



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2019 00741**

(22) Data de depozit: **14/11/2019**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/11/2023** BOPI nr. **11/2023**

(41) Data publicării cererii:
30/10/2020 BOPI nr. **10/2020**

(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:
• **NICULESCU MIHAELA DOINA,
ALEEA BARAJUL CUCUTENI NR. 8,
BL. M7A, SC. 2, ET. 1, AP. 25, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ENĂȘCUȚĂ CRISTINA EMANUELA,
STR. SABINELOR NR. 106, BL. 115, ET. 6,
AP. 25, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **GÎDEA MIHAI, DRACEA, TR, RO;**
• **EPURE DORU-GABRIEL, STR.CRIȘAN
NR.6, BL.G A 14, SC.B, AP.16, SLATINA,
OT, RO;**
• **GAIDĂU CARMEN CORNELIA,
STR. ALEXANDRU PAPIU ILARIAN NR. 6,
BL. 42, SC. 2, AP. 53, ET. 6, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BECHERITU MARIUS,
STR.SERG.MAJ.VASILE TOPLICEANU
NR.14, BL.P 39, SC.2, AP.35, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**RO 132575 B1; RO 133338 A2;
RO 133376 A2**

(54) **PROCEDEU DE OBȚINERE A UNOR BIOCOMPLECȘI
PE BAZĂ DE COLAGEN ȘI CHERATINĂ PENTRU
STIMULAREA GERMINAȚIEI SEMINȚELOR ȘI A NUTRIȚIEI
PLANTELOR DE RAPIȚĂ**



RO 134470 B1

1 Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor biocomplecși pe bază de
2 gelatină și hidrolizat de colagen din piele bovină și hidrolizat de cheratină din lână de ovine,
3 recuperate din subproduse industriale, ce pot fi utilizate pentru tratarea semințelor de rapiță,
4 în vederea stimulării germinației și nutriției plantelor, în scopul reducerii aportului de pesticide
5 în tratamentele curente ale culturilor și creșterea calității semințelor.

6 Este deja demonstrat ca realizarea de extracte de colagen cu conținut de aminoacizi,
7 **RO 126673 A2**, poate fi o alternativă pentru stimularea nutriției și dezvoltarea culturilor horti-
8 cole **RO 132575 AO** și sunt deja cunoscute produse comerciale pe bază de proteine din
9 resurse vegetale și animale pentru fertilizarea plantelor în sistem ecologic. Sunt cunoscute
10 și realizările privind stimularea și fertilizarea culturilor de cereale cu produse pe bază de cola-
11 gen, **RO 131871 A2**, precum și cele pentru creșterea producției de semințe de rapiță prin
12 aplicarea produselor pe bază de colagen în etapele finale de vegetație, pentru stimularea
13 maturării semințelor, îmbunătățirea calității și creșterea randamentul culturii **RO 132408 A2**.

14 **RO 132575 A0** descrie un procedeu de realizare a unei compoziții peliculogene
15 pentru aplicații în tratamente agricole în vederea stimulării germinației, nutriția plantelor și
16 reducerea aportului de pesticide.

17 **RO 133338 A2** descrie un fertilizant pe bază de hidrolizat de cheratină utilizat pentru
18 nutriția plantelor de cereale, floarea soarelui și rapiță și procedeul său de obținere care
19 presupune degresarea cheratinei din lână de ovine și hidroliza alcalină cu 10% hidroxid de
20 sodiu timp de 4 h la 80°C ajustarea pH-ului la 8, când rezultă un hidrolizat de cheratină cu
21 masă moleculară medie de 11000...25000Da sau se continuă hidroliza enzimatică la 60°C
22 cu 1% Alcalaze 2,5l sau Protamex timp de 3h când rezultă hidrolizat de cheratină de masă
23 moleculară medie de 2000...6000Da, hidrolizatele se filtrează și/sau concentrează prin
24 evaporare și sunt compatibile cu hidrolizat de colagen, macronutrienți sau microelemente
25 anorganice din formulările de fertilizanți.

26 **RO 133376 A2** se referă la o compoziție pe bază de hidrolizat de colagen și metodă
27 de obținere a acesteia, pentru acoperirea semințelor de plante leguminoase. Hidrolizatului de
28 colagen se poate folosi ca strat interior al compoziției de peletizare cu adăugare de substanțe
29 de protecție ca de ex. fungicide și aditivi minerali sau organici care stimulează germinația
30 semințelor de leguminoase.

31 Se cunosc procedee, **US 20130225403 A1**, pentru tratarea semințelor de cereale cu
32 amestecuri pe bază de polizaharide, cu efecte insecticide și fungicide. Alte metode de tratare
33 a semințelor de cereale, **US 4886541 A**, urmăresc exploatarea proprietăților chitosanului
34 pentru creșterea producției de plante, grosimea rădăcinii și îmbunătățirea rezistenței tulpinii.
35 Procedeele disponibile, care folosesc colagen, se referă de asemenea la producția de
36 cereale, **EP 3170393 A1**, sau folosesc colagenul în asociere cu substanțe de sinteză
37 chimică, **RO 133337 A2**, ce conduc la creșterea amprentei de carbon.

38 Dezavantajele acestor metode de tratare constau în informații incomplete legate de
39 reducerea cantităților de insecto-fungicide administrate în culturile horticole, informații
40 incomplete referitoare la reproductibilitatea rezultatelor obținute în urma testării la scara de
41 referință redusă, precum și complexitatea materialelor utilizate în compoziții, conținutul de
42 materiale scumpe și cu impact semnificativ asupra mediului atât prin producția lor cât și prin
43 rata de biodegradare, sau se adresează aplicațiilor specifice producției de cereale.

