



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2017 00825

(22) Data de depozit: 13/10/2017

(41) Data publicării cererii:
30/04/2019 BOPI nr. 4/2019

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• OANCEA FLORIN, STR. PAȘCANI NR.5,
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;
• CĂLIN MARIANA,
STR. CETATEA DE BALTĂ NR. 41, BL. 07A,
SC. 2, ET. 6, AP. 91, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;

• CONSTANTINESCU- ARUXANDEI DIANA,
ȘOS.MIHAI BRAVU NR. 297, BL. 15A, SC.
A, AP. 5, ET.1, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;
• RĂUT IULIANA,
ALEEA BARAJUL BISTRITA NR.12, BL.4,
SC.1, ET.4, AP.54, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• DONI MIHAELA, BD. CAMIL RESSU
NR. 4, BL. 5, SC. C, AP. 115, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• ARSENE MELANIA LILIANA, STR. COZLA
NR.8, BL.A7, SC.4, AP.49, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• JECU MARIA-LUIZA,
STR. PICTOR OCTAV BĂNCILĂ NR. 8,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(54) COMPOZIȚIE DE BIOSTIMULANT PENTRU PLANTE
PE BAZĂ DE LÂNĂ, ȘI PROCEDU DE OBȚINERE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o compoziție de biostimulant pentru plante, și la un procedeu de obținere a acesteia. Compoziția conform invenției este constituită, în procente masice, din 36..38% lână, 40% paie de grâu, 9,75...11,7% vinasă concentrată, 0,9% acid lactic și, în rest, apă reziduală. Procedeu conform invenției constă în tocarea și uscarea paielor de grâu și a lânii până la o umiditate de maximum 10%, amestecarea acestora

cu amestec de vinasă și acid lactic 80% la 45...60°C, timp de 4...6 h, urmată de granulara prin uscare a amestecului, la 90°C, timp de 2 h, și vid de 0,5 bari, și compactarea prin presare, rezultând pelete cu o densitate de minimum 750 kg/mc.

Revendicări: 3



COMPOZITIE DE BIOSTIMULANT PENTRU PLANTE PE BAZĂ DE LÂNĂ ȘI PROCEDU DE OBTINERE

Prezenta invenție se referă la un produs biostimulant pentru plante, pe bază de lână de oaie, destinat tratamentului solului din zona rădăcinilor plantelor de cultură, ca și la un procedeu de obținere a acestei combinații.

Sunt cunoscute utilizări ale lânii de oaie în tehnologiile de cultura plantelor, pentru tratamentul solului. Cererea de brevet US 2017144943 descrie un produs cu rol dublu, de fertilizant și pentru menținerea apei în sol, pe bază de lână de oaie, care este comprimată sub formă de peleți. Lâna de oaie, inclusiv lanolina, de preferat lână de pe zona de burtă a oilor, formată din fibre de la 2,5 până la 15 cm, este amestecată cu un agent de legare, rumeguș / lignină din rumeguș. Amestecul rezultat este uscat și forțat să treacă printr-o matriță de peletizare, pentru a forma peleți. Condițiile de peletizare sunt selectate astfel încât să se atingă temperatura de cel puțin 90°C în amestecul de peletizare. Cererea de brevet US 20170144944 A1, a aceluiași colectiv de autori, include în compoziția de peleți fertilizanți și subproduse animale – făină de sânge, făină de carne, făină de oase, făină de pește, reziduul uscat din recipientele în care au fost ținute carcasele animalelor.

Unul din dezavantajele procedurii de mai sus este că nu asigură temperaturi suficient de ridicate pentru a distruge și sporii unor bacterii dăunătoare care pot supraviețui în lâna oilor, ca de exemplu *Clostridium perfringens*.

Cererea de brevet DE102015015712 descrie un procedeu de producere a fertilizanților pe bază de lână, care include următoarele etape destinate eliminării sporilor de *C. perfringens*: măcinarea lânii și ridicarea temperaturii de peletizare inițiale la 100°C, prin creșterea presiunii de peletizare la 30 bari; menținerea la 45°C a peletilor formați inițial, timp de 8-10 min, pentru a determina germinarea sporilor de *C. perfringens* nedistruși în primul proces de peletizare; reluarea procesului de peletizare, prin măcinarea peletilor inițiali și peletizare la 110°C, prin creșterea presiunii de peletizare la cel puțin 35 bari, cu obținerea unor fertilizanți peleți de lână cu densitatea de cel puțin 650 kg.m⁻³.

