



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2015 00859

(22) Data de depozit: 18/11/2015

(41) Data publicării cererii:
30/05/2017 BOPI nr. 5/2017

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
TEXTILE ȘI 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. AL. PAPIU ILARIAN NR.6, BL.42,
SC.2, ET.6, AP.53, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• EPURE DORU-GABRIEL, STR. CRIȘAN
NR.6, BL.G A 14, SC.B, AP.16, SLATINA,
OT, RO;
• GÎDEA MIHAI, SAT DRACEA,
COMUNA DRACEA, TR, RO;
• STEPAN EMIL, BD.TIMIȘOARA NR.49,
BL.Cc 6, SC.A, ET.3, AP.12, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) POLIDISPERSII DE COLAGEN PENTRU TRATAREA
SEMINȚELOR DE CEREALE, ȘI PROCEDEU DE REALIZARE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs pentru tratarea semințelor de cereale, și la un procedeu de obținere a acestuia. Produsul conform invenției este pe bază de polidispersii de colagen, având masa moleculară de 4000...6000 Da, cu o populație cu ponderea de 60% particule cu dimensiuni de 1...10 nm și două populații cu ponderea de 14%, și, respectiv, 26%, cu dimensiunea de 100...1000 nm și, respectiv, de 1000...5000 nm, un indice de polidispersitate de 0,6 și un conținut de 6...10% aminoacizi liberi. Procedeu

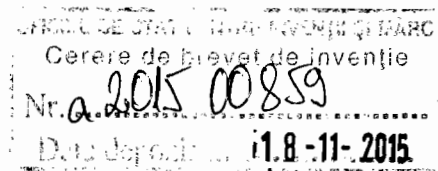
conform invenției constă în hidroliza termo-enzimatică compactă a deșeurilor de piele, în care, într-o primă fază, are loc denaturarea termică a colagenului și extragerea gelatinei, iar în a doua fază are loc fragmentarea polipeptidelor prin hidroliza catalizată de enzime și reducerea masei moleculare, cu punerea în libertate de aminoacizi, inclusiv aminoacizi esențiali.

Revendicări: 4



30

POLIDISPERSII DE COLAGEN PENTRU TRATAREA SEMINTELOR DE CEREALE SI PROCEDEU DE REALIZARE



DESCRIERE

Inventia se refera la un produs pe baza de polidispersii de colagen utilizat pentru tratarea semintelor de cereale in vederea stimulării creșterii, reducerea aportului de pesticide si procedeul de realizare a acestuia.

Se cunosc deja produse pe baza de hidrolizate proteice din resurse vegetale si animale pentru fertilizarea plantelor la nivel foliar si radicular in sistem ecologic. De asemenea sunt cunoscuti fertilizantii foliari cu continut de aminoacizi de sinteza sau din hidrolizate de colagen (Brevet RO 123026 B1) care stimuleaza nutritia si cresterea plantelor.

Problema pe care o rezolva prezentul brevet de inventie este realizarea unei polidispersii de colagen pentru tratarea semintelor de cereale, in vederea creșterii stării de nutritie si sanatate a semintelor si de reducere a cantitatii de pesticide folosite pentru tratarea acestora. Efectele ecologice si economice ale aplicării noului produs sunt mari avand in vedere cerinta pentru produse ecologice, conservarea solului si reducerea cantitatilor de pesticide de tip imidacloprid and tebuconazol.

Sunt cunoscute metode de tratare a semintelor de cereale cu chitosan (US Patent 4886541 A) pentru cresterea productiei de plante, grosimea radacinii si rezistenta tulpinii. De asemenea se cunoaste procedeul de tratare a semintelor de cereale cu polizaharide inclusiv pectina in amestecuri peliculogene cu efect de protectie impotriva fungilor si insectelor (US Patent 20130225403 A1). De asemenea sunt brevetate compozitii complexe pe baza de hidrocarburi condensate, lignine si taninuri (EP Patent 2473034 A2) cu efecte asupra a cel puțin unei caracteristici privind germinatia, rasarirea, dezvoltarea radacinii, vigoarea si cresterea rasadului, scaderea mortalitatii, productia de clorofila, rezistenta la frig, rezistenta la seceta, absorbtia nutrientilor, comparativ cu semintele netratate. Dezavantajele acestor metode de tratare constau in complexitatea materialelor utilizate si a compozitiilor, informatiile incomplete privind nivelul de testare al acestora si reproductibilitatea rezultatelor obtinute.

