



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2016 00983**

(22) Data de depozit: **08/12/2016**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/06/2021** BOPI nr. **6/2021**

(41) Data publicării cererii:
30/06/2017 BOPI nr. **6/2017**

(73) Titular:
• **UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE
ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI,
BD. MĂRĂȘTI NR.59, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **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;**
• **NIȚĂ SULTANA, STR. BARBAT VOIEVOD
NR. 21, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BĂTRÎNESCU GHEORGHE,
CALEA VITAN NR.123, BL.V 2, SC.1, ET.6,
AP.26,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**RO 131223 B1; RU 2005137231 (A);
RU 2003131629 (A) RO 131223 B1;
RU 2005137231 (A); RU 2003131629 (A)**

(54) **PROCEDEU PENTRU OBTINEREA UNUI PRODUS
CU CONCENTRAȚIE MARE DE SCUALENĂ**



RO 131944 B1

1 Prezenta invenție se referă la un procedeu pentru obținerea unui produs cu concen-
trație mare de scualenă din materii prime vegetale, în special semințe și ulei de amaranthus,
3 pentru obținerea produselor bioactive cu aplicații în cosmetică și medicină.

5 Scualena este o triterpenă cu formula $C_{30}H_{50}$, identificată pentru prima dată în uleiul
din ficat de rechin și care a demonstrat o puternică acțiune antioxidantă, imunoprotectoare,
7 hipocolesteremiantă și o acțiune moderată de inhibare a proliferării creșterii celulelor
tumorale. Datorită efectului fotoprotector, biocompatibilității și absorbției ușoare în piele,
9 scualenă și derivatul său hidrogenat scualanul sunt ingrediente foarte valoroase în industria
cosmetică.

11 Cea dintâi sursă și cea mai bogată de scualenă o reprezintă uleiul obținut din ficatul
de rechin. Publicația **WO 2011141819 A1** dezvăluie un procedeu de preparare a scualenei
13 dintr-o compoziție care conține scualenă, compoziție de origine animală, în particular uleiul
din ficat de rechin. Procedeu cuprinde două etape de distilare a materiei prime de origine
15 animală, o distilare de purificare și una de denaturare, desfășurate în oricare ordine, la două
temperaturi T_1 , respectiv T_2 la care scualena poate fierbe, cu $T_1 < T_2$.

17 Dezavantajul procedeelor de obținere a produsului de interes din surse de origine
animală, respectiv, uleiul din ficat de rechin, este că se obține o scualenă care poate fi
19 contaminată cu substanțele alergene existente în ficatul de rechin sau cu substanțele
poluante provenite din mediul maritim și care astfel se transmit la om.

21 Există procedee de obținere a scualenei din produse de origine vegetală, respectiv
uleiuri vegetale, în special din produsele secundare rezultate din procedeele de fabricare a
23 uleiurilor vegetale pentru uz alimentar. Cele mai cunoscute surse vegetale pentru obținerea
scualenei sunt produsele secundare obținute la producerea uleiului de măsline, uleiului de
25 palmier sau din dezodorizatele de la distilarea uleiului de soia.

27 Astfel publicația **WO 2008142175 A1** prezintă un procedeu de obținere a scualenei
din distilatele obținute prin rafinarea fizică a uleiului de măsline. Procedeu cuprinde o etapă
de saponificare alcalină a materiei prime vegetale, urmată de o etapă de distilare moleculară
29 la vid înaintat a fracției de nesaponificabile. Deși autorii raportează obținerea unui produs cu
un conținut în scualenă de 95%, procedeu este laborios și folosește o materie primă
vegetală care nu este accesibilă în țară.

31 Cererea de brevet **US 2004158083 A1** dezvăluie un procedeu de extracție și izolare
a componentelor minore dintr-un ulei vegetal, respectiv caroteni, tocoferoli și tocotrienoli,
33 scualenă și fitosteroli din uleiul de palmier. Metoda prezentată include o mulțime de etape
de esterificare, distilare, izolare fracții bogate în anumiți componenți de interes, absorbție,
35 extracții, concentrare, desorbție, folosirea unor solvenți considerați toxici, putând fi utilizată
pe cantități mici, la nivel de laborator.

