

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 246364 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **437985**

(22) Data zgłoszenia: **2021.05.27**

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

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2025.01.13 WUP 02/2025**

(51) MKP:

A61K 38/05 (2006.01)

A61K 38/07 (2006.01)

A61K 38/08 (2019.01)

A61K 38/16 (2006.01)

C08L 5/08 (2006.01)

A23L 3/3463 (2006.01)

C08J 5/18 (2006.01)

C08L 101/16 (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, kompozycja powłokotwórcza do przedłużania trwałości
żywności i sposób wytwarzania roztworu powłokotwórczego**

PL 246364 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest roztwór powłokotwórczy i kompozycja powłokotwórcza 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 kompozycja powłokotwórcza do przedłużania trwałości żywności, 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 otrzymania 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 ze skór karpia o udowodnionej aktywności przeciwutleniającej i antymikrobiologicznej.

Znane jest zastosowanie bioaktywnych peptydów w celu poprawy jakości przechowywanej żywności. W zależności od rodzaju zastosowanego peptydu powłoka może wykazywać różne właściwości bioaktywne, w tym: antyoksydacyjne, antymikrobiologiczne lub też wpływające na zdrowie człowieka. Różne peptydy cechuje też różny mechanizm wykazywanej aktywności, a co za tym idzie, różna skuteczność podczas ich aplikacji na produkty spożywcze (Jamróz et al., 2021).

Furcellaran znany ze stanu techniki jest anionowym polisacharydem pozyskiwanym z czerwonych alg *Furcellaria lumbricalis*, a jego właściwości strukturalne i funkcjonalne są zbliżone do κ -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.

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

Celem niniejszego wynalazku jest stworzenie roztworu powłokotwórczego do wytworzenia aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności, jak również kompozycja powłokotwórcza do przedłużania trwałości żywności. Ponadto celem niniejszego wynalazku jest ujawnienie sposobu otrzymania roztworu powłokotwórczego służącego do wytwarzania aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności.

Ideą wynalazku jest roztwór powłokotwórczy zawierający furcellaran do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności charakteryzujący się tym, że 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, w ilości od 41,5% do 55% 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, w ilości od 41,5% do 55% 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, oraz zawiera mieszaninę bioaktywnego peptydu i wody destylowanej w stosunku od 0,0005:1 do 0,001:1, w ilości od 1,0% do 2,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodaną na końcu przygotowywania roztworu powłokotwórczego, przy czym bioaktywnym peptydem jest jeden z następującej grupy: peptyd o sekwencji aminokwasów FKRRWQWRMCKLGP-SITCVRAFA o nazwie laktoferyna bydlęca lub LfcinB, peptyd o sekwencji aminokwasów RSGRGE-CRRQCLRRHEGQPWETQECMRRCRRRG, o nazwie peptyd antymikrobiologiczny MBP-1, peptyd o sekwencji aminokwasów PLGG, pozyskiwany z bakterii *Brevibacterium aureum*, o nazwie MSA13, peptyd o sekwencji aminokwasów LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLVPRTES, o nazwie LL37, należący do grupy ketelicydyn, peptyd o sekwencji aminokwasów CLLGDFFRKSKEKIG-KEFKRIVQRIKDFLRNLVPRTES, o nazwie Cys-LL37, peptyd o sekwencji aminokwasów RWRWRWRW-NH₂, o nazwie RW4, peptyd o sekwencji aminokwasów GIGAVLKVLTTGLPALISWIKR-KRQQ-NH₂, o nazwie melityna, oraz peptyd o sekwencji aminokwasów AY, o nazwie peptyd Ala-Tyr.

Ideą wynalazku jest także kompozycja powłokotwórcza do przedłużania trwałości żywności charakteryzująca się tym, że zawiera osuszony roztwór powłokotwórczy po częściowym odparowaniu wody i o wilgotności nie większej niż 15% i zawierający 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 41,5% do 55% 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 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 41,5% do 55% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, przy czym roztwór chitozanu miesza się z podgrzanym roztworem furcellaranu przez wkraplanie roztworu furcellaranu do roztworu chitozanu, glicerol w ilości 0,5% do 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodany do roztworu zawierającego roztwór furcellaranu i roztwór chitozanu podczas jego mieszania, oraz mieszaninę bioaktywnego peptydu i wody destylowanej w stosunku od 0,0005:1 do 0,001:1, w ilości od 1,0% do 2,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodaną na końcu przygotowywania roztworu powłokotwórczego, przy czym bioaktywnym peptydem jest jeden z następującej grupy: peptyd o sekwencji aminokwasów FKRRWQWRMCKLGP-SITCVRAFA o nazwie laktoferyna bydlęca lub LfcinB, peptyd o sekwencji aminokwasów RSGRGE-CRRQCLRRHEGQPWETQECMRRCRRRG, o nazwie peptyd antymikrobiologiczny MBP-1, peptyd o sekwencji aminokwasów PLGG, pozyskiwany z bakterii *Brevibacterium aureum*, o nazwie MSA13, peptyd o sekwencji aminokwasów LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLVPRTES, o nazwie LL37, należący do grupy ketelicydyn, peptyd o sekwencji aminokwasów CLLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLVPRTES, o nazwie Cys-LL37, peptyd o sekwencji aminokwasów RWRWRWRW-NH₂, o nazwie RW4, peptyd o sekwencji aminokwasów GIGAVLKVLTTGLPALISWIKR-KRQQ-NH₂, o nazwie melityna, oraz peptyd o sekwencji aminokwasów AY, o nazwie peptyd Ala-Tyr.