Prezenta inventie rezolva problema tratării semintelor de cereale prin realizarea unui singur produs cu proprietati nutritive prin continutul de aminoacizi liberi, usor asimilabili, naturali, care asigura protectia prin formarea unui film polimeric de colagen pe suprafata semintelor cu capacitate de absorbtie a apei datorita caracterului amfoter si de eliberare in timp a aminoacizilor din structura oligopeptidelor si a polipeptidelor.

Testarea in laborator si in camp experimental a semintelor de grau de toamna tratate cu polidispersii colagenice a demonstrat urmatoarele avantaje:

- Cresterea acidului giberelic, precursor hormonal de crestere cu 30-40% dupa 18 si 24 de ore de la rasarire;
- Cresterea densitatii de rasarire cu 6-12%;
- Cresterea biomasei cu 5-10%;
- Scaderea numarului de seminte anormale cu 4-8%;
- Posibilitatea reducerii concentratiei de pesticide cu 50-70%;
- Stimularea cresterii plantelor in conditii de sol nefavorabile, la pH-uri extreme (6,0 si 8,9).

Principalele caracteristici ale polidispersiilor de colagen brevetate sunt: masa moleculara de 4000-6000 Da, compozitia formata dintr-o populatie cu ponderea de 60% particule cu dimensiuni de 1-10 nm si doua populatii cu ponderea de 14% si 26% cu dimensiunea de 100-1000 nm si respectiv de 1000-5000 nm. Indicele de polidispersitate este de 0,6. Concentratia de aminoacizii liberi este de 6-10% si contine metionina, glutamina, alanina, glicina, leucina etc, cu rol in metabolismul plantelor si in mecanismele de adaptare la conditii de clima nefavorabile.

Procedeul de realizare a polidispersiei de colagen, denumita hidrolizat de colagen, pentru tratarea semintelor, permite obtinerea de componente cu mase moleculare medii in limite controlate, din subproduse de piele bovina semiprelucrata, prin cataliza termo-enzimatica.

In momentul de fata exista o paleta bogata de biopolimeri - materiale pe baza de proteine extrase din colagen si materiale cu matrice colagenica, utilizate in special in domeniul alimentar, medical, farmaceutic si in cosmetica, pentru a caror realizare se folosesc resurse primare de colagen [1, 2]. Ca alternativa la resursele primare de proteine exista resursele secundare, cum sunt deseurile de piele netabacita din industria pielariei, care nu sunt valorificate, desi pot conduce la performante similare cu resursele principale si exclud riscurile contaminarii, deoarece acestea au trecut deja prin prelucrari chimice suficient de severe pentru dezactivarea bacteriilor si a virusilor. De asemenea, pentru extragerea proteinelor utilizate in domeniul agricol, resursele secundare de colagen, cum sunt subprodusele din industria de prelucrare a pieilor naturale, reprezinta o alternativa viabila. Cea mai mare parte a cercetarilor din ultimii ani s-au axat pe extragerea colagenului din deseuri de piele [3, 4] si utilizarea acestor extracte in fertilizarea culturilor agricole [5, 6], ca alternativa pentru aminoacizii de sinteza utilizati in formulele fertilizantilor [7, 8]. Alte cercetari recente sunt axate pe exploatarea proprietatilor bio-active ale acestor extracte colagenice, in tratarea semintelor, pentru sporirea potentialului germinativ si protectia impotriva daunatorilor [9, 10]. Exista cercetari recente in care s-a studiat posibilitatea folosirii colagenului recuperat din industria pielariei, ca amendament pentru soluri agricole [11], acestea avand in vedere valorificarea colagenului din deseuri de piele netabacita. Totusi, exista si o alta resursa de colagen, constituita din deseurile de piele tabacita.

Fata de cercetarile de pana acum, axate pe recuperarea colagenului din piele fara continut de crom, prin inventia de fata se propune recuperarea colagenului, inclusiv din deseuri de piele tabacita

cu crom (III), resursa evitata in mod sistematic, datorita impactului psihologic generat de termenul „crom”, in general asociat cu notiunile de „metal greu”, „toxicitate”, „cancerigen”, fara a se lua in considerare faptul ca incepand cu ultimii 20 ani, industria de pielarie respecta bunele practici in care nu se foloseste si nu se evacueaza crom hexavalent, generator al efectelor toxice extreme. Cercetari anterioare [6, 12] au demonstrat ca diverse combinatii de procese pentru extragerea colagenului din aceste deseuri/subproduse, pot avea o eficacitate foarte ridicata in separarea cromului, astfel incat continutul acestuia in polidispersiile colagenice sa fie limitat la un nivel admisibil (de ordinul 10^2 ppb) in raport cu aplicatiile carora se adreseaza, sub valorile (de ordinul 10^2 ppm) raportate in alte lucrari [13].