37 Publicația **WO 2010004193 A1** descrie un procedeu care permite extracția de
scualenă, fitosteroli și vitamina E din condensatele obținute la rafinarea fizică și/sau din
39 distilatele de la dezodorizarea uleiurilor vegetale. Procedeu dezvăluit include mai multe
etape de esterificare, distilare fracționată, cristalizare, pentru a obține simultan cele trei
41 substanțe. Procedeu implică un volum mare de lucru, folosirea de solvenți organici, multe
etape laborioase de separare și purificare, care duc la randamente mai scăzute de obținere
43 a celor trei substanțe.

Pentru scualenă principală sursă de obținere o reprezintă uleiul obținut din ficat de
rechin. Pe de o parte, scualena obținută din această sursă poate conține diferite substanțe
45 poluante din apa oceanelor ca și substanțe patogene și alergene, ceea ce nu o califică
pentru utilizare în industria farmaceutică sau cosmetică. Pe de altă parte, în ultimii anii nor-
47 mative europene au limitat pescuitul de rechini pentru a proteja această specie marină cu

RO 131944 B1

un ciclu lung de reproducție, de extincție. De aici a rezultat necesitatea înlocuirii scualenei de origine animală cu una obținută dintr-o sursă regenerabilă și care să protejeze conservarea speciilor și a mediului. Sursa vegetală cea mai folosită o reprezintă subprodusele de la rafinarea uleiului de măsline, dar aceasta este totuși limitată și nu este suficientă pentru a înlocui scualena de origine animală.	1 3 5
Pentru a elimina aceste dezavantaje autorii prezentei invenții propun obținerea scualenei pornind de la alte surse vegetale, ușor accesibile la nivel național, printr-un procedeu simplu, fără impact negativ asupra mediului înconjurător, care să conducă la obținerea unui produs cu conținut ridicat de scualenă și cu un randament superior.	7 9
Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea din materii prime vegetale a unui produs cu conținut ridicat de scualenă cu un randament ridicat de cel puțin 85%.	11
Procedeul pentru obținerea unui produs cu concentrație mare de scualenă înlătură dezavantajele de mai sus prin aceea că cuprinde următoarele etape: măcinarea semințelor de <i>amaranthus</i> , separarea granulometrică a făinii obținută în etapa anterioară, extracția uleiului cu gaze supercritice, și fracționarea uleiului obținut în etapa anterioară prin distilare moleculară.	13 15 17
S-a găsit în mod surprinzător că prin aplicarea acestui procedeu unor materii prime vegetale alese dintre culturile vegetale existente în România, scualena se poate obține cu o puritate de cel puțin 80% (g/g) printr-un procedeu simplu și ecologic. Procedeul conform invenției asigură materiei prime vegetale un tratament nepoluant, prin folosirea unor extractanți netoxici, necorozivi și neinflamabili, care sunt disponibili la purități ridicate la prețuri competitive. Astfel se poate obține o scualenă de puritate ridicată, liberă de solvenți organici, care se poate folosi în industria cosmetică și cea farmaceutică.	19 21 23
Materia primă folosită pentru obținerea scualenei prin procedeul conform invenției sunt semințele de <i>amaranthus</i> , respectiv uleiul obținut din aceste semințe.	25
Cea mai mare concentrație de scualenă în regnul vegetal este întâlnită în uleiul de <i>Amaranthus</i> . <i>Amaranthus sp.</i> este o pseudo-cereală, din ale cărei semințe se poate extrage un ulei foarte valoros pentru conținutul său în scualenă și alți compuși biologic activi. Deși conținutul în ulei al semințelor de <i>amaranthus</i> este mai scăzut decât cel raportat pentru plantele oleaginoase, concentrația de scualenă în uleiul de <i>amaranthus</i> este mai mare decât în uleiul de măsline, cea mai cunoscută sursă vegetală de scualenă. <i>Amaranthus sp.</i> este o cultură alternativă, respectiv o plantă care poate fi folosită pentru proprietățile ei alimentare, conținutul de fibră, ca furaj, pentru ulei sau pentru calitățile ei curative. Deși această plantă are un potențial ridicat de a contribui la securitatea alimentară, nutriție sau sănătate, în prezent acest potențial nu este deplin valorificat.	27 29 31 33 35
Soluția propusă de invenție este un procedeu de obținere a unui produs cu concentrație mare de scualena din semințe de <i>amaranthus</i> , care cuprinde următoarele etape:	37 39
a. Măcinarea semințelor de <i>amaranthus</i> .	
b. Separarea granulometrică a făinii obținută în etapa a).	41
c. Extracția uleiului cu gaze supercritice.	
d. Fracționarea uleiului obținut în etapa c) prin distilare moleculară.	43
În fig. 1 se prezintă schema de flux pentru obținerea unui produs cu concentrație crescută de scualenă prin procedeul conform invenției.	45
Invenția va fi descrisă prin variante preferate de realizare care vor fi înțelese de specialiștii în domeniu în limitele de protecție conferite de revendicări.	47

