



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2019 00331**

(22) Data de depozit: **03/06/2019**

(41) Data publicării cererii:
30/12/2020 BOPI nr. **12/2020**

(71) Solicitant:
• **INCDO-INOE 2000 INSTITUTUL DE
CERCETĂRI PENTRU INSTRUMENTAȚIE
ANALITICĂ CLUJ-NAPOCA, STR. DONATH
NR.67, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(72) Inventatori:
• **NEAG EMILIA IULIANA, STR. BUCIUM
NR.15, SC.II, ET.1, AP.26, CLUJ-NAPOCA,
CJ, RO;**

• **TOROK ANAMARIA IULIA,
STR. RÂNDUNELELOR NR.16, AP.3,
SATU MARE, SM, RO;**
• **DINCĂ ZAMFIRA MARIA,
STR.AL.VLAHUȚĂ NR.4, CĂLIMĂNEȘTI, VL,
RO;**
• **ROMAN CECILIA, STR. PIAȚA ABATOR,
BL. B, AP. 58, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(54) **METODĂ DE EXTRACȚIE A LIPIDELOR DIN BIOMASA
MICROALGALĂ PRIN ULTRASONARE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de extracție a lipidelor din biomasă de microalge. Metoda, conform invenției, constă în pretratarea biomasei microalgale prin uscare la temperatura de 105°C timp de 1...4 h, urmată de extracția prin ultrasonare timp de 5...15 min la o frecvență de 35 Hz, putere de 350 W, cu un amestec de diclormetan:metanol:apă distilată în raport 1:2:1, centrifugare la o viteză de 4000 rpm timp de 10...20 min,

separarea fazei inferioare constând din lipide extrase și solvent, uscare timp de 1...2 h la temperatura de 65...70°C și determinarea gravimetrică a conținutului de lipide din biomasa microalgală.

Revendicări: 1
Figuri: 1



Metodă de extracție a lipidelor din biomasa microalgă prin ultrasonare

DESCRIERE

Invenția se referă la o metodă simplă, rapidă și eficientă de extracție a lipidelor din biomasa microalgă prin ultrasonare.

Biomasa microalgă este o sursă de energie regenerabilă pentru producția de lipide/biodiesel datorită potențialului de a răspunde cerințelor globale actuale de biocarburanți.

Conținutul de lipide variază în funcție de tipul speciei de microalge, de condițiile de creștere și de mediul ambiant. Speciile *Chlorella*, *Cryptocodium*, *Cylindrotheca*, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Nannochloris*, *Nannochloropsis*, *Neochloris*, *Nitzschia*, *Phaeodactylum*, *Porphyridium*, *Schizochytrium* și *Tetraselmis* au un conținut raportat la biomasa uscată între 20-50% de lipide (Chen et al., 2018).

Lipidele extrase din microalge pot fi împărțite, în funcție de structurile lor, în două grupe: nepolare (acilgliceroli, steroli, acizi grași, și esteri sterolici) și lipide polare (fosfogliceride, glicozilgliceride și sfingolipide) (Ramanathan et al. 2015)

Pentru determinarea conținutului de lipide sunt necesare metode rapide, simple cu un grad ridicat de eficiență. În prezent, metodele de extracție cu solvenți sunt cel mai frecvent utilizate pentru extracția lipidelor, acestea asigurând un randament ridicat de extracție. Principalele limitări ale tehnicilor de extracție a lipidelor din microalge se referă la selecția solventului organic (cel mai eficient și cel mai adecvat) și la distrugerea peretelui celular prin metode mecanice și fizico-chimice pentru a obține un conținut ridicat de lipide (Ghasemi Naghdi et al. 2016).

În străinătate există metode de extracție a lipidelor din alge. Metoda descrisă de brevetul US2015307809 - 2015 se bazează pe extracția lipidelor nepolare într-o incintă prevăzută cu un anod și un catod, căreia se aplica o forță electromotoare. Metoda descrisă de brevetul KR101363667 (B1) - 2014 se bazează pe extracția și recuperarea lipidelor din biomasa microalgă în amestec cu un material adsorbant, folosind un laser care generează un fascicul de lumină. Metoda descrisă de brevetul US2011189741

A1/2011 se referă la un sistem prevăzut cu trei secțiuni, cultivarea, extracția lipidelor prin ultrasonare și reacția propriu-zisă de obținere biodiesel prin transesterificare și ultrasonare. Metoda descrisă de brevetul WO2011022228 (A2) se referă la aspecte care favorizează distrugerea peretelui celular și liza componentelor celulare pentru a facilita extracția componentelor, prin supunerea unui șoc terțiar hipertonic / hipotonic / hipertonic; șoc terțiar hipotonic / hipertonic / hipertonic; sau unui șoc cuaternar hipotonic / hipertonic / hipotonic / hipertonic. Metoda descrisă de brevetul WO2010036334 (A1) - 2010 se bazează pe producerea de biocombustibil din alge crescute în acvacultură. Metoda presupune creșterea algelor în condiții de stres pentru îmbunătățirea conținutului de lipide, și concentrarea algelor înainte de extracția uleiului. Metoda descrisă de brevetul WO2008060571 (A2) -2008 se bazează pe obținerea și purificarea biocombustibililor din plante și microalge. Biomasa este supusă unei proces de extracție cu obținerea unui extract bogat în lipide și compuși reziduali. Compușii reziduali sunt îndepărtați prin punerea în contact a extractului cu un nanomaterial. Metoda descrisă de brevetul UA24468 (U) -2007 se referă la extracția lipidelor și a pigmentilor din alge unicelulare. Metodă presupune un pretratament al biomasei algale unicelulare uscate, cu nisip cuarțos, extracția pigmentilor și purificarea extractului cu soluție de NaCl (5%).

