



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00968**

(22) Data de depozit: **22/11/2017**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/11/2021** BOPI nr. **11/2021**

(41) Data publicării cererii:
30/05/2019 BOPI nr. **5/2019**

(73) Titular:

• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE TEXTILE ȘI
PIELĂRIE-SUCURSALA INSTITUTUL DE
CERCETARE PIELĂRIE- ÎNCĂLȚĂMINTE,
STR. ION MINULESCU NR.93, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:

• **GAIDAU CARMEN- CORNELIA,
STR. AL. PAPIU ILARIAN NR. 6, BL. 42,
SC. 2, AP. 53, ET. 6, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **NICULESCU MIHAELA DOINA,
ALEEA BARAJUL CUCUTENI NR. 8,
BL. M7A, SC. 2, ET. 1, AP. 25, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **EPURE DORU- GABRIEL, STR.CRIȘAN
NR.6, BL.G A 14, SC.B, AP.16, SLATINA,
OT, RO;**
• **BERECHET MARIANA-DANIELA,
ȘOS.BERCENI NR.16, BL.3, SC.1, AP.30,
ET.7, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **STEPAN EMIL, BD.TIMIȘOARA NR.49,
BL.CC6, SC.A, ET.3, AP.12, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:

**US 2015/0208694 A1; PAVEL MOKREJS,
ONDREJ KREJCI AND PETR SVOBODA,
"PRODUCING KERATIN HYDROLYSATES
FROM SHEEP WOOL", ORIENTAL
JOURNAL OF CHEMISTRY, No. 4, VOL. 27,
pp. 1303-1309, 2011; ONDREJ KREJCI,
PAVEL MOKREJS, SVATOPLUK SUKOP,
"PREPARATION AND
CHARACTERIZATION OF KERATIN
HYDROLYSATES", 2011; PAVEL
MOKREJS, ONDREJ KREJCI,
SVATOPLUK SUKOP AND PETR
SVOBODA, "CHARACTERIZATION OF
KERATIN HYDROLYZATES PREPARED
FROM SHEEP WOOL", ASIAN JOURNAL
OF CHEMISTRY, No. 19, VOL. 26, PP.
6523-6527, 2014; PAVEL MOKREJS,
ONDREJ KREJCI, PETR SVOBODA AND
VLADIMIR VASEK, "MODELING
TECHNOLOGICAL CONDITIONS FOR
BREAKDOWN OF WASTE SHEEP WOOL",
RASAYAN J. CHEM., No. 4, VOL.4,
PP. 728-735, 2011**

(54) **FERTILIZANT PE BAZĂ DE HIDROLIZAT DE CHERATINĂ
ȘI METODĂ DE OBTINERE**



1 Invenția se referă la un fertilizant pe bază de hidrolizat de cheratină pentru fertilizarea
foliară a plantelor de cereale, floarea soarelui, rapiței și pentru culturi în sistem ecologic, și
3 la metoda de obținere a acestuia, având aplicații în agricultură.

5 Cererea de brevet **US 2015/0208694 A1** descrie o metodă de degradare a cheratinei
din diverse materii prime, printre care și lâna, precum și utilizarea hidrolizatului de cheratină
la obținerea furajelor pentru animale.

7 **“Producing Keratin Hydrolysates from Sheep Wool” - PAVEL MOKREJS,
ONDREJ KREJCI and PETR SVOBODA, ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY, Vol. 27,
9 No. (4):Pg. 1303-1309**, descrie producerea hidrolizatului de keratină din lâna de oaie prin
tehnologia în două etape al cărei principiu constă în prelucrarea lânii într-un mediu alcalin
11 în prima etapă și apoi efectuarea hidrolizei în a doua etapă prin acțiunea proteolitică a
enzimei.

13 **“Preparation and Characterization of Keratin Hydrolysates” - ONDREJ KREJCI,
PAVEL MOKREJS, SVATOPLUK SUKOP (Mathematical Methods and Techniques in
15 Engineering and Environmental Science - ISBN: 978-1-61804-046-6308)**, descrie
tratamentul lânii prin hidroliza combinată în doi pași alcalin-enzimatic, în care lâna a fost
17 scindată mai întâi în soluția de hidroxid de calciu și după aceea lâna este hidrolizată de
enzima proteolitică Esperase 6.0 T.

