



7972

P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE TEJIDOS ORGANICOS",
a favor de RHEIN-CHEMIE G.m.b.H., de nacionalidad alemana,
domiciliada en MANNHEIM, (Alemania), Mülheimerstrasse, 24.

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a un procedimiento
para la preparación de tejidos orgánicos.

Es sabido que las preparaciones secas de tejidos ani-
males y vegetales al ser almacenadas de modo correspondiente,
5. prácticamente son capaces de conservarse ilimitadamente, en
comparación con los tejidos frescos que, sin medidas particu-
lares de conservación, son descompuestos rápidamente en virtud
de diversas influencias.

Además del procedimiento de desecación primitivo y
10. más sencillo, ha sido desarrollada una serie de procedimien-

227972



- tos que secan este material sensible, con una conservación mayor, para conservar el máximo posible de propiedades y componentes primitivamente existentes. Aparte de los variados medios auxiliares químicos y quimiocoloidales de conservación y desecación, entre los que en sentido más amplio lógicamente ha de contarse también la desecación mediante gas inerte, ya han sido refinadas con éxito las condiciones de desecación físicas. Entre ellas han de contarse el secado al vacío, particularmente el secado por congelación.
- 5.
10. Prescindiendo del hecho de que la vitalidad de las células de tejidos secados por congelación no siempre corresponde a lo que se esperaba, el llevar a cabo el secado por congelación exige un tiempo relativamente largo (de hasta varios días) y un considerable gasto en aparatos, sobre todo, según todas las experiencias que se han presentado, se exige una temperatura de secado lo más baja posible; cuanto más sensible el material, tanto más baja la temperatura.
- 15.
20. Tanto más debe sorprender que la actividad biológica de las preparaciones de tejidos desecados pueda ser aumentada, sometiendo éstas, según la presente invención, primero por un espacio de tiempo potestativo a un intenso sobreenfriamiento, haciendo luego subir la temperatura rapidísimamente en a lo menos 25°C, y dando inmediatamente principio a la desecación a la temperatura nuevamente ajustada. Al efecto, es esencial que todas las partes del tejido sean expuestas lo más rápidamente posible a esta súbita subida de temperatura. Para ello se puede recurrir a todas las medidas conocidas que faciliten el paso del calor, como operar en capa delgada, calefacción por alta frecuencia o por radiaciones infrarrojas, la ayuda de una corriente de gas atemperada respectivamente, o esterili-
- 25.
- 30.



lizada eventualmente (convenientemente exenta de oxígeno, por ejemplo nitrógeno, hidrógeno, dióxido de carbono, gas noble, o mezclas de varios gases), adición de materias con apropiadas propiedades térmicas, etc.

5. El repentino aumento de temperatura o bien la temperatura de secado, a elegir, depende ampliamente del contenido en agua de los tejidos, o bien de su tendencia a retener agua, del vacío de régimen lográble, o bien del tiempo necesario para estos factores y de la capacidad de aspiración de la
10. bomba.
- Como es natural, se puede emplear simultáneamente, asimismo, las medidas conocidas de otros métodos de conservación conforme a su sentido. Así, se puede adicionar a las preparaciones, en cualquier fase del procedimiento, medios de conservación y desecación químicos o quimiocoloidales conocidos. Se los puede desmenuzar antes o después de la conservación, frescos o en estado congelado. El operar bajo condiciones estériles, cuando sea necesario, no queda excluído por el presente procedimiento, pudiendo ser potestativamente previsto simultáneamente. Igualmente se puede aquí llevar a cabo el primer enfriamiento lo más rápidamente posible, ya sea de modo indirecto, ya sea de modo directo, por ejemplo por inmersión en gases licuados, una medida cuya importancia general resultó de las investigaciones en el terreno de la desecación por congelación. Se sobreentiende que en la desecación de conservación se puede utilizar un vacío más o menos elevado. Para la disminución de la presión de vapor en la superficie del tejido, el vapor de agua liberado puede ser separado rápidamente, condensándolo en otro sitio, o combinándolo química o físicamente. Pero se puede también, después del súbito
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



227072

aumento de temperatura según la invención, y después del secado inicial correspondiente, terminar la desecación a otra temperatura apropiada en el sentido de la invención, pero por lo demás potestativa, situada por debajo de $+5^{\circ}\text{C}$, tan pronto como a lo menos la cuarta parte del contenido en agua primitivo haya sido eliminado en escalón de temperatura según el procedimiento. Eventualmente es recomendable, disminuir seguidamente la temperatura de secado de modo similar a un secado de congelación.

5.

10.

No hace falta ninguna dilucidación más detenida de que, según el presente procedimiento, pueden ser preparadas porciones de tejido animales y vegetales mediante aparatos relativamente sencillos y, ante todo, de un modo más racional en lo que se refiere al transcurso operatorio industrial, como por ejemplo según el procedimiento de secado de congelación, aparte de la actividad biológica intensificada antes indicada.

15.

E J E M P L O S:

20.

Se coloca rápidamente porciones de 5 g de tejidos, obtenidas vivas, frescas y trituradas, a un pequeño matraz de Jena de gollete ancho y 250 ml de capacidad, en correspondiente mezcla frigorífica, bajo sacudidas, a la temperatura de sobreenfriamiento indicada, a cuyo efecto el material se extiende en capa delgada en la pared. A esta temperatura son almacenadas durante cualquier período según la posibilidad de su elaboración ulterior. Para el secado según el procedimiento se lleva los pequeños matraces con las porciones de tejido a un utillaje que puede ser evacuado, y cuya temperatura puede regularse, manteniendo primero la temperatura de sobreenfriamiento. El utillaje, primero, es liberado de aire mediante

25.