Ideą wynalazku jest również sposób otrzymywania roztworu powłokotwórczego służącego do wytwarzania aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności charakteryzujący się tym, że przygotowuje się indywidualnie 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 41,5% do 55% 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 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, w ilości od 41,5% do 55% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, przy czym roztwór chitozanu miesza się z uprzednio przygotowanym i podgrzanym roztworem furcellaranu przez wkraplanie roztworu furcellaranu do 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, a w ostatnim kroku dodaje się uprzednio przygotowaną mieszaninę bioaktywnego peptydu i wody destylowanej w stosunku od 0,0005:1 do 0,001:1, w ilości od 1,0% do 2,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, przy czym bioaktywnym peptydem jest jeden z następującej grupy: peptyd o sekwencji aminokwasów FKCRWQWRMKKLGAPSITCVRRAFA o nazwie laktoferyna bydłęca lub LfcinB, peptyd o sekwencji aminokwasów RSGRGECCRQCLRRHEGQPWETQECMRRCRRRG, o nazwie peptyd antymikrobiologiczny MBP-1, peptyd o sekwencji aminokwasów PLGG, pozyskiwany z bakterii *Brevibacterium aureum*, o nazwie MSA13, peptyd o sekwencji aminokwasów LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie LL37, należący do grupy ketelicydyn, peptyd o sekwencji aminokwasów CLLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie Cys-LL37, peptyd o sekwencji aminokwasów RWRWRWRW-NH₂, o nazwie RW4, peptyd o sekwencji aminokwasów GIGAVLKVLTGTPALISWIKRKRQQ-NH₂, o nazwie melityna, oraz peptyd o sekwencji aminokwasów AY, o nazwie peptyd Ala-Tyr, i całość miesza się przez kolejne 8–15 minut.

Przedmiot wynalazku jest uwidoczniiony w przykładach wykonania na rysunku, na którym Fig. 1 przedstawia schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu chitozanu, Fig. 2 przedstawia schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu wodnego bioaktywnego peptydu, 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 aktywnej powłoki biopolimerowej.

W celu otrzymania roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej przygotowuje się indywidualnie trzy roztwory: roztwór chitozanu, roztwór wodny furcellaranu i roztwór wodny bioaktywnego peptydu.

Na Fig. 1 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 wybranej z przedziału od 1,8% do 2,0% wagowo masy kwasu octowego. Następnie w kroku 21 roztwór ten miesza się przez 3 godziny z tolerancją ± 15 minut, w jednym przykładzie w temperaturze 70°C, w innym przykładzie miesza się w temperaturze 90°C, korzystnie miesza się w temperaturze 80°C, tak jak to pokazano na Fig. 1. Udział wagowy roztworu chitozanu w całkowitej masie roztworu powłokotwórczego wynosi w jednym przykładzie 41,5%, a w innym przykładzie wynosi 55%, a w jeszcze innym z przykładów udział wagowy roztworu chitozanu w całkowitej masie roztworu powłokotwórczego wybiera się z przedziału od 41,5% do 55%.

