microîncapsulare, timpul de operare și o serie de aspecte economice, care nu necesită o evaluare statistică pentru o serie mare de variabile de răspuns;

- cazeinatul de sodiu și proteinele de soia sau porumb, împreună cu zahărul caramelizat, reprezintă o alternativă bună din punct de vedere al costurilor și beneficiilor, mai mult, acești aditivi prezintă o vâscozitate scăzută la o proporție mare de pulberi, sunt inodori, incolori și permit formarea de pelicule uniforme și continue de protecție, fără a masca aroma originală;

- aceste pelicologene oferă o bună stabilitate oxidativă, au o capacitate de emulsionare redusă și proprietăți de interfață optime, necesare pentru o încapsulare de înaltă eficiență;

- cazeinatul de sodiu și cele două proteine au proprietăți de legare ridicate pentru principiile active aromatice sau medicinale, fiind o alegere bună datorită conformației lor moleculare, difuzibilității ridicate și a unui puternic caracter amfifil, care realizează o mai bună distribuție în jurul suprafeței încapsulate.

#### **Exemple de realizare**

În continuare, se prezintă un exemplu de realizare a invenției .

Procedeul are la bază două etape sau faze de execuție, cu parametri de lucru specifici și anume:

- (i) Prepararea soluției concentrate de ceai simplu sau mixt, obținută prin infuzie, decoct, macerare sau extracție în apă sau alcool etilic și respectiv, a unui supernatant din fructe și/sau legume, la care sub agitare se adaugă prin dizolvare un amestec optim de aditivi organici tesioactivi, alimentari (netoxici), cu efect sinergic în procesul de condiționare prin microîmpachetare pelicologenă a pulberilor fine de ceai aromat sau medicinal, respectiv a celor rezultate din supernatante de fructe și/sau legume.
- (ii) Obținerea pulberii microîncapsulate din ceai aromat sau medicinal, respectiv din supernatant de fructe și/sau legume proaspete prin uscare cu ajutorul unui mini atomizor, a căror parametri de lucru sunt reglați în funcție de esențele de plante, fructe și legume luate în procesare, de concentrația în principii active, raportul de amestecare a acestora și de concentrația aditivilor, iar procesele care stau la baza procedurii de obținere a pulberilor instant sunt controlate prin o serie de parametri de lucru, cum ar fi: temperatura de uscare, fluxul de alimentare, viteza atomizorului și natura chimică, temperatura și debitul calopurtătorului utilizat.

Produsul final obținut trebuie să corespundă din punct de vedere calitativ unor caracteristici, care se determină înainte de ambalarea finală pentru comercializare. Astfel de

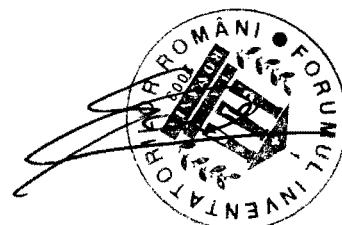


determină: capacitatea de dizolvare în apă rece și caldă, procentul în greutate în principii active microîncapsulate (eficiența de încapsulare), textura microcristalelor, respectiv morfologia și omogenitatea pulberilor, greutatea specifică și densitatea aparentă în vrac, capacitatea de eliberare controlată a conținutului de principii active din pulberea de ceai instant prin care se verifică dacă capsulele sunt capabile să protejeze principiile active volatile la trecerea prin cele trei medii: salivă, suc gastric și suc intestinal, prin testul de digestie în cele trei medii artificiale, de simulare. Ultima caracteristică este efectuată doar pentru probele care au prezentat cele mai bune rezultate pentru eficiența de încapsulare, morfologie, textură, umiditate și solubilitate.

Pentru prima fază a procedurii, mai întâi se elaborează un protocol experimental de obținere, în funcție de produsul final și scopul urmărit în utilizarea lui, a celor trei sisteme: extractul din plante uscate sau umede, supernatantul din suc de fructe și legume coapte și proaspete, amestecul sinergic de aditivi de microîncapsulare prin nanopeliculizare, care permite realizarea formulărilor rapoartelor de combinare (compoziția), pe baza compatibilității dintre componenți.

Astfel, mai întâi se obțin, separat pe specii, pulberile de plante aromatice (mentă, salvie, levănțică și/sau busuioc) sau medicinale (romaniță, sunătoare, coada șoricelului și/sau tei) uscate, cu umiditatea mai mică de 5%, și soluția de supernatant din fructe (lamâie, portocală, ananas, mere etc.) și/sau legume (morcov, pătrunjel, țelină, ghimbir etc.), proaspete, ajunse la maturitate, care sunt stoarse și centrifugate, cu 18.000 rpm, cu separarea prin decantare a stratului limpede de la suprafață.

Pantele uscate, fructele și legumele pot fi cumpărate de pe piața liberă. După achiziționare sunt selectate, asigurând starea bună a plantei, fructului sau legumei și prospețimea acestora. Cu ajutorul unor recipiente/vase cu apă distilată sau deionizată, la temperatura camerei, porții de 500...1000g de plante crude sau uscate, fructele și legumele au fost spalate pentru a elimina reziduurile, care ar putea interfera cu gradul de puritate la procesarea lor ulterioară, respectiv la elaborarea și/sau cuantificarea principiilor active. Fiecare porție de plantă, din cele achiziționate în stare uscată, după spălare, s-au re-uscat într-o etuvă cu vid (500 mmHg), la temperatura de 50°C, timp de cca 4 ore, iar cele crude au fost așezate pe tăvi de aluminiu, având grijă să nu se amestece, pentru a le introduce ulterior într-un ultra-congelator (Eppendorf® HEF® U410) la -80°C, timp de 7 ore, după care, tăvile s-au introdus într-un liofilizator (Labcono® FreeZone® 6L) care funcționează de la -40°C la 15°C, cu o viteză de răcire de 1,5°C/min și menținere la temperatura finală timp de 70 de ore pentru



a garanta o bună uscare, greutatea fiecărei porții de plante crude după urcare a scăzut la cca 1/3 până la 1/2 (rata de deshidratare a variat de la plantă la plantă).

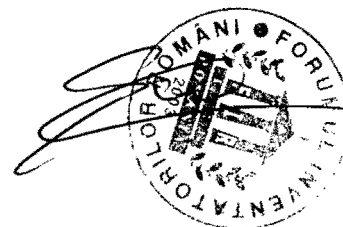
Supernatantul din fructe sau legume se păstrează până la procesare în flacone închise ermetic și depozitate în frigider la o temperatură sub 10°C.