44 În momentul de față există multe cercetări referitoare la materialele biopolimerice
45 realizate din proteine extrase din resurse primare de colagen. S-a studiat folosirea colage-
46 nului în cosmetică [1, 2] pentru produse de curățare și întreținere, șampon, creme, lacul de
47 unghii, machiaj, produse pentru ondulat părul; pentru obținerea foliilor alimentare și de uz

RO 134470 B1

agricol [3, 4]; obținerea surfactanților [5-7]; adezivi de tip aminoplaste pentru limitarea emisiilor de formaldehidă din filmele adezive tratate termic [8, 9]; în vinificație [10] pentru precipitarea polifenolilor. Pentru agricultură există studii pentru remedierea solului și fertilizarea culturilor agricole [11, 12]; tratarea semințelor de cereale pentru stimularea germinației și reducerea cantităților de insecto-fungicide [13, 14]; reducerea dehidescenței silicvelor în culturile de rapiță [15]; tratarea foliară a viței de vie [16].

Există și cercetări referitoare la extracția cheratinei din diverse resurse fără valoare economică: pene de pasări [17], lână [18], păr uman, păr de porc, păr de iepure [19], păr de capră [20], pentru valorificarea acestor extracte, în aplicații biomedicale, cosmetice, alimentare, agricole [21-23].

În contextul promovării economiei circulare, utilizarea proteinelor din resursele secundare de collagen și cheratină, cum sunt subprodusele din industria de prelucrare a pieilor naturale, reprezintă o alternativă economică viabilă, cu atât mai mult cu cât resursele secundare provin dintr-o materie primă generată în bioeconomie, iar produsele rezultate din acestea se pot adresa deopotrivă bioeconomiei, dar și altor ramuri industriale sau de nișă.

Se cunosc procedee brevetate pentru obținerea collagenului: din piele animală (**KR 1960301 B1**) printr-o succesiune de procese privind pretratarea, extracția, rafinarea prin schimb ionic și concentrarea prin ultrafiltrare; din tendon bovin (**CN 103333241 A**) prin extracție acidă asociată cu procese succesive de congelare, decongelare, ultrasonare, filtrare, centrifugare, liofilizare; din oase de bovină prin (**CN 106480142 A**) printr-o succesiune de operații mecanice, termice la temperaturi mari, cataliza enzimatică indusă de un complex de enzime, operații de ultrafiltrare și atomizare; din deșeuri de piele tăbăcită, prin hidroliza alcalină (**US 4483829**, **US 4100154**), sau prin cataliza enzimatică (**US 5094946**, **RO 126673 A2**), în vederea folosirii ca nutrient în culturi agricole, în alimentația animalelor, în compoziția unor preparate cosmetice. Alte procedee propun extracția din piele de porc (**CN 109554422 A**).

Aceste procedee prezintă următoarele dezavantaje:

- ultrafiltrarea și liofilizarea sunt procese lente și costisitoare;
- ultrasonarea la nivel industrial necesită echipamente speciale, destul de costisitoare;
- atomizarea implică temperaturi > 100°C conduce la costuri energetice suplimentare și denaturează polidispersitatea fragmentelor proteice extrase;
- hidroliza alcalina conduce la extracte cu pH > 10 care necesită amendări ulterioare și implicit creșterea conținutului de săruri;
- extracția collagenului din piele de porc, necesită operații suplimentare pentru separarea grăsimii.

Problema tehnică pe care o rezolvă prezenta invenție constă în stimularea germinației semințelor de rapiță pentru a favoriza creșterea biomasei plantulelor, concomitent cu reducerea cantității de pesticide folosite în tratamentele clasice.

Procedeele de obținere a unui biocomplex pe bază de collagen și cheratină aplicat ca strat exterior pe suprafața semințelor de rapiță, constă din următoarele etape:

- extragerea gelatinei din fragmente de piele bovină semiprelucrată, netăbăcită, la un raport solid/lichid de 1:5, după corectarea pH-ului cu acid acetic 20%, până la valoarea de 5,8 ± 0,2, sub agitare continuă, la temperatura de 75...85°C, timp de 5...9 h, răcire liberă a masei de reacție până la temperatura ambiantă, apoi forțat la 4...6°C timp de 20...24 h pentru coagulare, detașarea și îndepărtarea stratului cu reziduuri de la bază, concentrare sub vid, la temperatura de 75...85°C, până la o concentrație de substanță uscată de 15...18%;
- extragerea hidrolizatului de cheratină din lână de ovine degresată, tocată și dispersată în apă, la un raport solid/lichid de 1:20, sub agitare la temperatura de 80°C timp de 1...3 h, adăugare 2...7% hidroxid de calciu și 2...7% hidroxid de potasiu, ridicarea

RO 134470 B1

1 temperaturii la 85...95°C și agitare timp de 3...7 h, răcire liberă și menținere static timp de
32...48 h fără aport de căldură, reglare pH = 8,0 cu soluție 20% acid oxalic sub agitare
3 continuă, încălzire la 55...70°C, dozare 1...3% Protamex și agitare timp de 2...5 h la
temperatura de 55...70°C, dezactivare enzima prin ridicarea temperaturii la 90°C cu agitare
5 timp de 15 min, decantare timp de 16-24 h, filtrare cantitativă și concentrare la un raport 5:1;
- realizarea biocomplexului pe bază de colagen și cheratină din gelatina obținută în
7 etapele anterioare, în cantitate reprezentând 50...65% din masa totală de biocomplex
preparat, încălzită la 50-65°C, aditivată cu 10...15% Glicerol sub agitare timp de 15 min,
9 peste care se adaugă hidrolizatul de cheratină obținut în etapele anterioare, în cantitate
reprezentând 15...20% din masa totală de biocomplex preparat, încălzit la 50-65°C și sub
11 agitare timp de 20 min, aditivat cu 0,5...5,0% amestec 1:1 uleiuri esențiale de *Thymus*
vulgaris L și *Cinnamomum verum*, agitare amestec timp de 20 min la 50...65°C, adăugare
13 10...15% extract tanant de *Caesalpinia spinosa* cu conținut de 5...15%6 substanțe tanante,
adăugare 4...10% apă oxigenată cu concentrația 30%, agitare la 50...65°C timp de 1...2 h,
15 răcire în forme, obținându-se un biocomplex, care se solubilizează în apă caldă de 40-60°C
pentru a fi aplicat ca nou strat exterior bioactiv, pe suprafața semințelor de rapiță drajate cu
17 compoziții practicate în mod curent.

