

(19)



URZĄD  
PATENTOWY  
RZECZYPOSPOLITEJ  
POLSKIEJ

(10) **PL 244284 B1**

(12)

## Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **437986**

(22) Data zgłoszenia: **2021.05.27**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2022.11.28 BUP 48/2022**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2024.01.03 WUP 01/2024**

(51) MKP:

**A23L 3/3463** (2006.01)

**C12P 21/06** (2006.01)

**C08L 5/08** (2006.01)

**B65D 65/46** (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET ROLNICZY IM. HUGONA  
KOŁŁĄTAJA W KRAKOWIE, Kraków, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:

**EWELINA JAMRÓZ, Kraków, PL  
JOANNA TKACZEWSKA, Miechów, PL  
PIOTR KULAWIK, Kraków, PL  
MAGDALENA JANIŁ, Krynica Zdrój, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzecz. pat. Joanna Grząka-Pilch, Libertów, PL**

(54) Tytuł:

**Roztwór powłokotwórczy, jadalna aktywna powłoka biopolimerowa do przedłużania trwałości żywności i sposób wytwarzania roztworu powłokotwórczego**

**PL 244284 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest roztwór powłokotwórczy i jadalna aktywna powłoka biopolimerowa do przedłużania trwałości żywności, wytworzona z roztworu powłokotwórczego, i sposób wytwarzania roztworu powłokotwórczego. Roztwór powłokotwórczy może być aplikowany na produkt, w szczególności na produkt żywnościowy, w postaci płynnej przez polewanie, zanurzanie lub natryskiwanie. Z kolei jadalna aktywna powłoka biopolimerowa, przykładowo w postaci folii biopolimerowej, może być wykorzystywana jako opakowanie produktów, w tym produktów żywnościowych. Wynalazek może znaleźć zastosowanie w przemyśle spożywczym jako sposób utrwalania łatwo psujących się produktów spożywczych.

Zapotrzebowanie konsumentów na żywność minimalnie przetworzoną i bez sztucznych dodatków powoduje konieczność poszukiwania nowych naturalnych źródeł substancji konserwujących i opakowań aktywnych przedłużających trwałość produktów spożywczych. Odpowiedzią na tę potrzebę może być roztwór powłokotwórczy i wytwarzana z niego aktywna, jadalna powłoka biopolimerowa przedstawiona w poniższym opisie.

Znane są jadalne, aktywne powłoki zawierające chitozan oraz karagenian.

Znane są jadalne, aktywne powłoki zawierające furcellaran, jednakże brak jest informacji dotyczących powłok albo roztworów z kompleksem furcellaran-polisacharyd. W znanych przykładach wykonania w celu otrzymania roztworu powłokotwórczego furcellaran mieszano z białkiem serwatkowym (Pluta-Kubica, Jamróz, Kawecka, Juszczak, & Krzyściak, 2019), żelatyną (Jamróz, Kulawik, Krzyściak, Talaga-Ćwiertnia, & Juszczak, 2019) czy hydrolizatem żelatynowym (Jamróz et al., 2021), który wykorzystywano do otrzymywania folii biopolimerowych.

Znane są jadalne, aktywne powłoki zawierające hydrolizaty białkowe, które wykazywały skuteczność w hamowaniu patogennych mikroorganizmów i utleniania lipidów w żywności. Według danych znanych z literatury, po dodaniu hydrolizatu białkowego występują zmiany we właściwościach mechanicznych i morfologii powierzchni powłoki. Kierunek tych zmian zależy jednak od zastosowanego hydrolizatu. Hydrolizaty białkowe i chitozan stanowią obiecującą alternatywę dla syntetycznych konserwantów i składników aktywnych powłok biopolimerowych. Jednak do tej pory nie wynaleziono powłok jadalnych składających się z furcellaranu, chitozanu i hydrolizatu żelatyny, tożsamego z określeniem hydrolizat żelatynowy, ze skór karpia o udowodnionej aktywności przeciwutleniającej i antymikrobiologicznej.

Znane są jadalne, aktywne powłoki zawierające hydrolizaty białkowe, które wykazywały skuteczność w hamowaniu patogennych mikroorganizmów i utleniania lipidów w żywności. Według danych literaturowych po dodaniu hydrolizatu białkowego występują zmiany we właściwościach mechanicznych i morfologii powierzchni powłoki. Kierunek tych zmian zależy jednak od zastosowanego hydrolizatu. Hydrolizaty białkowe i chitozan stanowią obiecującą alternatywę dla syntetycznych konserwantów i składników aktywnych powłok biopolimerowych. Furcellaran znany ze stanu techniki jest anionowym polisacharydem pozyskiwanym z czerwonych alg *Furcellaria lumbricalis*, a jego właściwości strukturalne i funkcjonalne są zbliżone do  $\kappa$ -karagenianu. Z kolei chitozan jest polisacharydem o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, który jest proponowany jako skuteczna substancja powłokotwórcza dla wielu surowców i artykułów spożywczych. Przy pozyskiwaniu chitozanu z chityny otrzymuje się biodegradowalny polimer o szerokim zastosowaniu w medycynie, weterynarii, kosmetyce, a także w ochronie środowiska. W proponowanej powłoce chitozan pełni rolę czynnika o aktywności antymikrobiologicznej. Za właściwości przeciwutleniające otrzymywanej powłoki odpowiada hydrolizat żelatyny ze skór karpia, zawierający biologicznie aktywne peptydy definiowane jako fragmenty białek, które pozostają nieaktywne w sekwencji swoich prekursorów, natomiast po uwolnieniu przez enzymy proteolityczne mogą oddziaływać z odpowiednimi receptorami, wykazując działanie przeciwutleniające. Hydrolizaty białkowe, które zawierają peptydy przeciwutleniające, można stosować jako składnik bioaktywny w jadalnych powłokach biopolimerowych. W skład omawianej powłoki wchodzi hydrolizat żelatyny ze skór karpia, będący źródłem między innymi przeciwutleniającego peptydu o sekwencji Alanina-Tyrozyna oraz wykazujący działanie antymikrobiologiczne.