Fig. 2 przedstawia schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu wodnego bioaktywnego peptydu. W kroku 30 miesza się bioaktywny peptyd z wodą destylowaną, w jednym przykładzie w stosunku 0,0005:1, w innym przykładzie w stosunku 0,001:1, korzystnie w stosunku 0,00075:1. W jeszcze innym przykładzie miesza się bioaktywny peptyd z wodą destylowaną w stosunku wybranym z przedziału od 0,0005:1 do 0,001:1. Udział wagowy roztworu wodnego bioaktywnego peptydu w całkowitej masie roztworu powłokotwórczego wynosi w jednym przykładzie 1,0%, a w innym przykładzie wynosi 2,0%. W jeszcze innym przykładzie udział wagowy roztworu wodnego bioaktywnego peptydu w całkowitej masie roztworu powłokotwórczego wybiera się z przedziału od 1,0% do 2,0%. Bioaktywnym peptydem może być jeden z następującej grupy: peptyd o sekwencji aminokwasów FKCRWQWRMKKLGAPSITCVRRAFA o nazwie laktoferyna bydłęca lub LfcinB, peptyd o sekwencji aminokwasów RSGRGECCRQCLRRHEGQPWETQECMRRCRRRG, o nazwie peptyd antymikrobiologiczny MBP-1, peptyd o sekwencji aminokwasów PLGG, pozyskiwany z bakterii *Brevibacterium aureum*, o nazwie MSA13, peptyd o sekwencji aminokwasów LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie LL37, należący do grupy ketelicydyn, peptyd o sekwencji aminokwasów CLLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie Cys-LL37, peptyd o sekwencji amino-

kwasów RWRWRWRW-NH₂, o nazwie RW4, peptyd o sekwencji aminokwasów GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-NH₂, o nazwie melityna, oraz peptyd o sekwencji aminokwasów AY, o nazwie peptyd Ala-Tyr.

Bioaktywne peptydy zostały wyżej określone łącznie przez sekwencję aminokwasów i nazwę. Jednak do jednoznacznego zdefiniowania danego aminokwasu wystarcza podanie jego sekwencji albo jego nazwy.

Fig. 3 przedstawia schemat blokowy jednego ze sposobów przygotowania roztworu wodnego furcellaranu. W kroku 40 furcellaran miesza się z wodą destylowaną, w ilości wybranej z przedziału od 0,2% do 1,0% wagowo użytej wody destylowanej. W jednym przykładzie furcellaran miesza się z wodą destylowaną w ilości 0,2% wagowo użytej wody destylowanej. W innym przykładzie furcellaran miesza się z wodą destylowaną w ilości 1,0% wagowo użytej wody destylowanej. Po czym w kroku 41 roztwór wodny furcellaranu przygotowany w sposób opisany powyżej pozostawia się do spęcznienia, w jednym przykładzie przez 0,9 godziny, w innym przykładzie przez 1,1 godziny, korzystnie przez 1 godzinę, tak jak to przedstawiono na Fig. 3. 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, tak jak to podano na Fig. 3, 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. Sposób wkraplania i nadzorowania odczynu jest znany ze stanu techniki i nie wymaga szczególnych umiejętności ani przeprowadzania innych prób czy czynności poza tymi, jakie są znane ze stanu techniki. Udział wagowy roztworu wodnego furcellaranu w całkowitej masie roztworu powłokotwórczego wynosi w jednym z przykładów wykonania 45,0%, a w innym przykładzie wykonania wynosi 55,0%. Dla przedziału od 41,5% do 55,0% udziału wagowego roztworu wodnego furcellaranu w całkowitej masie roztworu powłokotwórczego dodawano w jednym przykładzie 15 kropeł 10% HCl, w innym przykładzie dodawano 17 kropeł 10% HCl, korzystnie dodawano 16 kropeł 10% HCl.

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 przy 1000 x g przez wkraplanie gorącego roztworu furcellaranu do roztworu chitozanu podczas jego energicznego mieszania. 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. W przypadku energicznego mieszania, mieszanie można prowadzić do 10000 x g. Do powstałej mieszaniny roztworów furcellaranu i chitozanu, w kroku 52 dodaje się glicerol, w ilości wagowo 0,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego w jednym przykładzie wykonania, a w innym wagowo 1,5% 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 roztwór wodny bioaktywnego peptydu, po czym całość miesza się, w jednym przykładzie przez 8 minut, w innym przykładzie przez 15 minut, korzystnie przez 10 minut, w kroku 54 tak jak to przedstawiono na Fig. 4, aż do zakończenia tworzenia roztworu powłokotwórczego do wytworzenia aktywnej powłoki biopolimerowej w kroku 55.

Postępując według sposobu opisanego powyżej, w jednym z przykładów wykonania otrzymano roztwór powłokotwórczy zawierający furcellaran do wytworzenia aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności dodany do wody destylowanej w ilości 0,2% wagowo użytej wody destylowanej i pozostawiony do spęcznienia przez 0,9 godziny i następnie rozpuszczony w trakcie mieszania w temperaturze 180°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, przez wkraplanie 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4. Udział wagowy tak wytworzonego roztworu furcellaranu wynosił 45% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego. Ponadto roztwór powłokotwórczy w tym przykładzie wykonania zawierał chitozan w ilości 1,8% wagowo masy 2% kwasu octowego, służący do rozpuszczenia chitozanu, w ilości 53,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, zmieszany z podgrzanym 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, oraz zawierał mieszaninę bioaktywnego peptydu i wody destylowanej w stosunku 0,0005:1 w ilości 1,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego dodanej na końcu przygotowywania roztworu powłokotwórczego.