Procedeul de obținere a unui biocomplex cu colagen și cheratină aplicat ca strat
19 interior pe suprafața semințelor de rapiță, constă din următoarele etape:

- extragerea gelatinei din fragmente de piele bovină semiprelucrată, netăbăcită, la un
21 raport solid/lichid de 1:5, după corectarea pH-ului cu acid acetic 20%, până la valoarea de 5,8
± 0,2, sub agitare continuă, la temperatura de 75...85°C, timp de 5...9 h răcire liberă a masei
23 de reacție până la temperatura ambiantă, apoi forțat la 4...6°C timp de 20...24 h pentru
coagulare, detașarea și îndepărtarea stratului cu reziduuri de la bază, concentrare sub vid,
25 la temperatura de 75...85°C, până la o concentrație de substanță uscată de 15...18%;

- prelucrarea gelatinei extrase în etapa anterioară, după ce a fost tocată, dispersată
27 în apă la un raport 1:1, cu pH = 8 reglat cu soluție 1 N hidroxid de sodiu, care se hidrolizează
enzimatic cu 1...2% Protamex, la temperatura 55...70°C, sub agitare 1...3 h, dezactivare
29 enzimă prin ridicarea temperaturii la 90°C, sub agitare timp de 15 min, obținându-se un
hidrolizat de colagen;

- realizarea biocomplexului cu colagen, din hidrolizat de colagen obținut în etapa
31 anterioară, care se amestecă în proporție de 15...20%, cu 1,5...3,5% ulei esențial de
33 *Rosmarinus officinalis*, cu 1,5...2,5% complex de oligoelemente Cu, Zn, Mg, Mn, Cu, Mo, B
chelatare cu EDTA, cu 2,0...3,5% uree, obținându-se un biocomplex care se aplică pentru
35 formarea unui strat interior aplicat pe suprafața semințelor de rapiță nedrajate, care ulterior
se acoperă cu un strat exterior, format dintr-un amestec practicat în mod curent, pentru a
37 forma un nou tip de crustă de drajare a semințelor de rapiță.

Biocomplexul pe bază de gelatină și hidrolizat de cheratină, obținut conform
39 revendicării 1, are în compoziție 50...65% gelatina obținută conform revendicării 1, 10-15%
Glicerol, 15-20% hidrolizat de cheratină obținut conform revendicării 1, 0,5...5,0% amestec
41 1:1 uleiuri esențiale de *Thymus vulgaris* L și *Cinnamomum venim*, 10-15% extract de
Caesalpinia spinosa cu conținut de 5...15% substanțe tanante, 4...10% apă oxigenată cu
43 concentrația 30%, care se folosește pentru formarea unui nou strat exterior, bioactiv, pe
suprafața semințelor de rapiță drajate cu compoziții practicate în mod curent, pentru biosti-
45 mulare, creșterea energiei germinative și a nutriției plantelor, în scopul reducerii aportului de
pesticide de sinteza și a creșterii calitative și cantitative a producției de semințe.

RO 134470 B1

Biocomplexul pe bază de gelatină și hidrolizat de colagen, obținut conform revendicării 2, are în compoziție 15...20% hidrolizat de colagen obținut conform revendicării 2, 1,5...3,5% ulei esențial de <i>Rosmarinus officinalis</i> , 1,5...2,5% complex de oligoelemente Cu, Zn, Mg, Mn, Cu, Mo, B chelatare cu EDTA, 2,0...3,5% uree, care se folosește pentru formarea stratului interior, primului strat aplicat pe suprafața semințelor de rapiță nedrajate, care ulterior se acoperă cu un strat exterior format dintr-un amestec practicat în mod curent, cele două straturi de acoperire, formând un nou tip de crustă de drajare pe suprafața semințelor, pentru biostimulare, creșterea energiei germinative și a nutriției plantelor, în scopul reducerii aportului de pesticide de sinteză și a creșterii calitative și cantitative a producției de semințe.	1 3 5 7 9
Pentru aplicarea noilor produse se estimează efecte economice și ecologice mari, datorită trendului ascendent al cerințelor pentru produse ecologice, care să conserve calitatea solului și pentru a compensa efectul eliminării pesticidelor de sinteză de tip neonicotinoide (interzise în Uniunea Europeană) și luând în calcul faptul că resursele secundare de colagen și cheratină au valoare economică zero.	11 13
Prezenta invenție rezolvă problema tratării semințelor de rapiță cu substanțe de sinteză chimică, de tip neonicotinoide, cu impact devastator asupra coloniilor de albine, prin realizarea de compoziții multifuncționale fără insecticide de sinteză, cu acțiune sistemică, care pot stimula germinația, care formează un strat polimeric de colagen pe suprafața semințelor, care are capacitatea de absorbiție a apei datorită caracterului amfoter și care în timp, datorită biodegradabilității, eliberează aminoacizi din structura oligopeptidelor și a polipeptidelor. Aminoacizii eliberați sunt de origine naturală, sunt ușor asimilabili și manifestă proprietăți nutritive prin conținutul de azot și sulf organic.	15 17 19 21
Avantajele evidențiate de testele experimentale de tratare a semințelor de rapiță cu biocomplecși pe bază de colagen și cheratină sunt următoarele:	23
- creșterea energiei germinative a semințelor cu minimum 5% față de mărtoșul netratat;	25
- creșterea rezistenței la secetă datorită permeabilității mai mari pentru imbițiția cu apă a semințelor cu grosime mică și medie a cuticulei;	27
- creșterea biomasei plantulelor cu minimum 10% față de mărtoșul netratat;	29
- creșterea rezistenței la atacul insectelor și a fungilor;	
- stimularea creșterii plantelor în soluri afectate de carențe hidro-nutriționale;	31
- creșterea calității semințelor provenite din culturi experimentale, în care semințele au fost tratate cu biocomplecși înainte de însămânțare, exprimată prin conținutul de ulei, care a avut o creștere de 10-25% (în funcție de soiurile de semințe testate) față de mărtoșul netratat;	33 35
- îmbunătățirea calității solului după recoltare.	
Principalele caracteristici ale compozițiilor complexe cu colagen și cheratină brevete sunt:	37
- conținut de azot de minimum 16%, cuprins în structura unei palete largi de aminoacizi, oligopeptide și polipeptide;	39
- proprietăți antibacteriene, induse de conținutul de polifenoli din extractul de <i>Caesalpinia spinosa</i> ;	41
- permeabilitate la vapori de apă a peliculelor formate de minimum 1 mg/24 h;	43
- proprietăți hidrofile, peliculele prezentând un unghi de contact cu apa < 90°;	
- biodegradare controlată a peliculelor, fără emisie de substanțe nocive și cu eliberarea de aminoacizi: glutamina, alanina, glicina, leucina, metionina etc, cu rol esențial în metabolismul plantelor și în mecanismele de adaptare la condiții pedo-climatice nefavorabile (pH-uri extreme, deficit de umiditate, variații mari de temperatură etc).	45 47

