



(11) **RO 131223 B1**

(51) **Int.Cl.**

C12P 1/00 (2006.01),
C07C 7/00 (2006.01),
B01D 71/36 (2006.01),
B01D 71/60 (2006.01),
B01D 61/00 (2006.01),
B01D 61/14 (2006.01)

(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2015 00960**

(22) Data de depozit: **03/12/2015**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/06/2018** BOPI nr. **6/2018**

(41) Data publicării cererii:
30/06/2016 BOPI nr. **6/2016**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
ECOLOGIE INDUSTRIALĂ - INCD ECOIND,
DRUMUL PODU DÂMBOVIȚEI NR.71-73,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **BĂTRÎNESCU GHEORGHE,
CALEA VITAN NR.123, BL.V 2, SC.1, ET.6,
AP.26, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **CUCIUREANU ADRIANA, ALEEA ISTRU
NR.5, BL.P 4, SC.1, ET.1, AP.4, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **POPA OVIDIU, CALEA GRIVIȚEI NR.206,
BL.K, SC.D, ET.6, AP.26, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BĂBEANU NARCISA ELENA,
ȘOS. VIRTUȚII NR. 5, BL. R2, SC. 2, AP. 50,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**JPS 60126090 (A); JPS 61173790 (A);
US 2003/0068790 A1; JP 2001314735 (A)**

(54) **PROCEDEU DE SEPARARE CONTINUĂ A PRINCIPIILOR
ACTIVE DIN ULEIURI VEGETALE UTILIZÂND
BIOREACTOARE MEMBRANARE**



RO 131223 B1

1 Invenția se referă la un procedeu de separare în mod continuu a principiilor active,
cum ar fi squalena, din uleiuri vegetale, utilizând o serie de două bioreactoare membranare,
3 dintre care unul este un bioreactor membranar enzimatic (BME).

Squalena este o hidrocarbură nesaturată, aciclică ramificată, din clasa triterpenelor,
5 având formula moleculară $C_{30}H_{50}$, denumirea științifică (conform normelor IUPAC) fiind
2,6,10,15,19,23-hexametil-2,6,10,14,18,22-tetracosahexalenă, care prezintă un interes deosebit
7 din punct de vedere medical, fiind demonstrate proprietățile sale în tratamentele conexe
ale bolilor cardiovasculare (hipertensiune arterială), dislipidemie (valori crescute ale colesterolului
9 sau trigliceridelor), având efecte antihemoragice și în diminuarea/stoparea unor anumite
forme de cancer.

11 Sunt cunoscute procedee de separare a principiilor active din diverse uleiuri vegetale
prin extracție cu solvenți selectivi sau extracție cu fluide supercritice urmate de distilări
13 fracționate.

Cererea de brevet **JPS 60126090 (A)** descrie un reactor pentru hidroliza uleiurilor și
15 grăsimilor cu lipază, care constă în alimentarea fazei uleioase conținând lipază ca suspensie
într-o celulă și o fază apoasă într-o altă celulă separată printr-o membrană hidrofila de separare
17 din acetat de celuloză și contactarea enzimei și uleiului cu apa prin membrană. De asemenea,
cererea de brevet **JPS 61173790 (A)** descrie un procedeu îmbunătățit pentru descompunerea
19 grăsimilor și uleiurilor în prezența enzimelor printr-o reacție la temperatură ridicată folosind
un reactor enzimatic care cuprinde două membrane poroase (polietilenă) pe care este reținută
21 enzima și trec acizii grași, și o membrană poroasă hidrofobă (acetat de celuloză) care reține
enzima și prin care pătrund glicerina și apa, dispuse alternativ, reacția având loc la 40...60°C,
23 iar spațiul dintre două membrane fiind alimentat cu lipază.

US 2003/0068790 A1 descrie un procedeu catalizat enzimatic, în care apa de reacție
25 care se formează este eliminată în mod continuu printr-o membrană neporoasă, permeabilă la apă;
enzima, de preferință, lipază, este imobilizată pe membrană.

JP 2001314735 (A) descrie un procedeu de hidroliză a acizilor grași în prezența
27 lipazei care este imobilizată pe fibre goale oleofile din polisulfonă; tehnica a fost folosită
29 pentru obținerea acidului ricinoleic din ulei de ricin.