Prelucarea primară a plantelor uscate, urmează aceleași operații până la stadiul de micropulberi divizate mecanic la rece, în schimb obținerea extractului de principii active, în funcție de plantă, natura și concentrațiile principiilor active, se aplică procesul de infuzare, decoct ca sisteme apoase sau prin disoluționare în alcool etilic, ca tinctură. Pentru infuzare sau decoct planta uscată, fin divizată, se umectează în apă distilată sau deionizată în raport apă/pudră de plantă de 5/1 (cu excepția produselor vegetale contin uleiuri foarte volatile), care se umectează într-o soluție de alcool etilic 60...80%. Pentru primele două procese, după cca. 5 minute se adaugă pușura în masa de apă prevăzută, încălzită la fierbere și se lasă în contact timp de 5 minute pentru infuzie și minim 30 minute pentru decoct. După scurgerea timpului de infuzare sau de extracție prin decoct, soluția se filtrează. În general infuzarea se aplică în cazul părților de plantă care au pereții celulari mai subțiri (flori, frunze, parti ierbacee) și principii active slab volatile, iar decoctul se realizează în cazul organelor vegetale (radacini, rizomi, scoarta, etc.) din care principiile se extrag mai greu. Extracția alcoolică prin fermentare ca tinctură presupune înmuierea pulberii de plantă, fin macinată la rece, în alcool etilic 60...80%, la raportul plantă/alcool de 1/1 și la temperatura de 20...25°C, pentru o anumită perioadă de minimum 190 ore, după care suspensia se filtrează, iar apoi filtratul se evaporă prin îndepărtarea alcoolului la temperatura de 90...100°C.

În continuare, se discută exemplul de procesare preliminară prin infuzare, deoarece celelalte diferă doar prin condițiile de extracție a principiilor active din plantă, prezentate mai sus.

O cantitate de 500 g de plante uscate, separat, au fost divizate fin la rece, apoi imersate în 500 mL apă distilată sau deionizată, într-un vas emailat de 1000 mL, după care s-au așezat pe o plită la 100°C și acoperite cu sticlă de ceas sau o folie de aluminiu. Acestea au fost încălzite până la fierberea dispersiei și apoi păstrată încă 5 minute, timp în care dispersia ferbinte s-a agitat magnetic 10 min, cu 300 rpm. Procedura a fost repetată de 4 ori. Acest proces a fost realizat pentru a mări solubilitatea principiilor active în apă.

Prin intermediul unui ansamblu de filtrare în vid cu un Kitasat, fiecare dintre infuziile preparate au fost separate de plante, iar soluția limpede cu extractele solubile au fost adunate într-un vas de sticlă sau din inox cu capacitatea de 10 L.

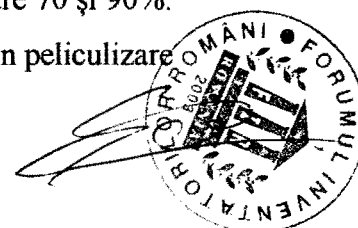


În funcție de gust, dorință și scopul de utilizare (băuturi calde sau reci reconfortante, cele cu efect preventiv și/sau terapeutic), ceipurile se prepară în corelație cu specia folosită dintr-o singură plantă sau un mix de plante, ca atare sau prin amestecare cu sucuri de fructe și/sau legume. Când se folosește o singură plantă procesarea pentru o anumită utilizare este simplă, de fiecare dată se prepară mai mult de 2L ceai, implicand, în funcție de specie și volatilitatea principiilor active, unul dintre cele patru tipuri de produse: infuzie, decoct, macerat sau tinctură. În cazul în care se dorește un mix de plante aromate s-au medicinale, atunci în funcție de aroma dorită de consumator sau de afecțiunea pacientului, raportul de combinare dintre plante, dozat înainte de obținerea ceaiului pe baza unui protocol experimental se elaborează formularea compozițională dorită. De exemplu, pentru ceaiul reconfortant sau pentru cel calmant, la obținerea infuziei se amestecă pudrele uscate de mentă, tei și sunătoare în raport gravimetric de 2:1:1 sau amestecul de mentă, tei și cimbru în raport gravimetric de 2:1,5:0,5.

În înainte de atomizare, într-un volum de 2 L supernatant din fructe și/sau legume, respectiv 2L de infuzie concentrată de plante aromate sau medicinale s-au adăugat în primul 100 g amestec de aditivare format din pulbere fină de cazeinat de sodiu 50%, proteine de soia (sau porumb) 25% și zahăr caramelizat 25%, iar în al doilea 60 g din același amestec de aditivare, care s-au agitat separat până la dizolvare totală, cu un agitator mecanic (Heidolph® Hei-TORQUE® Value 400), la o turație de 300 rpm, timp minim de 10 minute.

Alegerea sistemului pelicologen pentru microîncapsulare este de mare importanță pentru eficiența acesteia în ceea ce privește stabilizarea chimică, protecția climatică și termică a pulberii. Criteriile care s-au luat în considerare pentru alegerea acestuia sunt în primul rând proprietățile fizico-chimice, cum ar fi: solubilitatea, greutatea moleculară, cristalinitatea, difuzibilitatea, capacitatea de formare a peliculei (reologia), alături de cele economice și ușurința de achiziționare. În acest scop, pe baza unor experimente anterioare, s-au ales: cazeinatul de sodiu, proteinele de soia sau porumb și zahărul caramelizat, în proporție gravimetrică de 2:1:1, Acest sistem este ales pentru a proteja particulele de ceai de factorii exogeni, care pot deteriora și/sau degrada pulberea de ceai instant, de asemenea, pentru a preveni interacțiunea prematură cu alte ingrediente sau pentru a limita pierderile de volatilitate.

Pentru obținerea pulberilor de ceai instant, respectiv din supernatante limpezi de sucuri de fructe și/sau legume ajunse la maturitate și în stare proaspătă, s-a folosit un mini atomizor prin pulverizare (BÜCHI® B-290®) cu o rată de aspirație variind între 70 și 90%. Soluția finală cu principiile active din ceai și cu aditivii de microîncapsulare prin peliculizare

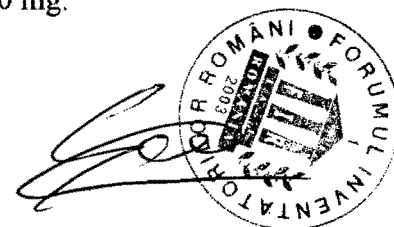


„in situ”, în volum de 2 L, a fost trimisă în atomizor cu o pompă peristaltică. Calopurtătorul din azot gazos, încălzit la 120°C în cazul principiilor active foarte volatile (de ex. mentol, limonen, eugenol, uleiuri esențiale de cardamon sau ghimbir, esență de tei etc.) și respectiv la 180°C pentru cele mai puțin volatile (de ex. luteolină, chamazulenă, flavone, taninuri astringente, rezine, acid oleanolic etc.), purjează jetul de soluție printr-o duză situată din zona centră a cicloului instalației de atomizare. Duza este atașată la capătul tubului de la pompa peristaltică care, prin absorbție din vasul în care a fost preparată soluția finală, aceasta trimisă cu un debit de 4 mL/min (echivalent cu 15% rata de pompare). În formulare, ca material peliculogen de acoperire a pulberilor din principii active de ceai instant s-a folosit amestecul de pulbere fină de cazeinat de sodiu 50%, proteine de soia (sau porumb) 25% și zahăr caramelizat 25%, adăugat în ceaiul din plante aromate sau medicinale în procent de 3%, iar în sucurile din fructe și/sau legume de 5%. Acestea au fost trimise spre duză și purjată sub forma unui curent turbionar circular în jurul tubului central prin care se realizează vidul pentru evacuarea gazelor (400...500 mmHg).