Hydrolizat żelatyny, zgodnie ze stanem techniki, może być wytwarzany z żelatyny. Sposobami wytwarzania żelatyny, z której pozyskiwany jest hydrolizat, są sposoby opisane w publikacji pt. „Characterization of carp (*Cyprinus carpio*) skin gelatin extracted using different pretreatments method”, Food Hydrocolloids 81 (2018). Zgodnie z tą publikacją w jednym ze sposobów bazujących na przedstawionej metodzie, partię częściowo rozmrożonej skóry o temperaturze około 0°C potraktowano 2,6% roztworem

chlorku sodu, przy czym stosunek wagi skór do objętości NaCl wynosił 1:6 (wag./obj.). Proces był kontynuowany przez 10 minut w temperaturze nieprzekraczającej 16°C, z intensywnym mieszaniem na mieszadle magnetycznym. Po ekstrakcji mieszaninę pozostawiono na 10 minut do sedymentacji. Następnie górną warstwę roztworu, zawierającą tłuszcz znajdujący się na powierzchni, zebrano i usunięto. Pozostałą część roztworu przelano przez tkaninę o średnicy oczek 72 µm i wirowano przez 5 minut przy 1000 x g, a supernatant usunięto. Powyższą procedurę przeprowadzono dwukrotnie. Potem pozostały surowiec zmieszano z wodą wodociągową w stosunku 6:1 (obj./wag.) i mieszano przez 10 minut w temperaturze nieprzekraczającej 18°C i odwirowywano przez 5 minut przy 1000 x g, a supernatant usunięto. Krok ten został powtórzony trzy razy. Następnie materiał został dodany do ciepłej wody destylowanej o temperaturze około 45°C, w stosunku 1:3 (wag./obj.). Ekstrakcję żelatyny prowadzono przez 60 minut, z ciągłym mieszaniem w temperaturze 45°C ± 1,5°C. Po zakończeniu ekstrakcji roztwór żelatyny oddzielono od nierozpuszczalnego materiału za pomocą filtracji, przy użyciu podwójnej tkaniny o średnicy oczek 72 µm. Wreszcie, roztwór ponownie przesączono przez jakościowy papier filtracyjny o średniej prędkości i wysuszono za pomocą liofilizatora. Ekstrakcje przeprowadzono trzykrotnie.

Inny sposób wytwarzania żelatyny znany ze wspomnianej publikacji został oparty na metodzie opisanej przez Duana i wsp. (2011). Zgodnie z tym sposobem skóry zmieszane z 0,1 M NaOH mieszano przez 6 godzin w sposób ciągły, przy stosunku próbka/roztwór alkaliczny wynoszącym 1:3 (wag./poj.), w celu usunięcia białek niekolagenowych. Roztwór alkaliczny był wymieniany co 3 godziny. Następnie próbki przemyto zimną wodą destylowaną, aż do uzyskania obojętnego odczynu pH wody przemywającej, to jest pH 7. Po tym skóry namoczono przy użyciu etanolu spożywczego (95,6%), przy stosunku ciało stałe/roztwór kwasowy wynoszącym 1:2 (wag./obj.), pozostawiono na noc w celu usunięcia tłuszczu i kilkakrotnie przemyto zimną wodą destylowaną. Wszystkie procedury przeprowadzono przy temperaturze około 4°C. Żelatynę ekstrahowano ze wstępnie obrobionych skór, przy stosunku frakcja stała/woda destylowana wynoszącym 1:3 (wag./obj.), przez 4 godziny w temperaturze 45°C ± 1,5°C. Następnie żelatynę zebrano przez filtrację i liofilizowano podobnie jak opisano dla wyżej wspomnianego sposobu. Ekstrakcje przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

W jeszcze innym sposobie, znanym ze wspomnianej publikacji, żelatynę otrzymano przy użyciu rozcieńczonych alkaliów i obróbki wstępnej kwasami organicznymi i nieorganicznymi. Ten sposób został oparty na metodzie opisanej przez Grossmana i Bergmana (1992) z modyfikacjami. Zgodnie z tym sposobem skóry były moczone w 0,2% NaOH przez 2 godziny, przy stosunku próbka/roztwór alkaliczny wynoszącym 1:6 (wag./obj.). Potem skóry potraktowane alkaliami przemywano wodą destylowaną w temperaturze 10°C, do osiągnięcia odczynu pH 7, i moczone w 0,2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 2 godziny, przy stosunku próbka/roztwór kwasu wynoszącym 1:6 (wag./obj.). Następnie skóry potraktowane kwasem mineralnym przemywano wodą destylowaną w temperaturze 10°C, aż do momentu, gdy popłuczyny miały odczyn pH 7, i nasączano 1,0% wodnym roztworem kwasu cytrynowego przez 2 godziny, przy stosunku próbka/roztwór kwasu cytrynowego wynoszącym 1:6 (wag./obj.). Po tym skóry potraktowane kwasem cytrynowym ponownie przemywano wodą destylowaną w temperaturze 10°C, aż popłuczyny osiągnęły odczyn pH 7, i poddano je końcowemu przemyciu wodą destylowaną w celu usunięcia wszelkich pozostałości soli. Wstępnie przygotowane skóry umieszczono w naczyniu zawierającym wodę destylowaną i ekstrahowano w temperaturze 45°C ± 1,5°C. Po całonocnej ekstrakcji, mieszaninę przesączono, a następnie liofilizowano w celu całkowitego usunięcia wilgoci, jak opisano dla wyżej wspomnianych sposobów. Ekstrakcje przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Z publikacji opisu zgłoszeniowego P.424604 wynalazku pt. „Produkt hydrolizy żelatyny pozyskanej ze skóry karpia i sposób jego otrzymywania” znany jest sposób wytwarzania produktu hydrolizy żelatyny pozyskanej ze skóry karpia, zawierający aktywny peptyd o właściwościach przeciwutleniających, zidentyfikowany jako Alanina-Tyrozyna, cechujący się wysoką rozpuszczalnością w wodzie w szerokim zakresie odczynu pH. Zgodnie ze wspomnianą publikacją, hydrolizat żelatyny ze skóry karpia uzyskiwano przez dodatek enzymu proteolitycznego subtilyzyny, otrzymywanego przykładowo z *Bacillus subtilis*, w ilości 2% masy liofilizowanej żelatyny o zawartości białka 82%. Otrzymany hydrolizat żelatyny wykazywał aktywność przeciwutleniającą określoną w oparciu o siłę redukującą jonów żelaza (III) zgodnie z metodą FRAP na poziomie 5,14–3,70 µM troloksu na mg liofilizatu.

Wytworzony hydrolizat żelatyny zawierał między innymi białko w ilości 80,09 ± 0,43% wagowo całkowitej masy i tłuszcz w ilości 0,93% wagowo całkowitej masy, jako składniki odżywcze. Na profil aminokwasów w białku składała się głównie alanina, arginina, kwas asparaginowy, kwas glutaminowy, glicyna, lizyna, metionina, prolina + hydroksyprolina, seryna, treonina i walina.

Znany z wyżej wymienionej publikacji i dostępnej literatury sposób otrzymywania hydrolizatu żelatyny polegał na tym, że skóry z karpia (*Cyprinus carpio*), będące produktem ubocznym w procesie filetowania ryb, poddawane były moczeniu w 0,1 M NaOH przez 6 godzin, następnie w alkoholu etylowym przez 12 godzin, w temperaturze 4°C. Żelatynę ekstrahowano w wodzie przez 4 godziny w temperaturze 45°C ± 1°C. Otrzymany roztwór poddawany był procesowi liofilizacji. W jednym z przykładów wykonania 12,25 g liofilizowanej żelatyny o zawartości białka 82% rozpuszczano w 150 ml wody destylowanej o temperaturze 50°C, jednocześnie dodając 1 M HCl w takiej ilości, aby doprowadzić odczyn pH roztworu do wartości 7.