30.

227972



una corriente de gas inerte, por ejemplo una corriente de nitrógeno, que es atemperada, secada y esterilizada, según las condiciones operatorias respectivas. Seguidamente, los aparatos, matracitos y la corriente de gas se llevan simultánea y súbitamente a la nueva temperatura, siendo inmediatamente después evacuados. El secado se termina a aproximadamente 0.1-2 Torr. Se opera de modo estéril. Todas las indicaciones de temperatura se refieren a grados Celsius.

5. 1) Hígado fetal (ternera)
10. Temperatura de enfriamiento -70° ; sin el súbito aumento de temperatura según el procedimiento, se comienza, a esta temperatura, a eliminar el agua por sublimación al vacío, al efecto paulatina subida de temperatura, primero retardatoria hasta
15. llegar finalmente a 0° (secado de congelación).
- 2) Hígado fetal (ternera)
- Temperatura de enfriamiento -70° , temperatura de secado -15° .
- 3) Hígado fetal (ternera)
20. Temperatura de enfriamiento -35° , temperatura de secado -5° .
- 4) Hígado fetal (ternera)
- Temperatura de enfriamiento -35° , temperatura de secado primero -5° ,
25. después de la eliminación de aproximadamente $1/3$ del agua la temperatura de secado es disminuída a -35° , por paulatina adaptación de temperatura según el ejemplo 1, sólo completa al final.
- 5) Testis de animal joven (ternera)
30. Temperatura de enfriamiento -55° , temperatura de secado -10° .
- 6) Bacterium coli 1883 sobre agar Drigalski
- Temperatura de enfriamiento -55° , temperatura de secado -10° .

16 ABR



227822

7) Hojas de Digitalis Lanata

Temperatura de enfriamiento -55°, temperatura de secado -10°.

8) Testis de animal joven (bovino)

5. Temperatura de enfriamiento -70°, temperatura de secado +4°.

La actividad biológica de las preparaciones de tejido secadas según el presente invento es determinada según el método de Warburg (Biochem. Zsch., 166, 386, 1925), por absorción de oxígeno en cc, referido a 1 g de substancia seca en función del tiempo.

Para la comparación con los ejemplos 2, 3, 4, y 8, se determina simultáneamente la actividad biológica de

a) una preparación seca, obtenida según Proom (Freezing and Dryng, Report of a Symposium held, Junio de 1951),

b) una preparación de células secas, obtenida según la invención a base del secado de congelación sin súbito aumento de temperatura.

Los resultados obtenidos al efecto pueden desprenderse de la siguiente tabla:

Absorción de oxígeno en cc, calculada sobre 1 g de substancia seca

	al cabo de minutos:			suma	aumento de efecto
	60	120	180		
<u>Organo: hígado fetal</u>					
Ensayo a)	0	0	0		
Ensayo b) (ejemplo 1)	2.5	5.5	8.5	16.5	
ejemplo 2	3	14	22	39	+ 136 %
ejemplo 3	6	16	24	46	+ 178 %
ejemplo 4	4	14	19	37	+ 124 %
<u>Testis de animal joven (bovino)</u>					
Ensayo b)	9.5	17	24	50.5	
ejemplo 8	21	32	53	106	110 %

227972¹⁶



De la tabla anterior puede desprenderse que las preparaciones obtenidas según el procedimiento a base del invento presentan un esencial aumento de intensidad respiratoria que va paralela con un plusefecto biológico.

5. La invención, en su esencialidad, puede ser desarrollada en otras formas de realización, que difieran en detalle de las indicadas a título de ejemplo, a las cuales alcanzará igualmente la protección que se recaba. Podrá, pues, llevarse a la práctica con los medios y aparatos más adecuados, por
10. quedar todo ello comprendido en el espíritu de las reivindicaciones.

= . =

N O T A

Descrito el objeto de la invención se declara nuevas las siguientes reivindicaciones:

15. 1. Procedimiento para la preparación de tejidos de naturaleza animal o vegetal por desecación, caracterizado porque éstos, primero son sobreenfriados a temperaturas de congelación bajas, por ejemplo hasta -80°C , siendo llevados seguidamente rápidamente a temperaturas de por lo menos 25°C más elevadas, preferentemente por encima de -15° , por ejemplo
20. -5° hasta -30° , pero convenientemente a no más de $+5^{\circ}$, y comenzando simultáneamente con la eliminación de la humedad.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se principia con la eliminación de humedad a una presión de 0.1 a 2 Torr.
25. 3. Procedimiento según las reivindicaciones 1-2, ca-

227972¹⁶



racterizado porque los tejidos a desecar son expuestos en capa delgada al aumento súbito de temperatura y a simultánea extracción de humedad.

4. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque con ayuda de una corriente gaseosa atemperada y secada de modo correspondiente, se alimenta el calor necesario y se elimina la humedad.
5. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el tejido es llevado antes del súbito aumento de temperatura y del secado, a una atmósfera de gas inerte, exento de oxígeno.
6. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque se seca al vacío.
7. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el secado es terminado al mismo escalón de temperatura al que el tejido haya sido llevado en virtud de la súbita subida de temperatura.
8. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque se termina el secado a una temperatura distinta del súbito aumento de temperatura, después de que a lo menos un cuarto de la humedad primitivamente existente haya sido eliminado.
9. Procedimiento para la preparación de tejidos orgánicos.
25. Según se describe y reivindica en la presente memoria que consta de ocho hojas, foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 16 de Abril de 1956.

RHEIN-CHEMIE G.m.b.H.

p.a.

JAIME ISERN MIRALLES

P. P.

tr:jpt
o/mp.