Dezavantajele acestor procedee de separare constau în faptul că decurg în mod discontinuu,
31 că utilizează solvenți organici care în finalului procesului tehnologic se regăsesc ca deșeuri
care au impact negativ asupra mediului și că presupun condiții tehnologice deosebite,
33 consumatoare de energie, cum este cazul extracției cu fluide supercritice.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în creșterea eficienței de separare
35 a principiilor active din uleiurile vegetale având un conținut de cel puțin 1% principii active,
printr-un procedeu în flux continuu.

37 Procedeu de separare a principiilor active din uleiuri vegetale, conform invenției, înlătură
dezavantajele menționate prin aceea că se realizează în flux continuu, în două etape:
39 o etapă de hidroliză enzimatică a uleiului vegetal, ce are loc în reactorul **5**, rezultând un
amestec care este separat în bioreactorul membranar **8** într-o fracție bogată în glicerină și
41 materii nesaponificabile care sunt stocate în vasul **9**, și o fracție concentrată în materiale
saponificabile și principii active, care este alimentată în bioreactorul membranar **18**, unde,
43 în prezența unui solvent de extracție, este supusă unei etape de separare a principiilor active
care se purifică în coloana de distilare **20**, iar materialele saponificabile se colectează în
45 vasul **25**.

Într-o variantă preferată, în procedeu de separare a principiilor active din uleiuri
47 vegetale conform invenției, etapa de hidroliză enzimatică a uleiului vegetal, de preferat, ulei
de măsline sau de *Amaranthus*, cu un conținut minim de 1% squalenă, ce are loc în prezența
49 unei soluții enzimatice conținând 1...2% lipază cu o activitate enzimatică de 700 unități/mg

RO 131223 B1

solid, obținută din *Candida Rugosa* și a 0,1...0,5% agent de emulsionare cu grupă hidrofilă de tip polietilenoxid și grupare hidrofobă aromatică la un raport volumetric ulei/soluție enzimatică de 1/1, separarea componentelor în bioreactorul membranar **8** având loc la o presiune de 4...6 bar prin circulația tangențială la suprafața unei membrane hidrofobe de ultrafiltrare din polisulfonă/polianilină, rezultând două fracții: permeatul, care conține glicerină și fracții nesaponificabile hidrofobe cu mase moleculare mici, colectat în vasul de stocare **9**, și concentratul, conținând enzima, produșii de saponificare și squalena, care este recirculat în reactorul **5** până la atingerea unui grad de hidroliză de cel puțin 90%, când concentratul este stocat, continuitatea procedurii fiind asigurată prin aceea că, concomitent cu stocarea concentratului în vasul **13**, în reactorul de hidroliză **5** se adaugă un volum de ulei vegetal și soluție enzimatică corespunzător volumului de concentrat stocat. 11

Într-o altă variantă preferată a invenției, etapa de separare a concentratului bogat în squalenă, enzimă și produși de saponificare are loc prin adăugarea unui volum de hexan egal cu cel de concentrat, iar amestecul rezultat după agitare este alimentat în bioreactorul membranar **18** echipat cu membrane de ultrafiltrare hidrofobe din politetrafluoretilenă, cu o suprafață membranară totală selectată astfel încât debitul de alimentare în bioreactorul **18** să corespundă celui alimentat în vasul de stocare **13**, la o presiune de 3...5 bar, rezultând două fracții: permeatul, care conține solvent și squalenă, care se prelucrează prin distilare, rezultând un produs cu o puritate de 99%, și concentratul, care se recirculă în bioreactorul **18** până la atingerea unui grad de separare de minimum 95%, când concentratul este colectat în vasul de stocare **25**. 21

Procedeele conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- decurge în mod continuu, toate fazele procedurii fiind realizate/controlate în mod automatizat; 23
- duce la obținerea principiilor active sub formă de preparat cu puritate avansată; 25
- utilizare eficientă a materiilor prime;
- nu induce impact negativ asupra mediului prin reutilizarea cantităților minime de deșeuri în „economia circulară”. 27

