



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2009 01032**

(22) Data de depozit: **09.12.2009**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30.01.2013** BOPI nr. 1/2013

(41) Data publicării cererii:  
**30.03.2011** BOPI nr. 3/2011

(73) Titular:  
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE TEXTILE  
PIELĂRIE - SUCURSALA - INSTITUTUL DE  
CERCETARE PIELĂRIE-ÎNCĂLȚĂMINTE,  
STR.ION MINULESCU NR. 93, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **ZĂINESCU ALIOȘA GABRIEL,  
STR.CRIVĂȚULUI NR.2, BL.51, SC.1, AP.2,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **VOICU PETRE, ȘOS.PANTELIMON  
NR.225, BL.66, SC.3, ET.6, AP.109,  
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **GHERGHINA CARMEN ALINA,  
SAT LEORDEȘTI, COMUNA BOBICEȘTI,  
OT, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**RO 125222 B1; RO 122458 B1**

(54) **PROCEDEU DE OBȚINERE A UNOR BIOAMELIORATORI  
PROTEICI**



# RO 126122 B1

1 Inventția se referă la un procedeu de obținere a unor bioamelioratori - sisteme multicomponente, formate din biopolimeri proteici și polielectroliți sintetici.

3 Bioamelioratorul este utilizat pentru remedierea și/sau condiționarea solurilor degradate, deoarece oferă suficiente elemente care îmbunătățesc compoziția solurilor cu  
5 elemente nutritive, ca: azot, fosfor, calciu, magneziu, potasiu etc.

7 Literatura de specialitate menționează, ca amelioratori pentru remedierea solurilor sărace în substanțe nutritive, necesare creșterii plantelor, polielectroliții sintetici, dar sunt cunoscute și metode de ameliorare a solurilor, utilizând deșeuri de la prelucrare a pieilor.

9 Brevetul **RO 125222 B1** descrie un procedeu de prelucrare a deșeurilor din gelatină, care constă în amestecarea deșeurilor din gelatină, tocate, cu apă și carne de var, se spală  
11 cu apă, se decalcifiază cu sulfat de amoniu, se adaugă acid boric și produs enzimatic proteolitic concentrat, după care se supune hidrolizei, se corectează pH-ul și în final se  
13 amestecă cu cernoziom sau preluvosol, rezultând un biocompost.

15 Brevetul **RO 122458 B1** descrie un procedeu microbiologic de degradare a deșeurilor din piele, care constă în însămânțarea unui preinocul obținut din tulpini bacteriene într-un bulion nutritiv care conține deșeuri de piele gelatină.

17 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în ameliorarea și stabilizarea structurii solului la suprafața patului germinativ, utilizând un sistem multicomponent de  
19 biopolimeri.

21 Procedeu de obținere a unor bioamelioratori proteici pentru soluri degradate constă în aceea că deșeurile de piele gelatină se spală cu apă curentă la temperatura de 20...25°C, timp de 20...30 min, apoi se toacă mărunt cu o mașină de tocat cu cuți duble, iar masa  
23 păstoasă, omogenă, rezultată, peste care s-a adăugat, în proporție de 30...50% apă, se introduce într-o autoclavă prevăzută cu încălzire și agitare, și se adaugă o soluție 1,5...2,5% produs enzimatic în apă, sub agitare timp de 40...90 min, la temperatura de 35...40°C, după  
25 care se mărește temperatura la 78...93°C și se adaugă 18...25% polimer sintetic, pe bază de poli(acrilamidă) anionică cu masă moleculară mare 15...30 x 10<sup>6</sup> și se menține agitarea timp de 120...180 min, după care se reduce temperatura la 35...40°C și se adaugă 5...6,5%  
27 fosfat dipotasic și o soluție 1,5...2,5% produs enzimatic, menținându-se agitarea 20...30 min, cu adăugarea a 0,5...1% acid boric, cantitățile fiind raportate la conținutul inițial de deșeuri  
29 de piele.  
31

