



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2016 00983

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

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

(71) Solicitant:  
• 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;  
• BĂTRINESCU GHEORGHE,  
CALEA VITAN NR.123, BL.V 2, SC.1, ET.6,  
AP.26, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

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

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu pentru obținerea unui produs bioactiv cu aplicații în industria cosmetică. Proceduul, conform invenției, constă în măcinarea semințelor de *Amaranthus*, la o turație de 5000...7500 rpm, timp de 20...180 s; făina rezultată se supune unei separări granulometrice, rezultând o fracție grosieră, o fracție medie și o fracție fină, cu diametrul mediu al particulelor de maximum 300 μm, care este supusă unei extracții cu CO<sub>2</sub> supercritic, cu un debit de

2...10 g/min, la o temperatură de 30...100°C, o presiune de 100...600 bar, timp de 30...240 min; uleiul rezultat este fracționat prin distilare moleculară la o presiune de 2x10<sup>-3</sup>...3x10<sup>-3</sup> și o temperatură de 200...300°C, din care rezultă un produs cu un conținut de 96% scualenă, liber de solvenți organici.

Revendicări: 7  
Figuri: 1



## PROCEDEU PENTRU OBTINEREA UNUI PRODUS CU CONCENTRAȚIE MARE DE SCUALENĂ

### DOMENIUL INVENȚIEI

Această invenție se referă la domeniul obținerii produselor bioactive cu aplicații în cosmetică și medicină, în particular la un procedeu pentru obținerea unui produs cu concentrație mare de scualenă din materii prime vegetale, în special semințe și ulei de amaranthus.

### STADIUL TEHNICII

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, hipocolesteremiantă și o acțiune moderată de inhibare a proliferării creșterii celulelor tumorale. Datorită efectului fotoprotector, biocompatibilității și absorbției ușoare în piele, scualena și derivatul său hidrogenat scualanul sunt ingrediente foarte valoroase în industria cosmetică.

Cea dintâi sursă și cea mai bogată de scualenă o reprezintă uleiul obținut din ficatul de rechin. Publicația WO2011/141819 dezvăluie un procedeu de preparare a scualenei 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 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  $T_1 < T_2$ .

Dezavantajul procedeeleor 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 contaminată cu substanțele alergene existente în ficatul de rechin sau cu substanțele poluante provenite din mediul maritim și care astfel se transmit la om.

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 uleiurilor vegetale pentru uz alimentar. Cele mai cunoscute surse vegetale pentru obținerea scualenei sunt produsele secundare obținute la producerea uleiului de măsline, uleiului de palmier sau din dezodorizatele de la distilarea uleiului de soia.

Astfel publicația WO2008/142175 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 la

vid înaintat a fracției de nesaponificabile. Deși autorii raportează obținerea unui produs cu un conținut în scualenă de 95%, procedeul este laborios și folosește o materie primă vegetală care nu este accesibilă în țară.

Cererea de brevet US2004/158083A1 dezvăluie un procedeu de extracție și izolare a componentelor minore dintr-un ulei vegetal, respectiv caroteni, tocoferoli și tocotrienoli, 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, extracții, concentrare, desorbție, folosirea unor solvenți considerați toxici, putând fi utilizată pe cantități mici, la nivel de laborator.

Publicația WO2010/004193 descrie un procedeu care permite extracția de scualenă, fitosteroli și vitamina E din condensatele obținute la rafinarea fizică și/sau din distilatele de la dezodorizarea uleiurilor vegetale. Procedeul dezvăluit include mai multe etape de esterificare, distilare fracționată, cristalizare, pentru a obține simultan cele trei substanțe. Procedeul 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 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 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 normative Europene au limitat pescuitul de rechini pentru a proteja această specie marină cu 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.

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.

## DESCRIEREA INVENȚIEI

Obiectivul invenției este de a propune un procedeu de obținere a unui produs cu conținut ridicat de scualenă, folosind o materie primă vegetală locală, procedeu cu un număr scăzut de etape, fără folosirea de solvenți organici, nepoluant și care se poate aplica la nivel de pilot.

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. Procedeu 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.

#### *Materia primă*

Materia primă folosită pentru obținerea scualenei prin procedeu conform invenției sunt semințele de amaranthus, respectiv uleiul obținut din aceste semințe.

Cea mai mare concentrație de scualenă în regnul vegetal este întâlnită în uleiul de *Amaranthus*. *Amaranthus sp.* 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 amaranthus este mai scăzut decât cel raportat pentru plantele oleaginoase, concentrația de scualenă în uleiul de amaranthus este mai mare decât în uleiul de măsline, cea mai cunoscută sursă vegetală de scualenă. *Amaranthus sp.* 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.

