



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 00240**

(22) Data de depozit: **16.03.2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30.09.2013** BOPI nr. **9/2013**

(41) Data publicării cererii:
30.09.2011 BOPI nr. **9/2011**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE TEXTILE
PIELĂRIE - SUCURSALA INSTITUTUL DE
CERCETARE PIELĂRIE- ÎNCĂLȚĂMINTE,
STR.ION MINULESCU NR.93, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **NICULESCU MIHAELA- DOINA,
ALEEA BARAJUL CUCUTENI NR.8, BL.M 7
A, SC.2, ET.1, AP.25, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **GAIDĂU CARMEN CORNELIA,
STR.ALEXANDRU PAPIU-ILARIAN NR.6,
BL.42, SC.2, ET.6, AP.53, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **CRUDU MARIAN,
PRELUNGIREA GHENCEA NR.36, BL.D 4,
SC.A, AP.3, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **SIMION DEMETRA,
BD.DIMITRIE CANTEMIR NR.9, BL.7, SC.B,
ET.3, AP.59, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
US 4483829 A; US 5094946 A

(54) **PROCEDEU DE EXTRAGERE A PROTEINELOR DIN
DEȘEURI DE PIELE CROMATĂ**



RO 126673 B1

1 Invenția se referă la un procedeu de extragere a proteinelor din deșeuri de piele
2 cromată și reducere a masei moleculare medii a hidrolizatei de collagen. Acest procedeu
3 se aplică în domeniul prelucrării pieilor naturale, pentru extragerea componentei proteice din
4 deșeuri de piele tăbăcită cu crom, sub formă de hidrolizate de collagen cu conținut de
5 aminoacizi, inclusiv aminoacizi esențiali, în vederea valorificării în domeniul agricol, în
6 compoziția fertilizanților foliari.

7 Industria de pielărie este nominalizată în OG nr. 34, adoptat în 2002, privind
8 Integrated Pollution Prevention and Control (IPPC) și Best Available Technique (BAT). Deși
9 s-au luat câteva măsuri în sensul creșterii eficacității proceselor chimice și diminuării
10 cantităților de deșeuri, sectorul de pielărie are încă serioase probleme tehnologice de
11 rezolvat. Dintre acestea, cea mai importantă o reprezintă procesul de tăbăcire cu crom, la
12 care se adaugă tratarea efluenților, datorită sărurilor de crom folosite, știut fiind că speciația
13 cromului generează produși deosebit de toxici. Eforturile de a înlocui sărurile de crom cu alte
14 substanțe tanante s-au dovedit până acum neconvingătoare în ceea ce privește performan-
15 țele semifabricatelor din piele obținute prin tehnologiile alternative.

16 Desigur că există și aplicații unde acestea sunt viabile, dar în cea mai mare parte din
17 situații, încă nu se poate renunța la tăbăcirea cu săruri bazice de crom, iar acest proces este
18 generatorul unor importante surse de poluare (ape reziduale cu crom, care în urma epurării
19 este transferat în nămoluri și deșeuri solide cu crom și proteine, pentru care nu există o
20 strategie unitară de eliminare sau inertizare). În acest context, căile de diminuare a
21 impactului cromului vehiculat în tăbăcării constau în abordarea celor mai bune practici care
22 împiedică apariția cromului hexavalent în fluxul de fabricație și un bun management al
23 deșeurilor de piele cromată și al flotelor cu crom neepuizate. Dacă în cadrul unităților
24 prelucrătoare de piele, aceste practici pot fi stăpânite, nu același lucru se poate spune
25 despre deșeurile care sunt evacuate din perimetrul acestora și a căror trasabilitate se pierde,
26 reprezentând un risc major pentru mediu [K. Kolomaznik, M. Adamek, I. Andel, M.
27 **Uhlirova - Leather Waste - Potențial Threat to Human Health, and a New Technology
28 of its Treatment, J. Hazard. Mater., 160(2-3), 2008, pp. 514-520].**

