

GERMOSTIM

**GERMOSTIM**

**Cercetari interdisciplinare privind tratarea semintelor cu hidrolizate de  
colagen in vederea cresterii indicatorilor calitatii, reducerii pesticidelor si  
dezvoltarea durabila a productiei agricole**

**Proiect: PN-II-PT-PCCA-2011-3.2-1805**

Contract: 112/2012

**Autoritatea contractanta: UEFISCDI**



**Consortiu:**

**Coordonator: SC PROBSTDORFER SAATZUCHT ROMANIA SRL**

**Director proiect: dr.ing. Doru-Gabriel Epure**

**Partener 1: INCDTP-Sucursala ICPI Bucuresti**

**Responsabil proiect: dr.ing. Carmen Gaidau**

**Partener 2- INCD pentru Chimie si Petrochimie-ICECHIM**

**Responsabil proiect: dr.ing. Emil Stepan**

**Partener 3-UASMV**

**Responsabil proiect: dr.ing. Mihai Gidea**

**Partener 4- INCD-INMA**

**Responsabil proiect: dr.ing. Dragos Manea**

**Obiective generale:**

- Realizarea unor materiale noi, complexe, cu impact ecologic superior produselor actuale si valoare adaugata, prin abordarea unor procese avansate, de prelucrare chimica si bioprocesare a resurselor naturale, regenerabile.
- Dezvoltarea unor materiale si tehnologii noi, avansate, cu efect biofertilizator si biostimulator pentru protectia semintelor si cresterea plantelor, prin utilizarea unei surse valoroase de azot organic, provenita din industria de pielarie, subprodusele de piele, care in prezent sunt tratate ca deseuri.
- Formularea unor produse avansate, de tip multi-materiale, cu efecte superioare produselor clasice, prin utilizarea componentelor de tip proteic, cu functii multiple, mult mai complexe, comparativ cu cele de tip fertilizanti anorganici si care permit reducerea unor materiale organice cu potential poluant pentru sol (insecto-fungicidele), utilizate in prezent la tratarea semintelor si a plantelor, permite obtinerea unor efecte economice, ecologice si sociale remarcabile, inscriindu-se in conceptul larg de dezvoltare durabila.

**Etapa I a proiectului a avut ca obiective:**

- elaborarea modelului conceptual de tehnologie de obtinere a hidrolizatelor de

- colagen cu proprietati bioactive pentru tratarea semintelor de cereale;
- realizarea modelului experimental de hidrolizate de colagen bioactive;
- experimentarea tehnologiei laborator de realizare a modelului de microcapsule pe baza de gelatina cu capacitate de eliberare in timp a fungicidelor si insecto-fungicidelor naturale.
- verificarea caracteristicilor fizico-chimice a noilor produse pe baza de colagen si colagen modificat pentru tratarea semintelor.
- studiu documentar privind echipamentele de tratare a semintelor si materialelor pesticide utilizate la tratarea semintelor.

**Rezultate:**

- Publicatii si comunicari (1):

**M. D. Niculescu**, P. Jurkovic, J. Matyasovsky, **C. Gaidau**, J. Sedliacik, *Alternatives for recovery of proteins embedded in chrome leather wastes*, Proceedings of ICAMS 2012 4th International Conference on Advanced Materials and Systems, September 27th-29th, 2012, p. 433-438, ISSN 2068-0783;

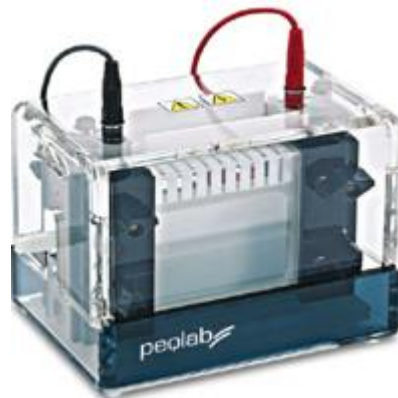
- Consortii si parteneriate internationale noi (2):

- **Proiect bilateral Romania-Argentina-08**

Protein recovery and valorization for ecological agrotechnology and environment protection, ECOGERMO cu Instituto Nacional de Tecnología Industrial, INT Cueros, Buenos Aires .