19 **“Characterization of Keratin Hydrolyzates Prepared from Sheep Wool” - PAVEL
MOKREJŠ, ONDREJ KREJCI, SVATOPLUK SUKOP and PETR SVOBODA, Asian
21 Journal of Chemistry; Vol. 26, No. 19 (2014), 6523-6527**, prezintă un studiu asupra
maselor moleculare ale hidrolizatelor de cheratină în următoarele condiții de obținere: în
23 prima etapă a hidrolizei, acționând asupra lânii cu 0,6% KOH la 90°C timp de 48 h; în etapa
a 2-a de hidroliză, adăugând 1% (greutate/greutate) enzimă proteolitică Savinase 6 T și
25 agitând la 40°C timp de 24 h. În aceste condiții, eficiența de hidroliză este de 63% și se
prepară un hidrolizat care conține 11,5% N, 14,9% cenușă, 2,58% sulf și o porțiune mare de
27 fracțiuni moleculare intermediare. Hidrolizatului de cheratină poate fi utilizat, de exemplu,
pentru a produce materiale de ambalare (filme, acoperiri, capsule).

29 **“MODELING TECHNOLOGICAL CONDITIONS FOR BREAKDOWN OF WASTE
SHEEP WOOL” - Pavel Mokrejs, Ondrej Krejci, Petr Svoboda and Vladimir Vasek; Vol.
31 4, No. 4 (2011), 728-735 - RASAYAN J. Chem.**, se referă la prelucrarea hidrolitică a lânii
de oaie în două etape (pre-procesare alcalină și hidroliză enzimatică) în hidrolizat de
33 cheratină. Enzimele proteolitice utilizate au fost Esperase 6.0 T și Everlase 6.0 T. Modelarea
condițiilor tehnologice pentru degradare a continuat aplicând metoda testelor factoriale de
35 tip 2³, în care factorii studiați au fost dozele de Ca(OH)₂ (3-9%, g/g), temperaturile de
40-80°C, în prima etapă de procesare și temperaturile de 40-60°C în a doua etapă de
37 procesare, care influențează cantitatea de lâna descompusă.

39 Se cunosc procedee de hidroliză a subproduselor de abatorizare, inclusiv pene,
copite și coarne [**US 4201564 A**], care utilizează hidroxid de potasiu sau pepsina pentru
realizarea unui fertilizant organic care se aditivează cu compuși anorganici pe bază de azot,
41 fosfor, fier, magneziu, cu compuși organici (acid giberelic, melasă, gumă) și conservanți
(borax sau benzoat de sodiu) pentru fertilizarea plantelor.

43 Alte documente tip brevet se referă la modificarea cheratinei extrase din pene, păr
sau lâna prin succinilare sau cuaternizare pentru utilizare în industria produselor cosmetice
45 [**EP 2215105 A1**]. Procedee complexe [**US 2591945 A**] prevăd pre-tratamente cu acid
sulfuric urmate de tratamente de reducere a grupelor sulfidice ale cheratinei prin utilizarea
47 sulfidului de sodiu și sulfurii de sodiu pentru obținerea unei dispersii de proteină cu utilizări
în industria farmaceutică, alimentară, ca agent de fixare a coloranților, pigmenților, anticoro-
49 ziv, emulgator sau agent tampon.

RO 133338 B1

În cererea de brevet **WO 2010114938 A1** sunt descriși șase pași pentru hidroliza cheratinei din lână, în care sunt incluse etape de înmuiere, acidifiere, tratare cu sulfat de cupru și hidroxid de sodiu, reducere cu sulfiți, presurizare și tratare enzimatică timp de 20 h pentru a obține o dispersie cu cantitate mare de cisteină pentru uz cosmetic. Cheratina reprezintă pentru produsele cosmetice un aditiv cu afinitate pentru piele și capacitate de a reține apa.

Într-un alt document brevet [**US 2004134248 A1**] se prezintă cheratina insolubilă sau sub formă de hidrogel, oxidată cu apă oxigenată sau acid peracetic și amestecată cu ioni metalici din grupa macro sau microelementelor, ca amendament de sol valoros.