RO 131944 B1

1 Într-un mod preferat de realizare, etapa a) de măcinare a semințelor de *amaranthus*
se realizează la o turație cuprinsă între 2000 și 10 000 rpm, preferabil între 4000 și
3 8000 rpm, mai preferabil între 5000 și 7500 rpm, cu o durată a măcinării cuprinsă între
10...300 s, preferabil între 20...180 s, mai preferabil între 30...120 s.

5 Într-un mod preferat de realizare, făina de *amaranthus* obținută în etapa a) de
măcinare se supune unei separări granulometrice, prin cernere pe site, rezultând trei fracții
7 granulometrice, preferabil o fracție fină de făină cu diametrul mediu al particulelor de cel mult
300 μm, o fracție medie cu diametrul mediu de 300...500 μm și o fracție grosieră cu diametrul
9 mediu de cel puțin 500 μm. Separarea făinii după măcinare prezintă avantajul că se poate
alege pentru faza următoare de extracție cu gaz supercritic o fracție de făină cu conținut
11 crescut de ulei. Astfel în mod surprinzător prin prelucrarea în fazele ulterioare a unei cantități
mai mici de materie primă, cu un conținut superior de ulei, se obține un produs cu o
13 concentrație superioară de scualenă, la un randament superior față de varianta extracției
făinii integrale de *amaranthus*.

15 Într-un mod preferat de realizare, o fracție de făină de *amaranthus* obținută în etapa
b), preferabil fracția fină, este supusă unei extracții cu un gaz supercritic, preferabil CO₂
17 supercritic. În mod preferabil etapa de extracție se desfășoară la o temperatură mai mică
decât 150°C, preferabil între 30...100°C, la o presiune între 100...600 bar, preferabil între
19 200...400 bar, cu o durată cuprinsă între 30...240 min, preferabil între 50...200 min, cu un
debit de CO₂ supercritic cuprins între 2...10 g/min, preferabil între 3...8 g/min.

21 Introducerea etapei de extracție cu CO₂ supercritic conform cu prezenta invenție
permite în mod surprinzător obținerea unui ulei de *amaranthus* liber de solvenți organici, cu
23 concentrație crescută de scualenă, cu un indice mic de aciditate, printr-un procedeu care
elimină etapele de trans-esterificare, neutralizare, degumare, extracție cu solvenți organici,
25 existente în procedeele din stadiul tehnicii și care are o durată mai scurtă, neavând impact
negativ asupra mediului.

27 Într-o variantă preferată de realizare uleiul de *amaranthus* obținut în etapa c) se
supune unei etape de fracționare prin distilare moleculară. În mod preferabil etapa de
29 distilare moleculară se desfășoară la o presiune cuprinsă între 1×10^{-3} ... 5×10^{-3} mtorr,
preferabil între $1,5 \times 10^{-3}$... 4×10^{-3} mtorr, la o temperatură în baie cuprinsă între 150...400°C,
31 preferabil între 175...300°C, cu o turație a raclorului între 100...1000 rpm, preferabil între
200...700 rpm, cu un debit de ulei alimentat între 50...250 ml/h, preferabil între 60...200 ml/h.

33 Prin procedeul conform invenției, autorii au obținut în mod surprinzător un produs cu
concentrație crescută de scualenă de cel puțin 90% (g/g), cu un randament ridicat, de cel
35 puțin 85%, folosind mai puține etape de procesare, cu solvenți netoxici, cu impact scăzut
asupra mediului.