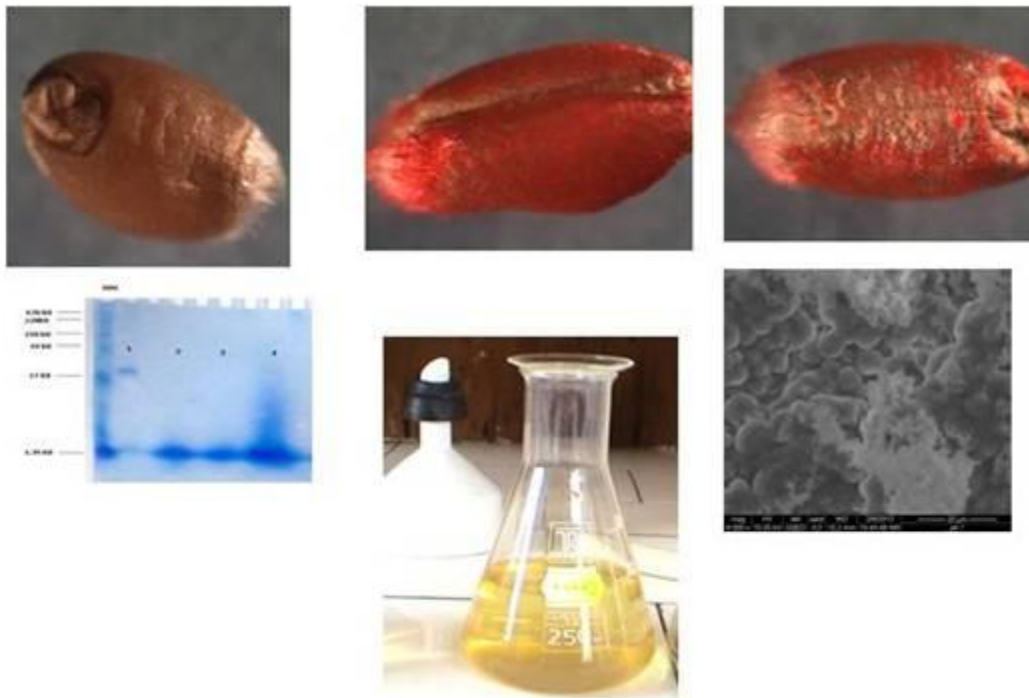
- **Proiect bilateral Romania-Slovenia, contract 466/2011-2012**

"Innovative materials from leather industry by-products, BY-INNOV-PROD" cu VIPO a.s. Partizanske, Slovenia .



- Aparat de electroforeza pentru separarea si determinarea masei moleculare a proteinelor, SDS PAGE.

- Studii si modele experimentale.



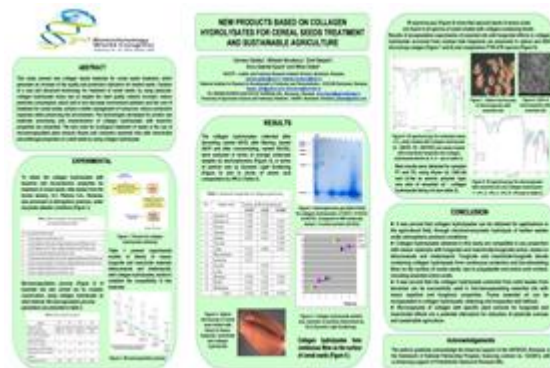
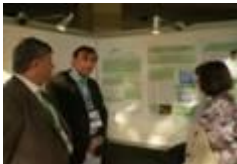
**Etapa II a proiectului, in derulare, are urmatoarele obiective specifice:**

- Elaborarea modelului experimental de tehnologie de obtinere a hidrolizatelor de collagen cu proprietati bioactive, bioprotectoare, pentru tratarea semintelor si plantelor cerealiere;
- Modificarea chimica a hidrolizatelor de collagen si/sau aditivarea naturala;
- Realizarea si evaluare model experimental a hidrolizatelor de collagen cu proprietati bioactive pentru tratarea semintelor si a plantelor. Evaluarea fizico-chimica si instrumentala a hidrolizatelor de collagen. Diseminare informatii;
- Realizare si evaluare model experimental pentru hidrolizatele de collagen modificate chimic si aditivate cu extractele naturale. Caracterizare a hidrolizatelor de collagen modificate chimic;
- Experimentarea si evaluarea compatibilitatii hidrolizatelor de collagen asupra semintelor de cereale. Selectarea variantelor optime pentru fiecare specie studiata;
- Experimentarea si evaluarea actiunii hidrolizatelor de collagen asupra semintelor de cereale privind stimularea germinatiei;
- Experimentarea si evaluarea actiunii hidrolizatelor de collagen asupra semintelor de cereale privind efectul fungicid;
- Elaborarea documentatiei tehnologice de obtinere a hidrolizatelor de collagen bioactive pentru tratarea semintelor si plantelor.



- Publicatii si comunicari (1):

Carmen Gaidau, Mihaela Niculescu, Emil Stepan, Doru-Gabriel Epure and Mihai Gidea, New Products Based on Collagen Hydrolysates for Cereal Seeds Treatment and Sustainable Agriculture, Proceeding of 2nd Biotechnology World Congress, 18-21st February 2013, Dubai.