În brevetul **US 8500841 B2** este utilizată cheratina din pene care este solubilizată cu hidroxid de potasiu timp de 20 h și aditivată cu macro și microelemente ca un fertilizant valoros, sub formă coloidală în combinație cu acizi humici.

Documentul brevet **US 9249061 B2** subliniază necesitatea utilizării fertilizanților organici naturali în mediu urban ca urmare a poluării apelor cu nitriți și metale provenind din fertilizanții clasici, cunoscut fiind ca numai 33% din fertilizanți sunt reținuți de plante. Soluția propusă este o combinație dintre microbi care stimulează bacteriile și fungii generatoare de azot și un substrat care eliberează azot datorită acestora, acest substrat fiind cheratina din pene.

Problema tehnică pe care își propune să o rezolve invenția, o reprezintă obținerea unui fertilizant organic pe bază de hidrolizat de cheratină, aplicat radicular sau foliar în culturile cerealelor, plantelor de floarea soarelui sau rapiței și la o metodă rapidă și simplă de realizare a acestuia.

Avantajele pe care le prezintă soluția tehnică propusă de prezenta invenție constau în:

- hidrolizatul de cheratină ca fertilizant organic valorifică o resursă regenerabilă, lâna de ovine, care reprezintă în bună parte un deșeu;

- cheratina prezintă o compoziție de aminoacizi în care aminoacizii cu sulf, respectiv cisteina poate reprezenta o sursă pe termen lung de sulf organic pentru diverse etape de dezvoltare a plantelor care au un necesar special de sulf: cerealele, floarea soarelui și rapiță;

- aminoacizii din cheratină pot stimula creșterea plantelor de la faza de germinație, permițând astfel reducerea concentrației de pesticide și insecticide;

- cheratina poate stimula dezvoltarea microorganismelor generatoare de azot din sol;

- cheratina prin proprietățile de a reține apa în proporție de până la 35% din masa sa constituie un rezervor de umiditate care protejează planta împotriva schimbărilor climatice și secetei;

- cheratina este amfoteră și permite adaptarea mediului la schimbări de pH, acționând ca un tampon;

- cheratina are proprietăți de a complexa metalele și deci de a reține microelementele;

- cheratina este miscibilă cu hidrolizat de collagen, cu macroelemente și microelementele putând intra în formulări de fertilizanți de sol sau foliari;

- procedeul de solubilizare al cheratinei este mult mai simplu și cu consum redus de materiale și energie, comparativ cu procedeele cunoscute în literatura de brevete, permite obținerea de hidrolizate de cheratină cu mase moleculare mari (prin hidroliza alcalină) și cu mase moleculare mici (prin hidroliza chimico-enzimatică), pentru diverse formulări de fertilizanți, în funcție de tipul de plante și etape de fertilizare.

RO 13338 B1

1 În continuare sunt prezentate 2 exemple de realizare a hidrolizatorilor de cheratină cu
mase moleculare diferite, care pot asigura eliberarea pe termen mai lung sau mai scurt a
3 azotului organic, aminoacizilor inclusiv a celor care au conținut de sulf (cisteina) cu rol
important în metabolismul plantelor de cereale, floarea soarelui sau rapiței. Hidrolizatele de
5 cheratină, ca și cele de collagen au capacitatea de a reține apa, de a tampona variațiile de
pH, contribuind astfel la adaptabilitatea plantelor în condiții pedoclimatice diverse.

