

MINISTERIO DE INDUSTRIA

REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

ES	11	458684	10	A 1
	21			
	22	FECHA DE PRESENTACION		
		- 5 MAYO 1977		

20 OCT. 1978

PATENTE DE INVENCION

30	PRIORIDADES:	32	FECHA	33	PAIS
	31	NUMERO			
		P 26 20 289.1	7 Mayo 1976		República Federal de Alemania
		P 27 16 719.7	15 Abril 1977	"	"

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			C07G/A61K		- - -

64	TITULO DE LA INVENCION
	"Procedimiento para fabricar preparados enzimáticos ricos en lipasa"

71	SOLICITANTE (S)
	A. NATTERMANN & CIE. GmbH.

	DOMICILIO DEL SOLICITANTE
	Nattermann-Allee 1, 5000 Köln 30, República Federal de Alemania

72	INVENTOR (ES)
	Klaus Peter Müller

73	TITULAR (ES)

74	REPRESENTANTE
	M. Curell Suñol

A. Nattermann & Cie. GmbH - 11A-49 328
EX-DT

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

por VEINTE años

solicitada en España a favor de A. NATTERMANN & CIE. GmbH., de nacionalidad alemana, domiciliada en Nattermann-Allee 1, 5000 Köln 30, República Federal de Alemania, por "Procedimiento para fabricar preparados enzimáticos ricos en lipasa", con prioridad de las solicitudes alemanas P 26 20 289.1 y P 27 16 719.7 de fechas 7 Mayo 1976 y 15 Abril 1977, respectivamente. - - - - -

MEMORIA DESCRIPTIVA

- Para el tratamiento de la insuficiencia de los jugos digestivos en el tracto gástrico e intestinal, así como en los casos de dispepsias, se requieren preparados de fermentos con una elevada actividad de enzimas digestivas, particularmente actividad de lipasa. Como material inicial sirve para ello tejido fresco o congelado de las glándulas pancreáticas, particularmente de páncreas de cerdo. Con el fin de que la carga del organismo con componentes inactivos en los preparados pueda mantenerse tan baja como sea posible, la actividad de fermentación de los productos necesarios pa
- 5.
 - 10.

ra la fabricación de los medicamentos debe ser lo más elevada posible. En la patente alemana 24 08 379 se ha descrito un procedimiento para la fabricación de un preparado enzimático rico en lipasa, en el que el tejido pancreático desmenuzado se desengrasa primero parcialmente con una mezcla de 9 partes en volumen de cloroformo y 1 parte en volumen de butanol, a continuación de lo cual, dejando reposar el material de tejido parcialmente desengrasado a 0 - 4°C durante 24 - 26 horas se efectúa la autólisis, continuándose desengrasando luego mediante tratamiento con acetona, a continuación de lo cual se extrae la actividad enzimática con una solución acuosa de etanol al 5% y se obtiene del extracto mediante la mezcla con acetona un precipitado que después del secado representa un preparado con una elevada actividad de lipasa. Según una propuesta más antigua, tal como se describió en la solicitud de la patente alemana P 25 05 887.1, el extracto de substancia activa obtenido mediante extracción con la solución acuosa de etanol también puede transformarse mediante liofilización directamente en un preparado enzimático seco. Aún cuando estos productos son mejores en cuanto a su actividad que los preparados de lipasa conocidos con anterioridad, siempre hay que procurar simplificar de una parte el procedimiento de elaboración y continuar incrementando por otra parte el rendimiento enzimático del material glandular y particularmente la actividad de los productos obtenidos. - - - - -

Sorprendentemente se ha descubierto ahora que puede juntarse en una etapa el necesario desengrase principal del tejido pancreático desmenuzado y la operación de la autólisis, pudiéndose acortar también considerablemente la duración de la autólisis. Según la invención, se adiciona al tejido pancreático desmenuzado una mezcla de disolventes orgánicos con el 80 al 95% en volumen de hidrocarburo halogenado, cuyo punto de ebullición se encuentra a la presión normal entre 47 y aprox. 130°C y cuya densidad debe ser superior a 1,3, así como con el 5-20% en volumen de un alcohol no mezclable con agua con 4-6 átomos de C, mediante agitación y con una cantidad tal que se haya originado una suspensión móvil. La suspensión de tejido así obtenida se deja reposar entonces a 15-20°C durante 12 a 40 horas, preferentemente 14-16 horas, pudiéndose agitar algunas veces, en su caso, la suspensión. En esta autólisis, las células de las glándulas liberan su contenido celular acuoso, el cual forma entonces una emulsión con la mezcla de disolventes orgánicos no mezclables con el agua. Al dejarla en reposo se forman tres capas, a continuación de lo cual la fase central, la cual consiste de la emulsión de la linfa con contenido de albúmina de las glándulas pancreáticas y la mezcla de disolvente, se separa de modo corriente de la fase superior e inferior. La fase superior consiste en este caso substancialmente de las fibras tisulares desengrasadas, mientras que la fase inferior comprende substancialmente el disolvente con contenido de grasa. Exprimiendo la capa tisular superior aislada o me-