29 Constrângerile legislative și responsabilitatea producătorilor de piele pentru impactul
30 acestor deșeuri asupra mediului impun concentrarea atenției spre găsirea unor soluții
31 științifice și tehnice, accesibile, de armonizare a producției de piele finită, cu exigențele unui
32 management de mediu performant. Din această perspectivă, studiile asupra deșeurilor de
33 piele cromată s-au axat pe înglobarea acestora în diverse produse, ca talpă artificială, beton,
34 asfalt, folosirea lor ca mediu de adsorbție pentru diverse reziduuri, dar în ultimii ani, s-a pus
35 accentul pe procesarea lor pentru recuperarea masei proteice.

36 Studiile de extragere prin hidroliză a proteinelor din deșeurile de piele cromată, în
37 scopul disponibilizării lor ca aditivi proteici pentru diverse aplicații (biofertilizanți agricoli,
38 surfactanți etc.) sunt de mare actualitate și promovează ideea de conservare a resurselor
39 naturale, printr-o valorificare avansată, aducând contribuții importante în sfera preocupărilor
40 pentru protecția mediului și creșterea competitivității economice.

41 Din cercetările ultimilor ani în această direcție [J. Hrnčirik, M. Dvorackova, F. Hruska,
42 **J. Kupec, K. Kolomazik - Kinetics of Alkaline Hydrolysis of the Insoluble Protein Fraction
43 Following Enzymatic Hydrolysis of Chrome-Tanned Shavings, J. Am. Leather Chem.
44 Assoc., 100(1), 2005, pp. 1 - 7],** reiese evident faptul că hidroliza trebuie abordată în mod
45 complex, în mai multe trepte, cu mecanisme diferite de desfășurare, inițiate de agenți chimici
46 diferiți, care să se completeze reciproc.

47 Spre deosebire de deșeurile de piele brute sau numai cenușărite, a căror dizolvare nu
48 ridică prea multe dificultăți, în cazul deșeurilor tăbăcite, apar dificultăți legate de detanarea
49 acestora.

RO 126673 B1

Prin combinarea efectului agenților chimici cu efectul temperaturii și a duratei de desfășurare a proceselor, se obțin diferite stadii de hidroliză a colagenului, caracterizate prin greutatea moleculară medie a hidrolizatelor. Gradul de polidispersie a hidrolizatelor de colagen este foarte mare, deoarece scindarea lanțurilor polipeptidice se produce în punctele slabe de legătură. Atât natura chimică a legăturilor din structura colagenului, cât și numărul lor foarte mare, nu permit o distrugere selectivă a lor, ceea ce face ca procesul de hidroliză să aibă un caracter statistic.

Dacă hidroliza acidă poate conduce la solubilizarea completă a deșeurilor de piele cromată și obținerea unei singure fracții hidrolitice, din care separarea cromului de proteine este un proces destul de complicat și costisitor, hidrolizele alcaline și cele enzimatică au ca rezultat un sistem eterogen format din două fracții hidrolitice distincte. Una dintre fracții este lichidă și conține componenta proteică, cealaltă fracție este solidă și conține preponderent precipitatul cu crom.

Abordarea hidrolizei enzimatică pentru dezagregarea deșeurilor de piele cu conținut de crom reprezintă o opțiune ce se evidențiază prin avantajele pe care le oferă utilizarea enzimelor proteolitice, respectiv, condițiile moderate de reacție: temperatură nu prea ridicată, până la 70°C, pH între 7 și 10, presiune atmosferică, precum și un conținut mai scăzut de săruri în hidrolizatele de colagen [D. Janocova, K. Kolomaznik, V. Vasek - **Optimization of Chrome Shavings Treatment by Enzymatic Digestion, Internațional Carpathian Control Conference ICCM Malenivice, Czech Republic, 2002**].