Se cunosc procedee prin care deseurile de piele tabacita cu crom se hidrolizeaza in mediu alcalin (US Patent 4483829, US Patent 4100154), sau prin intermediul preparatelor enzimatice (US Patent 5094946, Brevet RO 126673 A2), pentru a separa proteinele de compusii minerali in vederea folosirii lor in formule de suplimente nutritive pentru alimentatia animalelor, ca ingrasaminte, precum si in compozitia unor preparate cosmetice. Alte procedee mai recente, propun ca materie prima pentru obtinerea hidrolizatului de colagen, faina de oase (CN Patent 103243143-A) din care colagenul se extrage la presiune ridicata prin hidroliza alcalino-enzimatica, sau din piele de porc (CN Patent 104673863-A). Exista si un procedeu care foloseste apa carbonatata (JP Patent 2013245198-A) pentru extragerea colagenului destinat aplicatiilor in cosmetica si a gelatinei folosita ca agent de dispersare a sarcinilor electrice in dispozitive electronice.

Aceste procedee prezinta urmatoarele dezavantaje:

- deseurile de piele folosite ca materie prima necesita in prealabil operatii mecanice de fragmentare;
- temperatura de hidroliza alcalina este de peste 90°C , aproape de temperatura de reflux;
- hidrolizatele proteice obtinute au un continut de crom de ordinul 10^2 ppm la $\text{pH}<11$;
- hidrolizatele proteice destinate folosirii ca fertilizanti au un continut scazut de aminoacizi liberi;
- procesele nu sunt concepute in scopul obtinerii de hidrolizate de colagen cu mase moleculare medii mici care garanteaza un continut de aminoacizi liberi esentiali liberi, recunoscuti pentru contributia importanta pe care o au in metabolismul plantelor, mai ales in conditii de stres;
- procesele se desfasoara in mai multe etape, necesitand operatii de filtrari intermediare si conditionari finale, ceea ce implica manopera si energie suplimentara;
- extractiile din faina de oase se desfasoara la presiuni ridicate;
- folosirea ca materie prima a pielii de porc implica operatii suplimentare pentru eliminarea substantelor grase;

- asigurarea apei carbonatate este un demers incomod in conditiile specifice tabacariilor si procesul de extractie necesita o durata mai mare decat alte procese.

Problema tehnica pe care o rezolva inventia consta din obtinerea de extracte de colagen cu polidispersitate larga, formata din polipeptide, oligopeptide si aminoacizi liberi, inclusiv aminoacizi esentiali, prin elaborarea unui procedeu de hidroliza termo-enzimatica compacta a deseurilor de piele semiprelucrata, tabacite sau nu. In prima faza a procesului are loc denaturarea termica a colagenului si extragerea gelatinei, iar in faza a doua are loc fragmentarea polipeptidelor prin hidroliza catalizata de enzime si reducerea masei moleculare medii, cand are loc punerea in libertate de aminoacizi, inclusiv aminoacizi esentiali.

Ambele faze ale procesului se desfasoara in vase de reactie inchise, echipate cu sistem de agitare si cu sistem de incalzire-racire prin manta, cu izolatie, termostatat.

Ca materie prima se pot folosi: fragmente reziduale de piele tabacita in crom care au un continut de substante volatile de 50-60 % si se caracterizeaza printr-un continut de substanta dermica de min. 85% (raportat la produsul liber de substante volatile), crom exprimat ca oxid de crom min. 3,5% (raportat la produsul liber de substante volatile), restul fiind constituit din saruri provenite din faza de pregatire a suportului colagenic pentru tabacire; piele semiprelucrata netabacita, cu denumirea specifica de piele gelatina cu urmatoarele caracteristici: materii volatile 65-75%, substanta dermica de min. 95% (raportat la produsul liber de substante volatile), restul fiind constituit din saruri provenite din faza de deparare si decalcificare pentru pregatirea suportului colagenic.

