



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENTIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 01036**

(22) Data de depozit: **06/12/2017**

(41) Data publicării cererii:  
**29/11/2018** BOPI nr. **11/2018**

(71) Solicitant:  
• **PANETONE S.R.L.**,  
STRADA NICOLAE ILLIESU, NR.10, AP.2,  
TIMIȘOARA, TM, RO

(72) Inventatori:  
• **DRAGOMIRESCU MONICA CRISTINA**,  
STR.AL.ODOBESCU, NR.51, TIMIȘOARA,  
TM, RO;  
• **ALEXA ERSILIA CALINA**, STR. LETEA,  
NR.14, TIMIȘOARA, TM, RO;

• **LINTIA VASILE**, STR.GHEORGHE LAZĂR,  
NR.42, BL.A3, SC.F, AP.21, TIMIȘOARA,  
TM, RO;  
• **NEGREA MONICA**, STR.DUZILOR, NR.4,  
BECICHERECUL MIC, TM, RO;  
• **COCAN ILEANA**, CALEA HODONULUI,  
NR.25, DUDEȘTII NOI, TM, RO

(74) Mandatar:  
**CABINET "CECIU GABRIELA"**  
**CONSULTANȚĂ ÎN DOMENIUL**  
**PROPRIETĂȚII INTELECTUALE**,  
STR. M.LEONTINA BANCIU, NR.6, AP.110,  
TIMIȘOARA, JUDEȚUL TIMIȘ

### (54) PROCEDEU DE OBȚINERE A UNOR HIDROLIZATE PROTEICE VEGETALE CU EFECTE BIOFERTILIZANTE COMPATIBILE CU AGRICULTURA ORGANICĂ

#### (57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui produs cu acțiune biofertilizantă, utilizat în agricultura biologică. Procedeul conform inventiei constă în aceea că un extract proteic vegetal, rezultat dintr-un amestec de plante medicinale și condimentare din familiile *Lamiaceae*, *Apiaceae*, *Umbelifere*, tescovina din procesul de vinificație, și semințe de leguminoase în mediu apos-alcoolic, se supune hidrolizei enzimaticе cu proteaze microbiene și vegetale uzuale, ca atare sau în

amestec, în raport proteină:unități enzimaticе de 10...25 g/ml:3...300 U, timp de 1...3 zile, la o temperatură de 20...40°C, sub agitare de 10...150 rpm, rezultând un biofertilizant având un conținut de aminoacizi de 1,41...4,82 mg/ml, exprimat în aminoacizi totali, și de 0,5...4,02 mg/ml, exprimat în L-tirozină.

Revendicări: 1

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).



18

MINISTERUL DE STAT PENTRU INVENTII SI MASURI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. .... a .....	817.1036
Data depozit ... 06 -12- 2017	

## Procedeu de obținere a unor hidrolizate proteice vegetale cu efecte biofertilizante compatibile cu agricultura organică

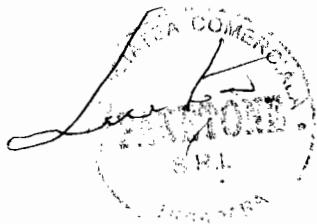
**Dragomirescu Monica, Alexa Ersilia, Negrea Monica, Cocan Ileana, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului „Regele Mihai I al României” din Timișoara, Lintia Vasile, SC Panetone SRL**

### Descriere

Invenția se referă la un produs cu acțiune biofertilizantă și la un procedeu de obținere a acestuia printr-o metodă compatibilă cu agricultura organică.

