



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENTIE

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

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

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

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NATIONAL DE CERCETARE
DEZVOLTARE TEXTILE PIELĂRIE -
SUCURSALA INSTITUTUL DE
CERCETARE PIELĂRIE-INCĂLȚĂMIINTE,
STR. ION MINULESCU NR. 93, SECTOR 3,
BUCHURESTI, B, RO

(72) Inventatori:
• ZĂINESCU ALIOȘA GABRIEL,
STR.CRIVĂȚULUI NR. 2, BL. 51, SC. 1,
AP. 2, SECTOR 3, O.P. 77, 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

(54) PROCEDEU DE OBȚINERE DE BIOAMELIORATORI PROTEICI PENTRU REMEDIEREA SOLURILOR DEGRADATE

(57) Rezumat:

Prezenta inventie se referă la un procedeu de obținere a unor bioamelioratori proteici pentru remedierea solurilor degradate, din 45...60 kg deșeurilor de piele spălate 20...30 min, la 20...25°C, tocate pentru a se obține biopolimer proteic ce se tratează cu 1/2 dintr-o soluție obținută prin dizolvarea în 4...6 l de apă, la 35...40°C, a componentelor produsului enzimatic Decosynth, după cum urmează: 1,5...2,5% componentă A și 2...2,5% componentă B, cu agitare 30...80 min, și apoi 1...1,5% componentă C, după care amestecul de

biopolimer cu produs enzimatic se introduce în autoclavă timp de 40...90 min, la 35...40°C, apoi la 78...93°C se adaugă 18...25% polielectrolit Praestol 2540 sau 2515, și se agită timp de 120...180 min, după care, la 35...40°C, se introduce 5...6,5% fosfat dipotasic și restul de 2...3 l din soluția enzimatică, și agitarea se continuă timp de 20...30 min, după care se adaugă 0,5...1% acid boric și produsul rezultat se ambalează.

Revendicări: 7

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de inventie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de inventie este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



Y

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENTII	Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2009 01032	Data depozit 09 -12 - 2009

DESCRIERE

PROCEDEU DE OBTINERE DE BIOAMELIORATORI PROTEICI PENTRU REMEDIEREA SOLURILOR DEGRADATE

Invenția se referă la obținerea de bioamelioratori – sisteme multicomponente formate din biopolimeri proteici și polielectroliti sintetici.

Bioamelioratorul este utilizat pentru remedierea și/sau conditionarea solurilor degradate, deoarece oferă suficiente elemente care imbunătățesc compozitia solurilor cu elemente nutritive, ca: azot, fosfor, calciu, magneziu, potasiu etc..

Din datele de literatură, ca amelioratori pentru remedierea solurilor sarace în substantive nutritive necesare creșterii plantelor, se utilizează polielectroliți sintetici.

Noutatea acestei inventii este acest procedeu de combinare biochimica a polimerilor sintetici cu biopolimeri organici din tabacarii și cu aplicații în pedologie.

In general, polielectroliți (ca exemplu polielectroliți poliacrilamidici), ca și alte categorii de polimeri, contribuie la ameliorarea insusirilor solului prin unul sau mai multe din urmatoarele efecte:

- marirea gradului de agregare a elementelor structurale ale solurilor cu structura degradată;
- prevenirea formării cruste în perioada dintre seamană și rasarirea plantelor, mai ales a celor cu seminte mici, care sunt foarte vulnerabile;
- marirea rezistenței la eroziune hidrica și eoliană a solurilor situate pe pante și a celor cu textură grosieră (argila sub 12%);
- prevenirea sau diminuarea intensității de manifestare a eroziunii hidrice sau eoliene și a fenomenelor negative pe care aceasta le implica;
- favorizarea formării agregatelor structurale hidrostabile pentru imbunatatirea permeabilității solului, regimului aerohidric, infiltratiei apei, cu efecte benefice în retinerea apei în sol și atenuarea efectelor negative ale secetei prelungite în sezonul de vegetație;
- modificarea mobilității și accesibilității către plante a metalelor grele din solurile poluate/contaminante. Acest efect ar putea fi utilizat în cazul solurilor poluate cu metale grele sau a zonelor poluate din apropierea unitatilor metalurgice.