Postępując według sposobu opisanego powyżej, w innym przykładzie wykonania otrzymano roztwór powłokotwórczy zawierający furcellaran do wytworzenia aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności dodany do wody destylowanej w ilości 1,0% wagowo użytej wody destylowanej i pozostawiony do spęcznienia przez 1,1 godziny i następnie rozpuszczony w trakcie mieszania w temperaturze 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, za pomocą wkraplania 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4. Udział wagowy tak wytworzonego roztworu furcellaranu wynosił 55% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego. Ponadto roztwór powłokotwórczy zawierał chitozan w ilości 2,0% wagowo masy 2% kwasu octowego, służącego do rozpuszczenia chitozanu, w ilości wagowo dopełniającej do 100% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, czyli 41,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, zmieszany z podgrzany roztworem furcellaranu przez wkraplanie roztworu furcellaranu do roztworu chitozanu i glicerol w ilości od 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodany podczas mieszania do roztworu furcellaranu i roztworu chitozanu, oraz zawiera mieszaninę bioaktywnego peptydu i wody destylowanej w stosunku 0,001:1 w ilości 2,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego dodanej na końcu przygotowywania roztworu powłokotwórczego.

Z roztworu powłokotwórczego można wytworzyć aktywną powłokę biopolimerową do przedłużania trwałości żywności po częściowym odparowaniu z niego wody i o wilgotności nie większej niż 15%. W jednym z przykładów wykonania roztwór powłokotwórczy otrzymany sposobami opisanymi powyżej, w zależności od zamierzonego zastosowania, rozprowadza się na określonej powierzchni nieprzemakalnej i poddaje się osuszaniu powierzchnię z roztworem powłokotwórczym do czasu osiągnięcia przez powłokę określonej wilgotności.

Przedmiot wynalazku został ponadto opisany w przykładach wykonania podanych poniżej.

Przykład 1

W celu otrzymania roztworu powłokotwórczego do wytworzenia aktywnej powłoki biopolimerowej przygotowuje się indywidualnie trzy roztwory: roztwór chitozanu, roztwór wodny bioaktywnego peptydu i roztwór wodny furcellaranu. W 50 ml 2% kwasu octowego rozpuszcza się 0,9 g chitozanu i roztwór ten miesza się w temperaturze 70°C przez ok. 3 godziny. Potem 0,1 g furcellaranu miesza 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 1,5 ml glicerolu i miesza się przez kolejne 8 minut. W ostatnim kroku dodaje się roztwór wodny bioaktywnego peptydu, przykładowo o sekwencji aminokwasów LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES o nazwie LL37, powstały po zmieszaniu 0,5 mg bioaktywnego peptydu i 0,5 ml wody destylowanej i całość miesza się przez kolejne 13 minut.

Przykład 2

W celu otrzymania roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej przygotowuje się indywidualnie trzy roztwory: roztwór chitozanu, roztwór wodny bioaktywnego peptydu i roztwór wodny furcellaranu. W 40 ml 2% kwasu octowego rozpuszcza się 0,8 g chitozanu i roztwór ten miesza się w temperaturze 80°C przez ok. 3 godziny. Potem 0,2 g furcellaranu miesza się w 35 ml wody destylowanej i pozostawia do spęcznienia przez 0,9 godziny, 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 poprzez wkraplanie 10% kwasu solnego w ilości potrzebnej do uzyskania odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4. 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 roztwór wodny bioaktywnego peptydu, przykładowo o sekwencji aminokwasów LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie LL37, powstały po zmieszaniu 0,4 mg bioaktywnego peptydu w 0,54 ml wody destylowanej i całość miesza się przez kolejne 8 minut.

