



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2015 00644**

(22) Data de depozit: **07/09/2015**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/06/2020** BOPI nr. **6/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/03/2017 BOPI nr. **3/2017**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
INGINERIE ELECTRICĂ ICPE-CA,
SPLAIUL UNIRII NR.313, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **RADU LĂCRĂMIOARA-ELENA,
ALEEA CRICOVUL DULCE NR. 5, BL. 16,
SC. 2, ET. 4, AP. 39, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **VOINA ANDREEA,
STR. CETATEA DE BALTĂ NR. 139-143,
BL. 6, SC. C, ET. 4, AP. 45, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **LINGVAY IOSIF, BD.CHIȘINĂU NR.19,
BL.A 5, SC.1, ET.10, AP.41, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
US 2013/0288341 A1; a 2003 00783 A2

(54) **COMPOZIȚIE ȘI PROCEDEU DE BIOREMEDIERE
A SOLURILOR POLUATE**



RO 131717 B1

1 Invenția se referă la compoziție de bioremediere a solurilor poluate, la un procedeu
2 pentru obținerea acestei compoziții, și la o metodă pentru refacerea solurilor poluate cu uleiuri
3 minerale și alte produse xenobiotice.

4 Problema care apare la remedierea microbiologică a solurilor poluate cu uleiuri minerale
5 și alte produse xenobiotice constă în asigurarea condițiilor prielnice de dezvoltare și repro-
6 ducere a microorganismelor, în special a bacteriilor și mucegaiurilor atât a fungilor filamentoși,
7 cât și a levurilor într-o plajă largă de temperaturi și umiditate a solului poluat cu diverse produse
8 petroliere și/sau substanțe xenobiotice, condiție care poate fi asigurată prin aplicarea pe solul
9 infectat a unor substanțe, preferabil naturale (de origine vegetală), cu efect de creștere a
10 biomasei active și de inhibare a acțiunii poluanților din sol.

11 Se cunosc procedeele de remediere microbiologică a solurilor, bazate pe aplicarea de
12 compoziții de solvenți și substanțe biostimulatoare cum ar fi agenți activi de suprafață, hidro-
13 carburi alifatiche etc., procedeu a cărei aplicare este greoaie, necesită echipamente speciale și
14 utilizează substanțe costisitoare. Astfel, în brevetul **RO 121514 B1** se prezintă o compoziție
15 bifazică biodegradabilă, formată dintr-o fază lichidă și o fază gazoasă, cu acțiune în depoluarea
16 unui mediu, solid sau lichid, poluat cu produse petroliere. Procedeu de reducere a gradului de
17 poluare se realizează prin administrarea compoziției bifazice prin pulverizare sub formă de
18 spumă, umedă sau uscată, sau ceață. Compoziția bifazică, biodegradabilă, este formată dintr-o
19 primă fază lichidă care constă dintr-un concentrat lichid constituit din 5...15% agenți activi de
20 suprafață cu capăt polar neionic, 2...5% hidrocarburi alifatiche pentru screening și mediu de
21 cultură, diluat cu apă dulce sau sărată la o valoare a raportului apă:concentrat de 1...1000, cu
22 adaos de tulpini bacteriene izolate din diverse ecosisteme naturale care conțin taxoni microbieni
23 de tip anaerob/aerob, azot și fosfor, și o a doua fază gazoasă fiind, de preferință, aer sub pre-
24 siune, în proporție de 65...98%. Totodată, în literatura de specialitate se mai cunosc metode de
25 recuperare a solurilor contaminate, cu o compoziție microbiană a bacteriilor heterotrofe și a
26 ciupercilor care echilibrează concentrația ionică din sol, scăzând pH-ul solului de la 10,5 până
27 la $8,0 \pm 0,5$, făcând solul potrivit pentru cultivare. Compoziția este sinergică și cuprinde fie
28 individual, fie în combinație *Pseudomonas sp.*, *Trichoderma herzianum sp.*, *Micrococcus sp.*,
29 *Kocuria sp.*, *Bacillus sp.*, *Kocuria carniphila*. Această compoziție este combinată cu gunoiul de
30 grajd organic și/sau glucoză/melasă (**US 2013/0288341 A1**).