33 Procedeu conform invenției constă în combinarea biochimică a polimerilor sintetici cu biopolimeri organici din tăbăcării și are aplicații în pedologie. În general, polielectroliții (ca  
35 exemplu, polielectroliții poli(acrilamidici)), ca și alte categorii de polimeri, contribuie la ameliorarea însușirilor solului prin unul sau mai multe dintre următoarele efecte:

37 - mărirea gradului de agregare a elementelor structurale ale solurilor cu structura degradată;

39 - prevenirea formării crustei în perioada dintre semănat și răsărirea plantelor, mai ales, a celor cu semințe mici, care sunt foarte vulnerabile;

41 - mărirea rezistenței la eroziune hidrică și eoliană a solurilor situate pe pante și a celor cu textură grosieră (argilă sub 12%);

43 - prevenirea sau diminuarea intensității de manifestare a eroziunii hidrice sau eoliene și a fenomenelor negative pe care aceasta le implică;

45 - favorizarea formării agregatelor structurale, hidrostabile, pentru îmbunătățirea permeabilității solului, regimului aerohidric, infiltrației apei, cu efecte benefice în reținerea apei în sol și atenuarea efectelor negative ale secetei prelungite în sezonul de vegetație;

47 - modificarea mobilității și accesibilității către plante a metalelor grele din solurile poluate/contaminate. Acest efect ar putea fi utilizat în cazul solurilor poluate cu metale grele  
49 sau a zonelor poluate din apropierea unităților metalurgice.

# RO 126122 B1

Condiționarea solurilor constă în ameliorarea însușirilor fizice, prin utilizarea unor substanțe de proveniențe variate, cunoscute în literatura de specialitate sub denumirea de agenți de condiționare a solului. 1  
3

Prin contaminarea solului, se înțelege o creștere moderată a unor elemente/ substanțe, nedăunătoare creșterii și dezvoltării plantelor, dar care poate reprezenta faza incipientă a procesului de poluare. Poluarea solului este un stadiu avansat, în care creșterea conținutului anumitor substanțe chimice devine dăunătoare pentru soluri, ape, plante, animale, ființe umane, pentru mediul înconjurător, în general. Separarea domeniului de încărcare/contaminare de cel de poluare a solurilor se face prin indicele de încărcare/poluare, care se stabilește în funcție de conținutul de substanțe poluante din sol și o valoare de referință a acestuia. Evaluarea cantitativă a încărcării solului cu diferiți poluanți se realizează prin compararea conținutului substanței poluante cu conținutul normal al acelei substanțe în sol sau cu conținutul maxim admisibil, care se stabilește în funcție de unele însușiri ale solului, cum ar fi compoziția granulometrică, conținutul de materie organică, valoarea pH-ului etc. 5  
7  
9  
11  
13

Pentru minimalizarea efectelor/proceselor de contaminare/poluare a solurilor, pot fi aplicate diferite categorii de măsuri, cunoscute sub denumirea de măsuri ameliorative. Prevenirea degradării/contaminării/poluării solurilor se poate realiza prin folosirea unor metode care să contribuie la evitarea producerii acestor procese sau să contracareze efectele lor. 15  
17  
19

Reducerea efectelor implică utilizarea unor metode care să contribuie la diminuarea intensității de manifestare a efectelor negative ale proceselor de degradare a fertilității solurilor și a celor de contaminare sau poluare. Refacerea constă în aplicarea unor metode de remediere, de îmbunătățire a însușirilor solului afectat de procese de degradare sau de factori limitativi, în scopul revenirii la starea de fertilitate și productivitate originală, mai ridicată, sau cel puțin la o stare cât mai apropiată de cea inițială. Reconstrucția se referă la metode de aplicat pe terenuri care nu se pretează la utilizarea agricolă sau forestieră, ca de exemplu unele halde provenite din minerit sau de diferite reziduuri, în vederea revenirii lor în circuitul ambiental. Recultivarea se referă la lucrări similare, având ca scop revenirea terenului la utilizarea agricolă sau forestieră. 21  
23  
25  
27  
29