Procedeu prezentat în cererea de brevet DE102015015712 include utilizarea unui aditiv de peletizare, reprezentat de subproduse vegetale sau animale, ca de exemplu fibră de cocos, pudrerie de in sau de cânepă, celuloză, lână de capră, pene, coarne. Aditivul de peletizare poate fi și cazeină, amidon de

cartofi, digestat de la producerea biogazului, reziduu de la prelucrarea industrială a fructelor sau de la producerea vinului (boască) și/sau alge. Se menționează în descrierea brevetului că unul din aditivii de peletizare utilizați trebuie să conțină compuși care să stimuleze creșterea plantelor. Nu este însă revendicată utilizarea nici unuia dintre acești aditivi și/sau compuși care stimulează creșterea plantelor.

Dezavantajul principal al procedeelor (și al produselor rezultate) descrise până în prezent este că nu valorifică potențialul de biostimulant pentru plante al lânii. Biostimulanții pentru plante sunt o categorie emergentă de inputuri în tehnologiile de cultură a plantelor, care determină: creșterea eficienței de preluare și utilizare a nutrienților de către plante, mărirea rezistenței la factorii de stres abiotici și îmbunătățirea calității recoltei (du Jardin, 2015, *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14). Una din clasele de biostimulanți pentru plante sunt hidrolizatele proteice din sub-produsele animale (Colla et al. 2015. *Scientia Horticulturae*, 196, 28-38). Lâna este constituită din keratină, o proteină bogată în aminoacizi cu sulf. Fertilizanții pe bază de keratină sunt recunoscuți ca fertilizanți cu eliberare semi-rapidă (Hadas și Kautsky, 1994. *Fertilizer research*, 38(2), 165-170) peletizarea urmărind și o creștere a duratei de eliberare controlată. Prin descompunere keratina elimină în sol cantități semnificative de cisteină. Cisteina exogenă determină modificarea metabolismului sulfurului din țesuturile vegetale, cu stimularea producerii de hidrogen sulfurat, moleculă gazoasă semnal tisular, implicată în reglarea răspunsului plantelor la factorii de stres (Guo et al, 2016. *Acta physiologiae plantarum*, 38(1), 16). Concentrațiile prea ridicate de cisteină, care ar putea rezulta din degradarea rapidă a keratinei din lâna, pot avea însă efecte negative asupra plantelor. Concentrațiile mai mari de 50 μM sunt toxice pentru plante. Concentrații semnificativ mai mici de cisteină exogenă (cum este cea eliberată de peleții de lâna) inhibă alungirea rădăcinilor, datorită interferențelor cu auxinele (Wang et al. 2015, *Journal of integrative plant biology*, 57(2), 186-197).

De asemenea procedeele descrise mai sus au dezavantajul că sunt dificil de aplicat lânii grosiere, cu un conținut redus de lanolină, care la presare are o tendință ridicată de împâslire. Conținutul redus de lanolină nu asigură lubrifierea necesară procesului de peletizare, iar împâslirea lânii poate determina blocarea preseii de peleți.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a realiza o compoziție pe bază de lâna, în special lâna grosieră, care să se peletizeze ușor și care să nu

determine efecte secundare la aplicare datorită excesului de cisteină exogenă eliberată în soluția solului.

Compoziția de biostimulant pe bază de lână conform invenției este alcătuită din 36 – 38% lână; 40% paie de grâu; 9,75 – 11,7% vinasă concentrată; 0,9% acid lactic și restul până la 100% apă reziduală.

Lâna este o lână tocată, cu fibre de 0,2-2 cm și cu o umiditate de maxim 10%, paiele de grâu au dimensiuni cuprinse între 0,5 – 2 mm și o umiditate de maxim 12%, iar vinasă concentrată are un conținut de substanță uscată de min. 28%, din care glicil-betaina 10-12% și poliamine totale min. 0,6%.