Procedeele conform invenției înlătură dezavantajele arătate mai înainte prin aceea că se realizează în mod continuu, conduce la obținerea unui preparat bogat în principii active cu puritate ridicată și valorifică în mod optim materiile prime, deșeurile minime rezultate putând fi utilizate ca materii prime în alte procese, răspunzând cerințelor de protecția mediului privind "economia circulară". Procedeele valorifică faptul cunoscut că uleiurile vegetale conțin 2 fracții principale, și anume fracția saponificabilă și fracția nesaponificabilă, dintre care majoritară este fracția saponificabilă, care conține compuși lipidici nepolari de tipul trigliceridelor și, într-o proporție mai mică, fosfatide (fosfolipide), derivați ai acidului fosfatidic care au un anumit grad de polaritate dat de resturile de acid fosforic și amina terțiară din colină (cazul lecitinelor), din colamină (cazul cefalinelor) și serină (cazul fosfatidil-serinelor), iar fracția nesaponificabilă conține în proporții diferite în uleiurile vegetale acizi grași liberi, tocoferoli, carotenoide, pigmenti pe bază de clorofilă, steroli, proteine, vitamine și principii active, cum ar fi, de exemplu, squalena. 41

Se dă, în continuare, un exemplu de aplicare a procedurii pentru separarea squalenei, conform invenției, în legătură cu figura, care reprezintă schema generală a instalației pe care se poate aplica acesta. 43

Procedeele conform invenției cuprind 2 faze care se desfășoară în mod succesiv în subansamblele **A** și **B** ale instalației de implementare a acestuia. Astfel, în subansamblul **A**, procedeele constă în alimentarea uleiului vegetal (ulei de măsline, ulei de *Amaranthus*, sau din alte uleiuri vegetale care au un conținut de cel puțin 1% de squalenă) din vasul de 45

RO 131223 B1

1 stocare **1** prin intermediul electrovalvei **2** în reactorul **5**, concomitent cu alimentarea din vasul
de stocare **3** a unei soluții enzimaticice de lipază obținută din microorganismul *Candida*
3 *Rugosa* (Triacylglycerol lipase, E.C. 3.1.1.3, activitate enzimatică de 700 unități/mg solid)
având concentrația de 1...2% în enzima liberă și 0,1...0,5% agent tensioactiv de emulsionare
5 cu grupare hidrofilă de tip polietilenoxid și grupare hidrofobă aromatică (TRITON X), în raport
de 1/1 față de ulei, prin intermediul electrovalvei **4** în același reactor **5**, amestecul de hidroliză
7 fiind menținut sub agitare la temperatura constantă de 37°C. Din reactorul **5**, prin intermediul
electrovalvei **6**, amestecul de hidroliză este preluat de pompa **7** și introdus la o presiune de
9 4...6 bar în bioreactorul membranar enzimatic **8** care este un modul de ultrafiltrare cu regim
de curgere tangențială, având o construcție în sine cunoscută, echipat cu membrane de
11 afinitate hidrofile, cum ar fi cele de tip compozit de polisulfonă-polianilină care permit trecerea
în permeat a glicerinei și a fracțiilor nesaponificabile colectate în vasul **9** în vederea valorifi-
13 cării ulterioare, reținând în concentrat enzima solubilă, uleiul nehidrolizat și fracțiile rezultate
în urma hidrolizei, concentrat care, prin intermediul blocului de automatizare **10**, în funcție
15 de valoarea gradului de hidroliză, va fi recirculat în reactorul **5** prin intermediul electrovalvei
11 sau va fi dirijat prin intermediul electrovalvei **12** în vasul de stocare **13** prevăzut cu agita-
17 tor, blocul de automatizare **10** având și rolul de a comanda, prin intermediul electrovalvelor
2 și **4**, introducerea de noi cantități de ulei vegetal și enzimă în reactorul **5**, echivalente cu
19 jumătate din cantitatea de concentrat dirijat în vasul de stocare **13**, asigurând astfel continui-
tatea procesului.