Fragmentele de deseuri de piele (ca atare daca sunt tabacite sau tocate daca sunt netabacite) analizate din punct de vedere al continutului de substante volatile, azot total, substanta dermica, eventual crom, sunt dispersate in apa intr-un raport solid/lichid de 1/4 se supun unui regim termic, sub agitare. Daca materia prima consta in fragmente de piele tabacita cu crom, aceasta faza se desfasoara in prezenta de oxid de calciu, care are rolul de a coagula ionii sulfat sub forma de sulfat de calciu si de a precipita cromul eliberat sub forma de hidroxid de crom, coprecipitarea celor doi compusi contribuind la separarea eficace a hidroxidului de crom din dispersia rezultata in urma hidrolizei. Daca materia prima o reprezinta deseurile de piele gelatina, nu este necesara dozarea oxidului de calciu. Faza de extractie a gelatinei se desfasoara sub agitare continua, la temperatura de 70...85°C, pe o durata de 3...5 ore. Pentru faza a doua a procesului, respectiv hidroliza, se verifica pH-ul si se corecteaza cu acid sulfuric diluat 1:10, pana la o valoarea cuprinsa in intervalul 8,5.....9,0 si sub agitare continua, se dozeaza preparatul enzimatic lichid Alcalase 2,4L, intr-o cantitate echivalenta pentru un raport de 2,5.....4,5 unitati enzimaticice/gram azot total, se mentine la temperatura de 63 °C ± 2°C pe o durata de 3....5 ore, sub agitare continua, dupa care se incalzeste la 80...90 °C pentru dezactivarea enzimei.

Dispersia caldă se filtrează sub vid pe un filtru Nuce cu un material filtrant cu porozitatea de 2-4 μm . Filtratul care este format din hidrolizatul de colagen cu o masă moleculară medie de 4000-6000 Daltoni, este supus analizei pentru determinarea conținutului de azot total și azot aminic, precum și pentru stabilirea pH-ului. Conținutul de azot aminic oferă indicii asupra nivelului la care se situează masa moleculară medie a polidispersiei obținute. Scindările lanțurilor peptidice care au loc în timpul hidrolizei enzimatică în faza a doua a procesului, asigură diversificarea conținutului de aminoacizi, inclusiv aminoacizi esențiali, în polidispersiile de colagen, pentru aplicații în tratarea sistemică a semintelor de cereale.

Procedeele de realizare a polidispersiilor de colagen din deseuri de piele din industria de pielărie, conform invenției, elimină dezavantajele menționate anterior prin aceea că:

- este versatil și poate fi folosit cu adaptări minore, atât pentru deseuri de piele netăbăcită cât și pentru deseuri de piele tăbăcită;
- este compact și nu necesită filtrări intermediare;
- folosește fragmente reziduale de piele, rezultate după operația de egalizare a pieilor tăbăcite cu săruri bazice de crom, cu umiditatea de 55.....60%, cu un conținut de 85.....90% substanță dermică (raportat la produsul liber de substanțe volatile) și 4,0.....5,0% oxid de crom (raportat la produsul liber de substanțe volatile), fără a fi necesare operații mecanice de fragmentare;
- este adaptabil pentru deseuri de piele netăbăcită, fragmentarea fiind posibil de realizat simplu, prin tocarea în mașini similare celor din industria alimentară;
- folosește în prima fază extracția termică la un raport solid/lichid de 1/4, cu 8-12% oxid de calciu, la temperatura de 70.....85°C, pe o durată de 3.....5 ore, sub agitare continuă, dacă se folosesc drept materie primă deseuri de piele tăbăcită cu crom, sau fără oxid de calciu, în aceleași condiții, dacă se folosește ca materie primă deseuri de piele netăbăcită.
- folosește în a doua fază hidroliza enzimatică, cu Alcalază 2,4L (sau produse similare), la temperatura de 63 °C \pm 2°C, pe o durată de 3.....5 ore, cu agitare continuă, asigurând fragmentarea polipeptidelor și reducerea masei moleculare medii a extractului de colagen, cu efecte în diversificarea conținutului de aminoacizi, inclusiv aminoacizi esențiali;
- în acest mod se asigură extragerea componentei proteice cu randamente de 85.....95%;
- polidispersiile de colagen obținute prin acest procedeu permit acoperirea semintelor de cereale într-un film care le asigură atât un aport imediat de aminoacizi liberi care stimulează germinatia, cât și un aport treptat de aminoacizi care hrănesc plantulele, conferindu-le o rezistență sporită ceea ce permite reducerea cantității de materiale de sinteză de tip pesticide consacrate în tratamentele contra insectelor și a fungilor.