Puberea de principii active (aromate și/sau medicinale) microîncapsulate „in situ” cu o nanopeliculă de aditiv peliculogen se depun în conul inferior al atomizorului, de unde cad într-o pungă Ziploc®, care după umplere se închid și se depozitează într-un desicator.

După atomizare, pulberile obținute au fost caracterizate pentru a le garanta inocuitatea, funcționalitatea și calitatea, ca produs alimentar inovator.

Pentru produsele atomizate (microgranule de principii active peliculizate cu aditivi de protecție chimică, termică și climatică) pentru început s-a efectuat o analiză termogravimetrică (TGA) (folosind un termogravimetru analitic, ca de exemplu tip TA Instruments®SDT Q600®) pornind de la temperatura camerei (25°C) până la 700°C, cu o rată de încălzire 10°C/min, utilizând cantități între 5 și 10 mg substanță uscată, având ca etalon principii active volatile, pure, tip Merk®, Metoda a permis compararea curbelor TG și DTG pe nivele caracteristice de pierdere în masă a pulberilor de ceai aromatic sau medicinal, microîncapsulate, când s-a obținut o aproximare a procentului în greutate în principii active peliculizate și nepeliculizate (cristale pure). În analiză s-a luat ca reper temperatura de descompunere raportată în literatură de specialitate. În timpul procesului de descompunere termică, trebuie să se are grijă de cantitatea de probă care este introdusă în echipament, deoarece s-a observat că unele microcristalite ai compușilor volatili tind să desublimeze pe pereții incintei termice, din care cauză se recomandă continuarea încălzirii peste temperatura de 500°C până către maxim 700°C, iar cantitatea de probă să nu depășească 10 mg.



Textura microcristalelor de principii active peliculizate, respectiv morfologia și omogenitatea pulberilor au fost evaluate prin intermediul unei analize de imagine în Software-ul ImageJ®. Pentru aceasta s-a folosit un microscop electronic cu scanare (SEM-EDX) (model Thermo Scientific™ Phenom ProX G6 Desktop SEM sau VEGA II LSH, produs de firma TESCAN Cehia, cuplat cu un detector EDX tip QUANTAX QX2, produs de firma BRUKER/ROENTEC Germania) cu o tensiune de 15 kV, deoarece folosește un fascicul de electroni în loc de un fascicul de lumină pentru a forma o imagine mărită a suprafeței pulberilor. De obicei, eșantionul trebuie acoperit cu un strat subțire de argint, aur sau platină, care să-i conferă proprietăți conductoare, materialele dielectrice se polarizează sub influența fascicolului de electroni și imaginea SEM nu este clară.

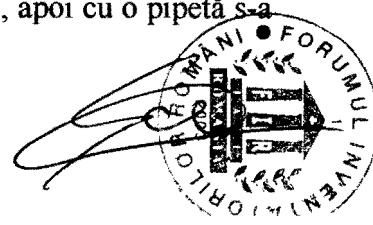
Probele care se analizează prin microscopia electronica de baleiaj sunt metalizate (argintate sau aurite) cu un dispozitiv cu vid, în atmosferă de argon gazos (Denton Vacuum® Desk V TSC) la o intensitate de 20 mA, timp de 1 min.

Pentru morfologie, imaginile au fost obținute la o mărire de 400 și 600x, unde cu softurile specializate s-a determinat granulometria și diametrul Feret, folosind un factor de conversie de 3,927 pixeli/micron. Pentru a determina omogenitatea, imaginile au fost obținute la o mărire de 2500-3000x, unde pentru fiecare probă s-au determinat la rezoluția de 350x350 pixeli graficul de suprafață și valoarea pentru șase parametri: dimensiunea fractală a texturii (FDt), al doilea moment unghiular (ASM), contrast, corelație, moment de diferență inversă (IDM) și entropie.

Valoarea umidității pulberii de ceai instant, exprimată în procente, a fost obținută cu ajutorul unei termobalanțe (Precisa® XM 60). Unde pentru fiecare probă luată în analiză s-a luat 3 g de pulbere, dar a fost evaluată și din curba TG prin analiză termogravimetrică în regim dinamic.

Determinarea greutății specifice și a densității aparent, s-a realizat independent pentru fiecare probă de 2 g pulbere, care au fost cântărite pe o balanță analitică (Vibra-HTR®) și au fost introduse într-o eprubetă gradată de 10 mL sau într-un picnometru de 25 mL cu ajutorul unei pâlnii de hârtie, cu ajutorul căroră s-a determinat volumul, apoi prin raportarea masei pe unitatea de volum s-a evaluat greutatea specifică și prin raportarea volumului de 1 cm<sup>3</sup> de probă presată într-o nacelă cubică la masa probei se obține densitatea aparentă.

Solubilitatea ceaiului instant s-a evaluat prin două metode [36, 37]. Pentru fiecare produs final s-a luat 1 g de pulbere care a fost solubilizată în 50 mL de apă distilată, amestecul a fost agitat magnetic la 1150 rpm, timp de 5 min. Ulterior, soluția a fost plasată într-o eprubetă conică și centrifugată la 3000 rpm, timp de 5 minute, la 25°C, apoi cu o pipetă s-a



luat 25 mL de supernatant și s-a transferată pe o sticlă de ceas, într-o capsulă de porțelan sau într-o cutie Petri, în prealabil cântărite, după care, acestea au fost introduse într-un cuptor sau etuvă cu termoreglare la 105°C, timp de 5 ore. La final, recipientul cu pulbere solidă a fost cântărită din nou. Procentul de solubilitate este calculată folosind ecuația:

$$S(\%) = 100 \times [(greutatea\ inițială\ a\ solventului\ (g) - greutatea\ pulberi\ rămasă\ după\ evaporare\ (g)) / greutatea\ inițială\ a\ solventului\ (g)], \text{ în care greutatea inițială a solventului } (g) = greutatea\ inițială\ a\ soluției\ (g) - greutatea\ pulberii\ (g)$$

Eliberarea controlată a conținutului de principii active din pulberea de ceai instant s-a evaluat prin testul de digestie in vitro pentru a verifica dacă capsulele sunt capabile să protejeze principiile active volatile până când ajung în intestinul subțire, unde se așteaptă să fie eliberate. Această procedură este efectuată doar pentru probele care au prezentat cele mai bune rezultate pentru morfologie, textură, umiditate, solubilitate și eficiență de încapsulare. Pentru aceasta, s-a luat în determinări compoziția teoretică de simulare pentru salivă, suc gastric și suc intestinal, prezentate în Tabelul 1.