Dodawanie HCl do roztworów w celu uzyskaniażądanego odczynu pH roztworu jest dobrze znane ze stanu techniki. Z różnych publikacji wynika, że po dodaniu HCl do roztworu sprawdza się odczyn pH roztworu i dodaje się tyle HCl, ciągle sprawdzając wartość odczynu pH, aż doprowadzi się odczyn pH roztworu dożądanej wartości odczynu pH. Pomiary odczynu pH roztworu są łatwiejsze aniżeli obliczenie, ile HCl należy dodać, aby doprowadzić odczyn pH roztworu dożądanej wartości odczynu pH.

Hydrolizę enzymatyczną rozpoczynano przez dodatek enzymu proteolitycznego subtylizyny, otrzymywanego przykładowo z *Bacillus subtilis*, w ilości 2% w stosunku do substratu. Proces hydrolizy prowadzono przez 180 minut w temperaturze 50°C, utrzymując stale odczyn pH roztworu o wartości 7 poprzez dodatek 1 M NaOH w ilości pozwalającej na ciągle utrzymywanie odczynu pH roztworu na poziomie pH 7. Reakcję hamowano poprzez ogrzewanie hydrolizatu w temperaturze 90°C przez 15 minut, po czym otrzymany roztwór chłodzono w łaźni z lodem przez 10 minut, a następnie wirowano przy 1000 x g przez 15 minut w temperaturze 4°C. Wyrażenie 1000 x g opisuje siłę przyspieszenia przykładaną do próbki w wirówce, którą mierzy się wielokrotnością, w tym przypadku 1000 razy, standardowego przyspieszenia z powodu grawitacji na powierzchni Ziemi albo przyspieszenia wywołanego grawitacją Ziemi. W przypadku energicznego mieszania można je prowadzić do 10000 x g. W celu otrzymania hydrolizatu żelatyny produkt wirowania poddawano liofilizacji.

Wśród zalet zgłaszanego wynalazku należy wymienić, że zarówno wytworzony według wynalazku roztwór powłokotwórczy, jak i jadalna aktywna powłoka biopolimerowa do przedłużania trwałości żywności są biodegradowalne i posiadają właściwości przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwgrzybiczne, antyoksydacyjne i antyutleniające.

Celem niniejszego wynalazku jest stworzenie roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności, jak również jadalna aktywna powłoka biopolimerowa do przedłużania trwałości żywności. Ponadto celem niniejszego wynalazku jest ujawnienie sposobu otrzymywania roztworu powłokotwórczego służącego do wytwarzania jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności.

Ideą wynalazku jest roztwór powłokotwórczy zawierający hydrolizat żelatynowy i furcellaran do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności charakteryzujący się tym, że oprócz hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia, rozpuszczonego w wodzie destylowanej w ilości od 1,5% do 7,5% wagowo użytej wody destylowanej, w ilości od 9,0% do 16,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, i oprócz furcellaranu rozpuszczonego w wodzie destylowanej w ilości od 0,2% do 1,0% wagowo użytej wody destylowanej i pozostawionego do spęcznienia przez 0,9–1,1 godziny i następnie rozpuszczonego w trakcie mieszania w temperaturze od 180°C do 220°C do czasu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu foliotwórczego furcellaranu i doprowadzonego w kolejnym kroku do odczynu pH przygotowanego roztworu w granicach od pH 3 do pH 4, przy pomocy wkrapiania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4, w ilości od 30,0% do 42,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, roztwór powłokotwórczy zawiera chitozan w ilości 1,8% do 2,0% wagowo masy od 1,9% do 2,1% kwasu octowego, służącego do rozpuszczenia chitozanu, mieszany przez ok. 3 godziny w temperaturze od 70°C do 90°C, w ilości od 45% do 57% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, zmieszany z podgrzanym roztworem furcellaranu, przez wkrapianie roztworu furcellaranu do roztworu chitozanu, i glicerol w ilości od 0,5% do 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodany podczas mieszania do roztworu furcellaranu i roztworu chitozanu.

Korzystnie, hydrolizat żelatynowy może być hydrolizatem wytwarzanym z żelatyny ze skóry karpia, a określenie hydrolizat żelatynowy i określenie hydrolizat żelatyny może być używane zamiennie.

Ideą wynalazku jest także jadalna aktywna powłoka biopolimerowa do przedłużania trwałości żywności charakteryzująca się tym, że zawiera osuszony roztwór powłokotwórczy o wilgotności nie

większej niż 15% i zawierający hydrolizat żelatynowy ze skóry karpia, rozpuszczony w wodzie destylowanej w ilości od 1,5% do 7,5% wagowo użytej wody destylowanej, w ilości od 9,0% do 16,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, chitozan w ilości 1,8% do 2,0% wagowo masy od 1,9% do 2,1% kwasu octowego, służącego do rozpuszczenia chitozanu, w ilości od 45% do 57% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, furcellaran rozpuszczony w wodzie destylowanej w ilości od 0,2% do 1,0% wagowo użytej wody destylowanej i pozostawiony do spęcznienia przez 0,9–1,1 godziny i następnie rozpuszczony w trakcie mieszania w temperaturze od 180°C do 220°C do czasu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu foliotwórczego furcellaranu i doprowadzony w kolejnym kroku do odczynu pH od odczynu pH 3 do pH 4 przygotowanego roztworu w granicach od pH 3 do pH 4, przy pomocy wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4, w ilości od 30,0% do 42,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, przy czym roztwór chitozanu miesza się z podgrzany roztworem furcellaranu przez wkraplanie roztworu furcellaranu do wytwarzanego roztworu chitozanu i z glicerolem w ilości 0,5% do 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodanym do roztworu zawierającego roztwór furcellaranu i roztwór chitozanu podczas jego mieszania.

Ideą wynalazku jest również sposób otrzymywania roztworu powłokotwórczego służącego do wytwarzania jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności charakteryzującej się tym, że przygotowuje się indywidualnie hydrolizat żelatynowy ze skóry karpia, rozpuszczając go w wodzie destylowanej w ilości od 1,5% do 7,5% wagowo użytej wody, w ilości od 9,0% do 16,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, roztwór chitozanu w ilości 1,8% do 2,0% wagowo masy od 1,9% do 2,1% kwasu octowego, służącego do rozpuszczenia chitozanu, który miesza się przez ok. 3 godziny w temperaturze od 70°C do 90°C, w ilości od 45,0% do 57,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, furcellaran rozpuszczony w wodzie destylowanej w ilości od 0,2% do 1,0% wagowo użytej wody i pozostawiony początkowo do spęcznienia przez 0,9–1,1 godziny i następnie rozpuszczony w trakcie mieszania w temperaturze od 180°C do 220°C do czasu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu foliotwórczego furcellaranu i doprowadzony w kolejnym kroku do odczynu w granicach od pH 3 do pH 4, przy pomocy wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4, w ilości od 30,0% do 42,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, przy czym roztwór chitozanu miesza się z uprzednio przygotowanym i podgrzany roztworem furcellaranu, przez wkraplanie roztworu furcellaranu do wytwarzanego roztworu chitozanu, a następnie dodaje się glicerol w ilości od 0,5% do 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, podczas mieszania roztworu furcellaranu i roztworu chitozanu, i dalej miesza się przez kolejne 8–15 minut, po czym do roztworu furcellaranu, roztworu chitozanu i glicerolu dodaje się przygotowany uprzednio roztwór wodny hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia i całość miesza się przez około 18–25 minut.