Prin aplicarea inventiei se obtin urmatoarele avantaje:

- se recupereaza cu randamente mari componenta proteica din deseurile de piele semiprelucrata, cu toate consecintele favorabile legate de eliminarea acestora, respectiv reducerea spatiilor necesare pentru depozitare, reducerea costurilor si a emisiilor generate de transport, respectarea legislatiei de mediu in vigoare, conservarea resurselor naturale prin valorificarea avansata;
- se pune in valoare o resursa alternativa de aminoacizi levogiri, disponibili asimilarii de catre plante fara consum energetic suplimentar, pentru sporuri de productie in agricultura, reducand consumul de aminoacizi de sinteza care prezinta dezavantajul continutului de enantiomeri, aspect inca nerezolvat de cercetarile ultimilor ani [14];
- se converteste un deșeu dintr-un sector industrial, intr-un subprodus util pentru cresterea eco-eficientei in bio-economie (prin inlocuirea partiala sau totala a aminoacizilor de sinteza, care necesita resurse financiare mai mari, directe, pentru productie si indirecte, pentru protectia mediului);
- se incurajeaza dezvoltarea unor materiale si practici in sprijinul agriculturii ecologice (organice, biologice) in care se interzice folosirea oricarei substante obtinute prin procese chimice de sinteza.
- procedeul compact de obtinere a extractelor de colagen sub forma de hidrolizate conform inventiei este simplu, eficace, economic, reproductibil;
- gama de hidrolizate de colagen poate fi diversificata in functie de necesitati;
- utilizarea polidispersiilor de colagen in tratarea semintelor de cereale, ofera o alternativa de accelerare a germinatiei, cresterea rezistentei plantelor si sporirea productiilor agricole, cu un consum mai redus de substante de sinteza pentru tratamentele de compensare a carentelor hidro-nutritionale si de combatere a daunatorilor, fungilor etc.;

Se dau in continuare doua exemple de realizare a inventiei:

Exemplul 1

Fragmente reziduale de piele cromata, rezultate dupa operatia de egalizare a pieilor tabacite cu saruri bazice de crom, analizate pentru determinarea continutului de crom, de azot total ai de substanta dermica, sunt dispersate intr-un volum de apa echivalent raportului solid/lichid de 1/4, intr-un vas de reactie prevazut cu manta de incalzire-racire si izolatie, sistem de agitare si sistem automat de control al temperaturii, sunt tratate cu 8-12% oxid de calciu (cantitatea echivalenta precipitarii complete a cromului continut). Masa de reactie se incalzeste pana la 70.....85°C si se mentine sub agitare continua la temperatura respectiva pe o durata de 3.....5 ore, apoi se lasa in repaos pana a doua zi, timp in care procesul hidrolitic continua, datorita inertiei si datorita faptului ca temperatura

se mentine ridicata multe ore dupa decuplarea incalzirii datorita stratului izolant al vasului de reactie. In acest timp fragmentele de piele sunt dezagregate, cromul este precipitat sub forma de hidroxid de crom si componenta proteica trece in solutie in proportie 85.....95 %. A doua zi masa de reactie se agita, se verifica pH-ul hidrolizatului de collagen si daca este cazul se corecteaza cu acid sulfuric diluat 1:10, astfel incat sa aiba valoarea cuprinsa in intervalul 8,5.....9,0, se incalzeste la $63^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ si sub agitare continua se dozeaza preparatul enzimatic Alcalase 2,4L intr-o cantitate echivalenta pentru un raport de 2,5.....4,5 unitati enzimatic/gram azot total, se mentine la temperatura de $63^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pe o durata de 3.....5 ore, sub agitare continua, dupa care se incalzeste la 85...90 °C pentru dezactivarea enzimei. Dispersia se evacueaza din vas, se lasa la decantare pana a doua zi, cand se filtreaza decantatul printr-un filtru sub vid (filtru tip Nuce), iar filtratul este supus analizei pentru determinarea continutului de azot total si azot aminic, care va indica o masa moleculara medie de 4000-6000 Daltoni. Se verifica continutul de crom.