- Cerere de brevet OSIM A/00278 din 4.04.2013



- Modele experimentale, experimentari privind germinatia si bolile plantelor, loturi test de hidrolizate de collagen.



### **Rezumatul Etapei III**

Etapa III a inceput pe data de 01.12.2013 si s-a incheiat la data de 30.11.2014.

*Obiectivul general* al proiectului este formularea unor produse avansate, de tip "multimateriale", cu efecte superioare produselor clasice, prin *utilizarea componentelor de tip proteic*, cu functii multiple, mult mai complexe, comparativ cu cele de tip fertilizanti anorganici, care permit reducerea unor material organice cu potential poluant pentru sol (insecto-fungicidele), utilizate in prezent la tratarea semintelor si a plantelor, care asigura obtinerea unor efecte economice, ecologice si sociale remarcabile, inscriindu-se in conceptual larg de dezvoltare durabila.

*Obiectivele specific* ale proiectului se refera la realizarea unui produs pe baza de hidrolizat de collagen prin procesarea subproduselor proteice din industria de pielarie, elaborarea tehnologiilor de aplicare la tratarea semintelor, optimizarea proprietatilor hidrolizatelor de collagen prin modificarea chimica, elaborarea modelelor experimentale pentru tratarea semintelor de cereale, aplicarea amestecurilor de insecto-fungicide cu hidrolizate de collagen si elaborarea recomandarilor pentru utilizarea la tratarea industriala a semintelor.

In cadrul acestei etape au avut activitati toti partenerii, INCDTP-ICPI, PSRO, USAMVB si ICECHIM avand cate doua activitatiti iar INMA o activitate. Toti partenerii si-au indeplinit obiectivele propuse in cadrul etapei.

Principalele rezultate ale Etapei III au constat in: elaborarea documentatiei tehnologice pentru realizarea hidrolizatelor de collagen bioactive; realizarea unui lot experimental pilot

de hidrolizate de colagen bioactive si diseminarea rezultatelor; elaborarea modelului experimental pentru modificarea chimica a hidrolizatelor de collagen si/sau aditivarea; realizarea modelului experimental pentru hidrolizatele de colagen; realizarea documentatiei tehnologiei de conditionare, ambalare si transport a hidrolizatelor de collagen si a hidrolizatelor decolagen modificate chimic; realizarea unui raport de cercetare privind experimentarea si evaluarea compatibilitatii hidrolizatelor de colagen asupra semintelor de cereale; realizarea unui raport de cercetare privind caracteristicile tehnice pentru instalatia pilot care realizeaza amestecul de pesticide si hidrolizate de colagen; realizarea unui raport de cercetare privind actiunea hidrolizatelor de collagen asupra bolilor semintelor de cereale; elaborarea raportului de cercetare privind pretabilitatea amestecului de pesticide si hidrolizate de colagen la tratarea semintelor de cereale; realizarea memoriului de prezentare a modelului experimental de echipament tehnic pentru tratarea semintelor destinat instalatiei pilot.

O sursa valoroasa de colagen pentru aplicatii in agricultura este reprezentata de subprodusele din industria de pielarie, care in prezent nu sunt exploatate la potentialul real. Asa cum se prezinta in studiile de specialitate si in etapele anterioare ale cercetarii de fata, metodele cele mai eficace pentru izolarea colagenului din piei de mamifere sunt cele bazate pe hidrolizele termice si enzimatic. Cel mai important parametru in producerea de peptide bioactive cu proprietati functionale, este continutul in azot aminic al extractelor de colagen, care este o expresie indirecta a greutatii molecular medii a polidispersiilor colagenice. Prin procese de hidroliza se pot obtine polidispersii colagenice cu masa molecular medie relativ mica,