Przy tym, hydrolizat żelatynowy pozyskuje się z liofilizowanej żelatyny wytworzonej ze skóry karpia (*Cyprinus carpio*), którą poddaje się moczeniu najpierw w 0,1 M NaOH przez 6 godzin, a następnie w alkoholu etylowym przez 12 godzin, w temperaturze 4°C, po czym żelatynę ekstrahuje się w wodzie przez 4 godziny w temperaturze 45°C ± 1°C, a otrzymany roztwór poddaje się procesowi liofilizacji lub hydrolizat żelatynowy pozyskuje się z 12,25 g liofilizowanej żelatyny o zawartości białka 82%, którą rozpuszcza się w 150 ml wody destylowanej o temperaturze 50°C, jednocześnie dodając 1 M HCl, w takiej ilości, aby doprowadzić odczyn pH roztworu do wartości pH 7, po czym rozpoczyna się hydrolizę enzymatyczną przez dodatek enzymu proteolitycznego subtylizyny, otrzymywanego z *Bacillus subtilis*, w ilości 2% w stosunku do substratu i proces hydrolizy prowadzi się przez 180 minut w temperaturze 50°C, utrzymując stale odczyn pH roztworu o wartości pH 7 poprzez dodatek 1 M NaOH w ilości pozwalającej na ciągłe utrzymywanie odczynu pH roztworu o wartości pH 7, przy czym proces hydrolizy hamuje się poprzez ogrzewanie hydrolizatu w temperaturze 90°C przez 15 minut, po czym otrzymany roztwór chłodzi w łaźni z lodem przez 10 minut, a następnie odwirowuje się przy 1000 x g, a nawet 10000 x g przez 15 minut w temperaturze 4°C i w celu otrzymania hydrolizatu żelatynowego produkt wirowania poddaje się liofilizacji.

Przedmiot wynalazku jest uwidoczniony w przykładach wykonania na rysunku, na którym Fig. 1 przedstawia schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu wodnego hydrolizatu żelatynowego, Fig. 2 przedstawia schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu chitozanu, Fig. 3 przedstawia schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu wodnego furcellaranu, a Fig. 4 przedstawia schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej.

W celu otrzymania roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej przygotowuje się indywidualnie trzy roztwory: roztwór wodny hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia, roztwór chitozanu i roztwór wodny furcellaranu.

Na Fig. 1 przedstawiono schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu wodnego hydrolizatu żelatynowego, w którym w kroku 10 miesza się hydrolizat żelatynowy ze skóry karpia z wodą destylowaną. W jednym przypadku hydrolizat żelatynowy rozpuszcza się w wodzie destylowanej w ilości 1,5% wagowo użytej wody destylowanej, a w innym przypadku hydrolizat żelatynowy rozpuszcza się w wodzie destylowanej w ilości 7,5% wagowo użytej wody destylowanej, korzystnie hydrolizat żelatynowy rozpuszcza się w wodzie destylowanej w ilości 4,5% wagowo użytej wody destylowanej. Udział hydrolizatu żelatynowego w całkowitej masie roztworu powłokotwórczego wynosi od 9,0% do 16,0%.

Na Fig. 2 przedstawiono schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu chitozanu. W kroku 20 chitozan rozpuszcza się w 2% kwasie octowym albo w 1,9% kwasie octowym albo w 2,1% kwasie octowym. W jednym z przykładów w kwasie octowym o jednym ze stężeń podanych powyżej rozpuszcza się chitozan w ilości 1,8% wagowo masy kwasu octowego. W innym z przykładów w kwasie octowym o jednym ze stężeń podanych powyżej rozpuszcza się chitozan w ilości 2,0% wagowo masy kwasu octowego, a w jeszcze innym z przykładów w kwasie octowym o jednym ze stężeń podanych powyżej rozpuszcza się chitozan w ilości wybranej z przedziału od 1,8% do 2,0% wagowo masy kwasu octowego, korzystnie chitozan rozpuszcza się w ilości 1,9% wagowo masy 2% kwasu octowego. Następnie w kroku 21 roztwór ten miesza się przez ok. 3 godziny, w jednym przykładzie w temperaturze 70°C, w innym przykładzie miesza się w temperaturze 90°C, korzystnie miesza się w temperaturze 80°C. Udział roztworu chitozanu w całkowitej masie roztworu powłokotwórczego wynosi od 45,0% do 57,0%.

Fig. 3 przedstawia schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu wodnego furcellaranu. W kroku 40 furcellaran miesza się z wodą destylowaną. W jednym przykładzie furcellaran miesza się w ilości 0,2% wagowo użytej wody destylowanej, w innym przykładzie furcellaran miesza się w ilości 1,0% wagowo użytej wody destylowanej, korzystnie furcellaran miesza się w ilości 0,6% wagowo użytej wody destylowanej. Po tym w kroku 41 roztwór wodny furcellaranu pozostawia się do spęczenia, w jednym przypadku przez 0,9 godziny, w innym przypadku przez 1,1 godziny, korzystnie przez 1 godzinę. Następnie w kroku 42 rozpuszcza się go w trakcie mieszania, w jednym przykładzie w temperaturze 180°C, w innym przykładzie w temperaturze 220°C, korzystnie w temperaturze 200°C, aby uzyskać jednorodny, klarowny roztwór foliotwórczy. W kolejnym kroku 43 odczyn pH roztworu furcellaranu doprowadza się do wartości od pH 3 do pH 4 przy pomocy wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4. W jednym przykładzie dodaje się 15 kropeł 10% HCl, w innym przykładzie dodaje się 17 kropeł 10% HCl, korzystnie dodaje się 16 kropeł 10% HCl. Udział roztworu wodnego furcellaranu w całkowitej masie roztworu powłokotwórczego wynosi od 30,0% do 42,0%.

Fig. 4 przedstawia schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej. Po starcie w kroku 50, w kroku 51 uprzednio przygotowane roztwory chitozanu i furcellaranu miesza się przez wkraplanie gorącego roztworu furcellaranu do roztworu chitozanu podczas jego energicznego mieszania. Do powstałej mieszaniny roztworów furcellaranu i chitozanu w kroku 52 dodaje się glicerol, w jednym przykładzie w ilości 0,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, w innym przykładzie w ilości 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, korzystnie w ilości 0,45% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, i miesza się, w jednym przykładzie przez 8 minut, w innym przykładzie przez 15 minut, korzystnie przez 10 minut. W kroku 53 do roztworu zawierającego roztwór furcellaranu, roztwór chitozanu i glicerol dodaje się podczas mieszania roztwór hydrolizatu żelatynowego, aby następnie w kroku 54 otrzymaną mieszaninę roztworów mieszać, w jednym przykładzie przez 18 minut, w innym przykładzie przez 25 minut, korzystnie przez 20 minut, aż do zakończenia tworzenia roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej w kroku 55.