21 Procesul continuă în subansamblul **B** de fracționare a amestecului de produși de
hidroliză și squalenă, prin introducerea în vasul de extracție **13** a unui volum egal cu cel al
23 concentratului introdus prin intermediul electrovalvei **12** dintr-un solvent de extracție a
squalenei, cum ar fi hexanul, stocat în vasul **14**, prin intermediul electrovalvei **15**, după omo-
25 genizarea concentratului și solventului în vasul de extracție **13** amestecul fiind preluat, prin
deschiderea electrovalvei **16**, de către pompa **17** și introdus sub o presiune de 3...5 bar în
27 bioreactorul membranar **18** a cărui construcție este similară cu cea a bioreactorului mem-
branar **8**, cu diferența ca bioreactorul membranar **18** este echipat cu membrane de ultrafil-
29 trare hidrofobe, rezistente la atacul solventului, cum ar fi cele realizate din politetra-
fluoretilenă. Permeatul rezultat din bioreactorul membranar **18**, conținând preponderent
31 squalenă și solvent, este colectat în vasul de stocare **19**, din care este preluat și distilat în
coloana de distilare **20**, din care squalena purificată este stocată în vasul **21**, iar solventul
33 este recirculat în vasul de stocare **14**, în timp ce concentratul rezultat din bioreactorul mem-
branar **18**, în funcție de gradul de separare a squalenei, determinat de blocul de automa-
35 tizare **22**, este fie reintrodus în vasul de extracție **13** prin intermediul electrovalvei **23**, fie se
stochează prin deschiderea electrovalvei **24** în vasul **25**, în vederea valorificării ulterioare ca
37 săpunuri de calitate deosebită.

RO 131223 B1

Revendicări

1

1. Procedeu de separare a principiilor active din uleiuri vegetale, **caracterizat prin aceea că** se realizează în flux continuu, în două etape: o etapă de hidroliză enzimatică a uleiului vegetal, ce are loc în reactor (5), rezultând un amestec care este separat în bioreactorul membranar (8) într-o fracție bogată în glicerină și materii nesaponificabile, care sunt stocate într-un vas (9), și o fracție concentrată în materiale saponificabile și principii active, care este alimentată în bioreactorul membranar (18), unde, în prezența unui solvent de extracție, este supusă unei etape de separare a principiilor active care se purifică în coloana de distilare (20), iar materialele saponificabile se colectează într-un vas (25).

3

5

7

9

2. Procedeu de separare a principiilor active din uleiuri vegetale, definit în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** etapa de hidroliză enzimatică a uleiului vegetal, de preferat ulei de măsline sau de *Amaranthus*, cu un conținut minim de 1% squalenă, ce are loc în prezența unei soluții enzimatică conținând 1...2% lipază cu o activitate enzimatică de 700 unități/mg solid, obținută din *Candida Rugosa* și a 0,1...0,5% agent de emulsionare cu grupare hidrofilă de tip etilenoxid și grupare hidrofobă aromatică, la un raport volumetric ulei/soluție enzimatică de 1/1, separarea componentelor în bioreactorul membranar (8) având loc la o presiune de 4...6 bar, prin circulația tangențială la suprafața unei membrane hidrofile de ultrafiltrare din polisulfonă/polianilină, rezultând două fracții: permeatul, care conține glicerină și fracții nesaponificabile hidrofile cu mase moleculare mici, colectat în vasul de stocare (9), și concentratul, conținând enzima, produșii de saponificare și squalena, care este recirculat în reactor (5) până la atingerea unui grad de hidroliză de cel puțin 90%, când concentratul este stocat, continuitatea procedurii fiind asigurată prin aceea că, concomitent cu stocarea concentratului în vas (13), în reactorul de hidroliză (5) se adaugă un volum de ulei vegetal și soluție enzimatică corespunzător volumului de concentrat stocat.

11

13

15

17

19

21

23

25

3. Procedeu de separare a principiilor active din uleiuri vegetale, definit în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** etapa de separare a concentratului bogat în squalenă, enzimă și produși de saponificare are loc prin adăugarea unui volum de hexan egal cu cel de concentrat, iar amestecul rezultat după agitare este alimentat în bioreactorul membranar (18) echipat cu membrane de ultrafiltrare hidrofobe din politetrafluoretilenă, cu o suprafață membranară totală, selectată astfel încât debitul de alimentare în bioreactor (18) să corespundă celui alimentat în vasul de stocare (13), la o presiune de 3...5 bar, rezultând două fracții: permeatul, care conține solvent și squalenă, care se prelucrează prin distilare, rezultând un produs cu o puritate de 99%, și concentratul, care se recirculă în bioreactor (18) până la atingerea unui grad de separare de minimum 95%, când concentratul este colectat în vasul de stocare (25).