Przykład 3

W celu otrzymania roztworu powłokotwórczego do wytworzenia jadalnej aktywnej powłoki biopolimerowej przygotowuje się indywidualnie trzy roztwory: roztwór chitozanu, roztwór wodny bioaktywnego

peptydu i roztwór wodny furcellaranu. W 60 ml 2% kwasu octowego miesza się 0,7 g chitozanu i roztwór ten miesza się w temperaturze 90°C przez ok. 3 godziny. Potem 0,3 g furcellaranu miesza się w 30 ml wody destylowanej i pozostawia do spęcznienia przez 1 godzinę, a następnie rozpuszcza się go w trakcie mieszania w temperaturze 220°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 odczynu pH roztworu o wartości od pH 3 do pH 4. 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 1,0 ml glicerolu i miesza się przez kolejne 10 minut. W ostatnim kroku dodaje się wodny roztwór bioaktywnego peptydu, przykładowo o sekwencji aminokwasów LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES o nazwie LL37, powstały po zmieszaniu 0,5 mg bioaktywnego peptydu w 0,5 ml wody destylowanej i całość miesza się przez kolejne 10 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, której wilgotność nie przekracza 15%, a której wielkość jest określana za pomocą jednego ze sposobów znanych ze stanu techniki.

Poniżej opisano przykład zastosowania zgłaszanego wynalazku, w odniesieniu do schabu wieprzowego zabezpieczonego za pomocą roztworu powłokotwórczego. Zgodnie z tym przykładem schab wieprzowy świeży najpierw przedzielono na trzy równe części za pomocą sterylnego noża. Jedną część, określoną jako próbka zerowa, przy użyciu sterylnej pęsety anatomicznej laboratoryjnej, zanurzono w roztworze powłokotwórczym przyrządzonym według Przykładu 1 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. Próbka 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 $2,11 \pm 0,37$ log jtk/g. Po 10 dniach przechowywania chłodniczego ogólna liczba drobnoustrojów w schabie kontrolnym wynosiła $6,25 \pm 0,93$ jtk/g podczas gdy w schabie z powłoką aktywną $3,33 \pm 0,97$ jtk/g.

Roztwór powłokotwórczy przygotowany zgodnie z opisem w Przykładzie 1 cechował się także aktywnością antyoksydacyjną, w tym wartością FRAP wynoszącą 4,75 μ M troloksu na 1 ml roztworu.

Zastrzeżenia patentowe

1. Roztwór powłokotwórczy zawierający furcellaran do wytworzenia aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności, **znamienny tym**, że 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, w ilości od 41,5% do 55% 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 41,5% do 55% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, zmieszany z podgrzany 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, oraz zawiera mieszaninę bioaktywnego peptydu i wody destylowanej w stosunku od 0,0005:1 do 0,001:1, w ilości

od 1,0% do 2,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodaną na końcu przygotowywania roztworu powłokotwórczego, przy czym bioaktywnym peptydem jest jeden z następującej grupy: peptyd o sekwencji aminokwasów FKRRWQWRMCKLGLAPSITCVRRFA o nazwie laktoferyna bydlęca lub LfcinB, peptyd o sekwencji aminokwasów RSGRGE-CRRQCLRRHEGQPWETQECMRRRCRRRG, o nazwie peptyd antymikrobiologiczny MBP-1, peptyd o sekwencji aminokwasów PLGG, pozyskiwany z bakterii *Brevibacterium aureum*, o nazwie MSA13, peptyd o sekwencji aminokwasów LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie LL37, należący do grupy ketelicydyn, peptyd o sekwencji aminokwasów CLLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie Cys-LL37, peptyd o sekwencji aminokwasów RWRWRWRW-NH₂, o nazwie RW4, peptyd o sekwencji aminokwasów GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-NH₂, o nazwie melityna, oraz peptyd o sekwencji aminokwasów AY, o nazwie peptyd Ala-Tyr.