Conditionarea solurilor constă în ameliorarea insusirilor fizice prin utilizarea unor substanțe de proveniență variată, cunoscute în literatura de specialitate sub denumirea de soil conditioners – agenți de condiționare a solului.

Prin contaminarea solului se înțelege o creștere moderată a unor elemente/substanțe, nedăunatoare 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 poluanțe din sol și o valoare de referință a acestuia. Evaluarea cantitativă a încărcării solului cu diferenți poluanți se realizează prin compararea conținutului substanței poluanțe cu conținutul normal al acelei substanțe în sol, sau cu conținutul maxim admisibil, care se stabilește în funcție de unele insușiri ale solului cum ar fi compoziția granulometrică, conținutul de materie organică, valoarea pH-ului etc.

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/poluařii solurilor se poate realiza prin folosirea unor metode care să contribuie la evitarea producerii acestor procese sau să contracareze efectele lor.

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 ex. 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.

Polielectroliții (PE) sunt polimeri ale căror unități monomere posedă grupe ionizate sau ionizabile. În soluție apoasă PE disociază în macroioni polivalenți (poliiioni) și un număr mare de ioni mici de semn opus – contraioni. În aceasta inventie s-au utilizat poliacizi sau polielectroliți anionici, care posedă ca grupă funcțională gruparea carboxilică –COOH, gruparea sulfonică –SO₃H sau gruparea fosfonică –PO₃H.

Polielectroliții, 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 adsorbție și floculare ale polielectroliților. Polimerii și copolimerii pe bază de acrilăți și acrilamidă sunt cel mai mult utilizați. Poliacrilamida determină stabilizarea structurii solurilor nisipoase de dună, previne formarea crustei, micșorează intensitatea de împărtăiere 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 infiltrare a apei. Caracterul hidrofil al poliacrilamidei mărește capacitatea solului de a reține apă și micșorează pierderea apei prin evaporare și infiltratie din solurile nisipoase.

Obiectivul principal al inventiei constă în ameliorarea structurii solului la suprafața patului germinativ cu sisteme multicompONENTE de biopolimeri și astfel asigurarea unor condiții mai bune pentru răsărire, 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:

- * diminuarea instabilității structurale;
- * reducerea procesului de formare a crustei ca urmare a creșterii hidrostabilității structurii;
- * îmbunătățirea porozității;
- * ameliorarea permeabilității;
- * ameliorarea stării de așezare (densitatea aparentă);
- * reducerea rezistenței la penetrare;
- * ameliorarea regimului biologic;
- * ameliorarea regimului agrochimic.

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

- * viteza de răsărire;
- * numărul final de plante răsărite;
- * producția de rădăcini
- * marirea producției de plante la ha;

Elaborarea schemei tehnologice de obtinere a unui bioameliorator utilizabil în agricultură se bazează pe un procedeu bioenzimatic aplicat deseurilor de piele gelatină combinate cu un polimer sintetic.

Dupa cum se stie din practica tehnologica din tabacarie, din 1000Kg de piele cruda (materie prima), 250 Kg se regasesc în piele finita, iar restul de 750 Kg sunt deseuri de

piele(din aceste 750Kg deseuri , 592 kg sunt deseurile de piei netabacite). Valorificarea deșeurilor proteice reprezintă o necesitate a tehnologiilor curate, ecologice, deoarece numai 25% din pielea crudă se regăsește ca produs finit (incaltaminte, marochinarie, etc).