În timpul procesului de hidroliză, are loc atât ruperea legăturilor caracteristice proteinelor, cât și formarea de noi legături: electrovalente, coordinative, covalente etc., care vor determina un nivel al energiei interne a produselor care le conțin mult mai scăzut decât al reactanților. În această situație, diversele combinații între temperatură și durată, la aceeași valoare a concentrației agentului de hidroliză, nu vor furniza o energie de reacție capabilă să distrugă legăturile formate la nivelul oligopeptidelor. Prin urmare, mărirea temperaturii și a duratei de hidroliză peste o valoare limită nu vor determina creșteri semnificative ale randamentului în hidrolizate proteice. Teoretic, există trei motive posibile ale hidrolizei incomplete a deșeurilor de piele cromată:

- Aminoacizii nepolari și aminoacizii bazici din resturile proteice, fiind toți hidrofobi în condiții alcaline, ar putea să formeze domenii hidrofobe inaccesibile apei, conducând la proteine rezistente la apă.

- Produsele din resturile proteice pot să formeze legături transversale covalente între aminoacizii bazici și aminoacizii hidroxilici, legături distructibile doar în condiții acide, conducând la hidroliza completă a resturilor proteice și obținerea de hidrolizate proteice cu conținut de crom.

- În condiții alcaline ($pH < 12$), majoritatea cromului legat coordinativ se desprinde de grupele carboxil din catena laterală a acidului aspartic (Asp) și glutamic (Glu) și este precipitat sub formă de $Cr(OH)_3$. Totuși, complexii cromului formați în timpul bazificării au rezistență mare la alcalii. Aceștia ar putea să formeze legături transversale cu grupele carboxil din punțile Asp și Glu sau hidrolizate proteice, care să conducă la formarea de complexi metalici macromoleculari insolubili.

Se cunosc procedee de tratare a deșeurilor de piele cromată prin hidroliză alcalină (brevetele **US 4100154**; **US 4483829**) sau hidroliză enzimatică (brevet **US 5094946**), pentru separarea proteinelor în vederea folosirii lor ca suplimente nutritive în alimentația animalelor, ca îngrășăminte sau în preparatele cosmetice. De asemenea, s-au căutat și soluții bazate pe hidrolize alcalino-enzimatică elaborate în principal pentru obținerea de hidrolizate de colagen apte pentru realizarea de fertilizanți.

RO 126673 B1

- 1 Aceste procedee prezintă următoarele dezavantaje:
- 2 - deșeurile de piele folosite se supun în prealabil unor operații mecanice de măcinare;
 - 3 - procesele de hidroliză alcalină se desfășoară la temperaturi de peste 90°C;
 - 4 - hidrolizatele proteice obținute au un conținut de crom de ordinul sutelor de ppm la
 - 5 pH<11;
 - 6 - conținutul de aminoacizi liberi în hidrolizatele proteice destinate folosirii ca fertilizanți
 - 7 este mic;
 - 8 - procesele nu pun accentul pe obținerea de hidrolizate de colagen cu conținut de
 - 9 aminoacizi esențiali, recunoscuți pentru contribuția importantă pe care o au în metabolismul
 - 10 plantelor, mai ales în condiții de stres;
 - 11 - nu prezintă o alternativă de reducere a masei moleculare medii ale hidrolizatelor
 - 12 de colagen.

13 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă din obținerea de hidrolizate de

14 colagen cu un conținut diversificat de aminoacizi, inclusiv aminoacizi esențiali, în care cromul

15 nu se regăsește decât la nivelul zecilor de ppb, prin elaborarea unui procedeu de extragere

16 a proteinelor din deșeuri de piele cromată și de reducere a masei moleculare medii a

17 hidrolizatelor de colagen, care se desfășoară în două etape de hidroliză. În etapa I are loc

18 extracția componentei proteice prin hidroliză alcalină sau alcalino-enzimatică sub formă de

19 hidrolizat de colagen și separarea prin filtrare de compușii cu crom sub formă de precipitat,

20 care urmează a fi transferat în matrice minerale valorificabile, iar în etapa II, are loc

21 reducerea masei moleculare medii a hidrolizatului de colagen, prin relansarea procesului de

22 hidroliză, dar în condiții enzimatică, când are loc punerea în libertate a aminoacizilor, inclusiv

23 a aminoacizilor esențiali.