RO 134470 B1

1 Procesul de realizare a gelatinei din subproduse de colagen, care este baza structurii,
permite obținerea de componente cu mase moleculare medii și mari în limite controlate, prin
3 procesare termică compactă a subproduselor de piele bovină semiprelucrată.

5 Procesul de realizare a hidrolizatului de colagen permite obținerea de componente
cu mase moleculare mici și medii în limite controlate, prin procesarea enzimatică a gelatinei.

7 Procesul de extracție a cheratinei permite obținerea de componente cu mase
moleculare mici și medii, prin hidroliza termo-chimică și enzimatică a subproduselor de lână
de ovine.

9 Procesul de reticulare-aditivare a extractelor de colagen și cheratina este compact
și implică produse de origine vegetală, polifenoli reticulanți din extractul de pulbere din pastai
11 de *Caesalpinia spinosa*, principii fungicide (chimiotipul linalool, chimiotipul geraniol) conținute
în uleiuri esențiale de *Thymus vulgaris* L și principii insecticide (cumarina, aldehida cinamică)
13 conținute în uleiuri esențiale de *Cinnamomum verum*.

15 Procesul de realizare a biocomplecșilor pe bază de colagen și cheratină permite
obținerea de biocomplecși pentru formarea stratului exterior bioactiv a semințelor de rapiță
drajate, sau biocomplecși pentru formarea stratului interior de acoperire a semințelor de
17 rapiță nedrajate.

19 Pe lângă problema importantă a proceselor specifice de extracție a polipeptidelor,
oligopeptidelor și a aminoacizilor liberi, intervine necesitatea asigurării anumitor proprietăți
chimice și fizice specifice aplicației căreia i se adresează materialul proteic. Pentru asigu-
21 rarea performanțelor specifice, sunt necesare prelucrări suplimentare ale extractelor proteice
de bază, care să conducă la inducerea unor funcționalități privind structurarea sub formă de
23 peliculă, pe suprafața semințelor, gradul de reticulare și rata de biodegradare, compoziția de
amioacizi eliberați, compoziția de principii active cu proprietăți insecto-fungicide.

25 Soluția tehnică oferită de prezenta invenție constă din obținerea unui biocomplex cu
gelatină și cheratină extrase din resurse secundare, reticulate cu extract tanat de *Caesalpinia*
27 *spinosa* [24] și aditivate cu principii active naturale cu efecte insecto-fungicide conținute în
uleiuri esențiale de *Thymus vulgaris* L și *Cinnamomum verum*, pentru acoperirea cu un strat
29 suplimentar, bioactiv, a semințelor de rapiță drajate cu compoziții practicate în mod curent
și a unui biocomplex cu hidrolizat de colagen în combinație cu ulei esențial de *Rosmarinus*
31 *officinalis*, oligoelemente (Cu, Zn, Mg, Mn, Cu, Mo, B) chelatare cu EDTA și uree, pentru
stratul interior de drajare a semințelor de rapiță, care ulterior se va acoperi cu un strat de
33 lianți în amestec cu materiale pentru aderență și umplere, format din carboximetilceluloză,
hidroximetilceluloză, dextrină, diatomită, bentonite și carbonat de calciu.

35 Gelatina extrasă din piele bovină semiprelucrată, este formată din polipeptide și
cantități mici de oligopeptide și se obține conform prezentei invenții, printr-un procedeu de
37 hidroliză termică și a deșeurilor de piele bovină semiprelucrată.

39 Procesul de extragere a gelatinei se desfășoară în vase de reacție termostatate,
echipate cu sistem de agitare și cu sistem de încălzire-răcire prin manta.

41 Materia primă constă în fragmente reziduale de piele semiprelucrată netăbăcită, cu
următoarele caracteristici: materii volatile maximum 80%, substanță dermică de minimum
80% (raportat la produsul liber de substanțe volatile), restul fiind constituit din săruri provenite
43 din etapele preliminare de pregătire a suportului colagenic.

45 Fragmentele de deșuri de piele netăbăcită, analizate din punct de vedere al
conținutului de substanțe volatile, azot total, substanță dermică, sunt tocate, spălate cu apă
rece de 10-15°C și sunt dispersate în apă și se supun unui regim termic, sub agitare.

RO 134470 B1

Extracția gelatinei se desfășoară în etapă unică, la un raport solid/lichid de 1:5 sub
agitare continuă, după corectarea pH-ului cu acid acetic 20%, până la valoarea de $5,8 \pm 0,2$,
la temperatura de 75...85°C, pe o durată de 5...9 h. Masa de reacție se supune răcirii libere
până la temperatura ambiantă, apoi răcirii forțate la 4...6°C timp de minimum 20 h.

După coagulare, se detașează stratul cu reziduuri de la bază, iar gelatina colectată,
se concentrează sub vid, la temperatura de 75...85°C, până la o concentrație de minimum
15%.