37 Se prezintă în continuare un exemplu de realizare al invenției care nu este limitativ.

Exemplu

39 Semințele de *Amaranthus cruentus* au fost măcinate cu o moară de laborator cu
cuțite, la o turație între 5000...7500 rpm, preferabil cel puțin 6500 rpm, o durată cuprinsă între
41 30...120 sec, preferabil cel puțin 50 sec. După măcinare făina de *amaranthus* obținută a fost
caracterizată prin analize fizico-chimice uzuale, cunoscute specialistului din domeniu, valorile
43 medii obținute din prelucrarea a trei șarje fiind prezentate în tabelul 1.

RO 131944 B1

Caracteristici fizico-chimice ale făinii obținute din semințe de *amaranthus*

Tabelul 1

Conținut de umiditate % (g/g)	Conținut de proteină brută % (g/g)(metoda Kjeldahl)	Fe (mg/100 g)	Mg (mg/100 g)	Concentrație de ulei % (g/g)
11,8-13,0	14,92-16,61	9,5-10,9	290-330	5,6-6,3

Făina de *amaranthus* obținută prin măcinare a fost separată granulometric prin cernere cu site analitice de laborator din oțel inoxidabil Φ 150x40 mm, seria R40/3 (ISO 3310-1). Prin separarea granulometrică s-au obținut 3 fracții de făină:

- fracția 1 grosieră, cu un diametru mediu al particulelor de cel puțin 500 μ m;
- fracția 2 medie, cu un diametru mediu al particulelor între 300...500 μ m;
- fracția 3 fină, cu un diametru mediu al particulelor de cel mult 300 μ m.

Distribuția uleiului și proteinei pe fracții granulometrice

Tabelul 2

	% masă din făina totală	Concentrație ulei (%)	Concentrație proteină (%)
Fracția 1 grosieră	29	2	91
Fracția 2 medie	36	4	125
Fracția 3 fină	35	11	214

Prin fracționarea granulometrică se obține în mod surprinzător o fracție fină de făină în care se concentrează cel puțin 60% din cantitatea de ulei și cel puțin 40% din cantitatea de proteină, ceea ce permite procesarea ulterioară a unei cantități reduse de făină din semințe de *amaranthus* pentru extracția uleiului.

Fracția fină de făină de *amaranthus* se supune în continuare fazei de extracție cu CO₂ supercritic. Instalația de extracție cu CO₂ supercritic include: un vas de extracție prevăzut cu manta de încălzire, un vas de expansiune (presiune maximă 17 bar), o pompă pentru CO₂ lichid cu debit de cel mult 50 g/min, un schimbător de căldură pentru preîncălzirea extractantului și un restrictor pentru menținerea presiunii în vasul de extracție. Bioxidul de carbon este alimentat dintr-o butelie cu CO₂ lichid, prevăzută cu plonjor. Caracteristicile geometrice ale extractorului folosit sunt: raport H/D = 4,5, V(L) = 0,100. Temperatura nominală maximă din vasul de extracție a fost de cel mult 100°C, la o presiune de lucru de cel mult 600 bar.

O probă din fracția fină de făină de *amaranthus* se supune extracției cu CO₂ supercritic în instalația descrisă mai sus, la următorii parametri: presiune cuprinsă între 200...400 bar, preferabil nu mai mare de 370 bar, temperatură între 30...100°C, preferabil nu mai mare de 40°C, cu o durată între 50...200 min, preferabil nu mai mult de 190 min, cu un debit de CO₂ supercritic cuprins între 3 și 8 g/min, preferabil nu mai mult de 7g/min. În aceste condiții s-au obținut datele prezentate în tabelul 3, comparativ cu cele obținute de autori la extracția făinii de *amaranthus* cu eter de petrol (metodă cunoscută specialistului din domeniu și care nu este prezentată în brevet).

RO 131944 B1

Date comparative extracție cu CO₂ supercritic și extracție cu eter de petrol

Tabelul 3

Parametrul	Extracție cu CO ₂ supercritic	Extracție cu eter de petrol
Ulei (%)	106	59
Scualenă (%)	51	49
Indice aciditate (%)	11	19
P (mg/L)	31	280
Durata (h)	≤ 4	44354

Din datele comparative se poate observa că s-a obținut o creștere surprinzătoare a randamentului de extracție a uleiului, ca și o calitate superioară a uleiului extras, exprimată printr-un indice de aciditate scăzut cu 40%, un conținut de fosfor scăzut cu 90%, adică o cantitate mai mică de fosfolipide în uleiul de *amaranthus* extras. Aceste proprietăți ale uleiului extras determină costuri mai mici în etapa de prelucrare ulterioară.