24 Hidrolizele se desfășoară în vase de reacție închise, prevăzute cu sistem de

25 încălzire-răcire prin manta, termostatat și cu sistem de agitare.

26 Ca materie primă, se folosesc fragmente reziduale de piele cromată, care au, în

27 general, umiditatea de 50...60% și se caracterizează printr-un conținut de 85...87% substanță

28 dermică (raportat la produsul liber de umiditate), 4,5...5,5% oxid de crom (raportat la produ-

29 sul liber de umiditate), restul fiind constituit din săruri provenite din faza de pregătire a

30 suportului colagenic pentru tăbăcire.

31 Deșeurile de piele cromată (analizate din punct de vedere al conținutului de umiditate,

32 azot total, substanță dermică, crom), dispersate în apă într-un raport solid/lichid de 1/5, se

33 supun etapei I de hidroliză alcalină sau alcalino-enzimatică, folosind oxid de calciu ca agent

34 alcalin de hidroliză și un preparat pe bază de enzime pancreatice (solid, lipsit de săruri de

35 amoniu, activ la 37°C și pH = 7-9), pentru hidroliză enzimatică. Oxidul de calciu are

36 proprietatea de a coagula ionii sulfat sub formă de sulfat de calciu, în mod semănător

37 precipitării hidroxidului de crom, iar coprecipitarea celor doi compuși ajută la separarea

38 hidroxidului de crom din dispersia rezultată în urma hidrolizei. Oxidul de calciu se dozează

39 sub formă solidă, într-o cantitate stoichiometric stabilită, pentru precipitarea întregii cantități

40 de crom conținut de deșeurile de piele. Hidroliză alcalină se desfășoară sub agitare continuă,

41 la temperatura de 70...80°C, timp de 6...4 h. Dacă se optează pentru hidroliză alcalino-

42 enzimatică, durata se scurtează la 2...3 h, după care masa de reacție se răcește la 37°C, se

43 verifică pH-ul și dacă este cazul, se corectează cu acid sulfuric, astfel încât să aibă valoarea

44 în intervalul 7...10, și sub agitare continuă, se adaugă preparatul pe bază de enzime

45 pancreatice, în stare solidă, într-o cantitate echivalentă pentru un raport de 2...4 unități

46 enzimatică/gram azot total, se menține la temperatura de 37°C, timp de 4...3 h, sub agitare

47 continuă, după care se încălzește la 60°C, pentru dezactivarea enzimei.

RO 126673 B1

Oricare dintre cele două variante descrise conduce la dezagregarea fragmentelor de piele, precipitarea cromului sub formă de hidroxid de crom și trecerea componentei proteice în soluție, în proporție 80...90%. Dispersia caldă se filtrează printr-un filtru presă sau sub vid (filtru Nuce). Filtratul care este format din hidrolizatul de colagen cu o masă moleculară medie de 10000...14000 Daltoni este supus analizei pentru determinarea conținutului de azot total și azot aminic, precum și pentru stabilirea pH-ului.