2. Kompozycja powłokotwórcza do przedłużania trwałości żywności, **znamienna tym**, że zawiera roztwór powłokotwórczy, jak określono w zastrzeżeniu 1, po częściowym odparowaniu wody i o wilgotności nie większej niż 15% i zawierający 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 41,5% do 55% 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 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 41,5% do 55% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, przy czym roztwór chitozanu miesza się z podgrzany roztworem furcellaranu przez wkraplanie roztworu furcellaranu do roztworu chitozanu, glicerol w ilości 0,5% do 1,5% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodany do roztworu zawierającego roztwór furcellaranu i roztwór chitozanu podczas jego mieszania, oraz mieszaninę bioaktywnego peptydu i wody destylowanej w stosunku od 0,0005:1 do 0,001:1, w ilości od 1,0% do 2,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, dodaną na końcu przygotowywania roztworu powłokotwórczego, przy czym bioaktywnym peptydem jest jeden z następującej grupy: peptyd o sekwencji aminokwasów FKRRWQWRMCKLGLAPSITCVRRFA o nazwie laktoferyna bydlęca lub LfcinB, peptyd o sekwencji aminokwasów RSGRGE-CRRQCLRRHEGQPWETQECMRRRCRRRG, o nazwie peptyd antymikrobiologiczny MBP-1, peptyd o sekwencji aminokwasów PLGG, pozyskiwany z bakterii *Brevibacterium aureum*, o nazwie MSA13, peptyd o sekwencji aminokwasów LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie LL37, należący do grupy ketelicydyn, peptyd o sekwencji aminokwasów CLLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie Cys-LL37, peptyd o sekwencji aminokwasów RWRWRWRW-NH₂, o nazwie RW4, peptyd o sekwencji aminokwasów GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-NH₂, o nazwie melityna, oraz peptyd o sekwencji aminokwasów AY, o nazwie peptyd Ala-Tyr.
3. Sposób otrzymywania roztworu powłokotwórczego, jak określono w zastrzeżeniu 1, służącego do wytwarzania aktywnej powłoki biopolimerowej do przedłużania trwałości żywności, **znamienny tym**, że przygotowuje się indywidualnie 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 41,5% do 55% 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 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, w ilości od 41,5% do 55% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, przy czym roztwór chitozanu miesza się z uprzednio przygotowanym i podgrzanym roztworem furcellaranu przez wkraplanie roztworu furcellaranu do 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, a w ostatnim kroku dodaje się uprzednio przygotowaną mieszaninę bioaktywnego peptydu i wody destylowanej w stosunku od 0,0005:1 do 0,001:1, w ilości od 1,0% do 2,0% całkowitej masy roztworu powłokotwórczego, przy czym bioaktywnym peptydem jest jeden z następującej grupy: peptyd o sekwencji aminokwasów FKCRRWQWRMCKLGAPSITCVRRAFA o nazwie laktoferyna bydlęca lub LfcinB, peptyd o sekwencji aminokwasów RSGRGECCRQCLRRHEGQPWETQECMRRRCRRRG, o nazwie peptyd antymikrobiologiczny MBP-1, peptyd o sekwencji aminokwasów PLGG, pozyskiwany z bakterii *Brevibacterium aureum*, o nazwie MSA13, peptyd o sekwencji aminokwasów LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie LL37, należący do grupy ketelicydyn, peptyd o sekwencji aminokwasów CLLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES, o nazwie Cys-LL37, peptyd o sekwencji aminokwasów RWRWRWRW-NH₂, o nazwie RW4, peptyd o sekwencji aminokwasów GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-NH₂, o nazwie melityna, oraz peptyd o sekwencji aminokwasów AY, o nazwie peptyd Ala-Tyr, i całość miesza się przez kolejne 8–15 minut.