500 - 25 000 Daltoni, care contin aminoacizi liberi, dar si polipeptide cu masa molecular medie > 25 000 Daltoni, de tipul gelatinelor, care au un continut redus de aminoacizi liberi. In cadrul acestei etape a cercetarii, s-a elaborat documentatia tehnologica de obtinere a hidrolizatelor de colagen bioactive pentru tratarea semintelor si plantelor, pornind de la modelele experimentate in etapele anterioare. In baza acestei documentatii s-au realizat hidrolizate colagenice la nivel pilot, atat din subproduse de piele cromata cu istoric cunoscut cat si din resurse de piele cromata cu istoric necunoscut, pentru verificarea extinderii reproductibilitatii proceselor. Hidrolizatele colagenice s-au caracterizat din punct de vedere fizico-chimic, pentru determinarea continutului de: substanta uscata, cenusă totala, azot total, substanta dermica, azot aminic, substanta organica, oxid de crom, oxid de calciu, pentru determinarea pH-ului, pentru determinarea marimii si distributiei particulelor dispersate. De asemenea, in conditii specifice, s-au extras si polipeptide sub forma de gelatine, necesare procesului de microincapsulare a unor uleiuri volatile cu proprietati insecto-fungicide pentru protectia plantelor si semintelor. Gelatina nu este o entitate chimica unica, ci un amestec de fractiuni alcatuite integral din aminoacizi, unite prin legaturi peptidice, care formeaza polimeri cu diferite mase moleculare, de la 15000 la 400000 Daltoni. Pentru conservarea acestei caracteristici, procesele de hidroliza trebuie conduse in mod diferit de cele prin care se obtin hidrolizatele de colagen cu polidispersii foarte largi si mase molecular medii < 25 000 Daltoni. Utilizarea pesticidelor de sinteza creaza problem datorita toxicitatilor, biodegradabilitatii scazute si a unor cantitati tot mai mari necesare pentru a asigura protectia plantelor impotriva daunatorilor. Acestea pot crea problem culturilor agricole si contamineaza mediul inconjurator. Sistemele cu eliberare controlata sunt o alternativa la aplicatiile de pesticide formulate clasic. O modalitate importanta de eliberare controlata este realizata prin microincapsularea pesticidelor.

Uleiurile esentiale si derivatelelor sunt considerate a fi o alternativa ecologica a pesticidelor de sinteza, in controlul daunatorilor agricoli. Utilizarea uleiurilor esentiale ca biopesticide, este stimulata de faptul ca ele sunt complet netoxice pentru mamifere, multe uleiuri esentiale fiind folosite ca plante de uz alimentar sau condimente. In plus, ele au o biodegradabilitate rapida in mediul inconjurator, o specificitate ridicata, iar daunatorii nu dobandesc rezistenta in timp, ca urmare a utilizarii intensive a pesticidelor. Toate acestea contribuie la o dezvoltare durabila a productiei agricole. In ciuda acestor proprietati promitatoare, uleiurile esentiale sunt volatile si sensibile la oxidare. Aceste inconveniente se pot mult diminua prin microincapsulare. Prin aceasta metoda se realizeaza si o eliberare controlata in timp a biopesticidelor incapsulate.

Activitatea in cadrul prezentei etape, a fost axata pe realizarea si evaluarea unui model experimental privind obtinerea microcapsulelor cu continut de uleiuri esentiale, printr-un proces complex de coacervare.

Hidrolizatul de collagen a fost utilizat ca agent de microincapsulare. Microcapsulele au un miez central format din unul sau mai multe sortimente de uleiuri esentiale, fiind acoperit cu un invelis (anelopa) din material polimeric, constituit din hidrolizatul de collagen. In acest caz, hidrolizatul de collagen functioneaza ca un polication. Procesul de coacervare se induce prin adaugarea unui polielectrolit de tip polianionic. Definitivarea procesului de coacervare se realizeaza prin microrarea pH-ului si prin racire. Anvelopa microcapsulei astfel formate, este moale si instabila in timp, necesitand intarire. Rigidizarea anvelopelor microcapsulelor a fost efectuata prin reticulare cu dialdehide alifactice. Reticularea are la baza reactiile de policondensare, dintre gruparile carbonil ale dialdehidei si gruparile amino din polimerul de tip collagen hidrolizat.

In etapa a III-a a proiectului au fost achizitionate echipamentele propuse, pentru efectuarea analizelor de laborator, au fost efectuate mai multe rapoarte de incercare, au fost disseminate rezultatele obtinute in cadrul proiectului in cadrul a doua conferinte internationale si a unei conferinte nationale, a fost depusa o cerere de brevet la OSIM, si au fost realizate doua parteneriate noi internationale. Pentru realizarea obiectivelor etapei au fost realocate fonduri in valoare de 21821.72 lei.

#### **Distributia resurselor financiare a fost urmatoarea:**

<b>Nr crt</b>	<b>Denumirea organizatiilor participante in proiect</b>	<b>Buget 2014 planificat (lei)</b>	<b>Buget 2014 realizat (lei)</b>	<b>Cofinantare 2014 planificat (lei)</b>	<b>Cofinantare 2014 realizat (lei)</b>	<b>Total realizat (Buget + Cofinantare)</b>
<b>1</b>	<b>CO - PROBSTDOR FER SAATZUCHT ROMANIA SRL</b>	<b>174000</b>	<b>174000</b>	<b>174000</b>	<b>174000</b>	<b>348000</b>
<b>2</b>	<b>P1 - INCDTP Sucursala ICPI</b>	<b>99500</b>	<b>99500</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>99500</b>
<b>3</b>	<b>P2 - Institutul National de</b>	<b>58.000</b>	<b>58.000</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>58.000</b>