W jednym z przykładów wykonania roztwór powłokotwórczy wytworzony sposobem zgodnym z wynalazkiem zawiera hydrolizat żelatynowy ze skóry karpia, rozpuszczony w wodzie destylowanej w ilości stanowiącej 1,5% wagowo użytej wody destylowanej, po rozpuszczeniu w ilości 9,0% wagowo całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, furcellaran rozpuszczony w wodzie destylowanej w ilości stanowiącej 0,2% wagowo użytej wody destylowanej i pozostawiony do spęczenia przez 0,9–1,1 go-

dziny i następnie rozpuszczony w trakcie mieszania w temperaturze 180°C do czasu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu foliotwórczego furcellaranu i doprowadzonego w kolejnym kroku do odczynu pH przygotowanego roztworu w granicach od pH 3 do pH 4, przy pomocy wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4, po rozpuszczeniu w ilości 35,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, chitozan w ilości stanowiącej 1,8% wagowo masy 2% kwasu octowego, służącego do rozpuszczenia chitozanu, mieszany przez 3 godziny w temperaturze 70°C, po rozpuszczeniu w ilości 55,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, zmieszany z podgrzany roztworem furcellaranu przez wkraplanie roztworu furcellaranu do roztworu chitozanu, i glicerol w ilości 0,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodany podczas mieszania do roztworu furcellaranu i roztworu chitozanu.

W innym przykładzie wykonania roztwór powłokotwórczy wytworzony sposobem zgodnym z wynalazkiem zawiera hydrolizat żelatynowy ze skóry karpia rozpuszczony w wodzie destylowanej w ilości stanowiącej 7,5% wagowo użytej wody destylowanej, po rozpuszczeniu w ilości 16,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, furcellaran rozpuszczony w wodzie destylowanej w ilości 1,0% wagowo użytej wody destylowanej i pozostawiony do spęcznienia przez 0,9–1,1 godziny i następnie rozpuszczony w trakcie mieszania w temperaturze od 180°C do 220°C do czasu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu foliotwórczego furcellaranu i doprowadzony w kolejnym kroku do odczynu pH przygotowanego roztworu w granicach od pH 3 do pH 4, przy pomocy wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4, po rozpuszczeniu w ilości 37,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, chitozan w ilości 2,0% wagowo masy 2% kwasu octowego, służącego do rozpuszczenia chitozanu, mieszany przez ok. 3 godziny w temperaturze od 70°C do 90°C, po rozpuszczeniu w ilości 45,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, zmieszany z podgrzany roztworem furcellaranu, przez wkraplanie roztworu furcellaranu do roztworu chitozanu, i glicerol w ilości 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodany podczas mieszania do roztworu furcellaranu i roztworu chitozanu. Jadalną aktywną powłokę biopolimerową uzyskuje się odparowując wodę z roztworu powłokotwórczego aż do uzyskania wilgotności jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej nie większej niż 15%.

Przedmiot wynalazku został opisany ponadto w poniższych przykładach wykonania.

#### **Przykład 1**

W celu otrzymania roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej przygotowuje się indywidualnie trzy roztwory: roztwór wodny hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia, roztwór chitozanu i roztwór wodny furcellaranu. W 10 ml wody destylowanej miesza się 0,25 g hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia. Następnie 0,9 g chitozanu rozpuszcza się w 50 ml 2% kwasu octowego i roztwór ten miesza się w temperaturze 70°C przez ok. 3 godziny. Potem 0,1 g furcellaranu rozpuszcza się w 40 ml wody destylowanej i pozostawia do spęcznienia przez 1,1 godziny, a następnie rozpuszcza się go w trakcie mieszania w temperaturze 200°C, aby uzyskać jednorodny, klarowny roztwór foliotwórczy. W kolejnym kroku odczyn pH roztworu furcellaranu doprowadza się do wartości od pH 3 do pH 4 przy pomocy wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania pożądanej wartości odczynu pH roztworu. Po uzyskaniu odpowiedniej wartości odczynu pH roztworu furcellaranu, do roztworu chitozanu, energicznie mieszając, wkrapla się gorący roztwór furcellaranu. Do powyższej mieszaniny roztworów furcellaranu i chitozanu dodaje się 0,5 ml glicerolu i miesza się przez kolejne 15 minut. W ostatnim kroku dodaje się przygotowany na samym początku wodny roztwór hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia i całość miesza się przez około 25 minut.

#### **Przykład 2**

W celu otrzymania roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej przygotowuje się indywidualnie trzy roztwory: roztwór wodny hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia, roztwór chitozanu i roztwór wodny furcellaranu. W 15 ml wody destylowanej miesza się 0,5 g hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia. Następnie 0,8 g chitozanu rozpuszcza się w 50 ml 2% kwasu octowego i roztwór ten miesza się w temperaturze 90°C przez ok. 3 godziny. Potem 0,2 g furcellaranu rozpuszcza się w 35 ml wody destylowanej i pozostawia do spęcznienia przez 1 godzinę, a następnie rozpuszcza się go w trakcie mieszania w temperaturze 180°C, aby uzyskać jednorodny, klarowny roztwór foliotwórczy. W kolejnym kroku odczyn pH roztworu furcellaranu doprowadza się do wartości od pH 3 do pH 4 przy pomocy wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania pożądanej wartości odczynu pH roztworu. Po uzyskaniu odpowiedniej wartości odczynu pH roztworu furcellaranu, do roztworu chitozanu, energicznie mieszając, wkrapla się gorący roztwór furcellaranu. Do

powyższej mieszaniny roztworów furcellaranu i chitozanu dodaje się 1 ml glicerolu i miesza się przez kolejne 12 minut. W ostatnim kroku dodaje się przygotowany na samym początku wodny roztwór hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia i całość miesza się przez około 21 minut.

### Przykład 3

W celu otrzymania roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej przygotowuje się indywidualnie trzy roztwory: roztwór wodny hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia, roztwór chitozanu i roztwór wodny furcellaranu. W 20 ml wody destylowanej miesza się 0,75 g hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia. Następnie 0,7 g chitozanu rozpuszcza się w 50 ml 2% kwasu octowego i roztwór ten miesza się w temperaturze 80°C przez ok. 3 godziny. Potem 0,3 g furcellaranu rozpuszcza się w 30 ml wody destylowanej i pozostawia do spęcznienia przez 0,9 godziny, a następnie rozpuszcza się go w trakcie mieszania w temperaturze 200°C, aby uzyskać jednorodny, klarowny roztwór foliotwórczy. W kolejnym kroku odczyn pH roztworu furcellaranu doprowadza się do wartości od pH 3 do pH 4 przy pomocy wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania pożądanego pH roztworu. Po uzyskaniu odpowiedniej wartości odczynu pH roztworu furcellaranu, do roztworu chitozanu, energicznie mieszając, wkrapla się gorący roztwór furcellaranu. Do powyższej mieszaniny roztworów furcellaranu i chitozanu dodaje się 1,5 ml glicerolu i miesza się przez kolejne 8 minut. W ostatnim kroku dodaje się przygotowany na samym początku wodny roztwór hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia i całość miesza się przez około 18 minut.