In ultimii ani, ca urmare a creșterii numărului de consumatori care îmbrățișează un stil de viață sănătos și echilibrat și din dorința de a reduce utilizarea fertilizaților chimici cu efecte negative asupra stării de sănătate a populației dar și a mediului, se utilizează tot mai mult fertilizații organici, biofertilizații, obținuți din materiale naturale prin metode naturale. Biofertilizații foliai, îmbogățiți în peptide și L-aminoacizi, după aplicare sunt adsorbiți rapid și prezintă o importanță deosebită în asimilarea nutrienților de către plante, obținerea unor fructe și vegetale de calitate superioară, bogate în antioxidații, îmbunătățirea fertilității solului, fără a avea efecte negative asupra mediului și asigură creșterea toleranței plantelor la stresul climatic [1]. Utilizarea biofertilizaților permite obținerea unor culturi organice cu productivitate ridicată, folosind metode naturale de control al culturilor, fără substanțe chimice. Piața mondială a biofertilizaților este previzionată să crească în perioada următoare. Promotorii acestei creșteri sunt materiile prime disponibile pentru obținerea biofertilizaților și aplicațiile lor, în special la culturile de cereale și oleaginoase, pentru un răspuns eficient în fața stresului climatic (secetă, temperaturi ridicate, ger etc.) [2].

Studiile anterioare evidențiază utilizarea hidrolizatelor proteice de origine animală [3,4] cu efect fitotoxic și depresiv asupra creșterii plantelor. Literatura de specialitate nu menționează astfel de efecte la utilizarea plantelor comerciale cum sunt plantele leguminoase (fasole,



linte), oleagionase (seminte de in, canepă, canola) sau cerealiere (orz, grau) ca matrici proteice furnizori de aminoacizi cu rol in nutritia plantelor [5,6].

Pentru hidroliza proteinelor vegetale de-a lungul timpului s-au utilizat catalizatori chimici (acizi tari, baze tari) și enzimatici reprezentați de numeroase enzime proteolitice de origine animală sau microbiană [7,5].

În ceea ce privește producțiile agricole organice reglementările europene (Regulamentul european 354/2014) prevăd o serie de limitări foarte importante în ceea ce privește utilizarea de produse obținute din proteine de origine animală.

Produsul cu acțiune biofertilizanta cu conținut de peptide si aminoacizi, obținut prin hidroliza enzimatica, conform inventiei, înlătura dezavantajele generate de produsele de origine animala.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenția constă în utilizarea unor matrici vegetale naturale (plante medicinale si condimentare din familiile Lamiaceae, Apiaceae, Umbelifere, tescovina rezultată in procesul de vinificatie, precum si seminte de leguminoase) ca surse de proteine hidrolizabile și enzime vegetale și microbiene pentru hidroliza enzimatică a proteinelor. Semințele plantelor mentionate reprezintă surse valoroase de proteine si de aminoacizi ca glutamină, asparagină si arginină [8-12], iar prin utilizarea produselor secundare rezultate din tehnologia vinului se realizează transformarea, reciclarea, acestora în produși valoroși cu activitatea biofertilizantă. Utilizarea in acest proiect, a proteazelor vegetale (papaina), mai puțin uzuale in practica, reprezintă o alternativă naturală potrivită pentru obținerea de produse organice.

Procedeul prin care se obține biofertilizantul foliar îmbogățit în peptide și aminoacizi, produși de hidroliză eficienți și considerați a fi siguri pentru agricultura organică, este un procedeu ce se înscrie în tehnologia verde prin folosirea enzimelor ca și catalizatori ai reacției de hidroliza a proteinelor vegetale.

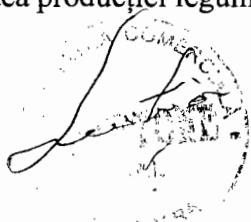
Procedeul de hidroliză a matricilor vegetale și obținerea produsului cu acțiune biofertilizantă constă în aceea că extractul proteic obținut dintr-un amestec de 6 plante din categoriile mentionate, în mediu apos – alcoolic în raport de 25...30% se supune hidrolizei enzimaticе folosind proteaze microbiene și vegetale, singure sau in amestec, în raport proteină:unități enzimaticе de 10...25g/ml:3...300U, timp de 1...3 zile, la o temperatură de 20...40°C, sub agitare 100...150 rpm.

Produsii de hidroliza au un conținut crescut de aminoacizi comparativ cu extractul vegetal inițial fiind cuprins între 1,41...4,82 mg/ml exprimat in aminoacizi totali si intre 0,5...4,02 mg/ml exprimat in L-tirozina. Conținutului relativ in proteine a scăzut in urma hidrolizei

enzimaticice ajungând la un procent de 40,5...98,5% din conținutul în proteine din extractul supus hidrolizei.