7 Exemplul 1

8 Lâna brută de ovine este degresată într-un butoi automatizat prin spălare în 300%
9 (% de masă) apă la temperatura de 60°C cu 1,5% amoniac 25% concentrație, 1% carbonat
de sodiu și 0,8% detergent de tip alcool gras polietoxilat, timp de 3 h cu agitare. Operația se
11 repetă dacă lâna este foarte murdară sau grasă. Apoi lâna se clătește cu 300% apă de 40°C
până la pH 7 se scurge, se stoarce și se toacă la o mașina tip La Minerva. Lâna tocată se
13 încarcă într-un vas de reacție prevăzut cu manta, agitator și sistem automat de reglare a
temperaturii, se adaugă 300% apa care se încălzește la 80°C, 10% hidroxid de sodiu fulgi
15 și se agită timp de 4 h când se controlează gradul de solubilizare al cheratinei. Se aduce
valoarea de pH la 7 cu acid formic diluat 1:10 sau cu acid azotic diluat 1:10 prin agitare. Se
17 descarcă din vasul de reacție hidrolizatul de cheratină care se decantează și se filtrează.
Produsul obținut se poate utiliza ca atare sau se poate concentra prin rotaevaporare și
19 reprezintă un hidrolizat de cheratină cu masa moleculară cuprinsa între 25000 Da și 11000
Da, compatibil cu hidrolizat de collagen, macronutrienți anorganici și microelemente în
21 formulări pentru fertilizare radiculară sau foliară. Testările indică o stimulare a creșterii
plantelor de cereale în faza de vegetație a plantelor de grâu în cazul utilizării numai a hidroli-
23 zatului de cheratină. Fertilizarea foliară cu combinații de cheratină, collagen, macronutrienți
și microelemente anorganice conduce de asemenea la stimularea creșterii plantelor de grâu.

25 Exemplul 2

26 Hidrolizatul de cheratină obținut prin hidroliza alcalină cu metoda descrisă în exemplul
27 1, înainte de reglarea pH-ului, se aduce pH-ul la valoarea 8 cu acid formic 1:10, se reglează
temperatura la 60°C și se adaugă 1% Alcalase 2,5 L sau 0,5% Protamex, cu agitare continua
29 timp de 3 h. Hidroliza enzimatică se dezactivează prin încălzire la 90°C, timp de 10 min. Se
verifică valoarea de pH și se ajustează la 7 cu acid sulfuric diluat 1:10. Hidrolizatul de
31 cheratină se descarcă din vasul de reacție, se decantează și se filtrează. Produsul obținut
se poate utiliza ca atare sau se poate concentra prin rotaevaporare și reprezintă un hidrolizat
33 de cheratină cu masa moleculară cuprinsă între 2000 Da și 6000 Da compatibil cu hidrolizatul
de collagen, macronutrienți și microelemente anorganice în formulări pentru fertilizarea
35 radiculară sau foliară a plantelor de cereale, floarea soarelui, rapiță și alte tipuri de plante.

1. Procedeu de obținere a hidrolizatorilor de cheratină din lâna de oaie **caracterizat prin aceea că**, pentru solubilizarea cheratinei din lâna de oaie, aceasta se degresează și se hidrolizează alcalin cu 10% hidroxid de sodiu, timp de 4 h la 80°C, apoi:
- se ajustează valoarea pH-ului la 7 cu acid formic diluat 1:10 sau acid azotic diluat 1:10 prin agitare, se decantează, se filtrează și/sau se concentrează prin evaporare, când se obține un hidrolizat alcalin de cheratină cu masa moleculară cuprinsă între 11000...25000 Da;
 - sau se ajustează pH-ul la 8 cu acid formic 1:10, se reglează temperatura la 60°C, se adaugă 1% Alcalase 2,5 L sau 0,5% Protomex, cu agitare continuă timp de 3 h, se dezactivează enzima prin creșterea temperaturii la 90°C timp de 10 min, se ajustează valoarea pH-ului la 7 cu acid sulfuric 1:10, se decantează și se filtrează, obținându-se un hidrolizat alcalino-enzimatic de cheratină cu masa moleculară cuprinsă între 2000...6000 Da, care sunt utilizate ca atare sau în amestec cu hidrolizat de colagen, macro și micronutrienți anorganici, ca fertilizant radicular sau foliar în cultura plantelor de cereale, floarea soarelui și rapiță.
2. Fertilizant radicular sau foliar utilizat în cultura plantelor de cereale, floarea soarelui și rapiță, pe bază de hidrolizate de cheratină având masa moleculară cuprinsă între 11000...25000 Da obținut prin hidroliză alcalină, sau cu masa moleculară cuprinsă între 2000...6000 Da obținut prin hidroliză alcalino-enzimatică, obținut conform procedurii descrise în revendicarea 1.