Lâna de ovine degresată, analizată din punct de vedere al conținutului de substanțe
volatile, azot total, substanța dermică, este tocată și dispersată în apă cu temperatura de
80°C. Extracția cheratinei se desfășoară printr-un proces compact, în care dispersia de lână
în apă la un raport solid/lichid de 1:20 se menține sub agitare la temperatura de 80°C timp
de 1-3 h, se adaugă 2-7% hidroxid de calciu și 2-7% hidroxid de potasiu, se ridică
temperatura la 85-95°C și se agită timp de 3-7 h, apoi suspensia, se supune răcirii libere și
se menține static timp de 32-48 h fără aport de căldură. Sub agitare continuă, se reglează
pH = 8,0 cu soluție 20% acid oxalic, se încălzește la 60°C, se dozează 1...3% Protamex și
se agită timp de 4 h la temperatura de 60°C, apoi se dezactivează enzima prin ridicarea
temperaturii la 90°C cu agitare timp de 15 min. Se decantează timp de 16-24 h, iar
decantatul se filtrează cantitativ, apoi se concentrează la un raport 5:1.

Gelatina concentrată, ca atare se folosește pentru realizarea biocomplexului pentru
acoperirea semințelor de rapiță drajate cu compoziții practice în mod curent, iar gelatina
procesată prin tocare, dispersare în apă la un raport 1:1, încălzire la 55...70°C, reglare
pH = 8 cu soluție 1 N hidroxid de sodiu și hidroliza enzimatică folosind 1...2% Protamex, cu
agitare 1...3 h, după care se dezactivează enzima prin ridicarea temperaturii la 90°C cu
agitare timp de 15 min, pentru obținerea unui hidrolizat de colagen folosit ca atare pentru
realizarea biocomplexului pentru stratul interior de drajare a semințelor de rapiță.

Procedeele de realizare a biocomplexurilor cu gelatină și hidrolizat de cheratină, sau
cu hidrolizat de colagen, extrase din deșeuri de piele și lână, conform invenției, elimină
dezavantajele menționate anterior prin aceea că:

- folosește reziduuri din industria de pielărie fără valoare economică;
- nu folosește materiale chimice nocive;
- pregătirea deșeurilor de piele și a lânii pentru extracție se poate realiza simplu, prin
tocare în mașini similare celor din industria alimentară;

- folosește procese compacte de extracție termică a gelatinei din deșeuri de piele
semiprelucrată la un raport solid/lichid de 1/5, la temperatura de 75...85°C, timp de 5...9 h,
sub agitare continuă;

- folosește un proces enzimatic pentru obținerea hidrolizatului de colagen din
gelatina, la un raport solid/lichid de 1/1, în care se reglează pH = 8 cu soluție 1 N hidroxid
de sodiu și se hidrolizează cu 1...2% Protamex, la temperatura 55...70°C, timp de 1...3 h, sub
agitare continuă;

- folosește procese compacte de extracție alcalino-enzimatică a cheratinei din deșeuri
de lână la un raport solid/lichid de 1/20, în care pentru hidroliza alcalină se folosește 2...7%
hidroxid de calciu și 2...7% hidroxid de potasiu, la temperatura la 85...95°C timp de 3...7 h,
sub agitare și timp de 32...48 h static fără aport de căldură, pentru reglarea pH = 8,0 se
folosește o soluție 20% acid oxalic, pentru hidroliza enzimatică se folosește 1...3% Protamex
la temperatura 55...70°C timp de 2...5 h sub agitare continuă;

- folosește procese simple pentru obținerea biocomplexurilor cu colagen și cheratină
pentru stratul exterior sau stratul interior de drajare a semințelor de rapiță;

RO 134470 B1

1 - asigură un spectru larg de aminoacizi de origine naturală care induc efecte
sistemice în plante și un aport de principii active naturale cu efecte pesticide, care elimină
3 necesarul de neonicotinoide.

Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:

5 - se obține o creștere a energiei germinative a semințelor de rapiță cu minimum 5%;
- se obține o creștere a biomasei plantulelor cu minimum 10%, asociată cu o rezis-
7 tență sporită a plantelor și o creștere a viabilității;

- se obține o creștere a calității semințelor provenite din culturi în care semințele au
9 fost tratate cu biocomplecși pe bază de collagen și cheratină înainte de însămânțare, expri-
mată prin, care creșterea conținutului de ulei de 10-25% (în funcție de soiurile de semințe
11 testate);

- se pune în valoare o resursă naturală de aminoacizi, disponibili plantelor fără
13 consum energetic suplimentar, pentru sporuri de producție în agricultură, reducând consumul
de aminoacizi de sinteză care prezintă dezavantajul conținutului de enantiomeri;

15 - se reciclează un deșeu proteic, sub forma unui produs de înlocuire parțială sau
totală a aminoacizilor de sinteză, care consumă resurse financiare mari pentru producție și
17 generează costuri indirecte, pentru protecția mediului;

- se valorifică resursele naturale secundare, prin recuperarea cu randamente mari
19 a azotului organic din piele animală lâna reziduală, cu efecte favorabile legate de reducerea
spațiilor necesare pentru depozitare, reducerea costurilor și a emisiilor generate de transport,
21 respectarea legislației de mediu în vigoare;

- se folosesc procedee de obținere a extractelor de collagen și cheratină (gelatina și
23 hidrolizate) simple, eficiente, economice, reproductibile;

- se incurajează dezvoltarea agriculturii organice;

25 - se poate diversifica gama de extracte proteice, în funcție de necesitățile specifice
de biostimulare a germinației și de nutriție plantelor și a solului;

27 - se oferă o alternativă ecologică pentru accelerarea germinației semințelor, creșterea
rezistenței plantelor la dăunători, sporirea producțiilor agricole și a calității acestora, precum
29 și îmbunătățirea proprietăților solului, eliminând cel puțin parțial remanenta substanțele de
sinteză chimică folosite în practica agricolă curentă și implicit reducerea amprentei de
31 carbon.

