



MD 855 Z 2015.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **855** (13) **Z**
(51) Int.Cl.: C07C 37/68 (2006.01)
A61K 31/05 (2006.01)
A61K 36/52 (2006.01)
A61K 131/00 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ

(21) Nr. depozit: s 2014 0014 (22) Data depozit: 2014.01.29	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2014.12.31, BOPI nr. 12/2014
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: IVANOVA Raisa, MD; TATAROV Pavel, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) Procedeu de obținere a compușilor antioxidanți din pieleț de miez de nucă
Juglans regia L.

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la un procedeu de obținere a compușilor antioxidanți din pieleț de miez de nucă *Juglans regia* L. și poate fi utilizată în industria alimentară, medicină și cosmetologie.

Procedeul, conform invenției, constă în aceea că se separă pieleț de miezul de nucă, se degresează cu un solvent organic, se usucă până la umiditatea de 6...8%, se macină, se macerează pulberea obținută cu soluție de

2
alcool etilic de 20...70%, luate în raport de 1 : 20 respectiv, la temperatura de 15...30°C, cu agitare permanentă până la conținutul total de substanțe polifenolice în reziduul uscat al extractului de cel puțin 55%, apoi faza lichidă a extractului se separă prin centrifugare la 10000 rot/min timp de 15 min sau prin decantare și filtrare.

Revendicări: 1

MD 855 Z 2015.07.31

**(54) Process for preparing antioxidant compounds from kernel peel of walnut
Juglans regia L.**

(57) Abstract:

1

The invention relates to a process for preparing antioxidant compounds from kernel peel of walnut *Juglans regia* L. and can be used in the food industry, medicine and cosmetics.

The process according to the invention, consists in the fact that the peel is separated from the kernel, is degreased with an organic solvent, is dried to a moisture of 6...8%, is milled, is macerated the resultant powder with

2

20...70% ethyl alcohol solution, taken in the ratio of 1:20 respectively, at a temperature of 15...30°C, with constant stirring until the total content of polyphenolic substances in the extract dry residue of at least 55%, then the liquid phase of the extract is separated by centrifugation at 10000 rev/min for 15 min or by decantation and filtration.

Claims: 1

**(54) Способ получения антиоксидантных соединений из кожицы ядра
грецкого ореха *Juglans regia* L.**

(57) Реферат:

1

Изобретение относится к способу получения антиоксидантных соединений из кожицы ядра грецкого ореха *Juglans regia* L. и может быть использовано в пищевой промышленности, медицине и косметологии.

Способ, согласно изобретению, состоит в том, что отделяют кожицу от ядра ореха, обезжиривают органическим растворителем, высушивают до влажности 6...8%, размельчают, мацерируют полученный

2

порошок с раствором этилового спирта 20...70%, взятых в соотношении 1 : 20 соответственно, при температуре 15...30°C, с постоянным перемешиванием до общего содержания полифенольных веществ в сухом остатке экстракта не менее 55%, затем жидкую фазу экстракта отделяют центрифугированием при 10000 об/мин в течение 15 мин или декантированием и фильтрацией.

П. формулы: 1

Descriere:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a compușilor antioxidanți din pieleț de miez de nucă (*Juglans regia* L.) și poate fi utilizată în industria alimentară, medicină și cosmetologie.

Este cunoscut procedeu de obținere din miez de nucă a unui component antioxidant cu structură polifenolică prin izolarea și purificarea lui din extracte pe baza soluțiilor organice. Acest procedeu are însă unele neajunsuri, și anume: a) pentru obținerea acestui component ca materie primă se utilizează miezul de nucă în întregime, ceea ce este irațional, deoarece rata polifenolilor în miezul de nucă fără pieleț pe o unitate de masă este de 100 de ori mai mică decât în pieleț (Salcedo C.L.; Lopez de Mishima B.A.; Nazareno M.A. Walnuts and almonds as model systems of foods constituted by oxidisable, pro-oxidant and antioxidant factors. Food Research Int., 2010, 43, p. 1187-1197) și extragerea compușilor polifenolici necesită utilizarea unei mase mari de miez de nucă; b) este complicată și costisitoare schema de extragere și de purificare a componentilor activi de proteine și aminoacizi care se conțin în miezul de nucă (15...18%) și care reduc activitatea antioxidantă a polifenolilor [1].

De asemenea, este cunoscut procedeu de obținere a extractului din pieleț de miez de nucă, care constă în extragerea compușilor polifenolici cu soluție de 50% de alcool etilic la temperaturi apropiate de temperatura de fierbere a soluției de alcool. Extractul obținut se concentrează și se usucă prin evaporarea termică a alcoolului etilic. Neajunsul procedurii constă în utilizarea temperaturilor înalte (peste 80...85°C) pentru extragerea compușilor polifenolici, care sunt termosensibili și își pierd proprietățile antioxidante în urma oxidării accelerate la temperaturi înalte. Temperaturi ridicate se aplică și în procesele fizico-chimice de obținere a extractului uscat, ceea ce duce la micșorarea concentrației de polifenoli și la scăderea activității antioxidante a extractului. Prin urmare, conținutul compușilor polifenolici în extractele din pieleț de miez de nucă constituie doar 25% din masa totală a substanțelor extrase [2].