În țară, după informațiile noastre, nu s-a aplicat o metoda de extracție a lipidelor din biomasa microalgă.

Scopul prezentei invenții este elaborarea unei metode de determinare rapidă, simplă a lipidelor din biomasa microalgala prin extracție cu ultrasonare, și cuantificare gravimetrică a randamentului de extracție.

Metoda propusă permite determinarea conținutului de lipide din biomasa microalgă și constă în pretratarea biomasei microalgale, urmată de extracția prin ultrasonare, centrifugare, separare faza inferioară (lipide și solvent), uscare și determinare gravimetrică a conținutului de lipide.

Metoda propusă este eficientă pentru determinarea conținutului de lipide din biomasa microalgă.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este:

- Reduce timpul de extracție față de alte metode convenționale (extracția Soxhlet)

Avantajele metodei:

- Metoda permite un randament ridicat de extracție a lipidelor din biomasa microalgală
- Metoda de extracție este rapidă, simplă și scade consumul de solvenți (solvenții utilizați pot fi recuperați)

Model de aplicare

În fig. 1 sunt prezentate etapele metodei de extracție a lipidelor din biomasa microalgală prin ultrasonare. Proba de biomasă microalgală de masa m este supusă unei etape de pretratare prin uscare la 105 °C timp de 1...4 h pentru a elimina complet conținutul de apă, apoi este introdusă într-un recipient de sticlă de volum V prevăzut cu dop de sticlă și supusă extracției prin ultrasonare timp de 5...15 min la o frecvență și putere de 35 kHz și, respectiv 350 W, cu un amestec de diclormetan:metanol:apă distilată (1:2:1) într-o baie de ultrasonare, menținând nivelul apei deasupra nivelului conținutului din recipientul de sticlă. După ultrasonare, se adăuga diclormetan:apă distilată (1:1) pentru a facilita separarea fazelor, apoi proba este introdusă într-un tub de centrifugare și supusă operației de separare prin centrifugare la o viteză de 4000 rpm timp de 10...20 min. Se cântărește un recipient de sticlă de volum V cu masă m_1 . Faza inferioară, ce conține lipidele extrase, este separată și introdusă în recipientul cu masa m_1 . Recipientul cu masa m_1 este apoi fixat la rotavapor pentru evaporarea și recuperarea solventului la o temperatură de 65°C, presiune de 400 mbar, la o viteză de 35 rpm. După evaporarea solventului, recipientul este introdus în etuvă timp de 1...2 h la 65...70 °C, apoi se cântărește până la masă constantă m_2 . Conținutul de lipide se calculează ca raport între $m_2 - m_1$ și masa biomasei microalgale.

Parametrii de performanță ai metodei de extracție a lipidelor din biomasa microalgală sunt:

- Acuratețea metodei s-a determinat prin experimente de recuperare (R%) prin extracția lipidelor din probe de biomasă microalgală.

- Precizia, exprimată ca repetabilitate (%RSD) s-a determinat prin trei extracții succesive a lipidelor din biomasa microalgală. Astfel, valorile obținute pentru recuperare sunt: R = 80 - 90% și RSD = 10 - 15%.

DESENE

Figura 1. Etapele metodei de extracție a lipidelor din biomasa microalgă prin ultrasonare

Referințe

- Chen Z., Wang L., Qiu S., Ge S. 2018. Determination of Microalgal Lipid Content and Fatty Acid for Biofuel Production, *BioMed Research International*, vol. 2018, Article ID 1503126.
- Ranjith Kumar R., Hanumantha Rao P., Arumugam M., 2015. Lipid Extraction Methods from Microalgae: A Comprehensive Review, *Frontiers in Energy Research*, vol. 2, pg. 61.
- Ghasemi Naghdi F., González González L.M., Chan W., Schenk P.M., 2016. Progress on lipid extraction from wet algal biomass for biodiesel production, *Microbial Biotechnology*; vol. 9(6): pg.718–726.

REVEDICARE

Metodă analitică simplă, rapidă și eficientă de extracție a lipidelor din biomasa microalgală prin ultrasonare **caracterizată prin aceea că** are la bază pretratarea biomasei microalgale (prin uscare la 105 °C timp de 1...4 h pentru a elimina complet conținutul de apă), urmată de extracția prin ultrasonare (timp de 5...15 min la o frecvență și putere de 35 kHz și, respectiv 350 W, cu un amestec de diclormetan:metanol:apă distilată (1:2:1) menținând nivelul apei deasupra nivelului conținutului din recipientul de sticlă), centrifugare (la o viteză de 4000 rpm timp de 10...20 min), separare faza inferioară (lipide și solvent), uscare (timp de 1...2 h la 65...70 °C) și determinare gravimetrică a conținutului de lipide din biomasa microalgală.

Biomasa
microalgală

Pretratare uscare 105
°C timp de 1...4 h

Extracție (diclormetan:metanol:apă
distilată, 1:2:1) prin ultrasonare 5...15
min, 35 kHz și 350 W

diclormetan:apă
distilată (1:1)

Centrifugare 10...20 min la 4000 rpm

Cântărire recipient gol

Separare fază inferioară

Recuperare solvent prin evaporare
65°C, 400 mbar, 35 rpm

Uscare 65...70 °C
timp de 1...2 h

Cântărire recipient lipide

Conținut lipide