Procedeul conform invenției este alcătuit din următoarele etape:

- Tocarea fibrelor de lână până la dimensiuni de 0,2 - 2 cm, și uscarea până la o umiditate de max. 10%, la o temperatură de 105°C, timp de 4 ore;
- Tocarea paielor de grâu până la dimensiuni cuprinse între 0,5-2 mm, și uscare până la o umiditate de max. 10% , la o temperatură de 180°C;
- Amestecarea 9,75 – 11,7 părți vinasă concentrată cu 1,125 părți acid lactic 80% și menținerea timp de 6 ore la temperatura de 60°C, pentru a favoriza formarea eutecticului echimolar glicil-betaină : acid lactic;
- Amestecare a 36 – 38 părți lână tocată și uscată, cu 40 părți paie de grâu uscate, și cu 10,875 - 12,825 părți amestec de vinasă concentrate și acid lactic 80%, la 45°C, timp de 4 ore, urmată de granularea prin uscare a amestecului, prin încălzire la 90°C timp de 2 ore și vacuum de 0,5 bari.
- Compactarea amestecului lână tocată și uscată, paie de grâu, vinasă concentrată și acid lactic, prin presare într-o presă de peleți cu matrițe orizontale, la o presiune de 35 bari și o temperatură de 90°C, pentru a forma peleți cu lungimea de aprox. 15 mm și diametrul de 5...8 mm, și cu densitatea de cel puțin 750 kg.m⁻³.

Prezenta invenție prezintă următoarele avantaje:

- favorizarea peletizării datorită plasticizării inițiale a ligninei, sub acțiunea eutecticului glicil-betaină - acid lactic, format *in situ*;
- reducerea riscului de blocare a matriței de peletizare în cazul folosirii de lână grosieră, cu un conținut redus de lanolină lubrefiantă și cu tendință ridicată de împlâslire, datorită efectului lubrefiant al acizilor humici din vinasă și efectului anti-împlâslire al biosiliciului din paiele de grâu;
- creșterea densității finale a peletilor datorită granulării intermediare;

- reducerea efectelor secundare ale cisteinei asupra dezvoltării sistemului radicular, ca urmare a acțiunii compensatoare a poliaminelor din vinasă, care stimulează alungirea rădăcinii;
- amplificarea efectului biostimulant pentru plante datorită efectului osmo-protectant al glicin-betainei, efect prin care plantele utilizează mai eficient apa reținută de peleții de lână.
- eliminarea completă a contaminanților bacterieni, datorită ciclurilor repetate de încălzire, prin care se elimină formele vegetative, intercalate cu cicluri de incubare la temperaturi mai reduse, care favorizează germinarea formelor de rezistență (spori)

In continuare se prezintă exemple nelimitative de realizare a invenției.

Exemplu 1. 400 de grame de lână semifină (de oaie Țigae) se trec printr-o moară de laborator cu cuțite (Cutting Mill SM 200, Retsch GmbH, Haan, Germania) până la reducerea dimensiunilor la 0,2- 2 cm. După măcinare lâna se trece într-o etuvă (Thermo Scientific™ Vacuum Ovens, Fischer Scientific, Hampton, New Hampshire, SUA), unde se menține la o temperatură de 105°C, timp de 4 ore, cu atingerea unei umidități de max 10%. 400 grame de paie se toacă într-o moară ciclon (Cyclon Mill, Retsch), până la obținerea unor dimensiuni cuprinse între 0,5-2 mm. Paiele măcinate se usucă la într-o etuvă (Thermo Scientific™ Vacuum Ovens, Fischer Scientific,), unde se menține la o temperatură de 180°C, timp de 4 ore, cu atingerea unei umidități de max 10%.

Vinasa concentrată de la fabricarea drojdiei de panificație, cu un conținut de substanță uscată de min. 28%, se analizează în privința conținutului de glicin-betaină (prin metoda descrisă de MacKinnon *et al.*, 2010, J. Appl. Phycol., 22:489-494) și de poliamine (prin metoda descrisă de Gómez-Alonso *et al.* 2007. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(3), 608-613), pe un sistem Agilent 6224 Accurate Mass TOF LC/MS-MS (Agilent, Santa Clara, CA, SUA).

Din vinasă care are 12% glicin-betaină și 1,2% poliamine se trec 97,5 g, într-un balon din sticlă termorezistentă cu trei găuri de 250 ml, și se amestecă cu 11,25 g acid lactic soluție 80%. Se menține timp de 6 ore la temperatura de 60°C, pe baie de apă, pentru a favoriza formarea eutecticului echimolar glicil-betaină : acid lactic.