Se dau în continuare două exemple de realizare a invenției:

33 Exemplul 1

Se extrage gelatina din fragmente reziduale de piele netăbăcită, tocată și dispersată
35 în apă la un raport solid/lichid de 1:5, după corectarea pH-ului cu acid acetic 20%, până la
valoarea de $5,8 \pm 0,2$, sub agitare continuă la temperatura de 75...85°C, timp de 5...9 h.
37 Masa de reacție se răcește liber până la temperatura ambiantă, apoi se răcește forțat la
4...6°C timp de 20...24 h. După coagulare, se detașează și se îndepărtează stratul cu
39 reziduuri de la bază, iar gelatina colectată, se concentrează sub vid, la temperatura de
75...85°C, până la o concentrație de 15...18% substanță uscată. Adaosurile sunt raportate
41 la cantitatea de fragmente de piele. Se extrage hidrolizatul de cheratină din lâna de ovine
degresată, tocată și dispersată în apă la un raport solid/lichid de 1:20, cu temperatura de
43 80°C. Dispersia de lâna în apă se menține sub agitare la temperatura de 80°C timp de 1...3
h, se adaugă 2...7% hidroxid de calciu și 2...7% hidroxid de potasiu, se ridică temperatura
45 la 85...95°C și se agită timp de 3...7 h, apoi suspensia, se supune răcirii libere și se menține
static timp de 32...48 h fără aport de căldură. Sub agitare continuă, se reglează pH = 8,0 cu
47 soluție 20% acid oxalic, se încălzește la 55...70°C, se dozează 1...3% Protamex și se agită
timp de 2...5 h la temperatura de 60°C, se dezactivează enzima prin ridicarea temperaturii

RO 134470 B1

la 90°C cu agitare timp de 15 min. Se decantează timp de 16-24 h, iar decantatul se filtrează cantitativ, apoi se concentrează la un raport 5:1. Adaosurile sunt raportate la cantitatea de lână. Gelatina obținută conform prezentei invenții, în proporție de 50...65% din masa totală de biocomplex se încălzește la 60°C și sub agitare se aditivează cu 10...15% Glicerol timp de 15 min. Hidrolizatul de cheratină obținut conform prezentei invenții, în proporție de 15...20% din masa totală de biocompozit se încălzește la 50°C și sub agitare se aditivează cu 0,5...5,0% amestec 1:1 uleiuri esențiale de *Thymus vulgaris* L și *Cinnamomum verum*, timp de 20 min, apoi emulsia obținută se dozează peste gelatina aditivată cu glicerol și se agită timp de 20 min la 50...65°C, se dozează 10...15% extract tanant de *Caesalpinia spinosa* cu conținut de 5...15% substanțe tanante, se dozează 4...10% apă oxigenată cu concentrația 30%, se agită la 50...65°C timp de 1...2 h apoi se răcește în forme, obținându-se un biocompozit care se solubilizează în apă caldă pentru a fi aplicat ca strat exterior bioactiv, pe suprafața semințelor de rapiță drajate cu compoziții practice în mod curent. Adaosurile sunt raportate la masa totală de biocompozit.

Exemplul 2

Se extrage gelatina din fragmente reziduale de piele netăbăcită, tocată, la un raport solid/lichid de 1:5 sub agitare continuă, după corectarea pH-ului cu acid acetic 20%, până la valoarea de $5,8 \pm 0,2$, la temperatura de 75...85°C, timp de 5...9 h. Masa de reacție se răcește liber până la temperatura ambiantă, apoi se răcește forțat la 4...6°C timp de 20...24 h. După coagulare, se detașează stratul cu reziduuri de la bază, iar gelatina colectată, se concentrează sub vid, la temperatura de 75...85°C, până la o concentrație de 15...18% substanță uscată. Gelatina obținută conform prezentei invenții se toacă, se dispersează în apă la un raport 1:1, se încălzește la 55...70°C, se reglează pH = 8 cu soluție 1 N hidroxid de sodiu și se hidrolizează enzimatic folosind 1...2% Protamex, cu agitare 1...3 h, după care se dezactivează enzima prin ridicarea temperaturii la 90°C cu agitare timp de 15 min, obținându-se un hidrolizat de collagen. Hidrolizatul de collagen obținut conform prezentei invenții, se amestecă în proporție de 15...20%, cu 1,5...3,5% ulei esențial de *Rosmarinus officinalis*, 1,5...2,5% complex de oligoelemente (Cu, Zn, Mg, Mn, Cu, Mo, B) chelatare cu EDTA și 2,0...3,5% uree, pentru a forma un biocomplex pentru primul strat de drajare a semințelor de rapiță, stratul interior, urmând ca stratul final, stratul exterior, să fie format din amestecul de lianți cu 2,5...14,0% carboximetilceluloză, 1,5...3,5% hidroximetilceluloză, 0,5...1,5% dextrină și un amestec cu 2,0-3,0%) diatomita, 6,0-7,5% bentonite și 2,0-3,0%) carbonat de calciu.

Bibliografie

1. Klimaszewska E., Seweryn A., et al., *Reduction of Irritation Potential Caused by Anionic Surfactants in the Use of Various Forms of Collagen Derived from Marine Sources in Cosmetics for Children*, Tcnside Surfactants Detergents, vol. 56, no. 3, pp. 180-187, 2019.
2. Park S. H., Jo Y. J., *Static hydrothermal processing and fractionation for production of a collagen peptide with anti-oxidative and anti-aging properties*, Process Biochemistry, vol. 86, pp. 176-182, 2019.
3. Wang L. F., Rhim J. W., *Preparation and application of agar/alginate/collagen ternary blend functional food packaging films*, International Journal of Biological Macromolecules, vol. 80, pp. 460-468, 2015.
4. Wu X. M., Luo Y. H., et al., *Improved structure-stability and packaging characters of crosslinked collagen fiber-based film with casein, keratin and SPI*, Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 99, no. 11, pp. 4942-4951, 2019.