31 În cererea de brevet a **2003 00783 A2** se prezintă un produs pentru decontaminarea
32 solurilor poluate cu produse petroliere. Produsul este constituit dintr-un amestec de extract
33 apos, din coajă de pin roșu, și extract metanolic, de coajă de castan, care se utilizează diluat
34 cu apă, în raport de 1 parte extract la 500 părți apă.

35 Problema pe care o rezolvă invenția constă în realizarea depoluării solului poluat cu
36 diverse produse petroliere cu efect de stimulare a creșterii biomasei active.

37 Compoziția conform invenției înlătură dezavantajele menționate mai sus prin faptul că
38 este alcătuită din: 1 unitate de volum biostimulator obținut prin amestecarea în raport masic de
39 2:1 a unui extract A realizat din frunze de fag, *Fagus sylvatica*, și a unui extract B de semințe
40 de castan, *Aesculus hippocastanum*, 1 unitate de volum melasă, 1 unitate de volum soluție
41 salină de inocul cu un conținut a câte 10^5 ... 10^6 /mL celule/spori de microorganisme atât din
42 speciile bacteriene: *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*,
43 *Achromobacter anthopi*, cât și din speciile fungice: *Trichoderma viridae*, *Chaetomium*
44 *globosum*, *Cladosporium herbarum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus niger*, și 30...70
45 unități de volum apă.

RO 131717 B1

Procedeul de obținere a compoziției conform invenției are următoarele etape:	1
- obținerea extractului A prin amestecarea într-un extractor/distilator a 1 unitate gravimetrică de frunze uscate de fag mărunțite/tocate până la dimensiuni de sub 3 mm, cu 10 unități de apă și 5 unități de glicerină reziduală de la obținerea biodieselului din semințe de rapiță, încălzirea progresivă a amestecului cu un gradient de temperatură cuprins între 0,5 și 1,5°C/min până la atingerea temperaturii de 135 ± 5°C, unde se menține constant timp de 2...5 h;	3
- obținerea extractului B prin amestecarea într-un extractor/distilator a 1 unitate gravimetrică de semințe de castan colectate și mărunțite până la dimensiuni de sub 3 mm în maximum 14 zile de la deschiderea capsulelor, cu 5 unități de apă și 3 unități de glicerină reziduală, de la obținerea biodieselului din semințe de rapiță, încălzirea progresivă a amestecului cu un gradient de temperatură cuprins între 0,1 și 2°C/min până la atingerea temperaturii de 130 ± 10°C, unde se menține constant timp de 1...5 h;	5
- obținerea compoziției de bioremediere/m ² prin omogenizare: 1 unitate de volum de biostimulator, extract A și B în raport volumic 2:1, 1 unitate de volum de melasă (produs secundar de la fabricarea zahărului din sfecla de zahăr, care asigură resursa de carbon ușor asimilabilă de către microorganismele în faza LAG, de adaptare), 1 unitate de volum soluție salină de inocul (preparat prin tehnici microbiologice uzuale) cu un conținut a câte 10 ⁵ ...10 ⁶ /mL celule/spori de microorganismele atât din speciile bacteriene: <i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Achromobacter anthropi</i> , cât și din speciile fungice: <i>Trichoderma viridae</i> , <i>Chaetomium globosum</i> , <i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Aspergillus niger</i> și 30...70 unități volumice de apă.	7
Metoda de bioremediere a solurilor poluate cu o compoziție conform invenției se desfășoară în felul următor: se amenajează terenul degradat prin împrăștierea uniformă pe solul poluat a 1...2 kg/m ² reziduu rămas în extractor de la producerea extractului A, a 0,5...1 kg/m ² de reziduu de la producerea extractului B și 0,5...2 kg/m ² , drojdie <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , după care solul se omogenizează prin discuire până la adâncimea de 10...20 cm, și apoi se împrăștie compoziția de bioremediere 1...3 L/m ² prin stropire/pulverizare cu utilaje uzuale.	9
Compoziția și procedeul de bioremediere a solurilor poluate prezintă următoarele avantaje:	11
- compoziția se obține simplu, din produse vegetale din flora spontană, iar la preparare nu se folosesc substanțe sintetice, scumpe, energofage etc.;	13
- la prepararea compoziției se valorifică produse secundare, greu vandabile, rezultate din procesul de obținere a biodieselului din semințe de rapiță;	15
- ambalarea și stocarea compoziției nu necesită condiții speciale - poate fi depozitată într-un domeniu larg de temperaturi (între -20 și 80°C, fără deteriorarea calităților de bioremediere);	17
- metoda de bioremediere a solurilor poluate cu uleiuri minerale și alte produse xenobiotice este simplă, nu necesită instalații speciale, poate fi realizată cu utilajele uzuale, folosite pentru tratamentele fitosanitare ale culturilor cu produse lichide și/sau de împrăștiere a îngrășămintelor chimice lichide.	19
În continuare se prezintă un exemplu de realizare a invenției.	21
Exemplu	23
Compoziția conform invenției este constituită din 1 uv biostimulator obținut prin amestecarea în raport masic de 2:1 a unui extract A realizat din frunze de fag (<i>Fagus sylvatica</i>) și a unui extract B de semințe de castan (<i>Aesculus hippocastanum</i>), 1 uv melasă, 1 uv soluție salină de inocul cu un conținut a câte 10 ⁵ ...10 ⁶ /mL celule/spori de microorganismele atât din	25

