



ESPAÑA

19	ES	11	449707	10	A1
		21			
		22	FECHA DE PRESENTACION		
			9-7-76		

PATENTE DE INVENCION

P.- 63.435

50820/AS

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO			32 FECHA			33 PAIS		
29341/75 (Provisional)			11-7-75			G. Bretaña		
47 FECHA DE PUBLICIDAD			51 CLASIFICACION INTERNACIONAL			62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA		
			C09H					
64 TITULO DE LA INVENCION								
"UN PROCEDIMIENTO PARA EL ACONDICIONAMIENTO ALCALINO O NEUTRO DEL COLAGENO PARA EXTRACCION DE GELATINA"								
71 SOLICITANTE (S)								
NOVO INDUSTRI A/S								
DOMICILIO DEL SOLICITANTE								
NOVO Allé, DK-2880 Bagsværd, Dinamarca								
72 INVENTOR (ES)								
Bent Riber Petersen y John Russel Yates								
73 TITULAR (ES)								
74 REPRESENTANTE								
D. ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ								

1 Esta invención se refiere a mejoras introducidas en el acondicionamiento del colágeno para la extracción de la gelatina.

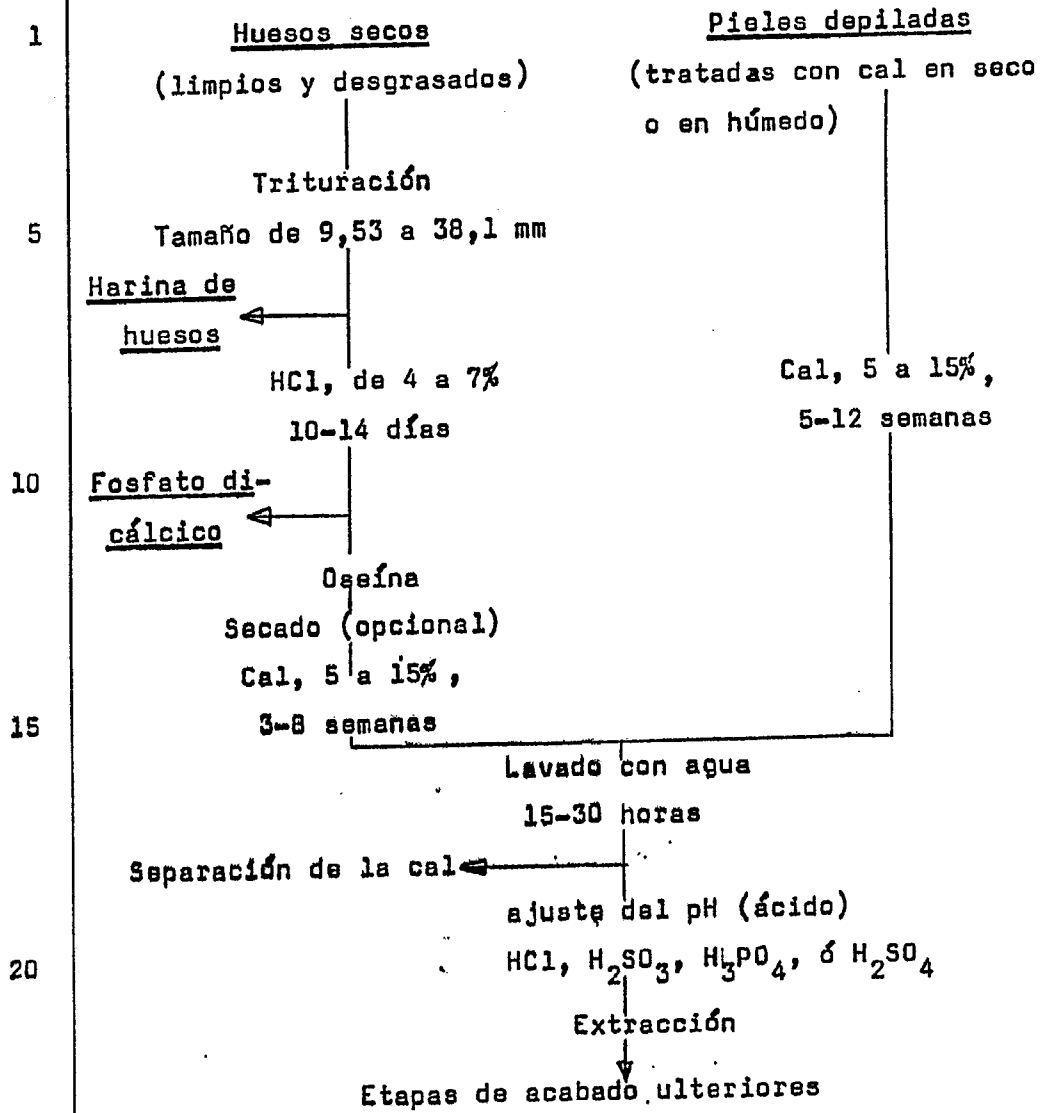
5 El colágeno es un constituyente proteínico fundamental del tejido conectivo, tanto en el reino de los animales vertebrados como en el de los invertebrados. Materiales ricos en colágeno y adecuados como materiales de partida para la producción de colágeno o materias derivadas del colágeno son huesos secos, pieles depiladas, pieles
10 tratadas con sal y piel de cerdo.