Polielectrolizii (PE) sunt polimeri ale căror unități monomere posedă grupe ionizate sau ionizabile. În soluție apoasă, PE disociază în macroioni polivalenți (poliioni) și un număr mare de ioni mici de semn opus-contraioni. În această invenție, s-au utilizat poliacizi sau polielectrolizi anionici, care posedă ca grupă funcțională gruparea carboxilică  $-\text{COOH}$ , gruparea sulfonică  $-\text{SO}_3\text{H}$  sau gruparea fosfonică  $-\text{PO}_3\text{H}$ . 31  
33

Polielectrolizii sunt dintre cei mai importanți agenți de condiționare a solurilor agricole. Acești polimeri îmbunătățesc însușirile fizice, chimice și biologice ale solului, cu excepția solurilor sărăturate (salinizate și/sau alcalizate). Acest efect ar putea fi datorat proprietăților de adsorpție și floclare ale polielectrolizilor. Polimerii și copolimerii pe bază de acrilati și acrilamidă sunt cel mai mult utilizați. Poliacrilamida determină stabilizarea structurii solurilor nisipoase de dună, previne formarea crustei, micșorează intensitatea de împrăștiere a particulelor de sol elementare de către picăturile de ploaie și, implicit, intensitatea eroziunii prin apă. Îmbunătățirea structurii solului are ca efect creșterea vitezei de infiltrație a apei. Caracterul hidrofil al poli(acril)amidei mărește capacitatea solului de a reține apă și micșorează pierderea apei prin evaporare și infiltrație din solurile nisipoase. 35  
37  
39  
41  
43

Obiectivul principal al invenției constă în ameliorarea structurii solului, la suprafața patului germinativ, cu sisteme multicomponente de biopolimeri și astfel asigurarea unor condiții mai bune, pentru răsărirea, creșterea și dezvoltarea plantelor, îndeosebi la speciile la care sămânța se introduce în sol la mică adâncime (până la 4 cm) și utilizarea solului stabilizat structural. Concret, prin ameliorarea structurii, se urmărește: 45  
47  
49

- diminuarea instabilității structurale;

# RO 126122 B1

- 1 - reducerea procesului de formare a crustei, ca urmare a creșterii hidrostabilității  
structurii;
- 3 - îmbunătățirea porozității;  
- ameliorarea permeabilității;
- 5 - ameliorarea stării de așezare (densitatea aparentă);  
- reducerea rezistenței la penetrare;
- 7 - ameliorarea regimului biologic;  
- ameliorarea regimului agrochimie.

9 În privința culturilor de plante din câmpul experimental, se consideră că ameliorarea  
structurii solului influențează pozitiv următorii indicatori:

- 11 - viteza de răsărire;  
- numărul final de plante răsărite;
- 13 - producția de rădăcini;  
- mărirea producției de plante la hectar.

15 Elaborarea schemei tehnologice de obținere a unui bioameliorator utilizabil în  
agricultură se bazează pe un procedeu bioenzimatic, aplicat deșeurilor de piele gelatină,  
17 combinate cu un polimer sintetic.

După cum se știe din practica tehnologică din tăbăcărie, din 1000 kg de piele crudă  
19 (materie primă), 250 kg se regăsesc în piele finită, iar restul de 750 kg sunt deșeuri de piele  
(din aceste 750 kg deșeuri, 592 kg sunt deșeurile de piei netăbăcite). Valorificarea deșeurilor  
21 proteice reprezintă o necesitate a tehnologiilor curate, ecologice, deoarece numai 25% din  
pielea crudă se regăsește ca produs finit (încălțăminte, marochinarie etc). Tratarea  
23 biochimică constă în procesarea deșeurilor de piele gelatină cu un ansamblu de enzime,  
coenzime și amelioratori naturali cu lichide „starter”, care modifică reacțiile toxice ale  
25 biopolimerului proteic, cu o eliminare corespunzătoare a emisiilor de hidrogen sulfurat,  
mercaptani, a mirosurilor amoniacale și a altor mirosuri specifice. Un astfel de produs, care  
27 a fost utilizat, este denumit comercial Decosynth și este produs în Elveția. Acest produs  
conține diverse tipuri de bacterii și ciuperci, având în compoziție culturi de *Aspergillus Orizae*,  
29 *Bacillus Rumenococcus Albus*, *Bacillus Cereus*, *Trichoderma Viride*, *Trichoderma Koningii*  
și *Trichoderma Polysporum*. Culturile bacteriene produse prin „cultura spontană selecționată”  
31 nu sunt patogene, sunt libere de *Salmonella* și sunt inofensive pentru om, animale sau pești.