#### DESCRIEREA DETALIATĂ A INVENȚIEI

Soluția propusă de invenție este un procedeu de obținere a unui produs cu concentrație mare de scualenă din semințe de amaranthus, care cuprinde următoarele etape:

- a) Măcinarea semințelor de amaranthus
- b) Separarea granulometrică a făinii obținută în etapa a)
- c) Extracția uleiului cu gaze supercritice

d) Fraționarea uleiului obținut în etapa c) prin distilare moleculară.

În Figura 1 se prezintă schema de flux pentru obținerea unui produs cu concentrație crescută de scualenă prin procedeul conform invenției.

Invenția va fi descrisă prin variante preferate de realizare care vor fi înțelese de specialiștii în domeniu în limitele de protecție conferite de revendicări.

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 8000 rpm, mai preferabil între 5000 și 7500 rpm, cu o durată a măcinării cuprinsă între 10 și 300 secunde, preferabil între 20 și 180 secunde, mai preferabil între 30 și 120 secunde.

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 granulometrice, preferabil o fracție fină de făină cu diametrul mediu al particulelor de cel mult 300 $\mu$ m, o fracție medie cu diametrul mediu de cel puțin 300 $\mu$ m și cel mult 500 $\mu$ m și o fracție grosieră cu diametrul mediu de cel puțin 500 $\mu$ m. Separarea făinii după măcinare prezintă avantajul că se poate alege pentru faza următoare de extracție cu gaz supercritic o fracție de făină cu conținut 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 concentrație superioară de scualenă, la un randament superior față de varianta extracției făinii integrale de amaranthus.

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 CO<sub>2</sub> supercritic. În mod preferabil etapa de extracție se desfășoară la o temperatură mai mică decât 150°C, preferabil între 30 și 100°C, la o presiune între 100 și 600 bari, preferabil între 200 și 400 bari, cu o durată cuprinsă între 30 și 240 minute, preferabil între 50 și 200 minute, cu un debit de CO<sub>2</sub> supercritic cuprins între 2 și 10 g/min, preferabil între 3 și 8 g/min.

Introducerea etapei de extracție cu CO<sub>2</sub> supercritic conform cu prezenta invenție permite în mod surprinzător obținerea unui ulei de amaranthus liber de solvenți organici, cu 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, existente în procedeele din stadiul tehnicii și care are o durată mai scurtă, neavând impact negativ asupra mediului.

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 distilare moleculară se desfășoară la o presiune cuprinsă între  $1 \times 10^{-3}$  și  $5 \times 10^{-3}$  mtorri, preferabil între  $1,5 \times 10^{-3}$  și  $4 \times 10^{-3}$  mtorri, la o temperatură în baie cuprinsă între 150 și 400°C, preferabil între 175 și 300°C, cu o turație a raclorului între 100 și 1000 rpm, preferabil între 200 și 700 rpm, cu un debit de ulei alimentat între 50 și 250 mL/oră, preferabil între 60 și 200 mL/oră.

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 puțin 85%, folosind mai puține etape de procesare, cu solvenți netoxici, cu impact scăzut asupra mediului.

Invenția va fi descrisă prin următorul exemplu de realizare care nu este limitativ.

#### *Exemplu de realizare*

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

Tabel 1 Caracteristici fizico-chimice ale făinii obținute din semințe de *amaranthus*

Conținut de umiditate % (g/g)	Conținut de proteină brută % (g/g) (metoda Kjeldahl)	Fe (mg/100g)	Mg (mg/100g)	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  $\Phi$  150 mm  $\times$  40 mm, seria R40/3 (ISO 3310-1). Prin separarea granulometrică s-au obținut 3 fracții de făină:

- Frația 1 grosieră, cu un diametru mediu al particulelor de cel puțin 500  $\mu$ m
- Frația 2 medie, cu un diametru mediu al particulelor de cel puțin 300  $\mu$ m și cel mult 500  $\mu$ m

- Frația 3 fină, cu un diametru mediu al particulelor de cel mult 300  $\mu\text{m}$

Tabelul 2 Distribuția uleiului și proteinei pe fracții granulometrice

	% masă din făina totală	Concentrație ulei (%)	Concentrație proteină (%)
Fracția 1 grosieră	29	2	9,1
Fracția 2 medie	36	4	12,5
Fracția 3 fină	35	11	21,4

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 CO<sub>2</sub> supercritic. Instalația de extracție cu CO<sub>2</sub> supercritic include: un vas de extracție prevăzut cu manta de încălzire, un vas de expansiune (presiune maximă 17 bari), o pompă pentru CO<sub>2</sub> lichid cu debit de cel mult 50g/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 CO<sub>2</sub> 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 bari.

O probă din fracția fină de făină de amaranthus se supune extracției cu CO<sub>2</sub> supercritic în instalația descrisă mai sus, la următorii parametri: presiune cuprinsă între 200 și 400 bari, preferabil nu mai mare de 370 bari, temperatură între 30 și 100°C, preferabil nu mai mare de 40°C, cu o durată între 50 și 200 min, preferabil nu mai mult de 190 min, cu un debit de CO<sub>2</sub> 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 nr 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).

