

PATENTE DE INVENCION

22⁹ ABR.
221482



221482

MEMORIA DESCRIPTIVA

sobre:

"Procedimiento de depilación y de maceración de pieles".

====

Solicitantes : SOCIÉTÉ DES LABORATOIRES LABAZ, entidad belga, residente en 168, Avenue Louise, BRUSELAS, Bélgica.

====

Este invento se refiere a un procedimiento de depilación y de maceración de las pieles destinadas a la fabricación de cueros.

Es sabido que en tenería se emplean, actualmente ciertas preparaciones enzimáticas para la maceración de las pieles, operación que tiene por objeto, entre otros, disolver las proteínas indeseables, tales como los restos de queratinas, procedentes de las raíces pilosas, de las distintas glándulas, etc.

10. Las enzimas proteolíticas a las cuales se suele

2 214 82



- recurrir para este objeto, y entre las cuales figuran principalmente enzimas pancreáticas, precisan, antes de la verdadera maceración, una depilación de las pieles que generalmente se lleva a cabo por tratamiento en
15. baños a base de cal y de sulfuro alcalino. La depilación por sí misma, constituye una operación de duración bastante prolongada, y a menudo va acompañada de la putrefacción y del ataque del colágeno por la flora microbiana que normalmente se encuentra en las pieles,
20. lo que en uno y en otro caso se traduce finalmente por una pérdida de cuero.

- Este invento se refiere al empleo, como agente de depilación y de maceración de las pieles, de un complejo termolábil de naturaleza probablemente
25. enzimática, segregado por algunas especies de Streptomyces. Es sabido que los Streptomyces pueden segregar en su medio de cultivo, sustancias cuya actividad lítica se manifiesta, "in vitro" por la clarificación de suspensiones de bacterias gram-positivas vivas, tales como Micrococcus pyogenes aureus,
30. dando lugar a una actividad estafilolítica; Streptococcus pyogenes, dando lugar a una actividad Streptolítica, y Streptococcus pneumoniae, dando lugar a una actividad pneumolítica.

35. Ahora bien, además de estas actividades antibióticas del tipo actinomycetina, que se han puesto especialmente en evidencia en el filtrado de cultivo activo de Streptomyces albus G., se han descubierto recientemente, además de un principio
40. caseinolítico ya conocido, otros dos principio líticos



221482

distintos que se manifiestan respectivamente por la hidrólisis de la queratina, y por la descamación/de la epidermis con sus anexos. Estos tres últimos principios, separada o conjuntamente, dan lugar a actividades caseinolítica, queratinolítica y depilante.

45. Estos distintos principios han podido obtenerse de modo regular y reproducible, por cultivo de distintos *Streptomyces* a 28°C. En medio sumergido y agitado, por ejemplo en frascos de un litro de capacidad que contengan 250 o 500 ml. de un medio acuoso constituido por 1% de peptona, 0,2% de NaNO_3 , 0,05% de KCl , 0,1% de K_2HPO_4 , 0,08% de $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,003% de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, manteniéndose la agitación durante 60 a 70 horas a una velocidad de rotación del recipiente de 100 a 120 revoluciones por minuto, y filtrándose enseguida los cultivos cuyas actividades eran entonces máximas.

Habiendo permitido comprobar estos ensayos que variedades de *Streptomyces* de procedencias distintas se distinguen entre si tanto por los principios bacteriolíticos como por los principios caseinolítico, queratinolítico y depilante que segregan, se han realizado esfuerzos ante todo para evaluar la frecuencia, con la que se encuentran estos diversos tipos de actividad en los filtrados de cultivo de un cierto número de variedades.

60. Examinando de este modo una serie de 88 variedades de *Streptomyces* aisladas a partir de substratos naturales variados, se han encontrado 63 que dan por lo menos una de las tres actividades bacteriolíticas,



221482

y entre las 25 variedades desprovistas de actividad bacteriolítica, 6 eran productoras de actinomicina. En cuanto a las tres actividades líticas, que pueden intervenir en la depilación y/o la maceración de las pieles, entre estas mismas 88 variedades, se han encontrado 59 que segregaban el principio caseinolítico; 75, que segregaban el principio queratinolítico; 65, que segregaban el principio depilante, y 3, que no segregaban ninguno de estos tres últimos principios.