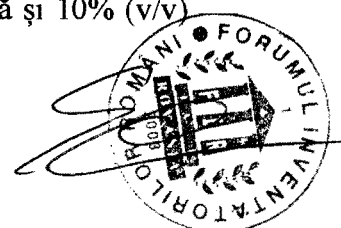
Tabelul 1. Compoziția artificială a salivei, sucului gastric și a sucului intestinal

Substanța	Saliva (mM)	Sucul gastric (mM)	Suc intestinal (mM)
KCl	15,10	6,90	6,80
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,70	0,90	0,80
NaHCO <sub>3</sub>	13,60	25,00	85,00
NaCl	0,00	47,20	38,40
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,15	0,10	0,33
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,06	0,05	0,00

Această metodă a fost pusă la punct de Minekus et al. [38], cu modificările făcute de Amaya Cano et al. [39].

Pentru fiecare dintre cele trei medii (salivă, suc gastric și cel intestinal) s-au preparat 50 mL de fluid simulat folosind un Erlenmeyer acoperit cu aluminiu. Fiind un proces de digestie, odată ce simularea s-a încheiat într-un mediu, conținutul Erlenmeyerului respectiv va fi trecut în mediul următor, împreună cu cantitatea respectivă de fluid simulat.

Lichidul salivar simulat (50 mL) a fost preparat prin amestecarea 1,3% (v/v) β-amilază (5680 U/mL), 86,5% (v/v), 0,2% (v/v) 0,3M CaCl<sub>2</sub>, 2% (v/v) apă deionizată și 10% (v/v)



pulbere de ceai instant. pH-ul a fost ajustat la 7,00 prin adăugare de soluție de NaOH 0,1 M, iar temperatura a fost menținută la 37°C, timp de 2 min, sub agitare magnetică constantă la 300 rpm.

Lichidul sau suc gastric simulat (50 mL) s-a preparat folosind 1,0% (v/v) pepsină (700 U/g), 88,27% (v/v), 0,03% (v/v) CaCl<sub>2</sub> 0,3M și 0,7% (v/v) apă deionizată și 10% (v/v) pulbere de ceai instant. pH a fost ajustat la 3,00 prin adăugare de soluție de HCl 0,1 M, la temperatura de 37°C. Acest proces a durat 2 h cu agitare constantă la 100rpm.

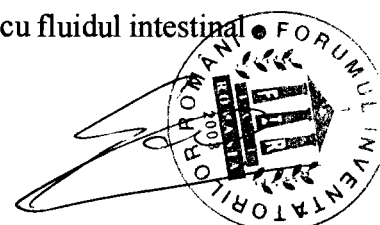
Lichidul sau suc intestinal (50 mL) a fost preparat prin amestecarea a 0,2% (v/v) pancreatină (50482 U/g), 89,0%, 0,1% (v/v) CaCl<sub>2</sub> 0,3M și 0,7% (v/v) apă deionizată și 10%(v/v) pulbere de ceai instant. pH-ul s-a adus la 7 prin adăugarea unei soluții de NaOH 0,1M, la temperatura de 37°, cu agitare constantă la 100rpm. Acest proces a durat 3 ore.

Concentrația în principii active volatile eliberată, la trecerea prin cele trei medii, s-a făcut prin detectarea acelor principii active pentru care s-a dispus de etalon, sub formă de cristale pure existente în laborator. În plus, în scopuri practice, a fost analizată doar concentrația acestora în stadiul final intestinal.

În acest scop s-a folosit un spectrofotometru UV-Vis (Thermo Scientific™ GENESYS™ 10S), cu ajutorul căruia s-a determinat lungimea de undă la care mentolul absoarbe cel mai mare număr de fotoni. Prin natura sa, Mentolul acționează ca un compus care nu absoarbe UV datorită lipsei sale de grupări cromofore. Motiv pentru care, la folosirea acelei tehnici trebuie apelat la gaz-cromatografia cu sililare și implicând un proces de derivatizare chimică pentru a fi înlocuit cu un cromofor sensibil la UV. Pentru această se indică folosirea uneia dintre cele două metodologii propuse de Dangwal (1980) [40], în care s-a utilizat vanilină. ca reactiv colorant și acid sulfuric concentrat ca furnizor de mediu, dând naștere unui produs purpuriu stabil.

De exemplu pentru proba de mentol folosită pentru scanarea lungimii de undă a fost preparată într-un pahar de 5 mL, în care s-a adăugat 2,5 mL de acid sulfuric concentrat, 50 μg de mentol pur (cristal de mentol din MarketQuímicos®) și 0,5 mL dintr-o soluție 1% (g/v) de vanilină, care inițial a fost preparată cu acid sulfuric concentrat. În final totul a fost diluat cu apă deionizată până la semnul de volum. Această procedură trebuie efectuată cu cea mai mare grijă datorită pH-ului extrem de acid al mediului și a faptului că reacția care are loc este de natură exotermă.

Pe de altă parte, pentru a găsi de exemplu: concentrația de mentol eliberat în mediul intestinal, a fost pregătită o proba pe bază de mentol pur. Într-o eprubetă de 5 mL se ia 2,5 mL acid sulfuric, 0,5 mL soluție de vanilină 1% (g/v) și care se calibrează cu fluidul intestinal



simulat (2 mL). Pentru acest caz, nu este a folosit apă deionizată deoarece era deja conținută în FIS; pH-ul probei este similar (pH apei deionizate: 6,2 – pH SIF: 6,5). Pentru a pregăti ținta, a fost luată în numără cantitățile aproximative de materiale de perete din pulberi pe baza rezultatelor aruncat de TGA. Concentrația a fost calculată folosind legea Beer-Lambert (Ec. 3) folosind o lungime de undă la trecerea prin celula de cuarț (b) de 1 cm și un coeficient molar de extincție pentru mentol ( $\epsilon$ ) de  $1,82386 \times 10^4 \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Cu cantitatea de mentol prezentă în microcapsule (eficiența încapsulării) și concentrația de mentol eliberat găsit mai sus, procentul de mentol eliberat în FIS a fost calculat utilizând următoarea expresie:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C,$$

unde: A este absorbanta probei la o lungime de undă dată,  $\epsilon$  - extincția și C este concentrația probei exprimată în molaritate (M), pe baza acestor date se evalueaza cantitatea de mentol eliberat, conform relatiei:

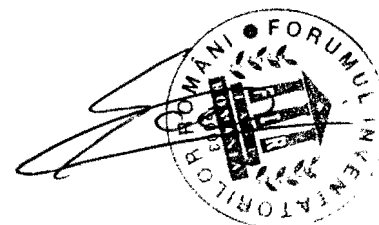
$$\text{Mentol eliberat (\%)} = 100 \times [\text{greutatea de mentol eliberată(g)/cantitatea de mentol încapsulată (g)}].$$

#### **Procesarea datelor experimentale cu discutarea aspectelor cu grad de inovare**

*Eficiența uscării.* După procesul de uscare prin pulverizare, s-a obținut o medie de 50...60 g de pulbere de ceai instant și pentru 70...80 g pulbere din suc de fructe sau legume. Pulberile microîncapsulate sunt analizate la microscopul optic sau cu stereolupa pentru a observa morfologia, uniformitatea și diferență în tonalitatea culorii granulelor.