Hidrolizatul de colagen se transferă în vasul de reacție și se supune etapei II de hidroliză, în condiții enzimaticе, cu un preparat enzimatic proteolitic (lichid obținut din specii *Bacillus*, activ la 70°C și pH = 7-10) sau cu preparatul pe bază de enzime pancreatice (activ la 37°C și pH = 7-9). Dacă este cazul, se corectează pH-ul prin adăugare de acid sulfuric 96%, sub agitare, astfel încât să se încadreze în limitele de activitate a preparatului enzimatic folosit. Sub agitare continuă, se dozează preparatul enzimatic proteolitic într-o cantitate echivalentă pentru un raport de 3...5 unități enzimaticе/gram (azot total-azot aminic), se aduce masa de reacție la temperatura de 70°C și se menține la această temperatură timp de 4...2 h, cu agitare intermitentă: 10 min agitare, 20 min repaus, după care se încălzește la 85°C, pentru dezactivarea enzimei și apoi se răcește liber, sau se dozează preparatul pe bază de enzime pancreatice, într-o cantitate echivalentă pentru un raport de 4...6 unități enzimaticе/gram (azot total-azot aminic), se aduce masa de reacție la temperatura de 37°C și se menține la această temperatură, sub agitare intermitentă: 10 min agitare, 20 min repaus, timp de 5...3 h, după care se încălzește la 60°C, pentru dezactivarea enzimei și apoi se răcește liber.

Drept consecință a relansării procesului hidrolitic în etapa II, în condiții enzimaticе, are loc reducerea masei moleculare medii a hidrolizatului de colagen cu 40...50% față de masa moleculară medie a hidrolizatului de colagen obținut în etapa I prin hidroliză alcalină sau alcalino-enzimatică. Scindările lanțurilor peptidice, care au loc în timpul hidrolizei enzimaticе în etapa II, asigură diversificarea conținutului de aminoacizi, inclusiv aminoacizi esențiali, în hidrolizatele de colagen, cu aplicații în special în domeniul agricol.

Procedeele de extragere a proteinelor din deșeuri de piele cromată și reducere a masei moleculare medii a hidrolizatelor de colagen, conform invenției, elimină dezavantajele menționate anterior, prin aceea că:

- folosește fragmente reziduale de piele cromată, rezultate după operația de egalizare a pieilor tăbăcite cu săruri bazice de crom, cu umiditatea de 50...60%, cu un conținut de 85...87% substanță dermică (raportat la produsul liber de umiditate) și 4,5...5,5% oxid de crom (raportat la produsul liber de umiditate), fără a fi necesare operații mecanice de tăiere, măcinare și tocare;

- folosește, în etapa I, hidroliză alcalină la un raport solid/lichid de 1/5, cu oxid de calciu, la temperatura de 70...80°C, timp de 6...4 h, sub agitare continuă, sau hidroliză alcalino-enzimatică la un raport solid/lichid de 1/5, cu oxid de calciu, la temperatura de 70...80°C, timp de 2...3 h, și preparatul pe bază de enzime pancreatice, la temperatura de 37°C, timp de 4...3 h, sub agitare continuă, asigurând extragerea componentei proteice cu un randament de 80...90%, sub formă de hidrolizat de colagen cu masa moleculară medie de 10 000...14 000 Daltoni și cu mai puțin de 100 ppb crom;

- folosește, în etapa II, hidroliză enzimatică, cu un preparat enzimatic proteolitic, la temperatura de 70°C, timp de 4...2 h, sau un preparat pe bază de enzime pancreatice, la temperatura de 37°C, timp de 5...3 h, cu agitare intermitentă: 10 min agitare, 20 min repaus, asigurând reducerea masei moleculare medii a hidrolizatului de colagen cu 40...50% față de masa moleculară medie a hidrolizatului de colagen obținut în etapa I prin hidroliză alcalină

RO 126673 B1

1 sau alcalino-enzimatică și promovarea diversificării conținutului de aminoacizi, inclusiv
aminoacizi esențiali, astfel încât hidrolizatul de collagen obținut prin acest procedeu să fie
3 destinat, în special, aplicațiilor în domeniul agricol.