RO 131717 B1

1 speciile bacteriene: *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*,
2 *Achromobacter anthropi*, cât și din speciile fungice: *Trichoderma viridae*, *Chaetomium*
3 *globosum*, *Cladosporium herbarum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus niger*, și 30...70 uv
apă.

5 Procedul de obținere a compoziției de bioremediere a solurilor poluate, conform
invenției, constă în următoarele etape:

7 - pentru prepararea extractului A frunzele uscate de fag sunt mărunțite/tocate până la
dimensiuni de sub 3 mm, cântărite și introduse într-un extractor/distilator cu reflux prevăzut cu
9 refrigerent și control al temperaturii. Peste frunzele de fag mărunțite se adaugă apă și glicerină
reziduală rezultată din procesul de obținere a biodieselului din semințe de rapiță, respectând
11 proporțiile gravimetrice 1:10:5 (frunze uscate mărunțite:apă:glicerină). Încălzirea se realizează
cu un gradient de temperatură cuprins între 0,5 și 1,5°C/min, până la atingerea temperaturii de
13 135 ± 5°C, unde se menține constant timp de 2...5 h. Distilatul colectat - extractul A se
ambalează în vase (sticlă sau plastic) de culoare închisă și închise ermetic;

15 - pentru prepararea extractului B semințele de castan sălbatic, colectate în maximum
14 zile de la deschiderea capsulelor, sunt mărunțite/tocate până la dimensiuni de sub 3 mm,
17 cântărite și introduse într-un extractor/distilator cu reflux prevăzut cu refrigerent și control al
temperaturii. Peste semințele de castan mărunțite se adaugă apă și glicerină reziduală rezultată
19 din procesul de obținere a biodieselului din semințe de rapiță, respectând proporțiile gravi-
metrice 1:5:3 (semințe de castan mărunțite:apă:glicerină). Încălzirea se realizează cu un gra-
21 dient de temperatură cuprins între 0,1 și 2°C/min până la atingerea temperaturii de 130 ± 10°C,
unde se menține constant timp de 1...5 h. Distilatul de castan colectat - extractul B se
23 ambalează în vase (sticlă sau plastic) de culoare închisă și închise ermetic;

- pentru obținerea compoziției de bioremediere/m² se prepară prin omogenizare:
25 1 unitate de volum de biostimulator (extract A și B în raport volumic 2:1), 1 unitate de volum de
melasă (produs secundar de la fabricarea zahărului din sfeclă de zahăr, care asigură resursa
27 de carbon ușor asimilabilă de către microorganismele în faza LAG, de adaptare), 1 unitate de
volum soluție salină de inocul (preparat prin tehnici microbiologice uzuale) cu un conținut a câte
29 10⁵...10⁶/mL celule/spori de microorganismele atât din speciile bacteriene: *Acinetobacter sp.*,
Pseudomonas aeruginosa, *Pseudomonas fluorescens*, *Achromobacter anthropi*, cât și din
31 speciile fungice: *Trichoderma viridae*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium herbarum*,
Scopulariopsis brevicaulis, *Aspergillus niger*, și 30...70 unități volumice de apă.