	<b>Dezvoltare pentru Chimie si Petrochimie - ICECHIM INCDTP Sucursala ICPI</b>					
<b>4</b>	<b>P3 - Universitatea de științe Agronomice și Medicină Veterinară din București</b>	62.000	62.000	0	0	<b>62.000</b>
<b>5</b>	<b>P4 - INMA</b>	30000	30000	0	0	30000
<b>TOTAL:</b>		<b>4235000</b>	<b>4235000</b>	<b>174000</b>	<b>174000</b>	<b>597500</b>



## **Probstdorfer Saatwucht Romania SRL**

Str. Sireului 20 cod 014354 sector 1 Bucuresti  
Tel: 0040-021-2080-314/352/341/361 Fax 0040-021-2080-3

### **Etapa III a proiectului a avut urmatoarele obiective specifice:**

1. Elaborarea documentatiei tehnologice si de obtinere a hidrolizatelor de colagen bioactive pentru tratarea semintelor. - responsabil INCDTP-ICPI;
2. Realizarea la nivel pilot a tehnologiei de obtinere a hidrolizatelor de colagen bioactive pentru tratarea semintelor si a plantelor. Caracterizarea fizico-chimica a produselor obtinute. Diseminarea informatiilor. - responsabil INCDTP-ICPI;
3. Realizare si evaluare model experimental pentru hidrolizatele de colagen modificate chimic si aditivate cu extracte naturale. Caracterizarea hidrolizatelor de colagen modificate chimic-responsabil ICECHIM;
4. Elaborarea documentatiei tehnologice de conditionare, ambalare si transport a hidrolizatelor de collagen si hidrolizatelor de colagen modificate chimic. - responsabil ICECHIM;
5. Experimentarea si evaluarea compatibilitatii hidrolizatelor de colagen asupra semintelor de cereale. Selectarea variantelor optime pentru fiecare specie studiată - responsabil USAMVB;
6. Proiectare instalatie pilot privind amestecul de pesticide si hidrolizate de colagen - responsabil USMVB;
7. Experimentarea si evaluarea actiunii hidrolizatelor de colagen asupra semintelor de cereale privind efectul fungicid - responsabil PSRO;
8. Elaborarea documentatiei tehnologice pentru verificarea tehnologiei de tratare a



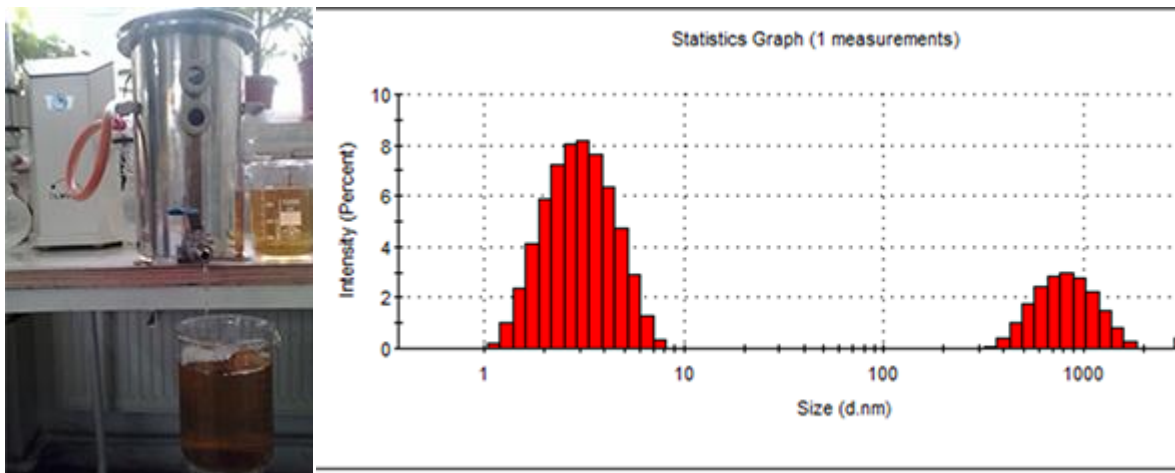
semintelor de cereal cu amestecul de hidrolizate de colagen si pesticide - responsabil PSRO;

9. Proiectarea modelului experimental de tratare a semintelor destinat instalatiei pilot - responsabil INMA

### Rezultatele etapei III:

- Documentatia tehnologica pentru realizarea hidrolizatelor de colagen bioactive, din subproduse de piele tabacita cu saruri de crom si modelul experimental pentru extragerea gelatinei din subproduse de piele semiprelucrata.