*Eficiența încapsulării* s-a analizat prin termogravimetrie, când se poate observa că toate pulberile se disting în principal patru trepte ale pierderilor în greutate (%). Prima are loc între 43,3°C și 117,4°C, aceasta este atribuită în principal apei prezente în probe (% umiditate) și principiilor volatile extrase, a cărei temperatură de degradare, de exemplu pentru mentol este între 120-138°C [41]. A doua scădere a procentului de greutate are loc între 186,23-238,5°C ce corespunde într-o anumită măsură la unele principii active nevolatili, ca de exemplu: luteolină, care are domeniul temperaturilor de degradare între 150-250°C, mergând către 300°C [42]. În cele din urmă, a treia scădere are loc între 250-500°C și corespunde aproape tuturor materialelor de microîncapsulare, iar dincolo de 500°C valoarea constantă la care toate probele ajung, corespunde cenușii, cu o valoare apropiată de la 10 la 15% (g/g).

*Morfologia particulelor* a fost analizată microscopic și prelucată cu ajutorul software-ului Minitab®, pentru toate formulările procesate până la stadiul de pulbere instant, trei parametri morfologici de interes: granulometria, diametrul Foret (30...90  $\mu\text{m}$ ) și capacitatea de aglomerare [43-46].





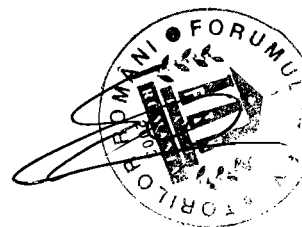
*Conținutul de umiditate al pulberilor instant* este o caracteristică foarte importantă ce garantează o bună stabilitate a acestora [47]. Se știe că în cazul alimentelor granulate, un procent ridicat de umiditate indică faptul că forțele de coeziune dintre particulele sunt mai mari, ceea ce le poate afecta viteza de dispersie în procesele de dizolvare. Valorile de umiditate obținute pentru fiecare formulare sunt cuprinse în domeniu de 2,5 până la 3,5%. Pentru a obține o valoare mai mare a procentului de umiditate cazeinatul de sodiu și proteine din soia trebuie să fie în concentrație de 50%, respectiv 25%.

*Greutatea specifică și densitatea aparentă în vrac* a granulelor instant permit evaluarea dintre o caracteristică intrinsecă (prima) și cea extrinsecă a diferenței dintre efectul de aglomerare pe care îl au la aditivare cazeinatul de sodiu și proteina de soia, aceste două caracteristici controlează porozitatea și dispersabilitatea la dizolvare. Cazeinatul de sodiu au cele două caracteristici mai reduse decât în cazul utilizării proteinelor de soia.

*Solubilitatea pulberilor instant* este definită ca fiind viteza cu care principiile active aditivate se dizolvă în apă rece sau caldă, fiind o caracteristică foarte importantă în prezentarea produsului către consumatori, deoarece ușurința cu care pulberile se dispersează în faza lichidă poate influența decizia de cumpărare. În acest tip de produse se dorește ca solubilitatea sa fie aproape de 100%.

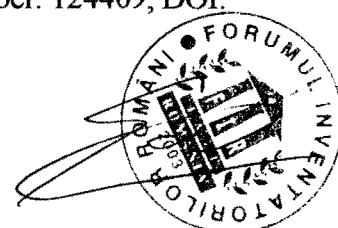
*Eliberare controlată a* principilor active din pulberea instant este, de asemenea, o caracteristică foarte importantă, ce permite evaluarea, în corelație cu morfologia, textura, greutatea specifică/densitatea în vrac, umiditatea și solubilitatea, a capacității de eliberare în cele trei medii de digestie in vitro prin determinări spectrofotometrice la lungimea de undă care oferă absorbția maximă ( $\lambda_{max}$ ), de exemplu pentru mentol derivat cu vanilină este 525 nm, iar cu salicilaldehidă la o valoare  $\lambda_{max}$  de 498 nm. analizând rezultatele digestiei in vitro, s-a obținut o concentrație molară la nivelul mediului final de suc intestinal variind între  $6,00 \times 10^{-6}$  și  $6,5 \times 10^{-6}$  M pentru mentol eliberat în cazul aditivării cu amestec de cazeinat de sodiu și proteină de soia și zahăr caramelizat, conform procedului.

Pe baza evaluării acestor caracteristici de calitate, produsele obținute sunt ambalate în borcane ermetic închise, cu capace prin infiletare și depozitate până la comercializare în depozite cu climatizare, fără iluminare naturală. Borcanele sunt etichetate cu denumirea pulberii, conform scopului de utilizare (ceai reconfortant sau ceai pentru o afecțiune sau grup de afecțiuni), caracteristicile de calitate, data de fabricare și termenul de garanție.

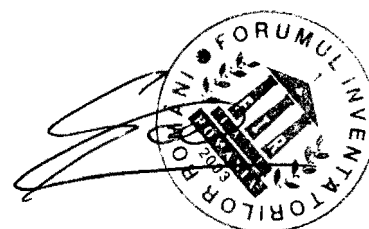


## REFERINTE BIBLIOGRAFICE

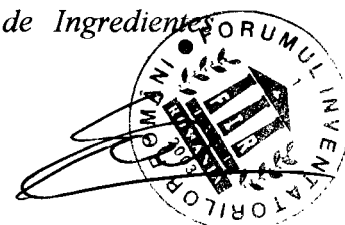
1. J.L. Berdonces, *Historia de la fitoterapia*, **Natura Medicatrix**, 21(3), 2003, pp. 142–152.
2. B.L.F. Restrepo, G.L.M. Gómez, R.G.C. de Ossar, *Conocimiento y consumo de bebidas aromáticas en jóvenes en la ciudad de Medellín, Colombia*, **Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, 10(1), 2012, pp. 87–97.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v10n1/v10n1a11.pdf>.
3. S. Barreira, A.M.N. Silva, C. Moutinho, E.J. Seo, M.E.F. Hegazy, T. Efferth, L.R. Gomes, *Effect of Extraction Methodology on the Phytochemical Composition for Camelia sinensis "Powdered Tea Extracts" from Different Provenances*, **Beverages**, 8(1), 2022, Article Number: 13, DOI: 10.3390/beverages8010013,
4. K.C. Wilson, **Tea: Cultivation to Consumption**, Chapman & Hall, London, 1992.
5. G. Reineccius, **Flavor Chemistry and Technology**, Taylor & Francis, 2006, pp. 39–41.
6. J.O. Cardona, J.J.C. Barrientos, *Producción, uso y comercialización de especies aromáticas en la región Sumapaz, Cundinamarca*, **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, 5(1), 2011, pp. 114–129.
7. F. Fretes, **Plantas medicinales y aromáticas-Una alternativa de producción comercial**, USAID, 2010.  
[https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/plantas\\_medicinales.pdf](https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/plantas_medicinales.pdf).
8. L.M. Hernandez, E.G. Xu, H.C.E. Larsson, R. Tahara, V.B. Maisuria, N. Tufenkji, (2019). *Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea*, **Environmental Science & Technology**, 53(21), 2019, pp. 12300–12310.  
<https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02540>.
9. W. Krueger, K. Willibert, *Instant tea product, based on fruit, herbs or tea, packed in sachets*, **Brevet DE29621553-U1/10 Apr 1997**.
10. S. Yang, X. Zhang, J. He, M. Yang, H. Lv, A. Yuan, M. Cai, X. Wang, T. Zhang, **Brevet CN112106862-A**,
11. Y. Liu, S. Han, F. Zhang, J. Wang, R. Xu, B. Jiang, *Fig instant tea powder comprises fig, rose, tea leaves, medlar, tea oil, hawthorn, and salt*, **Brevet CN110024878-A/19 Jul 2019**,
12. W. Qin, *A method to make instant tea powder*, **Brevete CN1081828-A/16 Feb 1994 și CN1031613-C/24 Apr 1996**.
13. F. Julienne, N. Delorme, F. Lagarde, *From macroplastics to microplastics: Role of water in the fragmentation of polyethylene*, **Chemosphere**, 236, 2019, Article Number: 124409, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.124409.