80. En las condiciones indicadas, 11 variedades sólo elaboraban uno de los tres principios, mientras que 34 variedades segregaban dos principios y 40 variedades, los tres principios a la vez. Tal como se indica en la Tabla siguiente, la gran mayoría de las 88 variedades examinadas segregaban, por lo menos, uno e incluso dos o tres principios susceptibles de aplicación en la depilación y/o maceración de las pieles.

Principio	uno solo	Quer. + depil	dos cas + depil.	cas + Quer.	tres cas. + quer. + depil.	Total	Ninguno
<u>Actividad</u>							
caseinolite	2	-	5	12	40	59	
queratinolite	6	17	-	12	40	75	
depilante	3	17	5	-	40	65	
	11		34		40		3

88

Si, de un modo general, puede pues tenerse en vista la utilización de la mayor parte de las variedades de Streptomyces para el tratamiento de las pieles, antes del curtimiento, es conveniente sin embargo,

90.

2 214 82



elegir las que acusen el máximo de actividades caseinolíticas, queratinolítica y depilante, a la vez, que pueden evaluarse por ejemplo, de acuerdo con los métodos

95. siguientes:

Para la determinación de la actividad caseinolítica, se calientan a 37°C, 0,75 ml. de filtrado de cultivo de *Streptomyces* y se añade 0,5 ml. de una solución de K_2HPO_4 de 0,2M y 1,25 ml. de una solución acuosa

100. de 0,6% de caseína, igualmente calentadas con anticipación a 37°C., preparándose la solución de caseína por disolución en medio alcalino seguida de neutralización.

Después de 5 minutos de incubación a 37°C., se retiran 0,5 ml. de la mezcla que se añaden a 4,5 ml. de una

105. solución de ácido tricloracético al 1%. Evaluando, después de 30 minutos de reposo a la temperatura ambiente, la turbiedad que es proporcional a la cantidad de caseína no hidrolizada, se obtiene una medida directa de la actividad caseinolítica.

110. Para establecer la actividad queratinolítica, a un ml. de filtrado de cultivo de *Streptomyces*, llevado a 37°C. se le añaden 4 ml. de una suspensión acuosa de queratina, también llevada a 37°C, y de concentración tal que la turbiedad resultante sea próxima de una

115. turbiedad absoluta de 0,142 y se determina el porcentaje de turbiedad desaparecida después de 90 minutos de incubación a 37°C.

La queratina empleada para este ensayo, procede de plumas de gallina y se prepara de acuerdo con el

120. método de H.P. Lundgreen, A.M. Stein, V.M. Koorn y R.A. O'Connel, descrito en el Journal of Physical and



221482

Coll. Chemistry, 1948, Tomo 52, nº 1 pag. 180.

Las actividades caseinolíticas y queratinolíticas de las variedades, pueden clasificarse como sigue:

Actividad nula:	Desaparición de menos del 5% de la turbiedad
" moderada	" 5 a 20%
" enérgica	" 21 a 40%
" muy enérgica	" mas de 40%

125. Para la determinación de la actividad depilante, se introduce, a la temperatura ambiente, 1 ml. de filtrado de cultivo de Streptomyces en un tubo de ensayo de vidrio grueso, de 12 mm. aproximadamente de diámetro, y de 180 mm. de longitud, y se cierra a continuación
130. el tubo por medio de un pedazo de piel fresca (cortado de un crupón de ternera de 5 a 6 kg. de peso) disponiendo el lado de la carne hacia el interior del tubo y tendiendo la piel sobre la boca del tubo en que se sujeta, por ejemplo mediante un collarin metálico. Invirtiendo
135. a continuación el tubo y suspendiéndolo en un recinto mantenido a 37°C., se evalúa, después de 15 horas, la importancia de la zona en la que la epidermis puede separarse de la dermis por simple tracción ejercida en los pelos, poniendo así al descubierto una dermis
140. intacta.