 Una gran parte del colágeno recuperado industrialmente se utiliza como material de partida para la producción de gelatina. La gelatina puede encontrarse en dos tipos: la gelatina tipo A se prepara por pretratamiento
15 ácido de una materia prima de naturaleza colágena, preferiblemente piel de cerdo, y la gelatina tipo B se prepara por pretratamiento alcalino de una materia prima de naturaleza colágena, preferiblemente huesos secos o pieles depiladas.

20 Esta invención se refiere sólo al acondicionamiento alcalino o neutro del colágeno para extracción de gelatina, siendo por tanto la gelatina producida del tipo B.

 El acondicionamiento alcalino convencional del colágeno para la extracción de la gelatina es una etapa de la
25 fabricación de gelatina alcalina, que se describe en Kirk Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology, vol. 7 (1951), págs. 145-157. Como se indica en la pág. 149 de dicha obra, la gelatina de tipo B puede prepararse de la manera
siguiente:

30



El tratamiento con cal es un acondicionamiento alcalino del colágeno para la extracción de la gelatina. Este tratamiento con cal, por consiguiente, descompone la colágena en gelatina y otros compuestos proteínicos. Del esquema de fabricación anterior se deduce que el tratamiento con cal es una etapa que consume mucho tiempo, cuya duración es desde 3 semanas como mínimo hasta 12 semanas co

1 mo máximo. Si pudiera reducirse el tiempo de acondiciona-
miento, podría aumentarse la capacidad de producción de
una instalación de dimensiones dadas.

5 Se ha encontrado ahora que es posible reducir el --
tiempo de acondicionamiento y aumentar la capacidad de --
producción de una instalación dada de producción de gela-
tina de acuerdo con lo anterior, si el acondicionamiento
del colágeno para extracción de la gelatina se realiza --
enzimáticamente y en condiciones especificadas, como se
10 describe en lo que sigue.

Más específicamente, el acondicionamiento alcalino o
neutro del colágeno para extracción de la gelatina com--
prende el tratamiento de extracción de una materia prima
adecuada de naturaleza colágena, preferiblemente oseína,
15 pieles depiladas o pieles tratadas con cal en seco o en
húmedo o tratadas con sal, con una solución de una enzi-
ma proteolítica neutra o alcalina, a una temperatura en-
tre 20 y 40°C en un período de tiempo de 4 a 72 horas y
a un pH entre 7 y 13, después de lo cual se elimina la --
20 actividad enzimática proteolítica.

Así, la capacidad de una instalación de acondiciona-
miento del colágeno se puede aumentar multiplicándola por
un factor comprendido entre 7 y 504 si el acondicionamien-
to del colágeno se lleva a cabo de acuerdo con la inven-
25 ción.

Una realización preferida del acondicionamiento del
colágeno de acuerdo con la invención comprende el uso de
tripsina como enzima proteolítica.

Otra realización preferida del acondicionamiento del
30 colágeno de acuerdo con la invención comprende el uso de

1 proteínas producidas microbiallymente a partir de microor-
ganismos del género Bacillus como enzima proteolítica.

5 Otra realización preferida del acondicionamiento del
colágeno de acuerdo con la invención comprende el uso de
proteinasas producidas microbiallymente a partir de Baci-
llus licheniformis.

10 Otra realización preferida del acondicionamiento del
colágeno de acuerdo con la invención comprende el uso de
proteinasas resistentes a los álcalis producidas de acuer-
do con la Patente Británica Nº. 1.243.784.

15 Otra realización preferida del acondicionamiento del
colágeno de acuerdo con la invención comprende el uso de
una concentración de enzima en el caldo de flotación de
acondicionamiento comprendida entre 0,05 y 5 unidades An-
son/l, preferiblemente entre 0,5 y 1,5 unidades Anson/l.