W każdym z podanych powyżej przykładów uzyskany roztwór może być przenoszony bezpośrednio na produkt spożywczy bądź wylewany na płytkę albo szalkę Petriego, gdzie po osuszeniu, pozostawiony do wyschnięcia pod dygestorium w temperaturze pokojowej przez 2 dni, przyjmuje postać folii o wilgotności nie większej niż 15% wagowo.

Poniżej opisano przykład zastosowania zgłaszanego wynalazku, w odniesieniu do schabu wieprzowego zabezpieczonego za pomocą roztworu powłokotwórczego. Zgodnie z tym przykładem schab wieprzowy świeży najpierw podzielono na trzy równe części za pomocą sterylnego noża. Jedną część, określoną jako próbka zerowa, przy użyciu sterylnej pęsety anatomicznej laboratoryjnej, zanurzano w roztworze powłokotwórczym sporządzonym według przykładu 3 na 3 sekundy, po czym przeniesiono do jałowego opakowania PET z przykrywką. Drugą część, określoną jako próbka kontrolna, przeniesiono bezpośrednio na jałowe opakowanie PET z przykrywką, bez zanurzania w roztworze. Trzecia część, określona jako próbka zerowa, umieszczona została w sterylnym opakowaniu PET i skierowana do badań mikrobiologicznych, w celu określenia skażenia początkowego produktu. Próbkę z powłoką oraz próbkę kontrolną przechowywano przez okres 11 dni w urządzeniu chłodniczym, w temperaturze 4°C. Po tym czasie próbki poddano analizom mikrobiologicznym. Analizy mikrobiologiczne polegały na określeniu ogólnej liczby drobnoustrojów aerobowych mezofilnych, zgodnie ze standardem ISO 4833-1:2013. Badanie powtórzono trzykrotnie używając schabu z różnych opakowań i numerów partii. Zanieczyszczenie początkowe schabu wieprzowego w dniu przygotowania próbek w próbce zerowej, wynosiło średnio  $2,96 \pm 1,33 \log \text{ jtk/g}$ . Po 11 dniach przechowywania chłodniczego ogólna liczba drobnoustrojów w schabie kontrolnym wynosiła  $7,631 \pm 1,27 \log \text{ jtk/g}$  podczas gdy w schabie z powłoką aktywną  $4,63 \pm 0,14 \log \text{ jtk/g}$ .

Roztwór powłokotwórczy przygotowany zgodnie z opisem w przykładzie 3 cechował się także wysoką aktywnością antyoksydacyjną, w tym zdolnością do inhibicji rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pirylohydrazyl) na poziomie 60,35% oraz wartością FRAP wynoszącą 1,86  $\mu\text{M}$  troloksu na ml roztworu.

## Zastrzeżenia patentowe

1. Roztwór powłokotwórczy zawierający hydrolizat żelatynowy i furcellaran do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności **znamienny tym**, że oprócz hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia, rozpuszczonego w wodzie destylowanej w ilości od 1,5% do 7,5% wagowo użytej wody destylowanej, po rozpuszczeniu w ilości od 9,0% do 16,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, i oprócz furcellaranu rozpuszczonego w wodzie destylowanej w ilości od 0,2% do 1,0% wagowo użytej wody destylowanej i pozostawionego do spęcznienia przez 0,9–1,1 godziny i następnie rozpuszczonego w trakcie mieszania w temperaturze od 180°C do 220°C do czasu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu foliotwórczego furcellaranu i doprowadzonego w kolejnym kroku do odczynu pH przygotowanego roztworu w granicach od pH 3 do pH 4, przy pomocy wkraplania 10% kwasu

- solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4, po rozpuszczeniu w ilości od 30,0% do 42,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, roztwór powłokotwórczy zawiera chitozan w ilości 1,8% do 2,0% wagowo masy od 1,9% do 2,1% kwasu octowego, służącego do rozpuszczenia chitozanu, mieszany przez ok. 3 godziny w temperaturze od 70°C do 90°C, po rozpuszczeniu w ilości od 45,0% do 57,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, zmieszany z podgrzanym roztworem furcellaranu, przez wkraplanie roztworu furcellaranu do roztworu chitozanu, i glicerol w ilości od 0,5% do 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodany podczas mieszania do roztworu furcellaranu i roztworu chitozanu.
2. Roztwór powłokotwórczy według zastrz. 1 **znamienny tym**, że hydrolizat żelatynowy jest hydrolizatem wytwarzanym z żelatyny ze skóry karpia.
  3. Jadalna aktywna powłoka biopolimerowa do przedłużania trwałości żywności **znamienna tym**, że zawiera roztwór powłokotwórczy osuszony przez odparowanie wody i o wilgotności nie większej niż 15% wagowo i zawierający hydrolizat żelatynowy ze skóry karpia, rozpuszczony w wodzie destylowanej w ilości stanowiącej od 1,5% do 7,5% wagowo użytej wody destylowanej, w ilości od 9,0% do 16,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, chitozan w ilości 1,8% do 2,0% wagowo masy od 1,9% do 2,1% kwasu octowego, służącego do rozpuszczenia chitozanu, mieszany przez ok. 3 godziny w temperaturze od 70°C do 90°C, w ilości od 45,0% do 57,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, furcellaran rozpuszczony w wodzie destylowanej w ilości od 0,2% do 1,0% wagowo użytej wody destylowanej i pozostawiony do spęcznienia przez 0,9–1,1 godziny i następnie rozpuszczony w trakcie mieszania w temperaturze od 180°C do 220°C do czasu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu foliotwórczego furcellaranu i doprowadzony w kolejnym kroku do odczynu pH od odczynu pH 3 do pH 4 przygotowanego roztworu w granicach od pH 3 do pH 4, przy pomocy wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4, w ilości od 30,0% do 42,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, przy czym roztwór chitozanu miesza się z podgrzanym roztworem furcellaranu przez wkraplanie roztworu furcellaranu do wytwarzanego roztworu chitozanu, i z glicerolem w ilości 0,5% do 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodanym do roztworu zawierającego roztwór furcellaranu i roztwór chitozanu podczas jego mieszania.
  4. Sposób otrzymywania roztworu powłokotwórczego służącego do wytwarzania jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności **znamienny tym**, że przygotowuje się indywidualnie hydrolizat żelatynowy ze skóry karpia, rozpuszczając go w wodzie destylowanej w ilości od 1,5% do 7,5% wagowo użytej wody, w ilości od 9,0% do 16,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, roztwór chitozanu w ilości 1,8% do 2,0% wagowo masy od 1,9% do 2,1% kwasu octowego, służącego do rozpuszczenia chitozanu, który miesza się przez ok. 3 godziny w temperaturze od 70°C do 90°C, w ilości od 45,0% do 57,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, furcellaran rozpuszczony w wodzie destylowanej w ilości od 0,2% do 1,0% wagowo użytej wody i pozostawiony początkowo do spęcznienia przez 0,9–1,1 godziny i następnie rozpuszczony w trakcie mieszania w temperaturze od 180°C do 220°C do czasu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu foliotwórczego furcellaranu i doprowadzony w kolejnym kroku do odczynu w granicach od pH 3 do pH 4 przy pomocy wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4, w ilości od 30,0% do 42,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, przy czym roztwór chitozanu miesza się z uprzednio przygotowanym i podgrzanym roztworem furcellaranu, przez wkraplanie roztworu furcellaranu do wytwarzanego roztworu chitozanu, a następnie dodaje się glicerol w ilości od 0,5% do 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, podczas mieszania roztworu furcellaranu i roztworu chitozanu, i dalej miesza się przez kolejne 8–15 minut, po czym do roztworu furcellaranu, roztworu chitozanu i glicerolu dodaje się przygotowany uprzednio roztwór wodny hydrolizatu żelatynowego ze skóry karpia i całość miesza się przez około 18–25 minut.
  5. Sposób otrzymywania roztworu powłokotwórczego według zastrz. 4 **znamienny tym**, że hydrolizat żelatynowy pozyskuje się z liofilizowanej żelatyny wytworzonej ze skóry z karpia (*Cyprinus carpio*), którą poddaje się moczeniu najpierw w 0,1 M NaOH przez 6 godzin, a na-