Rysunki

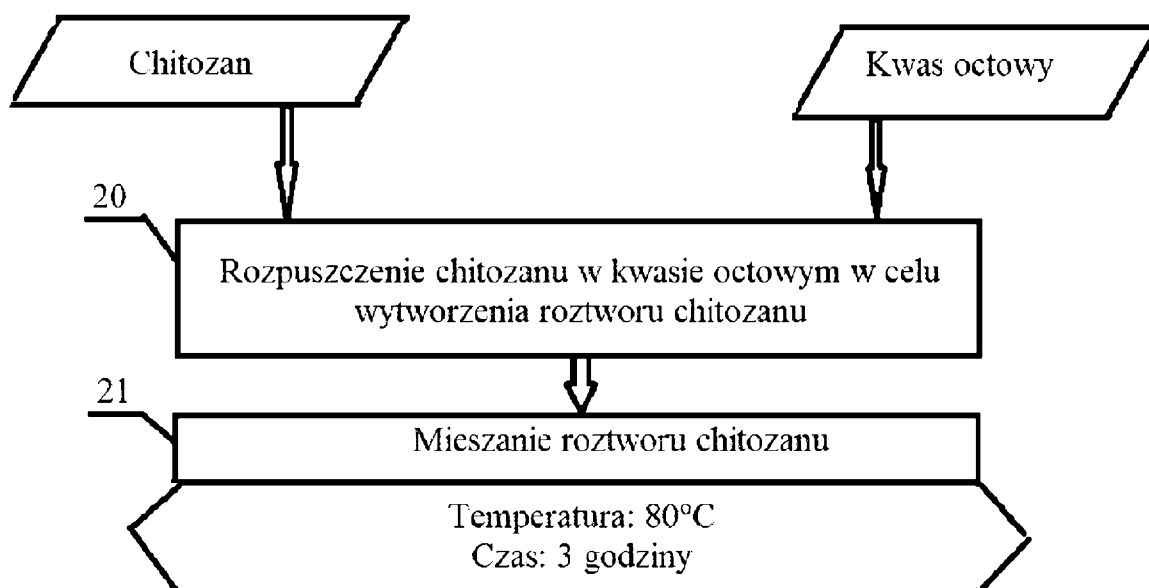


Fig. 1

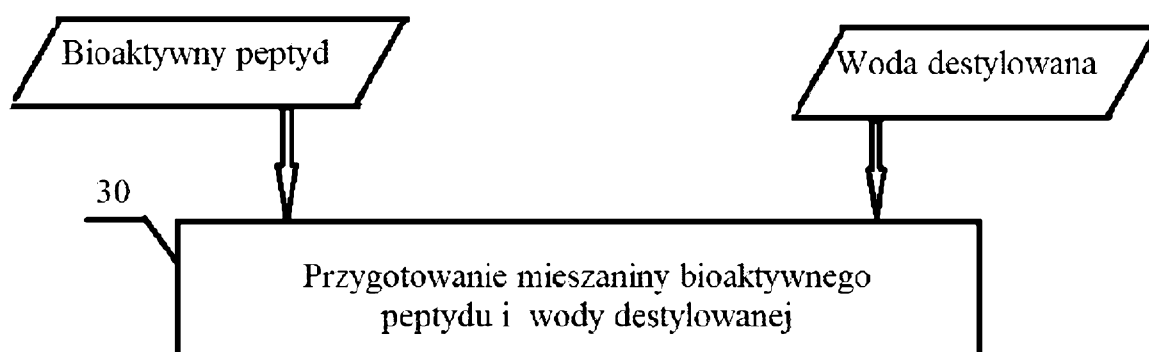