20 Otra realización preferida del acondicionamiento del
colágeno de acuerdo con la invención comprende el uso de
una relación de flotación (la relación en peso entre el -
caldo de flotación y el material de naturaleza colágena)
entre 0,5 y 10%.

Otra realización preferida del acondicionamiento del
colágeno de acuerdo con la invención comprende un tiempo
de acondicionamiento entre 6 y 24 horas.

25 Otra realización preferida del acondicionamiento del
colágeno de acuerdo con la invención comprende el uso de
las enzimas proteolíticas en una cantidad correspondiente
a una concentración comprendida entre 10^{-4} y 5×10^{-2} Uni-
dades Ansong/g de material de naturaleza colágena.

30 Otra realización preferida del acondicionamiento del
colágeno de acuerdo con la invención comprende una tempe-

1 ratura de acondicionamiento comprendida entre 25 y 35°C.

Otra realización preferida del acondicionamiento del colágeno de acuerdo con la invención comprende que se uti-
licen proteinasas resistentes a los álcalis producidas de
5 acuerdo con la Patente Británica Nº 1.243.784 como enzima
proteolítica y que no se ajuste el valor del pH del caldo
de flotación.

Otra realización preferida del acondicionamiento del
colágeno de acuerdo con la invención comprende que el pH
10 del caldo de flotación se ajuste a un valor de pH igual -
al o sustancialmente igual al pH óptimo de la enzima pro-
teolítica.

En otra realización preferida del acondicionamiento
del colágeno de acuerdo con la invención, la eliminación
15 de la enzima proteolítica se realiza por inactivación de
la actividad de la enzima por medio de un ajuste del pH
a un valor comprendido en la zona fuertemente ácida.

La actividad proteolítica se determina por medio del
método de la hemoglobina de Anson, tal como se ha descri-
to en J. Gen. Physiol. 22, 79 (1939).

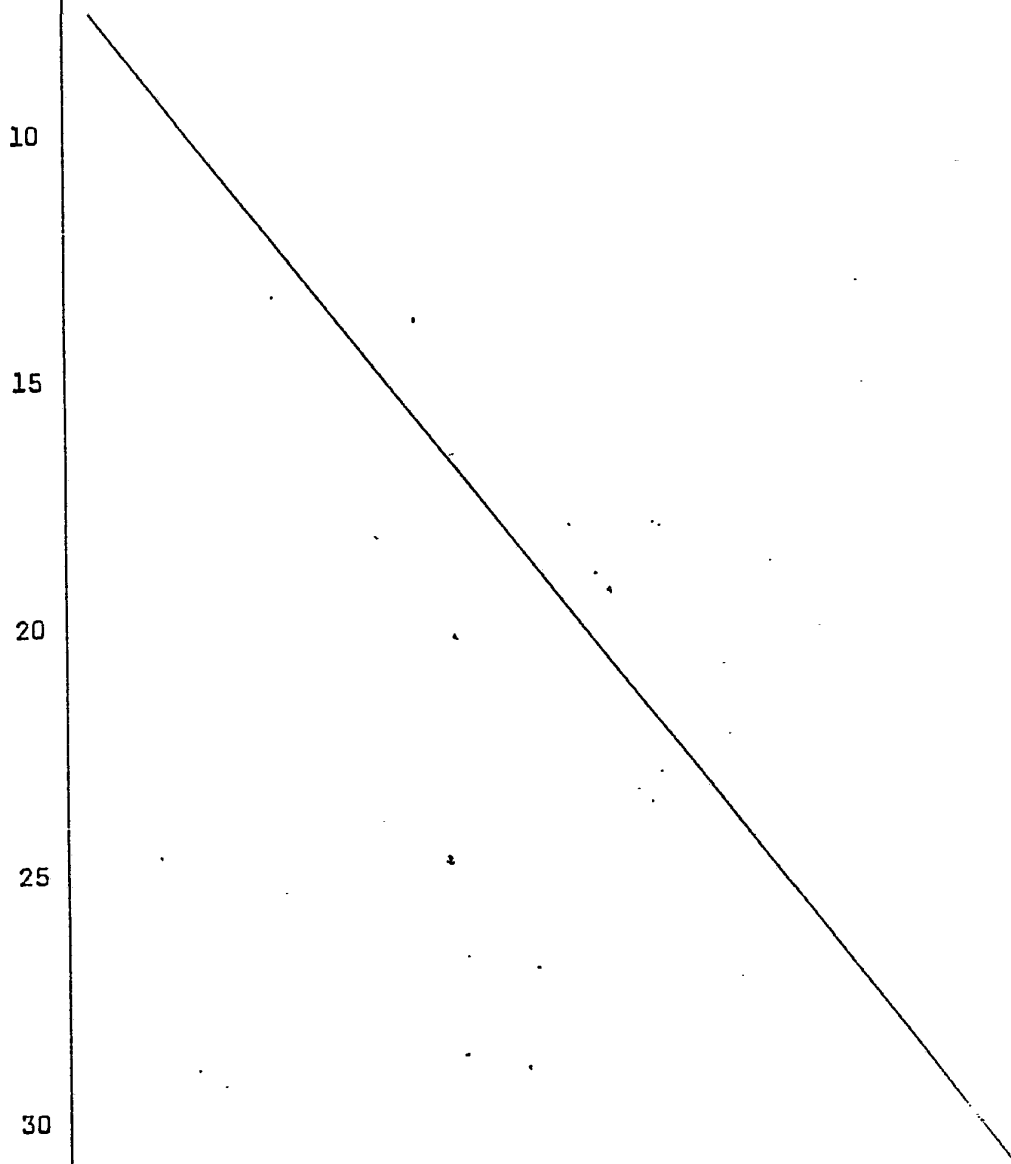
20 Se ilustrará la invención por los ejemplos siguien-
tes.

