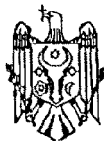




MD 4299 B1 2014.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4299** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *C07C 37/68* (2006.01)
A61K 31/05 (2006.01)
A61K 36/52 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2013 0065 (22) Data depozit: 2013.09.16	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2014.08.31, BOPI nr. 8/2014
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventator: IVANOVA Raisa, 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 pieliță de miez de nucă
(*Juglans regia* L.)

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la un procedeu de obținere a compușilor antioxidanți din pieliță 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 pielița de miezul de nucă, 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 50%, 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 4299 B1 2014.08.31

**(54) Process for producing antioxidant compounds from walnut kernel skin
(*Juglans regia* L.)**

(57) Abstract:

1
The invention relates to a process for producing antioxidant compounds from walnut kernel skin (*Juglans regia* L.) and can be used in the food industry, medicine and cosmetology.

The process, according to the invention, consists in that is separated the skin from the kernel, is dried to a humidity of 6...8% and 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 to the total content of polyphenolic substances in the dry residue of the extract of at least 50%, then the liquid phase of the extract is separated by centrifugation at 10,000 rpm/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, высушивают до влажности 6...8%, размельчают, мацерируют полученный порошок с раствором этилового спирта 20...70%, взятые в соотношении 1 : 20

2
соответственно, при температуре 15...30°C, с постоянным перемешиванием до общего содержания полифенольных веществ в сухом остатке экстракта не менее 50%, затем жидкую фазу экстракта отделяют центрифугированием при 10000 об/мин в течение 15 мин или декантированием и фильтрацией.

П. формулы: 1

Descriere:

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

10 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 pieliță pe o unitate de masă este de 100 de ori mai mică decât în pieliță (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].

20 De asemenea, este cunoscut procedeu de obținere a extractului din pieliță 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 pieliță de miez de nucă constituie doar 25% din masa totală a substanțelor extrase [2].

30 Având în vedere că concentrația compușilor polifenolici în pieliță este aproximativ de 100 de ori mai mare decât în miezul de nucă și procesarea extractelor la temperaturi ridicate provoacă modificări ireversibile care micșorează activitatea antioxidantă a polifenolilor, devine oportun elaborarea unui procedeu de obținere a polifenolilor din pieliță de miez de nucă la temperaturi micșorate.

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

40 Esența invenției constă în aceea că se separă pielița de miezul de nucă, 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 50%, apoi faza lichidă a extractului se separă prin centrifugare la 10000 rot/min timp de 15 min sau prin decantare și filtrare.

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

Exemplu de realizare a invenției

50 Pielita se separă de miezul de nucă, se usucă, 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 pieliță/volumul soluției de alcool) și se extrage prin macerare simplă cu agitare permanentă la temperatura de 15...30°C până la saturarea extractului după conținutul de polifenoli în reziduul uscat de cel puțin 50%. Faza lichidă a extractului se separă de precipitat prin centrifugare la 10000 rot/min timp de 15 min sau prin decantare și filtrare.

55 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).

S-a constatat că rata substanțelor polifenolice în reziduul uscat al extractelor se modifică în limitele cuprinse între 51,38...55,70%.

- 5 Extractele 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).
- 10 Capacitatea de captare a radicalilor peroxidici a fost estimată în echivalentul acidului galic (GAE) în μM pe un gram de reziduul uscat al extractului ($\mu\text{MGAE/g}$). Activitatea antioxidantă a extractelor obținute variază de la $2125,26 \pm 204,49$ până la $2913,07 \pm 227,84$ $\mu\text{MGAE/g}$. De menționat că valorile activității antioxidante a extractelor din pielea de miez de nucă sunt de 1,3...1,6 ori mai mari decât valorile activității antioxidante a compoziției extrase din rizomii și rădăcinile de *R. rosea* (Brevet de invenție MD 3835).
- 15

Tabel

Caracteristica extractelor din pielea nativă de miez de nucă

Extract	Temperatura de extragere, °C	Reziduul uscat, mg/ml	Conținutul total al polifenolilor, mg/ml	Rata polifenolilor în reziduul uscat, %	Capacitatea de captare a radicalilor peroxidici, $\mu\text{MGAE/g}$
20% alcool	24 $\pm$ 2	21,28 $\pm$ 0,11	11,39 $\pm$ 0,20	53,54	2843,49 $\pm$ 82,74
30% alcool	20 $\pm$ 2	19,58 $\pm$ 0,19	10,06 $\pm$ 0,05	51,38	2360,44 $\pm$ 142,38
40% alcool	17 $\pm$ 2	15,93 $\pm$ 0,05	8,35 $\pm$ 0,08	52,42	2125,26 $\pm$ 204,49
40% alcool	20 $\pm$ 2	18,54 $\pm$ 0,28	9,77 $\pm$ 0,05	52,70	2244,87 $\pm$ 42,44
40% alcool	22 $\pm$ 2	18,54 $\pm$ 0,22	10,02 $\pm$ 0,19	54,05	2439,93 $\pm$ 244,04
40% alcool	24 $\pm$ 2	22,48 $\pm$ 0,08	11,72 $\pm$ 0,11	52,15	2275,50 $\pm$ 134,97
50% alcool	24 $\pm$ 2	22,22 $\pm$ 0,15	12,38 $\pm$ 0,13	55,70	2802,58 $\pm$ 184,30
60% alcool	24 $\pm$ 2	23,25 $\pm$ 0,17	12,12 $\pm$ 0,14	52,13	2310,14 $\pm$ 145,33
70% alcool	20 $\pm$ 2	20,52 $\pm$ 0,08	10,68 $\pm$ 0,09	52,06	2374,16 $\pm$ 175,33
70% alcool	28 $\pm$ 2	24,36 $\pm$ 0,06	12,75 $\pm$ 0,11	52,34	2913,07 $\pm$ 227,84

20

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 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.