Procedeul conform invenției mai are avantajul ca folosind extract vegetal total pe lângă produșii de hidroliza enzimatică ai proteinei (aminoacizi) în produsul final se găsesc și numeroși compuși biologic activi sintetizați de planta. În felul acesta produsul cu acțiune biofertilizantă conține principii active cu acțiune antioxidantă (polifenoli), macroelemente și microelemente cu rol în creșterea plantelor.

Extractele vegetale supuse hidrolizei enzimaticice au fost testate în ceea ce privește dezvoltarea plantelor de tomate și de salată, rezultatele evidențiind faptul că amestecul pe baza de plante medicinale și condimentare, tescovina și soia au prezentat efecte pozitive cu privire la calitatea producției legumicole, exprimata prin indicatori biochimici.



**Bibliografie:**

1. Wang J., Liu Z., Wang Y., Cheng W., Mou H., Production of a water-soluble fertilizer containing amino acids by solid-state fermentation of soybean meal and evaluation of its efficacy on the rapeseed growth, *Journal of Biotechnology*, 187, 34-42, 2014
2. European Biostimulants Industry Council, [www.biostimulants.eu](http://www.biostimulants.eu)
3. Colla G., Rouphael Y., Canaguier R., Svecova E., McCardarelli M., Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis, *Front Plant Sci.*, 5: 448., 2014; doi: 10.3389/fpls.2014.00448
4. Lisiecka J., Knaflowski M., Spizewski T., Fraszczak B., Kaluzewicz A., Krzesinski W., The effect of animal protein hydrolysate on quantity and quality of strawberry daughter plants cv. 'Elsanta', *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 10, 31–40, 2011
5. Udenigwe C.C., Aluko R.E., Food Protein-Derived Bioactive Peptides: Production, Processing and Potential Health benefits, *Journal of Food Science*, 71(1), 11-24, 2012
6. Widyarani, Sari Y.W., Ratnaningsih E., Sanders J.P.M., Bruins M.E., Production of Hydrophobic amino acids from biobased resources: wheat gluten and rubber seed proteins, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 7909-7920, 2016
7. Hill R.L., Schmidt W.R., The Complete Enzymic Hydrolysis of Proteins, *Journal of Biological Chemistry*, 237(2), 389-396, 1962
8. Oganesyan E.T., Nersesyan Z.M., Parkhomenko A. Yu., Chemical composition of the above-ground part of *Coriandrum sativum*, *Pharmaceutical Chemistry Journal* 41(3), 149–153, 2007
9. Mahamane1 K.A., Ahire P.P., Nikam Y.D., Biochemical investigation of "Coriandrum sativum" L. (coriander), *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture (IJAPSA)*, 2(8), 2016
10. El-Awadi M. E., Hassan E.A., Improving Growth and Productivity of Fennel Plant Exposed to Pendimethalin Herbicide: Stress-Recovery Treatments, *Nature and Science*, 9(2), 2011
11. Parashar A., Lodha P., Estimation of protein content in fennel (*Foeniculum vulgare*) infected with ramularia blight and powdery mildew, *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 1(4), 117-120, 2011
12. Lisiewska Z., Słupski J., Kmiecik W., Gębczyński P., Amino acid profiles and protein quality of fresh and frozen dill depending on usable part of raw material, pre-treatment before freezing, and storage temperature of frozen products, *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 7(1), 2004

## Revendicări

1. Produs cu acțiune biofertilizantă, cu aplicare foliară și la seminte, pentru utilizare în agricultura biologică, pe baza de extracte vegetale, obținut printr-un procedeu de hidroliza a proteinelor, **caracterizat prin aceea că** extractele vegetale totale de plante medicinale și condimentare din familiile Lamiaceae, Apiaceae, Umbelifere, tescovina rezultată în procesul de vinificatie, precum și seminte de leguminoase sunt supuse hidrolizei enzimatiche folosind proteaze microbiene și vegetale, singure sau în amestec, în raport proteină:unități enzimatiche de 10...25g:3...300U, timp de 1...3 zile, la o temperatură de 20...40°C, sub agitare 100-150 rpm.