- Sarje pilot de hidrolizate de colagen bioactive pentru tratarea semintelor si a plantelor cu proprietati care le recomanda atat pentru tratarea semintelor de cereale, cat si drept vehiculant proteic si mediu de dispersie pentru microcapsulele cu uleiuri esentiale.



**Filtrare- colectare hidrolizat de colagen**      **Distributia marimii particulelor in hidrolizat de colagen extras din subproduse de piele**

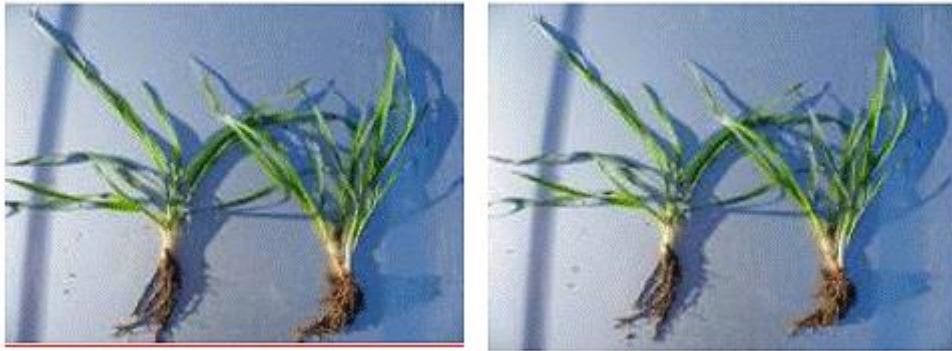
- Gelatina din subproduse de piele netabacita pentru microincapsularea uleiurilor esentiale cu proprietati insectofungicide



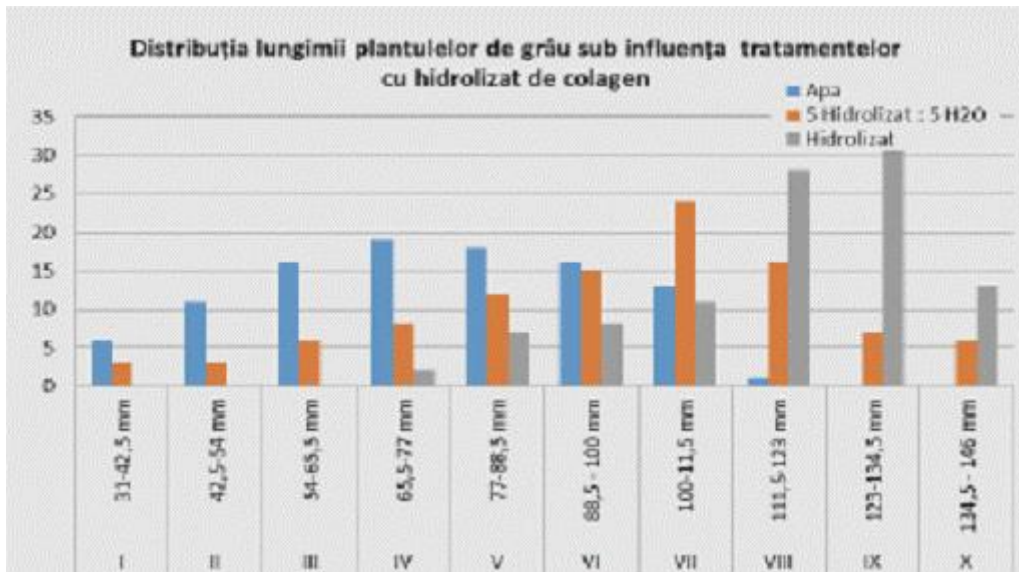
## Gelatina din subproduse de piele netabacita

- Model experimental pentru hidrolizate de collagen modificate chimic si aditivat cu extractele naturale
- Documentatie tehnologica de conditionare, ambalare si transport a hidrolizatorilor de collagen si hidrolizatorilor de collagen modificate chimic
- Evaluarea compatibilitatii hidrolizatorilor de collagen in tratamentele experimentale ale semintelor