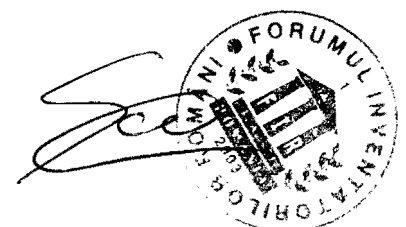
14. N. Lee, S. Kim, J. Lee, *Valorization of waste tea bags via CO<sub>2</sub>-assisted pyrolysis*, **Journal of CO<sub>2</sub> Utilization**, **44**, 2020, Article Number: 101414, DOI: 10.1016/j.jcou.2020.101414.
15. L.M. Hernandez, E.G. Xu, H.C.E. Larsson, R. Tahara, V.B. Maisuria, N. Tufenkji, (2019). *Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea*, **Environmental Science & Technology**, **53**(21), 2019, pp. 12300–12310. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02540>.
16. J.C. Prata, J.P. da Costa, I. Lopes, A.C. Duarte, T. Rocha-Santos, *Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects*. **Science of the Total Environment**, **702**, 2019, Article Number: 134455, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.134455.
17. S. Morita, *Prepn. of instant black tea*, **Brevet JP63185337-A/30 Jul 1988**.
18. J. Liu, S. Jin, *Instant tea powder processing method*, **Brevet CN1090974-A/24 Aug 1994**.
19. H. Chen, P. Cao, D. Fu, *Instant tea slice useful for human consumption, comprises tea powder slice made by compressing the instant tea powder slice*, **Brevet CN201123361-Y/01 Oct 2008**.
20. K.A. Anju, S. George, M. Matew, T.S. Nasarin, R. Jenny, R.A. Elias, *Instant tea capsule useful for making tea, comprises whole milk powder, black tea powder, cane sugar powder, lactose powder, micro crystalline cellulose, encapsulated cardamom powder and maltodextrin*, **Brevet IN202241036241-A/22 Jul 2022**.
21. C. Wei, C. Wang, R. Zong, P. Ji, A. Xiao, *Centrifugal spray drier for formula milk powder, has cyclone separator whose top end is connected to middle part of bag-type dust remover through exhaust pipe, where top part of bag-type dust remover is connected with draught fan through pipeline*, **Brevet CN211353754-U/28 Aug 2020**.
22. D. Pu, *Centrifugal spray drying system, has centrifugal spray dryer connected with air purifying system, filter system connected with centrifugal spray dryer, and dust collecting system connected with filter system*, **Brevet CN202315346-U/11 Jul 2012**.
23. C. Wang, Q. Dai, J. Dai, *High speed centrifugal spray drying device, has centrifugal spray drier connected with temperature table and air distributor, high speed centrifugal atomizer formed with groove, and wet dust separator connected with exhaust fan*, **Brevet CN104014141-A/03 Sep 2014**.
24. J. Xing, *Centrifugal spray pressure spraying and drying tower, has tower body whose top part is installed with heat air distributor and centrifugal atomizer, and dust remover whose bottom part is mounted with material cylinder*, **Brevet CN205461064-U/17 Aug 2016**.



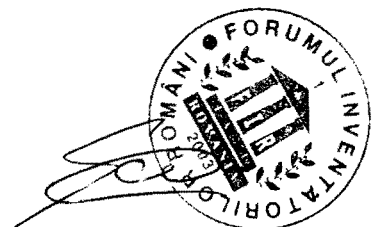
25. S. Xu, *Centrifugal spray dryer, has machine frame connected with drying cylinder that is connected with air distributor and centrifugal atomizer, and dust tank connected with draught fan through exhaust passage*, **Brevet CN206073653-U/05** Apr 2017.
26. H. Ma, X. Ma, *Instant tea extracting centrifugal spray drying test device, has controller connected with control switch, high speed centrifuge atomizer, electromagnetic valve, air heater, blower, air filter, cyclone separator and draught fan*, **Brevet CN205683612-U/16** Nov 2016.
27. Y. Xu, *Houttuynia cordata instant tea powder spray drying device comprises e.g. drying chamber, the drying chamber is welded above the inlet is connected with an air inlet pipe, the air inlet pipe far away from the inlet is connected with a heater*, **Brevet CN210096960-U/21** Feb 2020.
28. A. Duried, B. Oers, *Reducing atmosphere spray dryer system for maintaining chemical, sensory and nutritional characteristics of products e.g. milk and milk products, has gas mixer in which nitrogen and inert and carbon dioxide and reducing gases are mixed*, **Brevet WO2020117145-A2/11**.Jun 2020.
29. C. Li, X. Lu, N. Wang, Q. Liu, *Snow cherry mixed tea powder comprises snow cherry tea, jujube, yam, kudzu root, malt, and lotus leaf*, **Brevet CN113068755-A/06** Jul 2021.
30. J. Sato, T. Kurusu, Y. Takahama, T. Kurisu, *Dry-granulating aq. extract solns. e.g. of tea-leaves*, **Brevet DE3515163-A/31**.Oct 1985.
31. G. Ozkan, P. Franco, I. de Marco, J. Xiao, E. Capanoglu, *A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications*, **Food Chemistry**, **272**, 2019, pp. 494–506, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>.
32. K.K. Hasegawa, *Tea leaf extract prepn.*, **Brevete JP61146150-A/03** Jul 1986 și **JP91034895-B/24** Mai 1991.
33. R.L. Wickremasinghe, *Cold water-sol tea concentrates*, **Brevet DE2448264-A/17** Apr 1975,
34. J.W. Brown, *Hybrid beverage dispenser for dispensing e.g. tea, has point of use portion having dispensing sections for dispensing beverage from different beverage types selected from group consisting blended ice beverages, carbonated beverages*, **Brevete WO2014189839-A1/ 27** Nov 2014 și **US9346659-B2/24** Mai 2016.
35. A. Gharsallaoui, G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley, R. Saurel, *Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview*, **Food Research International**, **40(9)**, 2007, pp. 1107–1121. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>.
36. L. Serna-Cock, C.Torres-León, A. Ayala-Aponte, *Evaluación de Polvos Alimentarios obtenidos de Cáscaras de Mango (Mangifera indica) como fuente de Ingredientes*