Intr-un mixer-granulator-uscător de laborator (Ploughshare® Laboratory Mixer, Gebrüder Lödige, Praderborn, Germani) se amestecă 360 grame lână tocată și uscată, cu 400 grame paie de grâu uscate, și cu 108,75 g amestec de

vinasă concentrate și acid lactic 80%. Se menține la 45°C, timp de 4 ore, cu agitare lentă, 10 rotații pe minut, urmată de granulara prin uscare a amestecului, prin încălzire la 90°C timp de 2 ore și vacuum de 0,5 bari, și agitare cu 20 rotații pe minut.

Amestecul de lână tocată și uscată, paie de grâu, vinasă concentrată și acid lactic, se peletizează folosind o presă de peleți cu matrițe orizontale, model Kahl 14-175 (Amandus Kahl, Reinbek / Hamburg, Germania), la o presiune de 35 bari și o temperatură de 90°C, pentru a forma peleți cu lungimea de aprox. 15 mm și diametrul de 5...8 mm, și cu densitatea de cel puțin 750 kg.m⁻³.

Exemplul 2. Se procedează ca în Exemplu 1, cu următoarele diferențe. Se folosește lână de Țurcană, grosieră, care se aduce în amestecul de granulare în cantitate de 380 grame. Vinasă concentrată se normalizează la 10% glicin-betaină, dacă nu atinge pragul de min. 12% glicin-betaină, prin diluare cu apă distilată. În acest caz conținutul de poliamine se aduce și el la 1%. Din această vinasă concentrată normalizată se iau 117 grame care se tratează pentru eutectizare cu 11,25 g acid lactic soluție 80%.

Exemplul 3. A fost testată eficacitatea produsului realizat conform Exemplu 1 ca biostimulant pentru plantele de tomate. Plantele de tomate (*Lycopersicum esculentum* cv. Menhir F1), răsaduri de 60 zile, au fost transplantate în vase de vegetație de 25 cm și 50 cm înălțime, în care s-au introdus câte 5 litri de substrat de creștere îmbogățit cu nutrienți pentru primele săptămâni de creștere (Canna Terra Professional Plus, Canna International BV). Vasele de vegetație au fost menținute în condiții de seră, la 22±2°C în timpul zilei și 17±2°C în timpul nopții, cu o fotoperioadă de 12 ore, suplimentată cu lumină cu intensitatea de 160 mcE/m²/s, provenită din lămpi cu halogen, atunci când intensitatea luminoasă scădea sub 500 mcE/m²/s. Experimentul a durat 60 zile. Experimentul a fost organizat în bloc randomizat cu câte 4 repetiții pentru fiecare variantă, fiecare repetiție incluzând câte 5 plante. Ca produs de referință a fost folosiți peleți obținuți numai din lână semi-grosieră (Țigae) și din paie de grâu, fără amestec de vinasă și acid lactic. Variantele testate experimental au inclus și martori netratați la sol, și variante stresate hidric și nestresate. Variantele experimentale au fost:

V₁ – martor nestresat hidric, netratat cu peleți;

V₂ – martor stresat hidric, netratat cu peleți

V₃ – nestresat hidric, tratat cu peleți de referință, numai din lână și paie de grâu, distribuiți în primii 10 cm de sol, 10 grame peleți / vas (echivalent 2000 kg/ha);

V₄ – stresat hidric, tratat cu peleți tratat cu peleți de referință, numai din lână și paie de grâu. distribuiți în primii 10 cm de sol, 10 grame peleți / vas (echivalent 2000 kg/ha);

V₅ – nestresat hidric, tratat cu peleți cf. Ex.1, distribuiți în primii 10 cm de sol, 10 grame peleți / vas (echivalent 2000 kg/ha);

V₆ – stresat hidric, tratat cu peleți tratat cu peleți cf. Ex.1, distribuiți în primii 10 cm de sol, 10 grame peleți / vas (echivalent 2000 kg/ha);

Martorul nestresat hidric a fost udat o dată la cinci zile la 100% capacitate de câmp (55 ml la 1 kg substrat), iar variantele stresate hidric au fost udate la zece zile la 100% capacitate de câmp. La sfârșitul celor 60 zile de la transplantare s-a desființat experiența, determinându-se parametri morfologici ai plantelor, respectiv înălțimea plantelor, lungimea rădăcinii. Fructele recotate au fost cântărite. În fructe s-a determinat conținutul de licopen, prin metoda de lichid croamtografie descrisă de Barba et al. 2006. *Food chemistry* 95, 328-36). Datele au fost prelucrate prin analiza variantei (Statistica 10, StatSoft, Tulsa, OK, SUA).