stępnie w alkoholu etylowym przez 12 godzin, w temperaturze 4°C, po czym żelatynę ekstrahuje się w wodzie przez 4 godziny w temperaturze 45°C ± 1°C, a otrzymany roztwór poddaje się procesowi liofilizacji.

6. Sposób otrzymywania roztworu powłokotwórczego według zastrz. 4 albo 5 **znamienny tym**, że hydrolizat żelatynowy pozyskuje się z 12,25 g liofilizowanej żelatyny o zawartości białka 82%, którą rozpuszcza się w 150 ml wody destylowanej o temperaturze 50°C, jednocześnie dodając 1 M HCl w takiej ilości, aby doprowadzić odczyn pH roztworu do wartości pH 7, po czym rozpoczyna się hydrolizę enzymatyczną przez dodatek enzymu proteolitycznego subtilizyny, otrzymywanego z *Bacillus subtilis*, w ilości 2% w stosunku do substratu i proces hydrolizy prowadzi się przez 180 minut w temperaturze 50°C, utrzymując stale odczyn pH roztworu o wartości pH 7 poprzez dodatek 1 M NaOH w ilości pozwalającej na ciągłe utrzymywanie odczynu pH roztworu o wartości pH 7, przy czym proces hydrolizy hamuje się poprzez ogrzewanie hydrolizatu w temperaturze 90°C przez 15 minut, po czym otrzymany roztwór chłodzi się w łaźni z lodem przez 10 minut, a następnie odwirowuje się przy 1000 x g przez 15 minut w temperaturze 4°C i w celu otrzymania hydrolizatu żelatynowego produkt wirowania poddaje się liofilizacji.