- diante centrifugado puede incrementarse aún hasta un 10% el rendimiento de linfa emulsionada. Las emulsiones reunidas se descomponen mediante el adiconamiento de acetona, efectuándose la precipitación de un precipitado rico en lipasa.
5. Después de la precipitación se deja reposar el concentrado enzimático, se decanta la solución y se lava el producto final agitándolo varias veces en acetona. El producto se separa con ayuda de un dispositivo de tamizado o una centrífuga, y a continuación se seca bajo vacío y se libera de los restos de disolvente. Puede influirse sorprendentemente dentro de determinados límites sobre la distribución del tamaño de la granulación del precipitado y con ello sobre el peso específico aparente del preparado enzimático mediante la velocidad del mezclado de la emulsión con la acetona. Para obtener un material de granos gruesos se recubre primero la emulsión con la cantidad de acetona necesaria para la precipitación y a continuación se mezclan agitando rápidamente las dos capas entre sí. En cambio se pueden conseguir unos granos muy finos adicionando lentamente acetona bajo agitación. - - - - -
- 10.
- 15.
- 20.

Como hidrocarburo halogenado son adecuados, entre otros, el triclorotrifluoroetano, cuyo punto de ebullición es de 47°C aproximadamente, así como los hidrocarburos clorados con un punto de ebullición hasta los 121°C o mezclas de hidrocarburos halogenados. - - - - -

25.

En la mezcla de disolventes orgánicos a utilizar según la invención ha resultado ser particularmente ventajoso el tricloroetileno porque la utilización de este hidrocarburo clorado no solamente conduce a una actividad particularmente elevada del preparado obtenido, sino porque, además, la mezcla de líquidos compuesta de hidrocarburo halogenado, alcohol, acetona y agua obtenida después de la ejecución del procedimiento puede volver a separarse fácilmente mediante destilación. La recuperación de los disolventes utilizados representa particularmente en un procedimiento realizado técnicamente a gran escala una importante componente económica. Como es sabido, particularmente por la formación aceótropa es muy difícil separar algunas mezclas de disolventes en la destilación y recuperar los mismos como sustancias puras. - - - - -

5.

10.

15.

La utilización de un hidrocarburo clorado con una densidad superior a 1,3 es importante por cuanto debido a ello se facilita o se posibilita la separación de la suspensión en las tres fases deseadas. La presencia de una reducida cantidad de acetona en la mezcla de disolventes orgánicos ha resultado ser ventajosa para la formación de las tres capas. - - - - -

20.

Como alcohol esencialmente no mezclable con agua es particularmente adecuado el butanol normal, sin embargo, también son adecuados el alcohol amílico y el alcohol hexílico. Estos

25.

alcoholes apoyan la liberación de la actividad enzimática que se presenta en la fase central en el procedimiento según la invención. - - - - -

- La autólisis bajo condiciones desengrasantes y la liberación de la actividad enzimática del tejido celular puede fomentarse mediante un ligero calentamiento. Por consiguiente, en un modo de ejecución preferente del procedimiento la autólisis se lleva a cabo en dos etapas. En ellas, el tejido pancreático desmenuzado se mezcla primero con la mezcla de disolventes en una cantidad de 1-2 l/kg de material glandular y se trata a 15°C aproximadamente durante 14-16 horas. A continuación se separa el disolvente con contenido graso que se va depositando, es decir, la capa inferior, de ser posible tan ampliamente como se pueda y el residuo se mezcla nuevamente con 1-2 l de mezcla de disolvente por cada kg de material tisular, a continuación de lo cual la temperatura se eleva a 25-35°C, preferentemente 25-30°C. Al cabo de aproximadamente 1 hora de agitación lenta, en la que se produce una fuerte autólisis posterior, se efectúa la elaboración tal como se ha descrito, es decir, se deja reposar y se efectúa la elaboración de la capa central de emulsión. - - - - -
- 5.
 - 10.
 - 15.
 - 20.