Prin aplicarea invenției, se obțin următoarele avantaje:

5 - recuperarea cu randamente mari a componentei proteice din deșeurile de piele
cromată, cu toate implicațiile favorabile legate de eliminarea acestora și implicit reducerea
7 spațiilor de depozitare, transport, respectarea legislației de mediu în vigoare, conservarea
resurselor naturale printr-o valorificare avansată;

9 - evidențierea posibilității de a utiliza o resursă alternativă de aminoacizi (care în
general au prețuri ridicate) pentru fertilizanții foliari destinați culturilor agricole;

11 - convertirea unui deșeu dintr-o industrie, într-un factor de creștere a eco-eficienței
13 pentru un alt domeniu de activitate (prin înlocuirea totală sau parțială a aminoacizilor din alte
resurse mai costisitoare);

15 - procedeu de reducere a masei moleculare medii a hidrolizatelor de collagen
conform invenției este simplu, eficient, ieftin, reproductibil;

17 - diversificarea gamei de hidrolizate de collagen în funcție de necesități;

19 - promovarea tehnologiilor bazate pe procese enzimatică, cu certe implicații
favorabile în reducerea poluării induse de utilizarea substanțelor chimice de sinteză.

Se dau în continuare două exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1.

21 *Etapa I.* Fragmente reziduale de piele cromată, rezultate după operația de egalizare
a pieilor tăbăcite cu săruri bazice de crom, analizate pentru determinarea conținutului de
23 crom, de azot total și de substanță dermică, sunt dispersate într-un volum de apă echivalent
raportului solid/lichid de 1/5, într-un vas de reacție termostatat, prevăzut cu sistem de agitare,
25 sunt tratate cu oxid de calciu echivalent precipitării complete a cromului conținut. Masa de
reacție se încălzește până la 70...80°C și se menține sub agitare continuă la temperatura
27 respectivă timp de 6...4 h, timp în care fragmentele de piele sunt dezagregate, cromul este
precipitat sub formă de hidroxid de crom și componenta proteică trece în soluție în proporție
29 80...90%. Dispersia caldă se filtrează printr-un filtru presă sau sub vid (filtru Nuce), iar
filtratul, supus analizei pentru determinarea conținutului de azot total și azot aminic, având
31 o masă moleculară medie de 10000...14000 Daltoni, se transferă într-un vas de reacție
termostatat, prevăzut cu agitare.

33 *Etapa II.* Se verifică pH-ul hidrolizatului de collagen și dacă este cazul se corectează
cu acid sulfuric astfel încât să aibă valoarea în intervalul 7...10. Sub agitare continuă, se adaugă
35 preparatul enzimatic proteolitic într-o cantitate echivalentă pentru un raport de 3...5 unități
enzimatice/gram (azot total-azot aminic), se aduce masa de reacție la temperatura de 70°C
37 și se menține la această temperatură timp de 4...2 h, cu agitare intermitentă: 10 min agitare,
20 min repaus, după care se încălzește la 85°C, pentru dezactivarea enzimei și apoi se răcește
39 liber.

Exemplul 2.

41 *Etapa I.* Fragmente reziduale de piele cromată, rezultate după operația de egalizare
a pieilor tăbăcite cu săruri bazice de crom, analizate pentru determinarea conținutului de azot
43 total și de substanță dermică, sunt dispersate într-un volum de apă echivalent raportului
solid/lichid de 1/5, într-un vas de reacție termostatat, prevăzut cu sistem de agitare, sunt
45 tratate cu oxid de calciu echivalent precipitării complete a cromului conținut. Masa de reacție
se încălzește până la 70...80°C și se menține sub agitare continuă la temperatura respectivă
47 timp de 2...3 h, după care masa de reacție se răcește la 37°C, se verifică pH-ul și dacă este
cazul se corectează cu acid sulfuric astfel încât să aibă valoarea în intervalul 7...9 și sub

RO 126673 B1

agitare continuă, se adaugă preparatul pe bază de enzime pancreatice, într-o cantitate echivalentă pentru un raport de 2...4 unități enzimatic/gram azot total, se menține la temperatura de 37°C timp de 4...3 h, sub agitare continuă, după care se încălzește la 60°C, pentru dezactivarea enzimei. Dispersia caldă se filtrează printr-un filtru presă sau sub vid (filtru Nuce), iar filtratul, supus analizei pentru determinarea conținutului de azot total și azot aminic, având o masă moleculară medie de 10000...14000 Daltoni, se transferă într-un vas de reacție termostatat, prevăzut cu agitare.