Uleiul de *amaranthus* obținut prin extracție cu CO₂ supercritic este supus în continuare unei fracționări prin distilare moleculară. Principalele caracteristici ale instalației de distilare moleculară sunt prezentate în tabelul 4.

Caracteristici ale instalației de distilare moleculară

Tabelul 4

Parametrul / Caracteristica	Valoare
P _{min} (mtorr)	1 x 10 ⁻³
T _{max} (°C)	400
Turație raclor (rpm)	200-700
Debit de alimentare (mL/h)	60-200
Suprafață evaporator (m ²)	45
Suprafață condensator (m ²)	24

Uleiul obținut prin extracție cu CO₂ supercritic a fost fracționat prin distilare moleculară, folosind următorii parametri: presiune cuprinsă între 2 x 10⁻³...3 x 10⁻³ mtorr, turație a raclorului cuprinsă între 400...600 rpm, la un debit de alimentare a uleiului cuprins între 70 și 100 ml/h, la o temperatură cuprinsă între 200...300°C.

Autorii au obținut un produs cu o concentrație în scualenă de 96%, liber de solvenți organici, cu un randament de recuperare a scualenei de 89% printr-un procedeu cu mai puține etape, fără impact negativ asupra mediului.

RO 131944 B1

Revendicări

1. Procedeu pentru obținerea unui produs cu concentrație mare de scuolenă din materii prime vegetale în special semințe și ulei de amaranthus, **caracterizat prin aceea că**, cuprinde următoarele etape: 3 5
- a. Măcinarea semințelor de amaranthus. 7
 - b. Separarea granulometrică a făinii obținută în etapa a).
 - c. Extracția uleiului cu gaze supercritice. 9
 - d. Fraționarea uleiului obținut în etapa c) prin distilare moleculară. 11
2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, etapa a) de măcinare a semințelor de amaranthus se realizează la o turație cuprinsă între 2000...10000 rpm, preferabil între 4000...8000 rpm, mai preferabil între 5000...7500 rpm, cel mai preferabil între 6000...7000 rpm, cu o durată a măcinării cuprinsă între 10...300 sec, preferabil între 20...180 sec, mai preferabil între 30...120 sec, cel mai preferabil între 40...90 sec. 13
3. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, prin separarea granulometrică pe site se obține o fracție fină de făină de amaranthus, cu diametrul mediu al particulei de cel mult 300 μm, care concentrează cel puțin 60% din cantitatea totală de ulei. 15 17
4. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, extracția uleiului se face cu un gaz supercritic, preferabil CO₂ supercritic. 19
5. Procedeu conform revendicării 4, **caracterizat prin aceea că**, extracția cu CO₂ supercritic se face la o temperatură mai mică decât 150°C, preferabil între 30...100°C, cel mai preferabil de maximum 40°C, la o presiune între 100...600 bar, preferabil între 200...400 bari, cel mai preferabil de maximum 370 bar, cu o durată cuprinsă între 30...240 min, preferabil între 50...200 min, cel mai preferabil de maximum 190 min, cu un debit de CO₂ supercritic cuprins între 2...10 g/min, preferabil între 3...8 g/min, cel mai preferabil maximum 7g/min. 21 23 25 27
6. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, etapa de fracționare a uleiului prin distilare moleculară se desfășoară la o presiune cuprinsă între 1×10^{-3} ... 5×10^{-3} mtorri, preferabil între $1,5 \times 10^{-3}$... 4×10^{-3} mtorr, cel mai preferabil între 2×10^{-3} ... 3×10^{-3} mtorr, la o temperatură cuprinsă între 150...400°C, preferabil între 175...300°C, cel mai preferabil între 200...300°C, cu o turație a raclorului între 100...1000 rpm, preferabil între 200...700 rpm, cel mai preferabil între 400...600 rpm, cu un debit de ulei alimentat între 50...250 ml/h, preferabil între 60...200 ml/h, cel mai preferabil între 70...100 ml/h. 29 31 33
7. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, se obține un produs cu o concentrație de scuolenă de cel puțin 90%, cu un randament de cel puțin 85%, pentru utilizare în cosmetică și medicină. 35 37