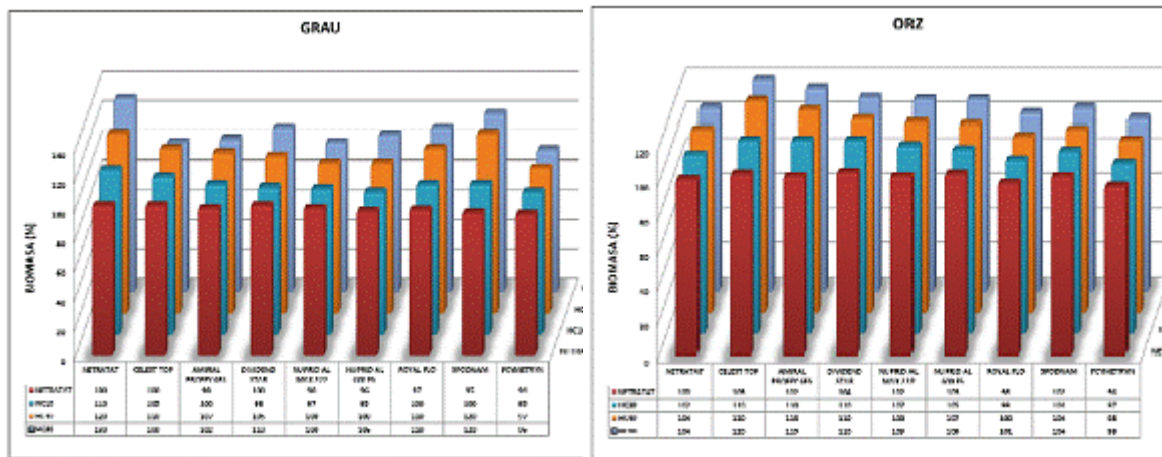
## Seminte de grau tratate cu hidrolizat de collagen la 4 si 8 zile de incubare



## Plante de grau , din campul experimental Moara Domneasca sub influenta tratamentului cu combinatii de hidrolizat de collagen si insectofungicid

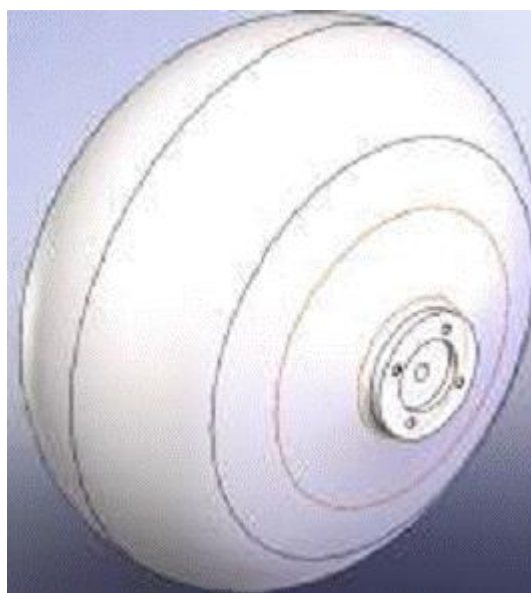
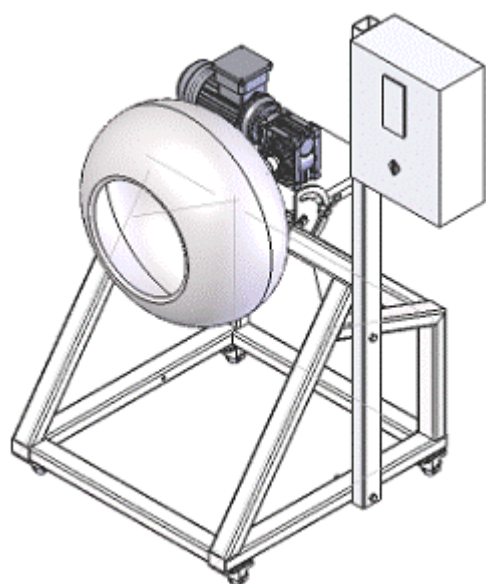


- Raport de evaluare a actiunii hidrolizatorilor de collagen asupra bolilor semintelor de cereal
- Raport de cercetare privind pretabilitatea amestecului de pesticide si hidrolizate de collagen la tratarea semintelor de cereale



**Productia de biomasa la ploturile de cereale tratate cu amestecuri de hidrolizate de colagen in diverse concentratii si diverse produse de utilizate la tratarea semintelor de cereale**

- Modelul experimental de echipament tehnic pentru tratarea semintelor de cereale.



**Cuva pentru seminte**

- Cerere de "Brevet de inventie" OSIM, nr. A00625/14.08.2014, Sistem de prelevare, numarare si distributie a probelor de seminte mari pentru determinarea germinatiei, autori: D.-G. Epure, C.F. Cioineag, R. Horoias, M. Gidea, L.-I. Epure, A. Mitroi, N.-A. Udriou, S. Cernat, D. Manea, E. Marin, C.-C. Gaidau, M.-D. Niculescu, E. Stepan, A. O. Butoianu, E. Radu

**CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

OSIM Registrarea OSIM (cuprinzând și data primirii):  
14-08-2014

<b>Se completează de către OSIM</b>	
Numărul cererii de brevet de invenție	
Data primirii la Registratura Generală a OSIM	
Data de depozit	
Data plății pachetului la Registratura Generală a OSIM	
Data de depozit după primirea plății la Registratura Generală a OSIM	
Data primirii cererii de reținere a părții legate la Registratura Generală a OSIM	
Data de deces a titularului cererii de brevet	