Ele provoacă și accelerează viteza reacțiilor oxido-reductive care degradează  
33 compușii organici, nu se distrug pe parcursul procesului reactiv și rămân active în timp. Ce  
este important este că unii catalizatori hidrolitici, prezenți în acest produs, ca exemplu,  
35 amilazele, hidratează, lichefiază și digeră substratul ce conține amide, transformându-le în  
zaharuri simple, mai solubile.

37 Se știe din practica biotehnologică, că *Aspergillus Orizae*, *Bacillus Cereus* și *Bacillus*  
*Thuringensis* și părți din *Bacillus Subtilis* produc Celulază, Amilază și Protează (în cantitate  
39 mai mare), care sunt mai active la un pH mai scăzut față de enzimele anologice, extinzând  
astfel domeniul de activitate al enzimei.

41 De asemenea, sunt importanți fermenții fără enzime, care stimulează factorii asociați  
cu *Aspergillus Orizae*. *Rumenococcus Albus* este anaerob și se reproduce digerând  
43 reziduurile fără oxigen. *Bacillus Thuringensis* prezent în forma liofilizată produce endotoxine  
(bistoxine), care interacționează cu metabolismul insectei în stadiul larvar.

45 Produsul enzimatic, utilizat în procedeul conform invenției, este produsul comercial  
Decosynth, care conține: 30.000 MWU Lipază; 900 unit/g Celulază; 1.200 unit/g Amilază și  
47 10.000 unit/g Protează. Produsul enzimatic este un ansamblu de microorganisme,  
selecționate, combinate cu enzime hidrolitice (COH), coenzime și amelioratori naturali,

# RO 126122 B1

potențate de către lichide starter, care catalizează reacțiile în descompunerea materiei complete, controlând emanațiile amoniacale, de hidrogen sulfurat, mercaptani, mirosuri specifice etc. Cu acest produs, se obține un important control al colibacteriilor și al agenților patogeni, se îmbunătățește ambientul și se mărește fertilitatea terenurilor pe care se împrăștie (elimină crusta organică).	1 3 5
Se prezintă, în continuare, un exemplu nelimitativ de realizare a invenției.	
<b>Exemplu.</b> Procedeele tehnologice propuse cuprind următoarele operații:	7
- o cantitate de 45...60 kg de deșuri de piele gelatină se spală cu apă curentă la temperatura de 20...25°C într-un butoi, timp de 20...30 min, deoarece acestea sunt puternic alcaline.	9
Apoi deșeurile de piele se toacă cu o mașină de tocat specială, cu cuțite duble, obținându-se o masă păstoasă, omogenă, peste care se adaugă o cantitate de 30...50% apă. Deșeurile se introduc într-o autoclavă prevăzută cu manta de încălzire și agitator.	11 13
Peste acest amestec, se adaugă o soluție preparată din 2...3 l apă și 1,5...2,5% produs enzimatic descris mai sus, raportat la cantitatea inițială de deșeu de piele. Se agită timp de 40...90 min, la temperatura de 35...40°C.	15
Apoi se mărește temperatura la 78...93°C și peste acest amestec se adaugă o cantitate de 18...25% polimer sintetic, pe bază de poli(acrilamidă) anionică cu masă moleculară mare, aproximativ $15...30 \times 10^6$ , de exemplu, Praestol 2540 sau 2515 (Stockhausen - Germania) și amestecul se menține sub agitare, timp de 120...180 min.	17 19
Se reduce temperatura la 35...40°C și se introduce 5...6,5% fosfat dipotasic (care contribuie la îmbunătățirea proprietăților nutritive prin adaosul de fosfor și potasiu) și o soluție preparată din 2...3 l apă și 1,5...2,5% produs enzimatic raportat la cantitatea inițială de deșeu, continuând agitarea timp de 20...30 min.	21 23
Se adaugă 0,5...1% acid boric și se scoate din autoclavă în butoaie din plastic.	25
Se aplică fie la operația de stropire cu ierbicide, fie diluat în sistemul de irigare sau la însămânțarea semințelor.	27
Prin analiza micromorfologică pe secțiuni subțiri, a fost pus în evidență modul de distribuție a bioamelioratorului (BAZ) la nivelul solului:	29
- în porii interpedali;	
- în spațiul lacunar dintre elementele structurale;	31
- pe suprafața elementelor structurale.	
S-au efectuat analize micromorfologice pe un cernoziom gleizat, lutoargilos, pe depozite leosoide din zona Nord-București, pe care s-a aplicat bioamelioratorul (BAZ). Analiza micromorfologică, pe secțiuni subțiri, a modului de distribuție, în sol, a bioamelioratorului (DPZ) și relația acestuia cu diferiți componenți ai solului a fost posibilă prin folosirea unei noi tehnici de marcare a condiționatorului cu trei tipuri de coloranți (hematoxilină; fluoresceină izotiocianat și albastru de metilen).	33 35 37
Pătrunderea bioamelioratorului (BAZ) depinde de mai multe aspecte, și anume, de mărimea porilor, de mărimea și stereochemia polimerului, precum și de configurația soluției de polimer.	39 41
În cazul studiat, bioamelioratorul (BAZ) a pătruns într-o gamă largă de pori și fisuri, diferiți ca mărime (diametrul = 31...200 μm) și ca formă (rotunzi, ovali, policoncavi). Indiferent de mărimea și forma acestora, polimerul formează pe pereții acestor pori pelicule fine (mai mici de 6...25 μm grosime), local discontinue. În dreptul granulelor de schelet din pereții porilor, peliculele prezintă discontinuități sau apar ca un film, greu de măsurat la microscopul optic. Trebuie subliniat faptul că polimerul nu obturează porii (nici chiar pe cei cu diametrul de 30 μm), ci îi protejează prin pelicule fine, favorizând infiltrația apei și schimbul de gaze între sol și atmosferă.	43 45 47 49