La actividad depilante de las variedades, puede clasificarse del modo siguiente:

Actividad	Depilación de la superficie de la piel en contacto con el filtrado de cultivo
nula	ninguna
moderada	parcial
fuerte	total
muy fuerte	total, extendiéndose incluso debajo del collarín metálico



221482

- Las variedades de Streptomyces que, por estos
145. métodos, han demostrado ser las mas apropiadas, en cuanto al número de sus actividades útiles para el tratamiento de las pieles y a la intensidad de estas actividades, pueden producirse en la escala industrial por cultivo de estos Streptomyces en un medio de cultivo
150. adecuado, tal como el indicado anteriormente, y tratado en cuba de 100 o de 500 litros, por ejemplo, con un grado de aireación conveniente, que puede obtenerse por paso a una sobrepresión constante del orden de $0,5 \text{ kg/cm}^2$, de un volumen de aire igual a $1/5$ aproximadamente del volumen de cultivo, por minuto.
- 155.

- De acuerdo con este invento, los filtrados de este tratamiento despues de obtener los grados de actividad deseados, y eventualmente concentrados por destilación en vacio, se utilizan para llevar a cabo el conjunto de las operaciones de depilación y de maceración. Este tratamiento, realizado con un pH neutro o ligeramente alcalino, solo dura algunas horas lo cual no solo representa un ahorro de tiempo muy considerable, si no que disminuye además el peligro de pérdidas de colágeno
160. por putrefacción y permite así mismo recuperar, en estado industrialmente utilizable, los pelos obtenidos con este nuevo método de depilación.
- 165.

- La actividad depilante y macerante de los filtrados en cuestión, ha demostrado su eficacia en toda clase de pieles de reses recién sacrificadas. Se han tratado por estos procedimientos muestras procedentes del pescuezo, del crupón o de los costados de cabras, corderos, terneras, vacas, toros y caballos, sometiendo-
- 170.



29 MAR 2 214 22

175. los a una temperatura de 37°C. y utilizando filtrados, eventualmente concentrados, de cultivo de *Streptomyces albus* G., por ejemplo, en tampón fosfatado M/30, pH 8,0 de acuerdo con las distintas técnicas siguientes:

180. - Aplicación por brocha, embadurnado o pulverización del lado carne de las pieles, de una solución activa.

- Inmersión completa de las pieles en una solución activa.

185. - Batanado de las pieles en baño constituido por un volumen de solución activa, de peso igual al de las pieles a depilar.

190. Así se ha comprobado que, para una cantidad dada de producto activo, el procedimiento por batanado permite llevar a cabo una depilación mucho más rápida que los otros dos procedimientos. A razón de 5 g. de producto activo por kg. de piel, se consigue por ejemplo, la depilación de una piel de cordero en 39 horas por simple aplicación, y en solo 15 horas por batanado, y también la depilación de un crupón de una ternera en 29 horas, por inmersión completa, y en 9 horas por batanado. En estos ensayos, la depilación era completa para todas las pieles examinadas.

200. Según, por una parte, la naturaleza de las pieles tratadas, o sea, la especie y la edad de los animales, y la parte de piel utilizada, y según, por otra parte, el procedimiento empleado, la cantidad de producto activo utilizada, la temperatura de los baños, etc. la velocidad de depilación puede variar más o menos.



29
221482

Tal como antes se ha indicado, la técnica de
205. depilación por batanado es la más rápida. Entre las pieles cuya depilación es especialmente rápida, figuran las de cabra, ternero y ternera.

Ensayo de tratamiento de pieles por aplicación con brocha del lado carne, por medio de filtrados de
210. cultivo del *Streptomyces albus* G. que por destilación en vacío han experimentado una primera concentración a 1/10 del volumen inicial, han demostrado que una cantidad de 500 litros permite la depilación y la maceración simultáneas de unas 4 toneladas de pieles de
215. ternera en 15 horas de incubación, sin que, sin embargo, esta cifra represente el mejor resultado posible de obtener en condiciones de trabajo distintas. Los ensayos industriales de depilación-maceración combinadas, antes indicados, se habían realizado de hecho con variedades
220. de *Streptomyces albus* G. cultivadas mas especialmente con miras a la utilización de las actividades bacteriolíticas de la actinomicetina así producida.