Como materia prima se utilizaron piezas de ensayo -
de piel de vaca tratadas con sal, cada una de las cuales
25 pesaba 200 g y estaba cortada en cuadrados con bordes de
1-2 cm. La gelatina se preparó de la manera siguiente.

Cada carga de 200 g de piel de vaca se lavó en una
máquina Launder-O-meter con 300% de agua corriente a la
temperatura ambiente durante 30 minutos, haciendo refe-
30 rencia éste porcentaje y los siguientes al peso original

1 de las pieles de vaca tratadas con sal, es decir, 200 g.
Se desechó el agua de lavado, y se enjuagaron manualmen-
te todas y cada una de las cargas con otro 300% de agua
5 corriente. Se preparó un caldo de flotación. La enzima se
leccionada se muestra en la columna 1 en la tabla que si-
gue, la actividad de la enzima se muestra en la columna 2
y la concentración de enzima en el caldo de flotación se
muestra en la columna 3 de la tabla siguiente. Cada car-
ga de 200 g de piel de vaca se trató con 200% del caldo
10 de flotación de enzima a una temperatura que se muestra
en la columna 4 de la tabla siguiente, apareciendo el --
tiempo de tratamiento en la columna 5 de la tabla siguien-
te. El pH de los caldos de flotación aparece en la colum-
na 6 de la tabla siguiente; cuando se ajusta el valor de
15 pH, esto se hace con NaOH. Como agente conservador se --
añadieron 0,8 g de sodio-o-fenil-fenol. El caldo de flo-
tación enzimático se decantó después del final del tiem-
po de acondicionamiento, y las pieles de vaca se enjuaga-
ron con 300% de agua corriente, y después durante 2 pe-
20 ríodos de 15 minutos en una máquina Launder-O-meter con 2
veces un 300% de agua sometida a intercambio de iones. En
el último caldo de flotación de enjuagado con 300%, el -
pH se ajusta a entre 2 y 3 por medio de ácido sulfúrico,
y el pH se mantiene en este valor durante media hora con
25 objeto de inactivar la enzima, la cual podría en caso con-
trario degradar la gelatina, que se extrae en una etapa
posterior. Este caldo de flotación de pH bajo se desecha.
Ahora están listas las pieles de vaca acondicionadas
para la extracción de la gelatina. La extracción de la -
30 gelatina se realizó durante 3 horas con 150% de agua so-

1 metida a intercambio de iones a un pH inicial de 7,0 y a
70°C en una máquina Launder-O-meter. El extracto se fil-
tró por un filtro de membrana, y el filtrado claro se de-
sodorizó con 0,6 g de carbón activo y se filtró de nuevo.
5 Se evaporó el filtrado a 30°C, y se pesó el residuo, cons-
tituido por la gelatina (columna 7 de la tabla siguiente).