Tratarea biochimica constă în procesarea deseurilor de piele gelatina cu un ansamblu de enzime, co-enzime și amelioratori naturali cu lichide „starter”, care modifica reacțiile toxice ale biopolimerului proteic cu o eliminare corespunzătoare a emisiilor de hidrogen sulfurat, mercaptani, a mirosurilor amoniacale și a altor mirosurii specifice. Un astfel de produs care a fost utilizat este denumit comercial Decosynth și este produs în Elveția. Acest produs conține diverse tipuri de bacterii și ciuperci, având în componență culturi de *Aspergillus Orizae*; *Bacillus Rumenococcus Albus*; *Bacillus Cereus*; *Trichoderma Viride*; *Trichoderma Koningii* și *Trichoderma Polysporum*. Culturile bacteriene produse prin „cultura spontană selecționată” nu sunt patogene, sunt libere de salmonella și sunt inofensive pentru om, animale sau pesti.

Ele provoacă și acceleră viteză reacțiilor oxido-redutive care degradă compuși organici, nu se distrug pe parcursul procesului reactiv și rămân active în timp. Ce este important este că unei catalizatori hidrolitici prezenti în acest produs, ca exemplu amilazele, hidratează, lichefiază și digere substratul ce conține amide, transformându-le în zahăruri simple, mai solubile.

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

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

Produsul Decosynth conține :

30.000 MWU Lipaza; 900 unit./g Celulaza; 1.200 unit./g Amilaza și 10.000 unit./g Proteaza. Decosynth este un ansamblu de microorganisme selecționate combinate cu enzime hidrolitice (COH), coenzime și amelioratori naturali potențiate de către lichide starter care catalizează reacțiile în descompunerea materiei complete, controlând emanatiile amoniacale, de hidrogen sulfurat, mercaptani, mirosurii specifice etc. Cu acest produs obține un important control al colibacteriilor și a agentilor patogeni și îmbunătățește mediul și se mărește fertilitatea terenurilor pe care se imprastie (elimină crusta organică).

Exemplul 1

Procedeul tehnologic propus cuprinde următoarele operații:

1.O cantitate de 45 - 60 kilograme de deșuri de piele gelatina se spălă cu apă curentă la temperatură de 20 - 25 °C într-un butoi, timp de 20-30 minute, (deoarece este puternic alcalină) .

2.Apoi deșurile de piele se toacă cu o mașină de tocăt specială (cu cutite duble), obținându-se o masă pastoasă, omogenă – biopolimer proteic.

3. Într-un vas se introduc 4-6 l apă cu temperatură de 35 - 40 °C, în care dizolvă 1,5-2,5% componentă A și 2-2,5% componentă B a produsului Decosynth. Se agita timp de 30-80 minute, apoi se adaugă 1-1,5 % componentă C (lichidul starter) a produsului Decosynth.

4. O jumătate de cantitate (2 – 3 l) din aceasta soluție soluție se adaugă peste biopolimerul proteic și apoi amestecul se introduce într-o autoclavă prevăzută cu manta de incalzire și agitator. Se agita timp de 40-90 minute la temperatură de 35-40 °C

5. Apoi se mărește temperatura la 78 - 93 °C, apoi peste acest amestec se introduce o cantitate de 18-25 % un polimer sintetic – de exemplu Praestol 2540 sau 2515 (Stockhausen – Germania) și se continuă agitare timp de 120-180 minute.

6. Se reduce temperatura la $35 - 40^{\circ}\text{C}$ si se introduce 5 - 6,5 % fosfat dipotasic (care contribuie la imbunatatirea proprietatilor nutritive prin adaosul de fosfor si potasiu) si cealalta jumata de solutie enzimatica pregatita la punctul 3 (2-3l) si se continua agitarea timp de 20-30 minute.

7. Se adauga 0,5-1% acid boric si se scoate din autoclava in butoarie din plastic.

8. Se aplica fie la operatia de stropire cu ierbicide sau diluat in sistemul de irrigare sau la insamantarea semintelor

Prin analiza micromorfologică pe secțiuni subțiri a fost pus în evidență modul de distribuție a bioamelioratorului (BAZ) la nivelul solului:

- în porii interpedali;
- în spațiul lacunar dintre elementele structurale;
- 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 diferenți compoziții 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).

Pătrunderea bioamelioratorului (BAZ) depinde de mai multe aspecte și anume de mărimea porilor, de mărimea și stereochimia polimerului, precum și de configurația soluției de polimer.