Fig. 2

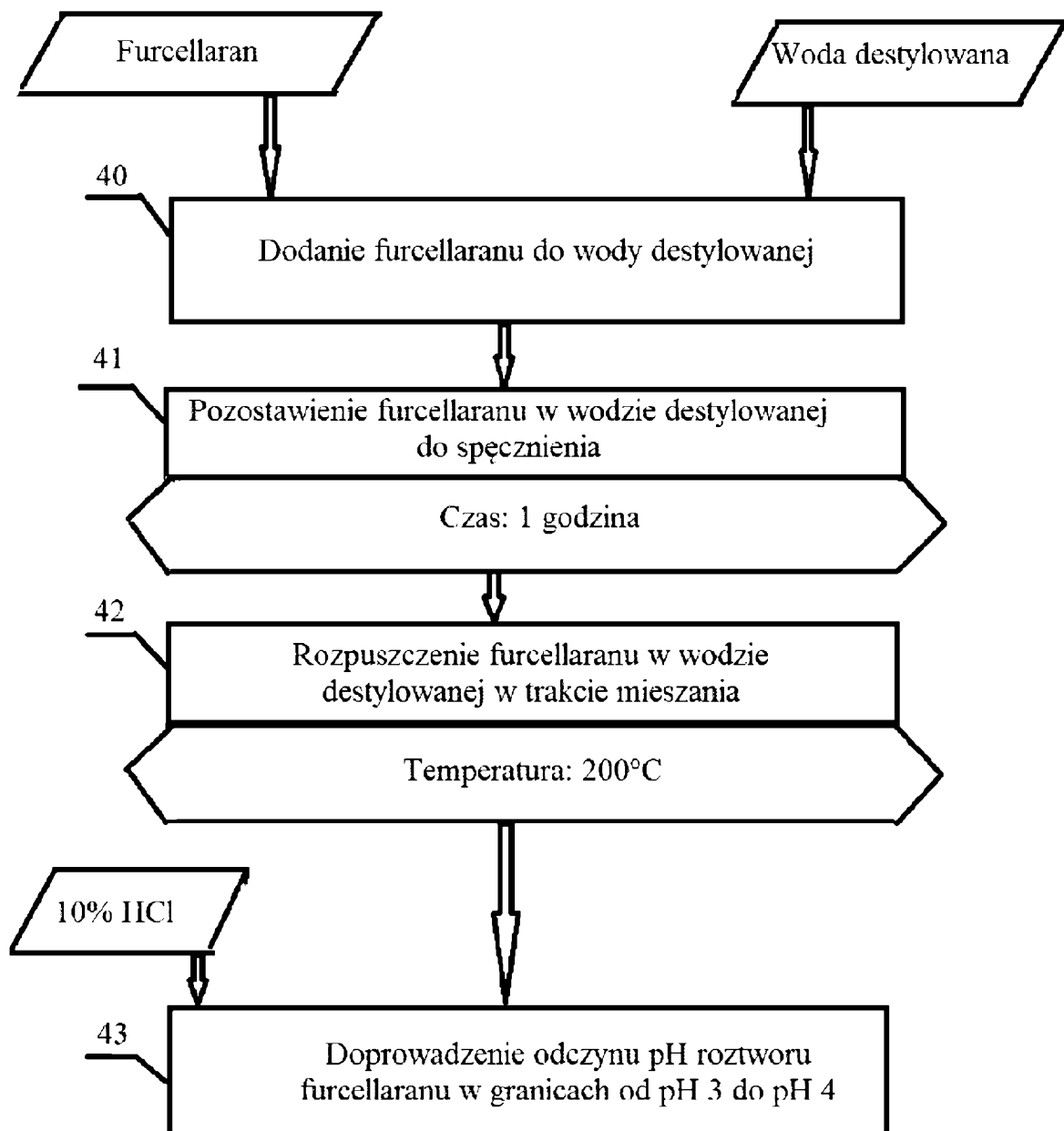


Fig. 3

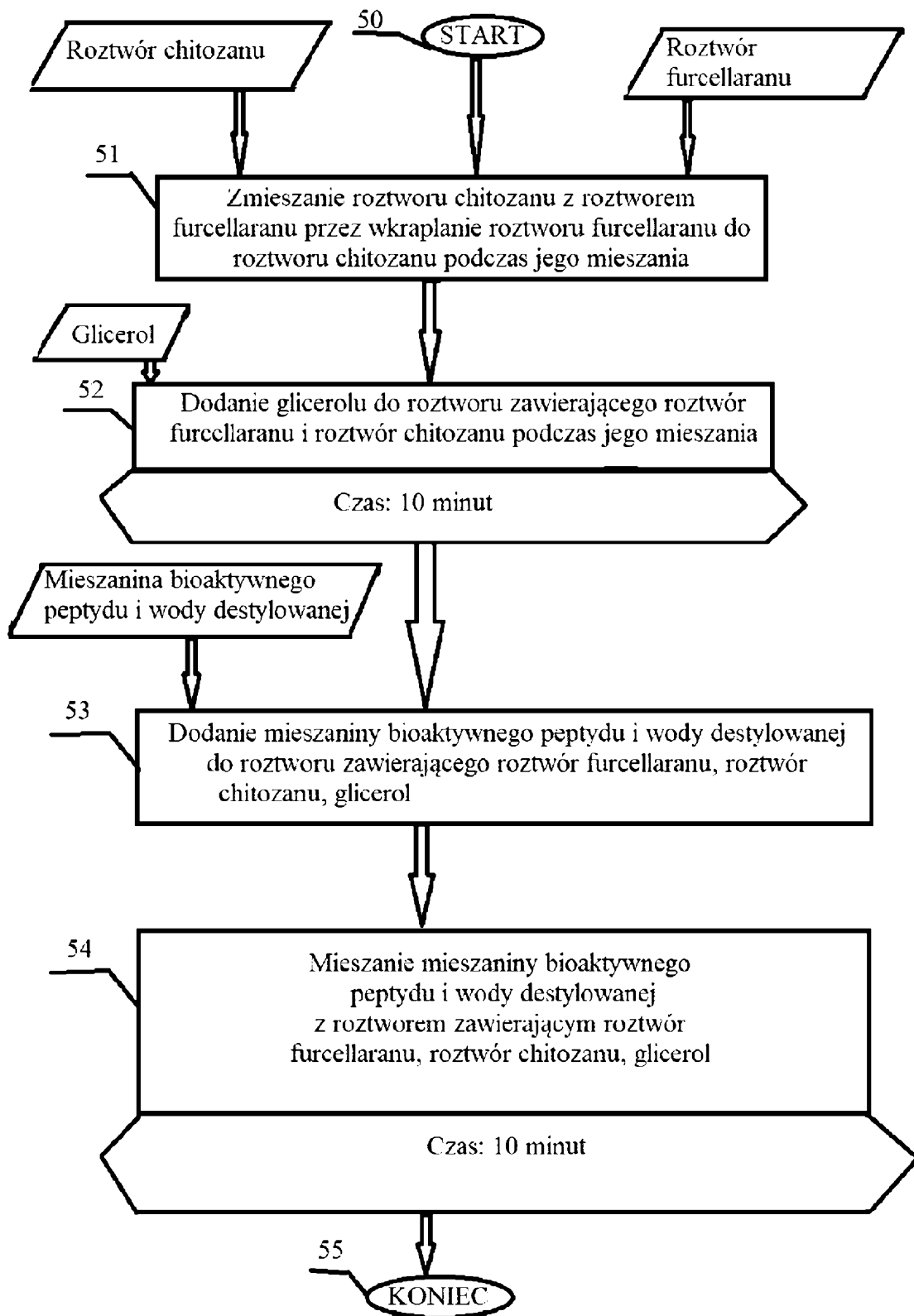


Fig. 4