Etapa II. Se verifică pH-ul hidrolizatului de collagen și dacă este cazul se corectează cu acid sulfuric astfel încât să aibă valoarea în intervalul 7...9. Sub agitare continuă, se adaugă preparatul pe bază de enzime pancreatice, într-o cantitate echivalentă pentru un raport de 4...6 unități enzimatic/gram (azot total-azot aminic), se aduce masa de reacție la temperatura de 37°C și se menține la această temperatură, sub agitare intermitentă: 10 min agitare, 20 min repaus, timp de 5...3 h, după care se încălzește la 60°C, pentru dezactivarea enzimei și apoi se răcește liber.

Revendicări

1

3

1. Procedeu de extragere a proteinelor din deșeuri de piele cromată și reducere a masei moleculare medii a hidrolizatorilor de colagen, **caracterizat prin aceea că** fragmente reziduale de piele cromată, rezultate după operația de egalizare a pieilor tăbăcite cu săruri bazice de crom, cu umiditatea de 50...60%, cu un conținut de 85...87% substanță dermică, raportat la produsul liber de umiditate, și 4,5...5,5% oxid de crom, raportat la produsul liber de umiditate, fără tăiere, măcinare, tocare, se supun unei prime etape de hidroliză alcalină într-un raport solid/lichid de 1/5, cu oxid de calciu, la o temperatură de 70...80°C, timp de 4...6 h, sub agitare continuă, sau de hidroliză alcalino-enzimatică la un raport solid/lichid de 1/5, cu oxid de calciu, la o temperatură de 70...80°C, timp de 2...3 h și preparat pe bază de enzime pancreatice la o temperatură de 37°C, timp de 3...4 h, sub agitare continuă, iar într-o a doua etapă, se supun hidrolizei enzimatice, cu un preparat enzimatic proteolitic, la o temperatură de 70°C, timp de 2...4 h, sau un preparat pe bază de enzime pancreatice la o temperatură de 37°C, timp de 3...5 h, cu agitare intermitentă cu 10 min agitare, 20 min repaus.

5

7

9

11

13

15

17

2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, în prima etapă de hidroliză alcalină, se folosește un raport solid/lichid de 1/5, cu oxid de calciu, la o temperatură de 70...80°C, timp de 4... 6 h, sub agitare continuă, sau hidroliză alcalino-enzimatică la un raport solid/lichid de 1/5, cu oxid de calciu, la o temperatură de 70...80°C, timp de 2...3 h, și un preparat pe bază de enzime pancreatice la temperatura de 37°C, timp de 3...4 h, sub agitare continuă, asigurând extragerea componentei proteice cu un randament de 80...90%, sub formă de hidrolizat de colagen cu masa moleculară medie de 10000...14000 Daltoni și cu mai puțin de 100 ppb crom.

19

21

23

25

3. Procedeu conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, în a doua etapă de hidroliză enzimatică, se folosește un preparat enzimatic proteolitic, la o temperatură de 70°C, timp de 4...2 h, sau un preparat pe bază de enzime pancreatice la o temperatură de 37°C, timp de 3...5 h, cu agitare intermitentă cu 10 min agitare, 20 min repaus, asigurând reducerea masei moleculare medii a hidrolizatului de colagen cu 40...50% față de masa moleculară medie a hidrolizatului de colagen obținut în prima etapă prin hidroliză alcalină sau alcalino-enzimatică și diversificarea conținutului de aminoacizi, inclusiv aminoacizi esențiali, hidrolizatului de colagen obținut astfel fiind utilizat, în special, în domeniul agricol.

27

29

31