În cazul studiat, bioamelioratorului (BAZ)a pătruns într-o gamă largă de pori și fisuri diferenți ca mărime (diametrul = 31 - 200 milimicroni) și ca formă (rotunzi, ovali, policoncavi). Indiferent de mărimea și forma lor, polimerul formează pe pereții acestor pori, pelicule fine (mai mici de 6-25 milimicroni 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 milimicroni), ci îi protejează prin pelicule fine, *favorizând infiltrația apei și schimbul de gaze între sol și atmosferă*.

In urma aranjamentului spațial al elementelor structurale a rezultat un spațiu lacunar cu goluri predominant policoncave și interconectate. În aceste goluri bioamelioratorului (BAZ) 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 sunt similare cu cele observate de De Boott ("strings") între granulele de quart. Punțile de legătură, observate de noi sunt de două tipuri , unele subțiri pentru care propunem denumirea de "filiforme" și altele mai groase, pentru care propunem denumirea de "menisc".Punțile "filiforme" au în general sub 5 milimicroni diametru și se formează atunci când suprafața de 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 au un diametru de 12-15 milimicroni, iar lungimea lor (ca și a celor "filiforme") variază între 30 și 180 milimicroni. Distanța dintre elementele structurale nu pare să influenteze prea mult tipul de legătură. Tipul "menisc" apare foarte frecvent și în fisuri. Formarea acestor punți contribuie la consolidarea arhitecturii solului și la menținerea unor condiții aerohidrice favorabile desfășurării unei activități biochimice normale (în condiții aerobe).

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

Acstea formează o peliculă fină (mai mică de 5 milimicroni) 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

Revendicari

1. Bioamelioratorul pentru remedierea solurilor degradate, **caracterizat prin aceea că**, este un sistem - multicomponent format din biopolimeri proteici și polielectroliti sintetici.
2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, pentru obținerea bioamelioratorului se aplică un procedeu bioenzimatic astfel o cantitate de 45 - 60 Kg de deșeuri de piele gelatina se spală cu apă curentă la temperatură de 20 - 25 °C într-un butoi, timp de 20-30 minute, (deoarece este puternic alcalină), apoi deșeurile de piele se toacă cu o masina de tocata specială (cu cutite duble), obținându-se o masă pastoasă, omogenă – biopolimerul proteic.
3. Procedeu conform revendicării 1 și 2, **caracterizat prin aceea că**, într-un vas se introduc 4-6 l apă cu temperatură de 35 - 40 °C, în care dizolvă 1,5-2,5% componenta A și 2-2,5% componenta B a produsului Decosynth (Elveția). Se agită timp de 30-80 minute, apoi se adaugă 1-1,5 % componenta C (lichidul starter) a produsului Decosynth.
4. Procedeu conform revendicării 1,2 și 3, **caracterizat prin aceea că**, 2-3 l din soluția preparată la pct.3 se adaugă peste bioplimerul proteic și apoi amestecul se introduce într-o autoclava prevăzută cu manta de încălzire și agitator. Se agită timp de 40-90 minute la temperatură de 35-40 °C .
5. Procedeu conform revendicării 1,2,3 și 4, **caracterizat prin aceea că**, se mărește temperatura la 78 - 93 °C, apoi peste acest amestec se introduce o cantitate de 18-25 % un polimer sintetic – de exemplu Praestol 2540 sau 2515 (Stockhausen – Germania) și se continuă agitare timp de 120-180 minute.
6. Procedeu conform revendicării 1,2,3,4, și 5, **caracterizat prin aceea că**, se măsoarează temperatura la 35 - 40 °C și se introduce 5 - 6,5 % fosfat dipotasic (care contribuie la imbunatatirea proprietăților nutritive prin adaosul de fosfor și potasiu) și 2-3 l din soluția enzimatică pregătită la punctul 3 și se continuă agitarea timp de 20-30 minute.
7. Procedeu conform revendicării 1,2,3,4,5 și 6, **caracterizat prin aceea că**, se adaugă 0,5-1% acid boric și se scoate din autoclava în butoane din plastic.