# RO 126122 B1

1 În urma aranjamentului spațial al elementelor structurale, a rezultat un spațiu lacunar,  
cu goluri predominant policoncave și interconectate. În aceste goluri, bioamelioratorul (BAZ)  
3 formează punți de legătură între elementele structurale. Din observațiile noastre, reiese  
faptul că aceste punți de legătură, ce se formează între elementele structurale ale solului,  
5 sunt similare cu cele observate de De Boodt ("strings") între granulele de cuarț. Punțile de  
legătură, observate de noi sunt de două tipuri, unele subțiri, pentru care propunem  
7 denumirea de "filiforme", și altele mai groase, pentru care propunem denumirea de "menisc".  
Punțile "filiforme" au în general sub 5 μm diametru și se formează atunci când suprafața de  
9 contact între polimer și elementele structurale este redusă. Când suprafața de contact este  
mai mare, rezultă punți de tip "menisc". Acestea sunt mult mai frecvente decât primul tip și  
11 au un diametru de 12...15 μm, iar lungimea lor (ca și a celor "filiforme") variază între 30 și  
180 μm. Distanța dintre elementele structurale nu pare să influențeze prea mult tipul de  
13 legătură. Tipul "menisc" apare foarte frecvent și în fisuri. Formarea acestor punți contribuie  
la consolidarea arhitecturii solului și la menținerea unor condiții aerohidrice favorabile  
15 desfășurării unei activități biochimice normale (în condiții aerobe).

17 Polimerul este absorbit instantaneu pe suprafața elementelor structurale, pe măsura  
pătrunderii frontului de soluție spre baza probei.