- 1 5. Wang B. C., Liu J., et al., *Preparation, Surface Activities, and Biodegradability of*
2 *a Bola-Type Collagen Hydrolysate-Based Siloxane Surfactant*, Journal of Surfactants and
3 Detergents, vol. 1, no. 3, pp. 313-322, 2018.
- 4 6. Kupper S., Klosowska-Chomiczewska I., et al., *Collagen and hyaluronic acid*
5 *hydrogel in water-in-oil microemulsion delivery systems*, Carbohydrate Polymers, vol. 175,
6 pp. 347-354, 2017.
- 7 7. Stepan E., Velea S., Gaidau C., Filipescu L., Ghiga M. D., Radu A. C., *Surfactants*
8 *obtained from unconventional resources*, 7th World Surfactants Congress, Paris, France,
9 CESIO 2008.
- 10 8. Niculescu M. D., Sedliacik J., Gaidau C., Jurkovic P., Matyasovsky J.,
11 *Complementary methods for recovery and valorisation of proteins from chrome leather*
12 *wastes*, Leather and Footwear Journal, vol. 12, no. 2, pp. 85-100, 2012.
- 13 9. Langmaier F., Kolomazník K., Mládek M., Šivarová J., *Curing Urea-Formaldehyde*
14 *Adhesives with Hydrolysates of Chrome Tanned Leather Waste from Leather Production*, Int.
15 J. Adhes. Vol. 25, pp. 101-108, 2005.
- 16 10. Ortiz-Barrera E., Macias-Carranza V., Cabello-Pasini A., *Precipitation of wine*
17 *polyphenols using collagen from fish skin and fish swim bladder*, Cyta-Journal of Food, vol.
18 13, no. 4, pp. 597-602, 2015.
- 19 11. Pati A., Chaudhary R., *Soybean plant growth study conducted using purified*
20 *protein hydrolysate-based fertilizer made from chrome-tanned leather waste*, Environmental
21 Science and Pollution Research, vol. 22, no. 24, pp. 20316-20321, 2015.
- 22 12. Zainescu G., Voicu P., Gherghina A., Sandru L., *Application of tannery organic*
23 *wastes in degraded soils remediation*, Journal of Biotechnology, vol. 150, pp. 290-290, 2010.
- 24 13. Gaidau C., Niculescu M., Stepan E., Epure D.-G., Gidea M., *New Mixes Based*
25 *on Collagen Extracts with Bioactive Properties, for Treatment of Seeds in Sustainable*
26 *Agriculture*, Current Pharmaceutical Biotechnology, vol. 14, no. 9, pp. 792-801, 2013.
- 27 14. Coelho L., Ferreira M. M., Bastos A. R. R., et al., *Leather Industry Waste as a*
28 *Nitrogen Source for Wheat and Rice in Succession*, Revista Brasileira de Cienoifi do Solo,
29 vol, 39, no. 5, pp. 1445-1455, 2015.
- 30 15. Niculescu M. D., Becheritu M., Gaidau C., Epure D.-G., Gidea M., Stepan E.,
31 *Extraction of collagen with bioactive properties for stimulation, nutrition and protection of*
32 *plants*, Proceedings of III International Leather Engineering Congress, Innovative Aspects
33 for Leather Industry, Izmir, Turkey, pp. 259-264, 2015.
- 34 16. Tudor E., Cioroianu T., Sirbu C., Dumitru M., Grigore A., Parvan L., *Fertilizer for*
35 *the Treatment of Iron Chlorosis. Physico-chemical and agro-chemical properties*, Revista de
36 Chimie Bucharest, vol. 68, no. 1, pp. 65-68, 2017.
- 37 17. Pourjavaheri F., Poura S. O., Jones O. A.H., et al., *Extraction of keratin from*
38 *waste chicken feathers using sodium sulfide and Lcysteine*, Process Biochemistry, vol. 82,
39 pp. 205-214, 2019.
- 40 18. Du Z., Ji B., Yan K., *Recycling keratin polypeptides for anti-felting treatment of*
41 *wool based on L-cysteine pretreatment*, Journal of Cleaner Production, vol. 183, pp. 810-817,
42 2018.
- 43 19. Wang D., Yang X.-H., Tang R.-C. and Yao F., *Extraction of Keratin from Rabbit*
44 *Hair by a Deep Eutectic Solvent and Its Characterization*, Polymers vol. 10, article no. 993,
45 2018.
- 46 20. Kumar S. L., Anandhavelu S., Sivaraman J., Swathy M., *Modified extraction and*
47 *characterization of keratin from Indian goat hoof: A biocompatible biomaterial for tissue*
48 *regenerative applications*, Integrated Ferroelectrics, Vol. 184, no. 1, pp. 41-49, 2017.

RO 134470 B1

21. M. D. Berechet, M. Niculescu, C. Gaidau, M. Ignat, D.-G.-Epure, *Alkaline-Enzymatic Hydrolyses of Wool Waste for Different Applications*, Rev. Chim. Bucharest, vol., 69, no. 7, pp. 1649-1654, 2018. 1
3
22. Holkar C. R., Jain S. S., et al., *Valorization of keratin based waste*, Process Safety and Environmental Protection, vol. 115, pp. 85-98, 2018. 5
23. Nurdiawati A., Nakhshiniev B., et al., *Characterization of Potentıal Liquid Fertilizers Obtained by Hydrothermal Treatment of Chicken Feathers*, Environmental Progress & Sustainable Energy, vol. 37, no. 1, pp. 375-382, 2018. 7
24. C. Gaidau, D. Simion, M. D. Niculescu, G. Păun, M. Popescu, A. Bacardit, C. Casas, *Tara Tannin Extract Improvement. Part I: Extraction and Concentration Through Membranary Filtration Techniques*, Rev. Chim.-Bucharest, vol. 65, no. 8, pp. 929-933, 2014. 9
11

RO 134470 B1

Revendicări

1

3

1. Procedeu de obținere a unui biocomplex pe bază de colagen și cheratină aplicat ca strat exterior pe suprafața semințelor de rapiță, **caracterizat prin aceea că**, realizarea constă din următoarele etape:

5

7

- extragerea gelatinei din fragmente de piele bovină semiprelucrată, netăbăcită, la un raport solid/lichid de 1:5, după corectarea pH-ului cu acid acetic 20%, până la valoarea de $5,8 \pm 0,2$, sub agitare continuă, la temperatura de 75...85°C, timp de 5...9 h, răcire liberă a masei de reacție până la temperatura ambiantă, apoi forțat la 4...6°C timp de 20...24 h pentru coagulare, detașarea și îndepărtarea stratului cu reziduuri de la bază, concentrare sub vid, la temperatura de 75...85°C, până la o concentrație de substanță uscată de 15...18%;