33 Metoda de utilizare a compoziției descrise mai sus, pentru reabilitarea solurilor poluate,
constă în stropirea solului poluat, manual sau mecanizat, cu utilaje uzual folosite la tratamente
35 fitosanitare cu produse lichide și/sau la împrăștierea îngrășămintelor chimice lichide, cu 1...3 L
compoziție de bioremediere/m².

37 În cazul solurilor intens poluate, metoda se accelerează substanțial, dacă, înainte de
stropirea cu compoziția de bioremediere conform invenției, pe suprafața intens poluată se
39 împrăștie uniform 1...2 kg/m² reziduu rămas în extractor de la producerea extractului A,
0,5...1 kg/m² de reziduu de la producerea extractului B și 0,5...2 kg/m² drojdie (*Saccharomyces*
41 *cerevisiae*), după care solul intens poluat se omogenizează cu reziduurile de extracție și drojdia
împrăștiată prin discuire până la adâncimea de 10...20 cm.

1. Compoziție de bioremediere a solurilor poluate, **caracterizată prin aceea că** este alcătuită din 1 unitate de volum biostimulator obținut prin amestecarea în raport masic de 2:1 a unui extract A realizat din frunze de fag, *Fagus sylvatica*, și a unui extract B de semințe de castan, *Aesculus hippocastanum*, 1 unitate de volum melasă, 1 unitate de volum soluție salină de inocul cu un conținut a câte $10^5 \dots 10^6$ /mL celule/spori de microorganisme atât din speciile bacteriene: *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Achromobacter anthropi*, cât și din speciile fungice: *Trichoderma viridae*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium herbarum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus niger*, și 30...70 unități de volum apă. 3 5 7 9 11
2. Procedeu de obținere a compoziției conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** are următoarele etape: 13
- obținerea extractului A prin amestecarea într-un extractor/distilator a 1 unitate gravimetrică de frunze uscate de fag mărunțite/tocate până la dimensiuni de sub 3 mm, cu 10 unități de apă și 5 unități de glicerină reziduală, de la obținerea biodieselului din semințe de rapiță, încălzirea progresivă a amestecului cu un gradient de temperatură cuprins între 0,5 și 1,5°C/min până la atingerea temperaturii de $135 \pm 5^\circ\text{C}$, unde se menține constant timp de 2...5 h; 15 17
 - obținerea extractului B prin amestecarea într-un extractor/distilator a 1 unitate gravimetrică de semințele de castan colectate și mărunțite până la dimensiuni de sub 3 mm în maximum 14 zile de la deschiderea capsulelor, cu 5 unități de apă și 3 unități de glicerină reziduală de la obținerea biodieselului din semințe de rapiță, încălzirea progresivă a amestecului cu un gradient de temperatură cuprins între 0,1 și 2°C/min până la atingerea temperaturii de $130 \pm 10^\circ\text{C}$, unde se menține constant timp de 1...5 h; 19 21 23
 - obținerea compoziției de bioremediere/m² prin omogenizare: 1 unitate de volum de biostimulator, extract A și B în raport volumic 2:1, 1 unitate de volum de melasă, 1 unitate de volum soluție salină de inocul cu un conținut a câte $10^5 \dots 10^6$ /mL celule/spori de microorganisme atât din speciile bacteriene: *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Achromobacter anthropi*, cât și din speciile fungice: *Trichoderma viridae*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium herbarum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus niger*, și 30...70 unități volumice de apă. 25 27 29 31
3. Metodă de bioremediere a solurilor poluate cu o compoziție definită în revendicarea 1, **caracterizată prin aceea că** se împrăștie uniform pe solul poluat 1...2 kg/m² reziduu rămas în extractor de la producerea extractului A, 0,5...1 kg/m² de reziduu de la producerea extractului B și 0,5...2 kg/m² drojdie *Saccharomyces cerevisiae*, după care solul se omogenizează prin discuire până la adâncimea de 10...20 cm, și apoi se împrăștie compoziția de bioremediere 1...3 L/m² pe solul poluat, prin stropire/pulverizare cu utilaje uzuale. 33 35 37

39

41