Sin embargo, entre las 40 variedades que en los ensayos antes descritos han segregado los tres
225. principios no-bacteriolíticos, 17 variedades que acusaron estos de modo especialmente intenso, no eran productoras de actinomicina, y solamente 14 de estas 17 variedades segregaban todo o parte del complejo bacteriolítico de la actinomicetina, mientras que las otras
230. tres estaban incluso completamente desprovistas de él.

Así mismo, entre las 6 variedades productoras de actinomicina, 5 segregaban un principio depilante; 4, un principio queratinolítico; 3, un principio



221482

- caseinolítico, y solamente 2 de estas variedades segregaban los tres principios simultaneamente. Esta ausencia de correlación entre las distintas actividades líticas y depilantes de los Streptomyces, muestra que estas son debidas a principios distintos, que se consigue además separar por conjugación de diferentes métodos de fraccionamiento mediante adsorción, desorción, extracción fraccionada, diálisis, etc. Algunas variedades, distintas del Streptomyces albus G., o incluso completamente desprovistas de actividades antibióticas, podrían pues resultar mas interesantes todavía, desde el punto de vista industrial, para el tratamiento de las pieles.
235. Por medio de métodos de determinación de las actividades líticas y depilante, descritas en esta Memoria, el práctico en la materia puede buscar y elegir entre las innumerables variedades de Streptomyces, las más convenientes para un tratamiento determinado de depilación y/o maceración de pieles.
- 240.
- 245.
- 250.

N O T A

- Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una Patente presentada en Bélgica con fecha 11 de mayo de 1954, bajo el nº 528,781, acogiendo por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención
- 255.
- 260.



29 482

por 20 años en España: "Procedimiento de depilación

265. y de maceración de pieles"; caracterizándose por lo siguiente:

1^a.- Procedimiento de depilación y/o de maceración de pieles, caracterizado porque éstas se destinan a la fabricación de cueros por curtido.

270. 2^a.- Procedimiento, según lo especificado en la reivindicación 1^a, caracterizado porque las pieles se ponen en contacto con cultivos de variedades de Streptomyces, que segregan uno por lo menos, y con preferencia varios principios del grupo de los que manifiestan
275. actividades depilante y/o caseinolítica y/o queratinolítica, de intensidades suficientes para permitir la realización, en algunas horas o decenas de horas, de la depilación y/o la maceración de las pieles tratadas.

280. 3^a.- Procedimiento, según lo especificado en la reivindicación 1^a, caracterizado porque los cultivos de variedades de Streptomyces se filtran antes de emplearse para el tratamiento de las pieles.

285. 4^a.- Procedimiento, según lo especificado en la reivindicación 1^a, caracterizado porque los cultivos de variedades de Streptomyces, antes de emplearse para el tratamiento de pieles, se concentran por destilación en vacío.

290. 5^a.- Procedimiento, según lo especificado en la reivindicación 1^a, caracterizado porque los cultivos de variedades de Streptomyces, filtrados o no, y concentrados o no, se aplican en medio de reacción neutra o ligeramente alcalina.

6^a.- Procedimiento, según lo especificado en la reivindicación 1^a, caracterizado porque el contacto



29
221482

- entre las pieles y los cultivos de variedades activas
295. de Streptomyces de acuerdo con lo indicado en las reivindicaciones 2ª a 5ª, se lleva a cabo por: a) aplicación por brocha, embadurnado o pulverización de los líquidos activos sobre el lado carne de las pieles; b) inmersión total de las pieles en los líquidos activos;
300. c) batanado o sobado de las pieles en los líquidos activos.

- 7º.- Procedimiento de depilación y de maceración de pieles; tal y como queda substancialmente descrito en la presente memoria que consta de doce hojas, escritas
305. a máquina por una sola cara.

Madrid, 29 ABR. 1955

SOCIÉTÉ DES LABORATOIRES LABAZ.

J. GÓMEZ ACEBO Y MODEI
P.P.