9

11

13

15

17

19

- extragerea hidrolizatului de cheratină din lână de ovine degresată, tocată și dispersată în apă, la un raport solid/lichid de 1:20, sub agitare la temperatura de 80°C timp de 1...3 h, adăugare 2...7% hidroxid de calciu și 2...7% hidroxid de potasiu, ridicarea temperaturii la 85...95°C și agitare timp de 3...7 h, răcire liberă și menținere static timp de 32...48 h fără aport de căldură, reglare pH = 8,0 cu soluție 20% acid oxalic sub agitare continuă, încălzire la 55...70°C, dozare 1...3% Protamex și agitare timp de 2...5 h la temperatura de 55...70°C, dezactivare enzima prin ridicarea temperaturii la 90°C cu agitare timp de 15 min, decantare timp de 16-24 h, filtrare cantitativă și concentrare la un raport 5:1;

21

23

25

27

29

31

- realizarea biocomplexului pe bază de colagen și cheratină din gelatina obținută în etapele anterioare, în cantitate reprezentând 50...65% din masa totală de biocomplex preparat, încălzit la 50-65°C, aditivat cu 10...15% Glicerol sub agitare timp de 15 min, peste care se adaugă hidrolizatul de cheratină obținut în etapele anterioare, în cantitate reprezentând 15...20% din masa totală de biocomplex preparat, încălzit la 50-65°C și sub agitare timp de 20 min, aditivat cu 0,5...5,0% amestec 1:1 uleiuri esențiale de *Thymus vulgaris* L și *Cinnamomum verum*, agitare amestec timp de 20 min la 50...65°C, adăugare 10...15% extract tanant de *Caesalpinia spinosa* cu conținut de 5...15% 6 substanțe tanante, adăugare 4...10% apă oxigenată cu concentrația 30%, agitare la 50...65°C timp de 1...2 h, răcire în forme, obținându-se un biocomplex, care se solubilizează în apă caldă de 40-60°C pentru a fi aplicat ca nou strat exterior bioactiv, pe suprafața semințelor de rapiță drajate cu compoziții practicate în mod curent.

33

35

37

39

41

43

45

47

2. Procedeu de obținere a unui biocomplex cu colagen și cheratină aplicat ca strat interior pe suprafața semințelor de rapiță, **caracterizat prin aceea că**, realizarea constă din următoarele etape:

- extragerea gelatinei din fragmente de piele bovină semiprelucrată, netăbăcită, la un raport solid/lichid de 1:5, după corectarea pH-ului cu acid acetic 20%, până la valoarea de $5,8 \pm 0,2$, sub agitare continuă, la temperatura de 75...85°C, timp de 5...9 h răcire liberă a masei de reacție până la temperatura ambiantă, apoi forțat la 4...6°C timp de 20...24 h pentru coagulare, detașarea și îndepărtarea stratului cu reziduuri de la bază, concentrare sub vid, la temperatura de 75...85°C, până la o concentrație de substanță uscată de 15...18%;

- prelucrarea gelatinei extrase în etapa anterioară, după ce a fost tocată, dispersată în apă la un raport 1:1, cu pH = 8 reglat cu soluție 1 N hidroxid de sodiu, care se hidrolizează enzimatic cu 1...2% Protamex, la temperatura 55...70°C, sub agitare 1...3 h, dezactivare enzimă prin ridicarea temperaturii la 90°C, sub agitare timp de 15 min, obținându-se un hidrolizat de colagen;

- realizarea biocomplexului cu colagen, din hidrolizatul de colagen obținut în etapa anterioară, care se amestecă în proporție de 15...20%, cu 1,5...3,5% ulei esențial de *Rosmarinus officinalis*, cu 1,5...2,5% complex de oligoelemente Cu, Zn, Mg, Mn, Cu, Mo, B

RO 134470 B1

chelate cu EDTA, cu 2,0...3,5% uree, obținându-se un biocomplex care se aplică pentru formarea unui strat interior aplicat pe suprafața semințelor de rapiță nedrajate, care ulterior se acoperă cu un strat exterior, format dintr-un amestec practicat în mod curent, pentru a forma un nou tip de crustă de drajare a semințelor de rapiță. 1
3

3. Biocomplex pe bază de gelatină și hidrolizat de cheratină, obținut conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, are în compoziție 50...65% gelatina obținută conform revendicării 1, 10-15% Glicerol, 15-20% hidrolizat de cheratină obținut conform revendicării 1, 0,5...5,0% amestec 1:1 uleiuri esențiale de *Thymus vulgaris* L și *Cinnamomum venim*, 10-15% extract de *Caesalpinia spinosa* cu conținut de 5...15% substanțe tanante, 4...10% apă oxigenată cu concentrația 30%, care se folosește pentru formarea unui nou strat exterior, bioactiv, pe suprafața semințelor de rapiță drajate cu compoziții practicate în mod curent, pentru biostimulare, creșterea energiei germinative și a nutriției plantelor, în scopul reducerii aportului de pesticide de sinteza și a creșterii calitative și cantitative a producției de semințe. 5
7
9
11
13

4. Biocomplex pe bază de gelatină și hidrolizat de colagen, obținut conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, are în compoziție 15...20% hidrolizat de colagen obținut conform revendicării 2, 1,5...3,5% ulei esențial de *Rosmarinus officinalis*, 1,5...2,5% complex de oligoelemente Cu, Zn, Mg, Mn, Cu, Mo, B chelate cu EDTA, 2,0...3,5% uree, care se folosește pentru formarea stratului interior, primului strat aplicat pe suprafața semințelor de rapiță nedrajate, care ulterior se acoperă cu un strat exterior format dintr-un amestec practicat în mod curent, cele două straturi de acoperire, formând un nou tip de crustă de drajare pe suprafața semințelor, pentru biostimulare, creșterea energiei germinative și a nutriției plantelor, în scopul reducerii aportului de pesticide de sinteză și a creșterii calitative și cantitative a producției de semințe. 15
17
19
21
23



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Inventii și Mărci
sub comanda nr. 463/2023