30 25 20 15 10 5 1

TABLA

Ejemplo Nº	Enzima	Actividad de enzima, un- idades Anson/ g	Concentración de enzima en el caldo de flotación, g/l	Temperatura de acondi- cionamiento, °C	Tiempo de acondicio- namiento, horas	pH del líquido de acondiciona- miento	Rendimiento de gelatina, g
1	BPN	1,5	1	40	17	7,2 (natural)	20,5
2	ALCALASA	1,5	1	40	17	9	7,0
3	ESPERASA	4,0	1,5	40	17	9	25,4
4	TRIPSINA	3,0	0,5	40	17	8	2,75
5	BPN	1,5	1	25	17	7,2 (natural)	7,25
6	ALCALASA	1,5	1	25	17	9	40,8
7	ESPERASA	4,0	1,5	25	17	9	46,6
8	TRIPSINA	3,0	0,5	25	17	8	5,63
9	No se em- pleó nin- guna en- zima	0	0	25	17	8	1,5
10	BPN	1,5	1	25	6	7,4 (natural)	12,1
11	ALCALASA	1,5	1	25	6	9	20,9
12	ESPERASA	4,0	1,5	25	6	9	18,0

1 BPN (proteínasa bacteriana Novo) es una enzima proteolítica microbiana producida por medio de *Bacillus subtilis*.

5 ALCALASA es una enzima proteolítica microbiana producida por medio de *Bacillus licheniformis*.

 ESPERASA es una enzima proteolítica microbiana producida de acuerdo con la Patente Británica Nº 1.243.784.

10

REIVINDICACIONES

15 Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

20 1ª.- Un procedimiento para el acondicionamiento alcalino o neutro del colágeno para extracción de gelatina, que comprende el tratamiento de una materia prima de naturaleza colágena adecuada, preferiblemente oseína, pieles depiladas o pieles tratadas con cal en seco o en húmedo o tratadas con sal, con una solución de una enzima proteolítica neutra o alcalina a una temperatura comprendida entre 20 y 40°C entre 4 y 72 horas y a un pH comprendido entre 7 y 13, después de lo cual se elimina la actividad de la enzima proteolítica.

25 2ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el que la enzima proteolítica neutra o alcalina es tripsina.

30

- 1 3ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el que la enzima proteolítica neutra o alcalina es una proteinasa producida microbially a partir de microorganismos del género *Bacillus*¹.
- 5 4ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el que la enzima proteolítica neutra o alcalina es una proteinasa producida microbially a partir de *Bacillus licheniformis*².
- 10 5ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el que la enzima proteolítica neutra o alcalina es una proteinasa resistente a los álcalis producida de acuerdo con la Patente Británica Nº. 1.243.784³.
- 15 6ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1ª-5ª, en el que la enzima proteolítica alcalina se usa en el caldo de flotación de acondicionamiento en una concentración comprendida entre 0,05 y 5 Unidades Anson/l, preferiblemente entre 0,5 y 1,5 unidades Anson/l¹.
- 20 7ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1ª-6ª, en el que la relación de flotación (la relación en peso entre el caldo de flotación y el material de naturaleza colágena) está comprendida entre 0,5 y 10⁴.
- 25 8ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1ª-7ª, en el que el tiempo de acondicionamiento está comprendido entre 6 y 24 horas⁴.
- 30 9ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1ª-8ª, en el que la enzima proteolítica neutra o alcalina se utiliza en una cantidad correspondiente a una concentración comprendida entre 10^{-4} y 5×10^{-2} unidades Anson/g de material de naturaleza colágena¹.
- 10ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindi-

1 caciones 1ª-9ª, en el que la temperatura de acondiciona-
miento está comprendida entre 25 y 35°C.

5 11ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindica-
ción 1ª, en el que la enzima proteolítica neutra o alcali-
lina es una proteinasa resistente a los álcalis produci-
da de acuerdo con la Patente Británica Nº 1.243.784, y -
no se ajusta el valor del pH del caldo de flotación.

10 12ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindi-
caciones 1ª-11ª, en el que el pH del caldo de flotación
se ajusta a un valor de pH igual al o sustancialmente --
igual al pH óptimo de la enzima proteolítica.

15 13ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindi-
caciones 1ª-12ª, en el que la eliminación de la enzima -
proteolítica se lleva a cabo por inactivación de la acti-
vidad de la enzima por medio de un ajuste del pH a un va-
lor comprendido dentro de la zona fuertemente ácida.

20 14ª.- "Un procedimiento para el acondicionamiento -
alcalino o neutro del colágeno para extracción de gelati-
na".

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede
y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de doce hojas escritas a máquina
por una sola cara.

Madrid, 09. JUL. 1976

P.A.

Alberto de Lizasoain
Por Fdo.

30 ARS.