Având în vedere că procesarea termică a pielii de miez de nucă la temperaturi ridicate (80...85°C) provoacă modificări ireversibile care micșorează activitatea antioxidantă a polifenolilor, devine oportun elaborarea unui procedeu de obținere a polifenolilor din pieleț de miez de nucă degresată cu solvenți organici (acetona, hexan, benzen, eter de petrol etc.) la temperaturi micșorate.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unei compoziții de antioxidanți, extrasă din pieleț de miez de nucă (*Juglans regia* L.), cu un randament și o activitate antioxidantă sporită a compușilor polifenolici.

Procedeu, conform invenției, constă în aceea că se separă pieleț de miezul de nucă, se degresează cu un solvent organic, se usucă până la umiditatea de 6...8%, se macină, se macerează pulberea obținută cu soluție de alcool etilic de 20...70%, luate în raport de 1 : 20 respectiv, la temperatura de 15...30°C, cu agitare permanentă până la conținutul total de substanțe polifenolice în reziduul uscat al extractului de cel puțin 55%, apoi faza lichidă a extractului se separă prin centrifugare la 10000 rot/min timp de 15 min sau prin decantare și filtrare.

Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea unei compoziții de antioxidanți cu capacitate sporită de captare a radicalilor liberi, ce se datorează majorării randamentului de extragere a substanțelor polifenolice.

Exemplu de realizare a invenției

Pieleț se separă de miezul de nucă, se degresează cu un solvent organic (cu hexan), se separă de solvent printr-un aparat de tip Soxhlet, se usucă până la umiditatea de 6...8%, se macină până la formarea pulberii, se adaugă soluția de 20...70% de alcool etilic în raport de 1/20 m/v (masa pulberii de pieleț/volumul soluției de alcool) și se extrage prin macerare simplă cu agitarea permanentă la temperatura de 15...30°C până la saturarea extractului după conținutul de polifenoli în reziduul uscat de cel puțin 55%. Faza lichidă a extractului se separă de precipitat prin centrifugare la 10000 rot/min timp de 15 min sau prin decantare și filtrare.

În extractele obținute se determină reziduul uscat prin metoda farmaceutică (Farmacopeia Europeană, 2001, p. 3) și conținutul total al polifenolilor cu aplicarea metodei Folin-Ciocalteu (Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M.

Analysis of total phenolics and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In book: Methods in Enzymology, Part A., 1999, p.152-178) (tabel).

- 5 S-a constatat că rata substanțelor polifenolice în reziduul uscat al extractelor se modifică în limitele cuprinse între 51,16...60,06%.
- Extracțele obținute au fost supuse testării privind activitatea antioxidantă (tabel). Cercetările activității antioxidante au fost efectuate cu utilizarea metodei potențimetrice de evaluare a capacității extractelor de a capta radicalii peroxidici *in vitro* (Sano M., Yoshida R., Degawa M., et al. Determination of peroxy radical scavenging activity of flavonoids and plant extracts using an automatic potentiometric titrator. J. Agric. Food Chem., 2003, v. 51, nr.10, p. 2912-2916). Capacitatea de captare a radicalilor peroxidici a fost estimată în echivalentul acidului galic (GAE) în μM pe un gram de reziduu uscat al extractului ($\mu\text{MGAE/g}$). Activitatea antioxidantă a extractelor obținute variază de la $2322,03 \pm 249,73$ până la $3172,62 \pm 78,18 \mu\text{MGAE/g}$. De menționat că valorile activității antioxidante a extractelor din piele de miez de nucă sunt de 1,4...1,9 ori mai mari decât valorile activității antioxidante a compoziției extrase din rizomii și rădăcinile de *R. rosea* (Brevet de invenție MD 3835).

20

Tabel

Caracteristica extractelor din piele nativă de miez de nucă

Extract	Temperatura de extragere, °C	Reziduul uscat, g/l	Conținutul total al polifenolilor, g/l	Rata polifenolilor în reziduul uscat, %	Capacitatea de captare a radicalilor peroxidici, $\mu\text{MGAE/g}$
20% alcool	22 $\pm$ 2	20,55 $\pm$ 0,48	11,69 $\pm$ 0,11	56,88	2515,59 $\pm$ 202,88
20% alcool	28 $\pm$ 2	20,95 $\pm$ 0,15	11,94 $\pm$ 0,07	56,99	3172,62 $\pm$ 78,18
30% alcool	24 $\pm$ 2	21,74 $\pm$ 2,35	13,06 $\pm$ 0,13	60,06	3126,58 $\pm$ 357,07
40% alcool	17 $\pm$ 2	21,73 $\pm$ 0,07	12,52 $\pm$ 0,26	57,62	2353,37 $\pm$ 317,64
40% alcool	22 $\pm$ 2	22,91 $\pm$ 1,37	13,05 $\pm$ 0,11	56,96	2585,15 $\pm$ 238,19
50% alcool	22 $\pm$ 2	24,86 $\pm$ 0,81	14,31 $\pm$ 0,28	57,51	2731,87 $\pm$ 280,95
60% alcool	20 $\pm$ 2	24,14 $\pm$ 1,26	13,32 $\pm$ 0,10	55,16	2713,73 $\pm$ 467,35
70% alcool	17 $\pm$ 2	24,13 $\pm$ 0,05	12,83 $\pm$ 0,25	53,16	2322,03 $\pm$ 249,73