27

29

31

33

35

(51) Int.Cl.

C12P 1/00 (2006.01);

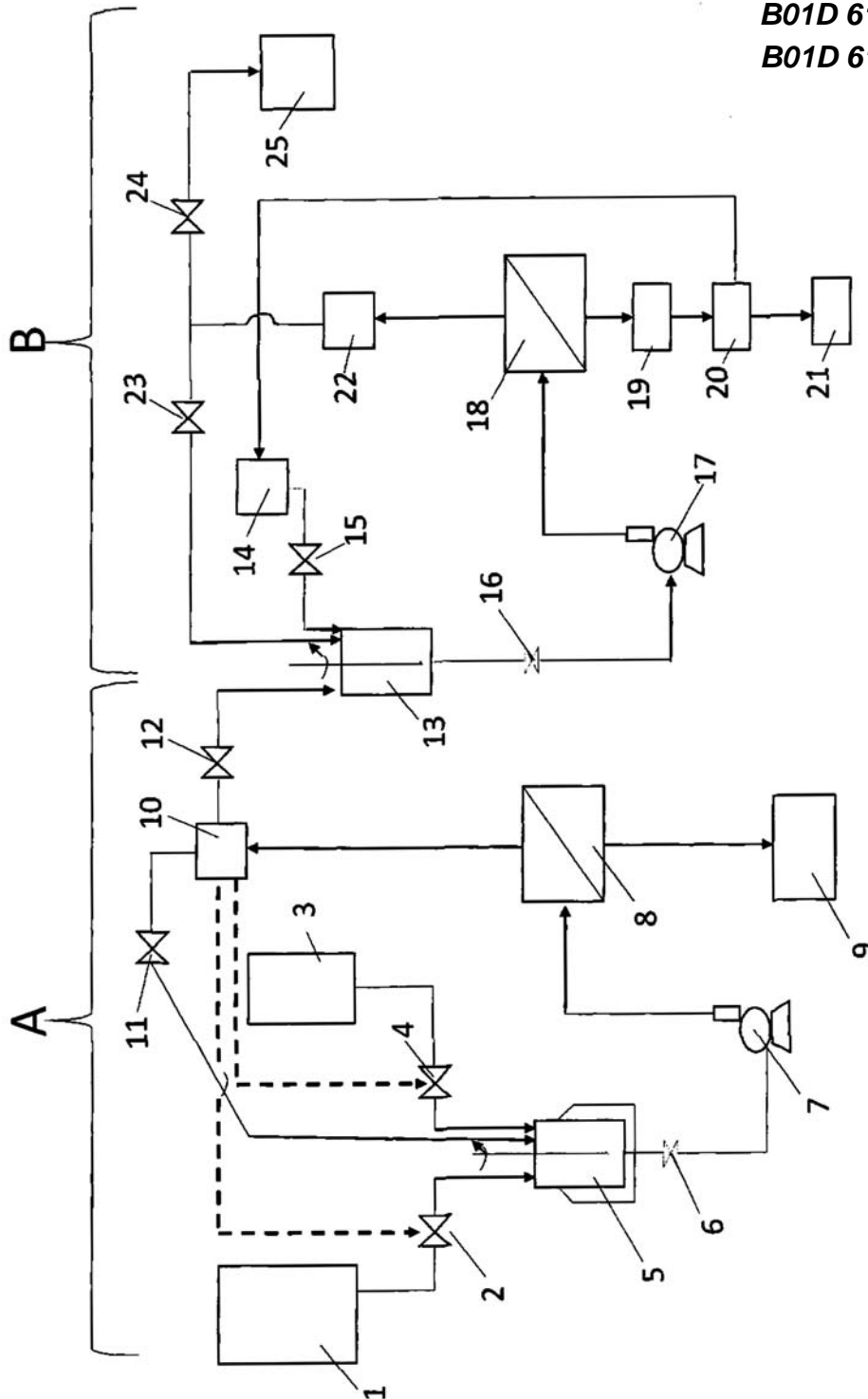
C07C 7/00 (2006.01);

B01D 71/36 (2006.01);

B01D 71/60 (2006.01);

B01D 61/00 (2006.01);

B01D 61/14 (2006.01)



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 285/2018