## Rysunki

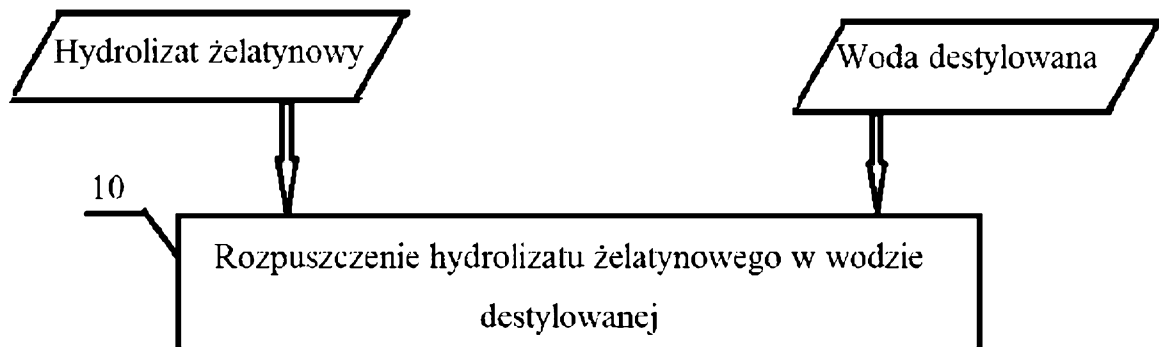


Fig. 1

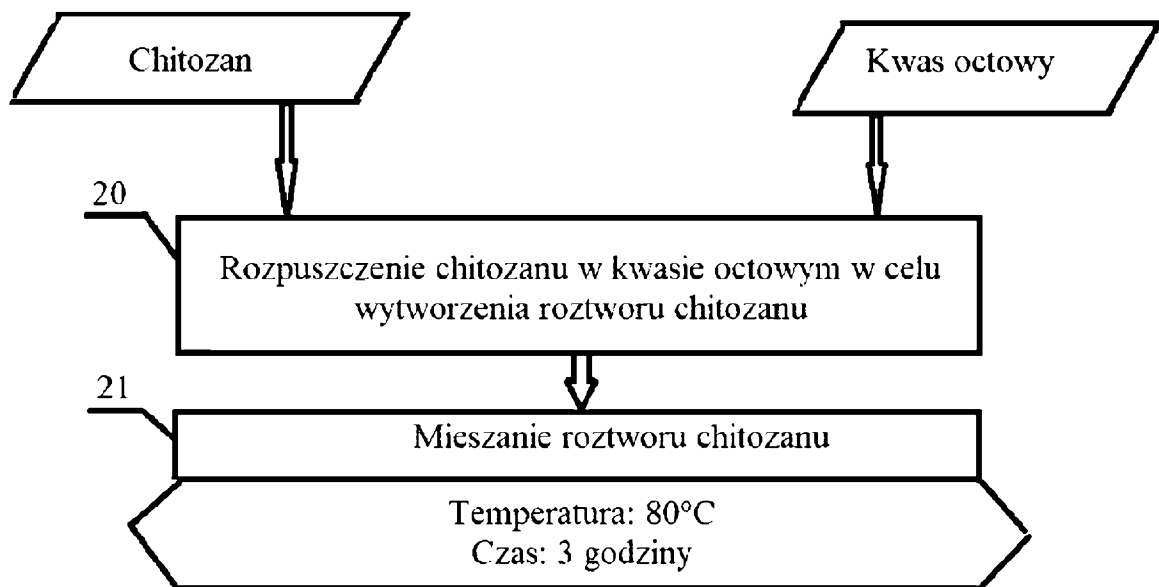


Fig. 2

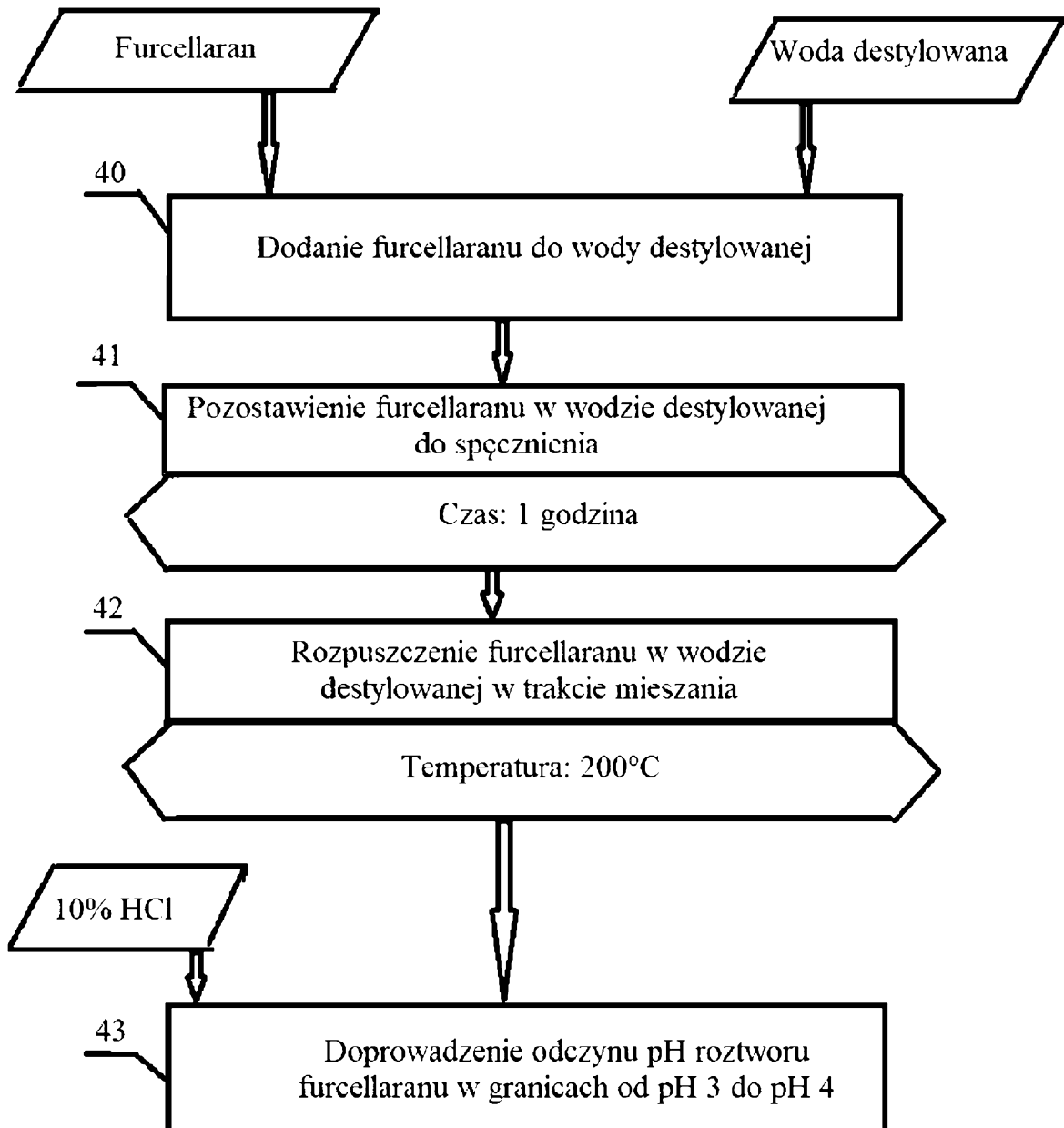


Fig. 3

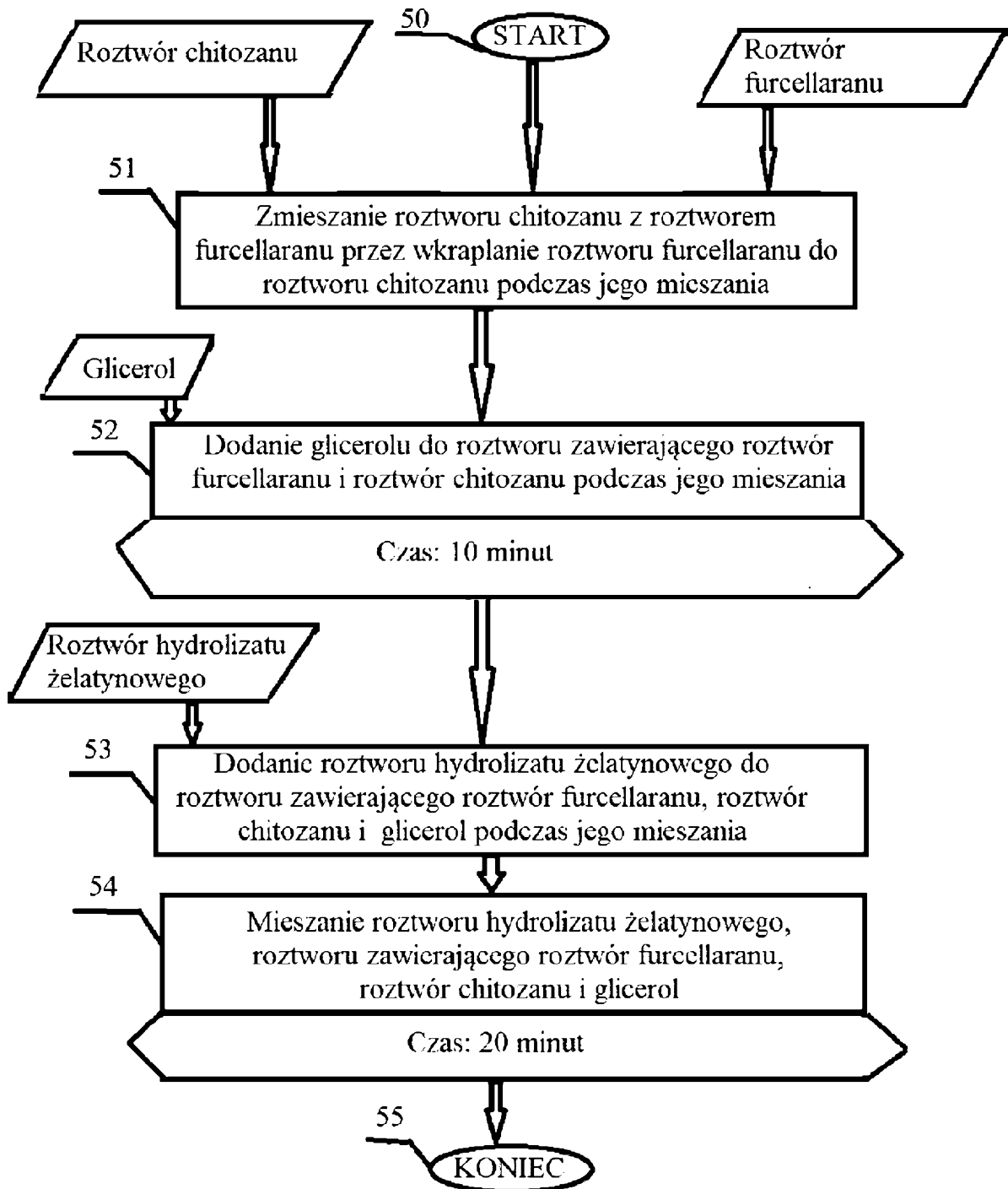


Fig. 4