19 Acestea formează o peliculă fină (mai mică de 5 μm) discontinuă la suprafața  
elementelor structurale. Continuitatea sau discontinuitățile acestor pelicule sunt determinate  
de puterea de adsorbție a componentilor aflați în pereții agregatelor. Gradul de acoperire a  
21 elementelor structurale reprezintă un indicator important în aprecierea eficienței  
bioamelioratorului (BAZ). În literatură, se consideră că un bun condiționator trebuie să aibă  
23 un grad de acoperire de 15...20%. Acest grad de acoperire depinde nu numai de cantitatea  
aplicată, dar și de gradul de diluție, de dispersie, de umiditatea solului la momentul aplicării.  
25 În cazul de față, bioamelioratorul (BAZ) are un grad superior (mai mare de 20%) de acoperire  
a elementelor structurale (determinat prin observații la microscopul optic). Acest grad de  
27 acoperire are valori mai mari la suprafața probelor. Pe lângă rolul stabilizator,  
bioamelioratorul (BAZ) are și rol de agregare.

29 Se experimentează bioamelioratorul (BAZ) pe o cultură de mazăre (leguminoasă  
anuală), care să amelioreze terenul prin îmbogățirea solului în azot fixat biologic și care să  
31 permită eliberarea timpurie a terenului. Terenul a fost apoi pregătit pentru însămânțarea  
orzului. Față de substanțele nutritive din sol s-a dovedit că mazărea are nevoie de  
33 îngrășăminte azotoase, în special, în primul stadiu de dezvoltare. Ulterior, aceasta se  
dezvoltă pe seama azotului fixat din aer de către bacteriile care formează nodozitățile de pe  
35 rădăcini. Cea mai potrivită reacție a solului pentru cultura mazărei este neutră sau slab  
alcalină, ceea ce impune ca solurile destinate pentru cultura mazărei să fie moderat  
37 amendate cu calcar, însă nu direct, ci la plantele premergătoare.

39 În fenofaza de înflorire, s-au numărat nodozitățile de pe rădăcinile de mazăre de la  
tratament, înainte de însămânțare cu bioamelioratorul (BAZ) (0,5 kg/m<sup>2</sup>).

41 *Influența bioamelioratorului (BAZ) asupra nodozităților/plantă de mazăre - Soi Diana, 2009*

Nr. crt.	Varianta	Nr. nodozități/plantă	Observații	
43				
45	1	Tratament cu bioamelioratorului (BAZ)	39,00	0,25...0,5 kg/m <sup>2</sup>
	2	Netratat	17,00	

# RO 126122 B1

Tratamentul aplicat la sol cu bioamelioratorul (BAZ) (0,25...0,5 kg/m<sup>2</sup>) a influențat "foarte semnificativ" dezvoltarea numărului de nodozități pe rădăcinile plantelor. Rădăcinile și resturile organice acumulate de mazăre în sol constituie o sursă importantă de substanțe nutritive și energie pentru microorganismele din sol, iar prin descompunerea lor, rezultă o cantitate însemnată de elemente, mai ales azot, necesare nutriției plantelor superioare.

Procedeul conform invenției contribuie atât la redarea în agricultură a unor soluri sărace și degradate, cât și la reducerea poluării mediului, prin valorificarea deșeurilor de piei, care în prezent se elimină la gropile de gunoi.

# RO 126122 B1

1

## Revendicare

3

Procedeu de obținere a unor bioamelioratori proteici pentru soluri degradate, **caracterizat prin aceea că** deșeurile de piele gelatină se spală cu apă curentă la temperatura de 20...25°C, timp de 20...30 min, apoi se toacă mărunț, cu o mașină de tocat cu cuțite duble, iar masa păstoasă, omogenă, rezultată, peste care se adaugă 30...50% apă, se introduce într-o autoclavă prevăzută cu încălzire și agitare, și se adaugă o soluție 1,5...2,5% produs enzimatic în apă, sub agitare timp de 40...90 min, la temperatura de 35...40°C, după care se mărește temperatura la 78...93°C și se adaugă 18...25% polimer sintetic, pe bază de poliacrilamidă anionică cu masă moleculară mare 15...30x10<sup>6</sup> și se menține agitarea timp de 120...180 min, după care se reduce temperatura la 35...40°C și se adaugă 5...6,5% fosfat dipotasic și o soluție 1,5...2,5% produs enzimatic în apă, menținându-se agitarea 20...30 min, cu adăugarea a 0,5...1% acid boric, cantitățile fiind raportate la cantitatea inițială de deșeuri de piele.

5

7

9

11

13



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM  
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci  
sub comanda nr. 18/2013