Rezultatele sunt prezentate în tabelul 1 de mai jos. Aceste rezultate demonstrează efectul de biostimulant pentru plante al compoziției realizate conform invenției, care protejează plantele față de stresul hidric și care cresc calitatea recoltei (crescând conținutul de licopen)

Tab. 1. Influența tratamentelor cu compoziții biostimulante pe bază de lână, realizate conform invenției, asupra plantelor de tomate, stresate și nestresate hidric*.

Variantă experimentală	Înălțime plante (cm)	Lungime rădăcini (cm)	Suprafață frunze (mm ²)	Producție medie** (g fructe coapte / plantă)	Conținut licopen (mg/kg fruct proaspăt)
V ₁	56,05±1,84a	54,47±4,82ab	679,47±18,12a	305±48,6ab	270±18,6a
V ₂	46,04±3,24c	36,45±5,75c	507,08±12,37c	207±37,5c	252±32,6a
V ₃	52,30±2,58b	48,50±4,39b	672,63±16,28a	323±27,2a	253±28,2a
V ₄	48,50±3,90bc	46,70±5,83b	574,62±17,42b	287±36,6b	275,25± 32,4a
V ₅	58,20±2,47a	58,70±2,62a	694,61±7,74a	374±37,3a	326,72± 27,2b
V ₆	52,60±2,27b	54,22±4,27b	574,68±8,47ab	312±28,6ab	318,92± 23,5b

*Valorile urmate de aceeași literă nu diferă semnificativ pentru P>0,05; **Producția pe 30 zile ciclu de înflorire – fructificare

Revendicări

1. Compoziție de biostimulant pentru plante pe bază de lână conform invenției, **caracterizată prin aceea că** este alcătuită din 36 – 38% lână; 40% paie de grâu; 9,75 – 11,7% vinasă concentrată; 0,9% acid lactic și restul până la 100% apă reziduală.
2. Compoziție de biostimulant pentru plante pe bază de lână conform revendicării 1 **caracterizată prin aceea că** lâna este o lână tocată, cu fibre de 0,2-2 cm și cu o umiditate de maxim 10%, paietele de grâu au dimensiuni cuprinse între 0,5 – 2 mm și o umiditate de maxim 12%, iar vinasă concentrată are un conținut de substanță uscată de min. 28%, din care glicil-betaina 10 -12% și poliamine totale min. 1 %.
3. Procedul conform invenției **caracterizat prin aceea că** este alcătuit din următoarele etape: tocarea fibrelor de lână până la dimensiuni de 0,2 - 2 cm, și uscarea până la o umiditate de max. 10%, la o temperatură de 105°C, timp de 4 ore; Tocarea paietele de grâu până la dimensiuni cuprinse între 0,5-2 mm, și uscare până la o umiditate de max. 10% , la o temperatură de 180°C; amestecarea 9,75 – 11,7 părți vinasă concentrată cu 1,125 părți acid lactic 80% și menținerea timp de 6 ore la temperatura de 60°C, pentru a favoriza formarea eutecticului echimolar glicil-betaină : acid lactic; amestecare a 36 – 38 părți lână tocată și uscată, cu 40 părți paie de grâu uscate, și cu 10,875 - 12,825 părți amestec de vinasă concentrate și acid lactic 80%, la 45°C, timp de 4 ore, urmată de granularea prin uscare a amestecului, prin încălzire la 90°C timp de 2 ore și vacuum de 0,5 bari; compactarea amestecului lână tocată și uscată, paie de grâu, vinasă concentrată și acid lactic, prin presare într-o presă de peleți cu matrițe orizontale, la o presiune de 35 bari și o temperatură de 90°C, pentru a forma peleți cu lungimea de aprox. 15 mm și diametrul de 5...8 mm, și cu densitatea de cel puțin 750 kg.m⁻³.