- Funcionales, Información tecnológica*, **26(2)**, 2015, pp. 41–50.  
<https://doi.org/10.4067/s0718-07642015000200006>.
37. E. Largo Ávila, M. Cortés Rodríguez, H.J. Ciro Velásquez, *Influence of Maltodextrin and Spray Drying Process Conditions on Sugarcane Juice Powder Quality*, **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, **68(1)**, 2015, pp. 7509–7520.  
<https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47839>.
38. M. Minekus, M. Alminger, P. Alvito, S. Ballance, T. Bohn, C. Bourlieu, F. Carrière, R. Boutrou, M. Corredig, D. Dupont, C. Dufour, L. Egger, M. Golding, S. Karakaya, B. Kirkhus, S. le Feunteun, U. Lesmes, A. Macierzanka, A. Mackie, . . . A. Brodkorb, *A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus*, **Food Funct.**, **5(6)**, 2014, pp. 1113–1124. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>.
39. J.S. Amaya Cano, S. Segura Pacheco, F. Salcedo Galán, I. Arenas Bustos, C. Rincón Durán, M. Hernández, M. Carrión, *Formulation of a responsive in vitro digestion wall material, sensory and market analyses for chia seed oil capsules*, **Journal of Food Engineering**, **296**, 2021, 110460. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110460>.
40. S.K. Dangwal, *Colorimetric methods of determination of menthol in air*, **Industrial Health**, **18(4)**, 1980, pp. 187–193. <https://doi.org/10.2486/indhealth.18.187>.
41. M. Kumar Trivedi, S. Patil, R.K. Mishra, S. Jana, *Structural and Physical Properties of Biofield Treated Thymol and Menthol*, **Journal of Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research**, **03(02)**, 2015, pp. <https://doi.org/10.4172/2329-9053.1000127>.
42. Y. Luo, S. Chen, J. Zhou, J. Chen, L. Tian, W. Gao, Y. Zhang, A. Ma, L., Li, Z. Zhou, *Luteolin cocrystals: Characterization, evaluation of solubility, oral bioavailability and theoretical calculation*, **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, **50**, 2019, pp. 248–254.  
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.02.004>.
43. Y. Fang, C. Selomulya, X.D. Chen, *On Measurement of Food Powder Reconstitution Properties*, **Drying Technology**, **26(1)**, 2007, pp. 3–14.  
<https://doi.org/10.1080/07373930701780928>.
44. F. Shahidi, X. Han, *Encapsulation of food ingredients*, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, **33(6)**, 1993, pp. 501–547. <https://doi.org/10.1080/10408399309527645>.
45. S.A. Hogan, B.F. McNamee, E.D. O’Riordan, M. O’Sullivan, *Microencapsulating Properties of Sodium Caseinate*, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **49(4)**, 2001, pp. 1934–1938. <https://doi.org/10.1021/jf000276q>.



46. B. Cuq, S. Mandato, R. Jeantet, K. Saleh, T. Ruiz, *Agglomeration/granulation in food powder production*, **Handbook of Food Powders**, 2013, pp. 150–177.  
<https://doi.org/10.1533/9780857098672.1.150>.
47. H. Bianco, T. Capote, C. Garmendia, *Determinación de humedad en harina precocida de maíz blanco utilizando un horno de microondas doméstico*, **Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel**, 45(2), 2014,  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-04772014000200004](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772014000200004).



## REVENDICĂRI

1. Procedeu de obținere a ceaiurilor aromate și/sau medicinale instant din pulberi microîncapsulate prin atomizare in situ, **caracterizat prin aceea că**, în vederea obținerii prin atomizare a unei pulberi fine microîncapsulate de ceai sau suc instant, procedeul constă în două etape de lucru: prepararea soluției concentrate de ceai simplu sau mixt obținută, în funcție de plantele aromate sau medicinale luate în lucru, prin: infuzie, decoct, macerare sau extracție în apă sau alcool etilic și respectiv, prepararea supernatantului din fructe și/sau legume, la care sub agitare se adaugă un aditiv organic tesioactiv, alimentar (netoxic), format din: cazeinat de sodiu 50%, proteine de soia (sau porumb) 25% și zahăr caramelizat 25%, cu efect sinergic de condiționare a pulberilor fine prin microîmpachetare nanopeliculogenă in situ, faza fiind controlată printr-o serie de parametri de lucru, cum sunt: umiditatea plantelor uscate, fin divizate la rece, mărimea granulelor, timpul și temperatura de imersie, urmată în etapa a doua de uscare cu un mini atomizor prin pulverizare clasic cu o rată de aspirație variind între 70 și 90%, format din: vasul cu ceai sau suc, ciclonul conic cu duză de purjare centrifugală, dispusă central superior, pompă peristaltică, sistem de încălzire în două trepte (la 120°C și 180°C) a calopurtătorului din azot gazos, tubul de aspirare a gazelor reziduale prin vacuum la 400...500 mm Hg, un filtru și un colector de pulbere. Soluția finală de ceai sau supernatant de fructe și/sau legume, aditivat cu substanțe peliculogene alimentare în concentrație de 3%, respectiv de 5%, este trimisă în atomizor prin duza de pulverizare cu un debit de 4 mL/min (echivalent cu 15% din rata de pompare).

2. Procedeu de obținere a ceaiurilor aromate și/sau medicinale instant din pulberi microîncapsulate prin atomizare in situ, **caracterizat prin aceea că**, cele două faze de obținere a unei pulberi fine microîncapsulate de ceai sau suc instant au la bază o serie de parametri de lucru specifici și anume: pentru prima fază cu implicarea plantelor uscate sau umede, natura speciilor, formularea compozițională a amestecurilor, umiditatea pulberilor din plante fin divizate la rece, mărimea sau gradul de finețe al acestor pulberi, condițiile de uscare și liofilizare, iar pentru supernatantul din fructe și/sau legume, natura speciilor, condițiile de obținere ca supernatant și pentru ambele sisteme condițiile de aditivare folosint un amestec optim de substanțe organice tesioactive, netoxice și cu efect sinergic în procesul de microîncapsulare prin uscare într-un atomizor, iar pentru a doua fază, cea de uscare cu ajutorul unui mini atomizor, a căror parametri de lucru sunt reglați în funcție de esențele de plante, fructe și legume luate în procesare, de concentrația în principii active, raportul de amestecare a acestora și de concentrația aditivilor și respectiv, procesele care stau la baza

procedeului sunt controlate prin o serie de parametri de lucru, cum ar fi: temperatura de uscare, fluxul de alimentare, viteza atomizorului și natura chimică, temperatura și debitul calopurtătorului utilizat.