**1. Solicitantul** (nume și prenume/numele adrese de domiciliu/destinație, în. e. mail)

**PROBSTORFER SAATZUCHT ROMANIA SRL**  
 STRADA SIRIULEI NR. 20, SECTOR 1, BUCUREȘTI, ROMANIA  
 TEL.: 021.20.80.341 ; FAX : 021.20.80.333  
 E-mail : [dota.spa@probstorfer.ro](mailto:dota.spa@probstorfer.ro) ; <http://www.probstorfer.ro>  
 creșterea pe pag.

**2. Solicitam în baza Legii nr. 84/1991 privind brevetele de invenție, republicată, modificată prin Legea nr. 83/2014 privind invențiile de serviciu acordarea unui brevet de invenție cu titlul:**

**"SISTEM DE PRELEVARE, NUMĂRARE ȘI DISTRIBUȚIE A PROBELOR DE SEMINȚE MARI PENTRU DETERMINAREA GERMINAȚIEI"**

**2.1. Invenția a fost creată în baza:**  
 art.3 din Legea nr. 84/1991 privind brevetele de invenție, republicată;  
 art. 5 alin(1),  art.5 alin(2) fără clauză contrară,  art.5 alin(2) cu clauză contrară,  
 art.5 alin. (3), sau  art.5 alin(4) din Legea nr.83/2014 privind invențiile de serviciu

**2.2. Solicitantul este persoană juridică:**  
 a)  de drept privat sau  
 b)  de drept public

**2.3. Referința la o invenție anterioară (numar, data de depozit, tara/țara):**

**3. Declaram că inventatorii sunt cei desemnați în declarația  secretă  care va fi înscrisă ulterior**

**4. Rezumatul invenției se publică împreună cu figura numărul:**

**5. Revendicăm prioritatea convențională (numar, data depozit):**

**6. Revendicăm prioritatea internă (numar cerere de brevet, data depozit):**

1/2

FORM. B 01 - ciliți Ghidul de completare

Diseminarea rezultatelor in cadrul unor conferinte si saloane internationale si prin publicarea de articole in reviste de specialitate. Dezvoltarea de noi proiecte.

- Stepan Emil, Velea Sanda, Radu Elena, Oprescu Elena-Emilia, Radu Adrian, Gaidău Carmen, Epure Doru Gabriel, Microencapsulated Biopesticides, comunicare orala, in cadrul Simpozionului Internațional "PRIORITĂȚILE CHIMIEI PENTRU O DEZVOLTARE DURABILĂ - PRIOCHEM", ediția a X-a, București 30-31 octombrie 2014, la secțiunea 1- Bioresurse si bioproduse;
- M. D. Niculescu, C. Gaidau, New Collagen Extracts Conditioning for Applications in Crop Protection  
Against Pests, Rev. Chim.-Bucharest, 65(12), 2014, pp. 1457-1461, ISSN 0034-7752, (factor de impact 0,677/2013/2014).
- M. D. Niculescu, C. Gaidau, M. Fleancu, Doru-Gabriel Epure, Collagen polydispersions with specific properties for seeds treatment, ICAMS 2014, 5th International Conference on Advanced Materials and Systems, Bucharest, 23-25 oct. 2014, pp. 255-260, Proceedings published by CERTEX, Bucharest, 2014, ISSN 2068-0783, in curs de indexare in Scopus;
- D.-G. Epure, C. Gaidau, M. Niculescu, E. Stepan, L.-I. Epure, M. Gidea, Use of collagen hydrolysate for cereal seed treatment, Lucrare prezentata la 10th Asian International Conference

in Leather Science and

Technology, November 24th- 26th 2014, Okayama, Japan, prezentare poster;

- Fisa tehnica hidrolizat de colagen, Salonul Cercetarii Romanesti 15-18 octombrie 2014, Bucuresti.
- Pliant de prezentare cont. 112/2012, Salonul Cercetarii Romanesti 15-18 octombrie 2014, Bucuresti.

Persoane de contact:

Director proiect:

Dr. ing. Doru Epure

**SC PROBSTDORFER SAATZUCHT ROMANIA SRL**

**0040 212080361**

[doru.epure@agrovetmang.ro](mailto:doru.epure@agrovetmang.ro)

Responsabil Partener 1:

Dr.ing. Carmen Gaidau

Sef Departament Cercetare Pielarie

**004021 3235060**

[carmen.gaidau@icpi.ro](mailto:carmen.gaidau@icpi.ro)