Exemplul 2

Fragmente reziduale de piele netabacita, analizate pentru determinarea continutului de azot total si de substanta dermica, sunt tocate apoi dispersate intr-un volum de apa echivalent raportului solid/lichid de 1/4, intr-un vas de reactie prevazut cu manta de incalzire-racire si izolatie, sistem de agitare si sistem automat de control al temperaturii, se incalzeste pana la 70.....85°C si se mentine sub agitare continua la temperatura respectiva pe o durata de de 3.....5 ore, dupa care, se verifica pH-ul si daca este cazul se corecteaza cu acid sulfuric (diluat 1:10), astfel incat pH-ul dispersiei sa ajunga la o valoarea cuprinsa in intervalul 8,5.....9,5 si sub agitare continua, se raceste masa de reactie la $63^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, apoi se dozeaza preparatul enzimatic Alcalase 2,4L intr-o cantitate echivalenta pentru un raport de 2,5.....4,5 unitati enzimatic/gram azot total, se mentine la temperatura de $63^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pe o durata de 3.....5 ore, apoi static pana a doua zi, timp in care procesul hidrolitic continua, datorita inertiei si datorita faptului ca temperatura se mentine ridicata multe ore dupa decuplarea incalzirii, datorita stratului izolant al vasului de reactie. A doua zi se agita 15 min. si se incalzeste sub agitare continua, la 85...90 °C pentru dezactivarea enzimei. Dispersia calda se filtreaza pe un filtru sub vid (tip Nuce), iar filtratul este supus analizei pentru determinarea continutului de azot total si azot aminic, care indica o masa moleculara medie de 4000-6000 Daltoni.

**POLIDISPERSII DE COLAGEN PENTRU TRATAREA SEMINTELOR DE CEREALE SI
PROCEDEU DE REALIZARE**

REVENDICARI

1. Polidispersie de colagen pentru tratarea semintelor de cereale **caracterizata prin aceea ca** reprezinta un amestec de polipeptide, oligopeptide si aminoacizi cu masa moleculara medie de 4000-6000 Da, contine 60% particule cu dimensiuni de 1-10 nm, 26% particule cu dimensiuni 1000-5000 nm, indice de polidispersie de 0,6, concentratie in aminoacizi liberi de 6-12%, cu efecte in stimularea cresterii si protectiei semintelor si plantelor de cereale.
2. Procedeu de extragere a polidispersiilor de colagen, conform revendicarii 1, **caracterizat prin aceea ca** foloseste fragmente reziduale de piele tabacita cu saruri bazice de crom, cu umiditatea de 55.....60%, cu un continut de 85.....90% substanta dermica (raportat la produsul liber de substante volatile) si 4,0.....5,0% oxid de crom (raportat la produsul liber de substante volatile), sau foloseste deseuri de piele netabacita, cu umiditatea de 55.....60% si un continut de 85.....90% substanta dermica (raportat la produsul liber de substante volatile).
3. Procedeu conform revendicarii 2, **caracterizat prin aceea ca** pentru extragerea polidispersiilor de colagen din fragmente reziduale de piele tabacita cu saruri bazice de crom se folosesc procese hidrolitice termo-chimice in sistem compact, constand in prima faza in hidroliza la un raport solid/lichid de 1/4, cu 8-12% oxid de calciu, la temperatura de 70...85°C, pe o durata de 3.....5 ore, sub agitare continua, urmata in a doua faza de hidroliza enzimatica, cu Alcalase 2,4L in concentratie de 2,5.....4,5 unitati enzimactice/gram azot total, la temperatura de 63°C ± 2°C, cu agitare continua pe o durata de 3.....5 ore, apoi in regim static fara aport termic, pana a doua zi, asigurand extragerea componentei proteice cu randamente de 85.....95%, sub forma de polidispersii de colagen cu masa moleculara medie 4000-6000 Da si continut de aminoacizi liberi, oligopeptide si polipeptide, destinate tratarii semintelor de cereale.
4. Procedeu conform revendicarilor 2 si 3, **caracterizat prin aceea ca** pentru extragerea polidispersiilor de colagen din reziduurile de piele netabacita se foloseste in prima faza efectul termic, prin incalzirea dispersiei de piele cu un raport solid/lichid de 1/4, pana la 70....85°C pe o durata de 3.....5 ore, cu agitare continua, urmata de a doua faza, constand in hidroliza enzimatica, cu Alcalase 2,4L in concentratie de 2,5.....4,5 unitati enzimactice/gram azot total, la temperatura de 63°C ± 2°C, cu agitare continua pe o durata de 3.....5 ore, apoi in regim static fara aport termic, pana a doua zi, asigurand extragerea componentei proteice cu randamente de 85.....95%, sub forma de polidispersii de colagen cu masa moleculara medie de 4000-6000 Da si continut de aminoacizi liberi, oligopeptide si polipeptide, destinate tratarii semintelor de cereale.