- În comparație cu cea mai apropiată soluție compozițiile obținute prin procedeul propus au un conținut de substanțe polifenolice în reziduul uscat de cel puțin 2,2...2,4 ori mai mare. Capacitatea de captare a radicalilor peroxidici a compoziției obținute prin cea mai apropiată soluție atinge maximal indicele de $1751,61 \pm 134,25 \mu\text{MGAE/g}$. Este bine cunoscut faptul că activitatea antioxidantă a extractelor este predominant determinată de conținutul compușilor polifenolici, ceea ce ne permite să constatăm că procedeul propus se deosebește calitativ de soluția apropiată și la acest indice.

30

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. JP 2004217555 A 2004.08.05
2. JP 2008074807 A 2008.04.03

(57) Revendicări:

Procedeu de obținere a compușilor antioxidanți din pieliță de miez de nucă (*Juglans regia* L.) care constă în aceea că se separă pielița de miezul de nucă, se degresează cu un solvent organic, se usucă până la umiditatea de 6...8%, se macină, se macerează pulberea obținută cu soluție de alcool etilic de 20...70%, luate în raport de 1 : 20 respectiv, la temperatura de 15...30°C, cu agitare permanentă până la conținutul total de substanțe polifenolice în reziduul uscat al extractului de cel puțin 55%, apoi faza lichidă a extractului se separă prin centrifugare la 10000 rot/min timp de 15 min sau prin decantare și filtrare.

Director adjunct Departament:

GROSU Petru

Examinator:

IUSTIN Viorel

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii		
(21) Nr. depozit: s 2014 0014 (32) Data de prioritate recunoscută: (22) Data depozit: 2014.01.29 Raport de documentare internațională: ☐ da (67)* Nr. și data transformării cererii: , (71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (54) Titlul: Procedeu de obținere a compușilor antioxidanți din piele de miez de nucă (<i>Juglans regia</i> L.)		
II. Clasificarea obiectului invenției:		
(51) Int.Cl: <i>C07C 37/68</i> (2006.01) <i>A61K 31/05</i> (2006.01) <i>A61K 36/52</i> (2006.01) <i>A61K 131/00</i> (2006.01)		
III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)		
MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): Int. Cl: <i>C07C 37/68</i> , <i>A61K 31/05</i>, <i>A61K 36/52</i>, <i>A61K 131/00</i> “polifenoli extragere”, “polifenoli extragere etanol”, “dergrasarea cu solvent organic” EA, CIS (Eapatis): Int. Cl: <i>C07C 37/68</i> , <i>A61K 31/05</i>, <i>A61K 36/52</i>, <i>A61K 131/00</i> “экстракция полифенолов”, “экстракция полифенолов спиртом”, “обезжиривание органическим растворителем” SU (nonpublic): Int. Cl: <i>C07C 37/68</i> , <i>A61K 31/05</i>, <i>A61K 36/52</i>, <i>A61K 131/00</i> “экстракция полифенолов”, “экстракция полифенолов спиртом”, “обезжиривание органическим растворителем”		
IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate		
Ivanova R. The potentiometric assay for measurement of peroxy radical scavenging capacity of plant extracts. <i>Herba polonica</i> 2007; 53(2): 136–7. http://www.dissercat.com/content/issledovanie-polifenolnykh-soedinenii-odno-i-dvuletnikh-pobegov-vishni-obyknovennoi-cerasus- http://www.cnaa.md/files/theses/2012/21670/tatiana_capcanari_thesis.pdf		
V. Documente considerate a fi relevante		
Categorie*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 3835 G2 2009.10.31	1
A	EA 004230 B1 2004.02.26	1
A	EA 011072 B1 2008.12.30	1
A	MD 825 Y 2014.01.22	1
A	Ivanova R. The potentiometric assay for measurement of peroxy radical scavenging capacity of plant extracts. <i>Herba polonica</i> 2007; 53(2): 136-7	1
E	MD 4299 B1 2014.08.31	1
A, D	JP 2004217555 A 2004.08.05	1
A, B, C	JP 2008074807 A 2008.04.03	1

* categoriile speciale ale documentelor citate:	
A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării	2014.10.09
Examinator	IUSTIN Viorel