25

(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 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 50%, apoi faza lichidă a extractului se separă prin centrifugare la 10000 rot/min timp de 15 min sau prin decantare și filtrare.

Șef secție:

IUSTIN Viorel

Examinator:

LUPAȘCU Lucian

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2013 0065

(22) Data depozit: 2013.09.16

(71) Solicitant: **INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD**

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

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl: C07C 37/68** (2006.01)

A61K 31/05 (2006.01)

A61K 36/52 (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): “polifenoli extragere”, “polifenoli extragere etanol”

Int. Cl: **C07C 37/68** , **A61K 31/05**, **A61K 36/52**

"Worldwide" (Espacenet): “polyphenol extraction”, “polyphenol extraction ethanol”, “polyphenol extraction temperature”

Int. Cl: **C07C 37/68** , **A61K 31/05**, **A61K 36/52**

EA, CIS (Eapatis): “экстракция полифенолов”, “экстракция полифенолов спиртом”

Int. Cl: **C07C 37/68** , **A61K 31/05**, **A61K 36/52**

SU (nonpublic): “экстракция полифенолов”, “экстракция полифенолов спиртом”

Int. Cl: **C07C 37/68** , **A61K 31/05**, **A61K 36/52**

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. *Herba polonica* 2007; 53(2): 136–7.

Ma Y.Q., Ye X.Q., Fang Z.X., Chen J.C., Xu G.H., Liu D.H. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) peels. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56(14), p. 5682-5690.

Ilbay Z., Sahin S., Kirbaşlar S.I. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of rosehip (*rosa canina* L.) with response surface methodology. *J. Sci. Food Agric.*, 2013. [Epub ahead of print]

Zhao S., Liu J.Y., Chen S.Y., Shi L.L., Liu Y.J., Ma C. Antioxidant potential of polyphenols and tannins from burs of *Castanea mollissima* Blume. *Molecules*, 2011, 16(10), p. 8590-8600

Bai X.L., Yue T.L., Yuan Y.H., Zhang H.W. Optimization of microwave-

assisted extraction of polyphenols from apple pomace using response surface methodology and HPLC analysis. J Sep Sci. 2010, 33(23-24), p. 3751-3758

Kratchanova M., Denev P., Ciz M., Lojek A., Mihailov A. Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants containing polyphenol compounds. Comparison of two extraction systems. Acta Biochim Pol., 2010, 57(2), p. 229-234.

Kalia K., Sharma K., Singh H.P., Singh B. Effects of extraction methods on phenolic contents and antioxidant activity in aerial parts of *Potentilla atrosanguinea* Lodd. and quantification of its phenolic constituents by RP-HPLC. J. Agric. Food Chem., 2008, 56(21), p. 10129-10134.

Sineiro et al. Polyphenols from plant materials: extraction and antioxidant power. EJEAFCh, 7 (8), 2008, p. 3210-3216

<http://biophenols.ru/wp/wp-content/uploads/2012/11/Fenolic-symposium2012IFR-Moscow.pdf>

<http://www.herbapolonica.pl/magazines-files/336747-Conference%20Proceedings.pdf>

http://www.chem.asu.ru/chemwood/volume12/2008_01/0801_107.pdf

http://www.cnaa.md/files/theses/2012/21670/tatiana_capcanari_thesis.pdf

<http://ru-patent.info/21/70-74/2174011.html>

<http://www.dissercat.com/content/issledovanie-polifenolnykh-soedinenii-odno-i-dvuletnikh-pobegov-vishni-obyknovennoi-cerasus->

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24425949>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19260292>

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	RU 99115296 A 2001.05.20	1
A	RU 2478698 C1 2013.04.10	1
A	RU 2466736 C2 2006.10.20	1
A	RU 2400357 C2 2010.09.27	1
A	RU 2392954 C2 2010.06.27	1
A	RU 2009118941 A 2010.11.27	1
A	RU 96117773 A 1998.12.20	1
A	RU 2006119430 A 2008.02.10	1
A	RU 2006118743 A 2008.01.20	1
A	UA 33578 U 2008.06.25	1
A	CN 103524472 A 2014.01.22	1
A	CN 101955688 A 2011.01.26	1
A	RU 2466736 C2 2012.11.20	1
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	RU 2104027 C1 1998.02.10	1
A	RU 1510147 C1 1994.11.30	1
A	CN 102772521 A 2012.11.14	1
A	KR 860000215 B1 1986.03.15	1
A, D	JP 2004217555 A 2004.08.05	1
A, D, C	JP 2008074807 A 2008.04.03	1

*** categoriile speciale ale documentelor citate:**

A – document care definește stadiul anterior **T** – document publicat după data depozitului sau

general	a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență 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	
19.06.2014	
Examinator	
LUPAȘCU Lucian	