20

Tabel 3 Date comparative extracție cu CO<sub>2</sub> supercritic și extracție cu eter de petrol

Parametrul	Extracție cu CO <sub>2</sub> supercritic	Extracție cu eter de petrol
Ulei (%)	10,6	5,9
Scualenă (%)	5,1	4,9
Indice aciditate (%)	1,1	1,9
P (mg/L)	31	280
Durata (h)	≤ 4	6-8

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 CO<sub>2</sub> supercritic este supus în continuare unei fracționări prin distilare moleculară. Principalele caracteristici ale instalației de distilare moleculară sunt prezentate în Tabelul 4.

Tabelul 4. Caracteristici ale instalației de distilare moleculară

Parametrul / Caracteristica	Valoare
P <sub>min</sub> (mtorri)	1 × 10 <sup>-3</sup>
T <sub>max</sub> (°C)	400
Turație raclor (rpm)	200 - 700
Debit de alimentare (mL/h)	60 - 200
Suprafață evaporator (m <sup>2</sup> )	0,045
Suprafață condensator (m <sup>2</sup> )	0,024

21



Uleiul obținut prin extracție cu CO<sub>2</sub> supercritic a fost fracționat prin distilare moleculară, folosind următorii parametri: presiune cuprinsă între  $2 \times 10^{-3}$  și  $3 \times 10^{-3}$  mtorri, turație a raclorului cuprinsă între 400 și 600 rpm, la un debit de alimentare a uleiului cuprins între 70 și 100 mL/h, la o temperatură cuprinsă între 200 și 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.

## REVENDICĂRI

1. Procedeu pentru obținerea unui produs cu concentrație mare de scualenă din materii prime vegetale, în special semințe și ulei de amaranthus, care cuprinde următoarele etape:
  - a) Măcinarea semințelor de amaranthus
  - b) Separarea granulometrică a făinii obținută în etapa a)
  - c) Extracția uleiului cu gaze supercritice
  - d) Fraționarea uleiului obținut în etapa c) prin distilare moleculară.
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 și 10 000 rpm, preferabil între 4000 și 8000 rpm, mai preferabil între 5000 și 7500 rpm, cel mai preferabil între 6000 și 7000 rpm, cu o durată a măcinării cuprinsă între 10 și 300 secunde, preferabil între 20 și 180 secunde, mai preferabil între 30 și 120 secunde, cel mai preferabil între 40 și 90 secunde.
3. Procedeu conform revendicărilor 1 și 2 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  $\mu\text{m}$ , care concentrează cel puțin 60% din cantitatea totală de ulei.
4. Procedeu conform revendicărilor 1 – 3 caracterizat prin aceea că extracția uleiului se face cu un gaz supercritic, preferabil  $\text{CO}_2$  supercritic.
5. Procedeu conform revendicării 4 caracterizat prin aceea că extracția cu  $\text{CO}_2$  supercritic se face la o temperatură mai mică decât 150°C, preferabil între 30 și 100°C, cel mai preferabil nu mai mare de 40°C, la o presiune între 100 și 600 bari, preferabil între 200 și 400 bari, cel mai preferabil nu mai mare de 370 bari, cu o durată cuprinsă între 30 și 240 minute, preferabil între 50 și 200 minute, cel mai preferabil nu mai mult de 190 min, cu un debit de  $\text{CO}_2$  supercritic cuprins între 2 și 10 g/min, preferabil între 3 și 8 g/min, cel mai preferabil nu mai mult de 7g/min.

6. Procedeu conform revendicărilor 1 – 5 caracterizat prin aceea că etapa de fracționare a uleiului prin distilare moleculară se desfășoară la o presiune cuprinsă între  $1 \times 10^{-3}$  și  $5 \times 10^{-3}$  mtorri, preferabil între  $1,5 \times 10^{-3}$  și  $4 \times 10^{-3}$  mtorri, cel mai preferabil între  $2 \times 10^{-3}$  și  $3 \times 10^{-3}$  mtorri, la o temperatură cuprinsă între 150 și 400°C, preferabil între 175 și 300°C, cel mai preferabil între 200 și 300°C, cu o turație a raclorului între 100 și 1000 rpm, preferabil între 200 și 700 rpm, cel mai preferabil între 400 și 600 rpm, cu un debit de ulei alimentat între 50 și 250 mL/oră, preferabil între 60 și 200 mL/oră, cel mai preferabil între 70 și 100 mL/h.
7. Procedeu conform revendicării 1 caracterizat prin aceea că se obține un produs cu o concentrație de scuolenă de cel puțin 90% (g/g), cu un randament de cel puțin 85%, pentru utilizare în cosmetică și medicină.

Figura 1. Schema de flux pentru obținerea unui produs cu concentrație crescută de scualenă prin procedeul conform invenției