3. Procedeu conform revendicărilor 1 și 2, **caracterizat prin aceea că**, pentru formularea rapoartelor de combinare între componentii celor trei sisteme luate în lucru pentru prima fază a procedeului, se elaborează, în funcție de produsul final și scopul urmărit în utilizarea lui, un protocol experimental de obținere a extractului din plante uscate sau umede, a supernatantului din suc de fructe și legume coapte și proaspete și a amestecului sinergic de aditivi de microîncapsulare prin nanopeliculizare, astfel, mai întâi se obțin, separat pe specii, pulberile de plante aromatice (mentă, salvie, levanțică și/sau busuioc) sau medicinale (romaniță, sunătoare, coada șoricelului și/sau tei) uscate, cu umiditatea mai mică de 5%, și soluția de supernatant din fructe (lamâie, portocală, ananas, mere, rodii etc.) și/sau legume (morcov, pătrunjel, țelină, ghimbir etc.), proaspete, ajunse la maturitate, sunt prelucate diferențiat, primele prin infuzare, decoct sau ca tinctură alcoolică în raport mediu de dispersie (apă sau alcool etilic 60...80%)/pudră de plantă de 5/1, respectiv 1:1, procedură care se repetă de patru ori, după care acestea sunt filtrate pe un filru cu placă (Büchner), iar în funcție de gust, dorință și scopul de utilizare (băuturi calde sau reci reconfortante, cele cu efect preventiv și/sau terapeutic), ceipurile se prepară în corelație cu specia folosită dintr-o singură plantă sau un mix de plante, ca atare sau prin amestecare cu sucuri de fructe și/sau legume, de exemplu pentru ceaiul reconfortant sau pentru cel calmant, la obținerea infuziei se amestecă pudrele uscate de mentă, tei și sunătoare în raport gravimetric de 2:1:1 sau amestecul de mentă, tei și cimbru în raport gravimetric de 2:1,5:0,5; gravimetric de 2:1,5:0,5, iar înainte de atomizare, într-un volum de 2 L supernatant din fructe și/sau legume, respectiv 2L de infuzie concentrată de plante arome sau medicinale s-au adăugat în primul 100 g amestec de aditivare format din pulbere fină de cazeinat de sodiu 50%, proteine de soia (sau porumb) 25% și zahăr caramelizat 25%, iar în al doilea 60 g din același amestec de aditivare, care s-au agitat separat până la dizolvare totală, cu un agitator mecanic, la o turație de 300 rpm, timp minim de 10 minute.

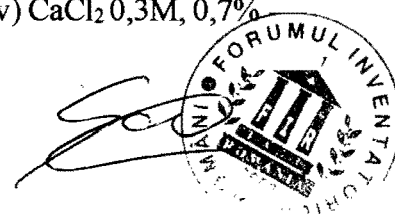
4. Procedeu conform revendicărilor 1, 2 și 3, **caracterizat prin aceea că**, soluția finală cu principiile active din ceai și/sau supernatant de sucuri din fructe și legume, cu aditivii de microîncapsulare prin nanopeliculizare „in situ”, în volum de 2 L, a fost trimisă în atomizor cu o pompă peristaltică folosind un calopurtător din azot gazos, încălzit la 120°C în cazul principiilor active foarte volatile (de ex. mentol, limonen, eugenol, uleiuri esențiale de cardamon sau ghimbir, esență de tei etc.) și respectiv la 180°C pentru cele mai puțin





volatile (de ex. luteolină, chamazulenă, flavone, taninuri astringente, rezine, acid oleanolic etc.), care purjează jetul de soluție printr-o duză situată din zona centă (superioară) a cicloului instalației de atomizare, atașată la capătul tubului de la pompa peristaltică care permite absorbția din vasul tampon a soluției finală de ceai și/sau supernatant din suc în amestec cu aditivi de microîncapsulare în procent de 3% în cazul ceaiurilor și de 5% în cazul supernatanților, cu un debit de 4 mL/min (echivalent cu 15% rata de pompare), ce permite la pujare formarea unui curent turbionar circular în jurul tubului central prin care se realizează vidul pentru evacuarea gazelor (400...500 mmHg); pulberile aderente la partea inferioară a cicloului sunt preluate cu un sistem de palete care culisează prin rotire și sunt adunate la partea inferioară a conului într-o pungă, care după umplere se închid și se depozitează într-un desicator.

5. Procedu conform revendicărilor 1, 2, 3 și 4, caracterizat prin aceea că, pulberile obținute prin atomizare, pentru a le garanta inocuitatea, funcționalitatea și calitatea, ca produs alimentar inovator, sunt caracterizate înainte de ambalarea finală pentru comercializare, când se determină: capacitatea de dizolvare în apă rece și caldă, procentul în greutate în principii active microîncapsulate (eficiența de încapsulare), textura microcristalelor, respectiv morfologia și omogenitatea pulberilor, greutatea specifică și densitatea aparentă în vrac, capacitatea de eliberare controlată a conținutului de principii active din pulberea de ceai și/sau supernatant, prin care se verifică dacă microcapsulele sunt capabile să protejeze principiile active volatile la trecerea prin cele trei medii: salivă, suc gastric și suc intestinal, implicând *testul de digestie* în cele trei medii artificiale de simulare, ultima caracteristică este efectuată doar pentru probele care au prezentat cele mai bune rezultate pentru eficiența de încapsulare, morfologie, textură, umiditate și solubilitate, când pentru fiecare dintre cele trei medii (salivă, suc gastric și cel intestinal) s-au preparat 50 mL de fluid simulat de *salivă*, preparat prin amestecare cu 1,3% (v/v)  $\beta$ -amilază (5680 U/mL), 86,5% (v/v) cu 0,2% (v/v) 0,3M CaCl<sub>2</sub>, 2% (v/v) apă deionizată și 10% (v/v) pulbere de ceai instant, cu pH-ul ajustat la 7,00 prin adăugare de soluție de NaOH 0,1 M, iar temperatura amestecului fiind menținută la 37°C, timp de 2 min sub agitare magnetică constantă la 300 rpm, după care acesta s-a adăugat în lichidul sau *sucul gastric*, anterior preparat, folosind 1,0% (v/v) pepsină (700 U/g), 88,27% (v/v), 0,03% (v/v) CaCl<sub>2</sub> 0,3M, 0,7% (v/v) apă deionizată și 10% (v/v) pulberi de ceai instant, cu pH ajustat la 3.00, prin adăugare de soluție de HCl 0,1 M, la temperatura de 37°C, timp de 2 h, cu agitare constantă la 100rpm, după care acest mediu s-a adăugat în lichidul sau *sucul intestinal* care a fost preparat anterior prin amestecarea a 0,2% (v/v) pancreatină (50482 U/g), 89,0%, 0,1% (v/v) CaCl<sub>2</sub> 0,3M, 0,7%



(v/v) apă deionizată și 10% (v/v) pulbere de ceai instant, pH-ul acestui amestec s-a adus la 7,00, prin adăugarea unei soluții de NaOH 0,1M, la temperatura de 37°, cu agitare constantă la 100rpm, timp de 3 ore, ca apoi să se determine prin metode fotocolorimetrice concentrația în principii active volatile eliberate, la trecerea prin cele trei medii (în stadiul final intestinal), pentru care s-a dispus de etalon.