- El procedimiento según la invención no solamente conduce una simplificación substancial del procedimiento de fabricación sino también a preparados con una actividad en-
- 25.

- zimática incrementada. La combinación entre el desengrasado y la autólisis con la mezcla de disolventes orgánicos permite obtener la actividad enzimática de los tejidos celulares en la forma de una emulsión altamente concentrada, de la cual puede precipitarse directamente la enzima. Debido a ello se prescinde de las medidas de extracción necesarias de otro modo, en las cuales se utilizan disolventes especiales, por ejemplo alcohol acuoso o similares. La clase de precipitación con la acetona también posibilita impartir con ello ya el polvo de la enzima el grado de granulación deseado, de manera que ya no es necesaria la granulación posterior para formar partículas de mayor tamaño en el caso de que se deseen las mismas. Los disolventes a utilizar según la invención también posibilitan su sencilla separación y recuperación, lo cual es importante para la fabricación técnica a gran escala. - - - - -
5.
10.
15.

- Según una variante de este procedimiento, se emplea en lugar del hidrocarburo halogenado un hidrocarburo aromático como tolueno o un hidrocarburo parafínico como hexano y se utiliza en la mezcla con alcohol o alcohol y acetona. La ventaja de este procedimiento estriba en que mediante el empleo del otro disolvente se posibilita un acortamiento substancial de la autólisis y del tiempo de desengrasado en unión de una automatización, y con ello en conjunto una obtención simplificada del concentrado enzimático de páncreas en el procedimiento técnico a gran escala. Así,
20.
25.

por ejemplo, el desengrasado y la autólisis pueden efectuarse a 15°C en 4 horas. Una simplificación especial estriba en la separación más sencilla de las sustancias sólidas con ayuda de un decantador centrífugo. - - - - -

5. La invención se explica a continuación más detalladamente mediante los siguientes ejemplos. - - - - -

Ejemplo 1:

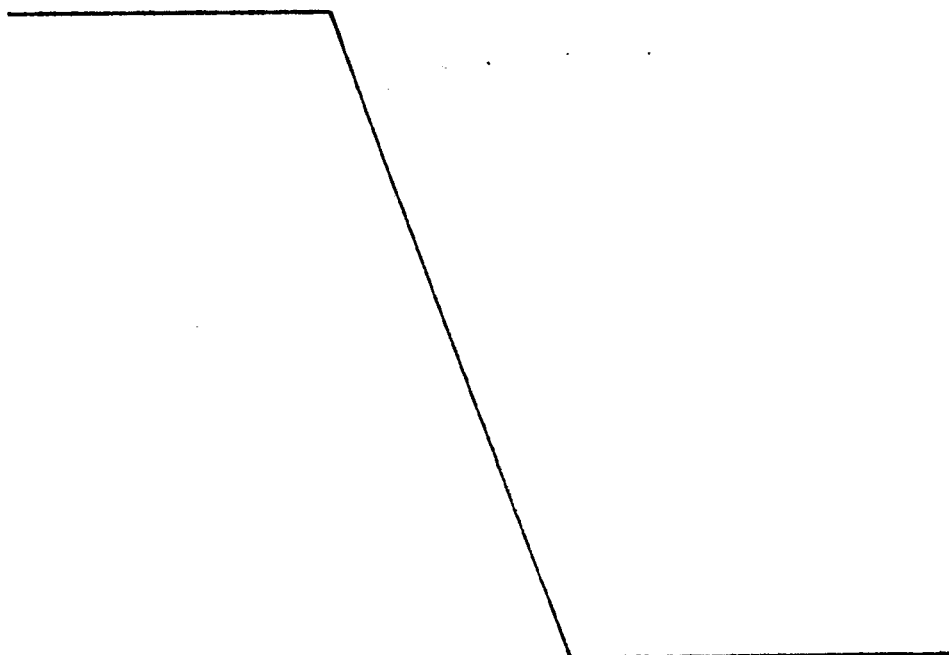
10. 150 kg de páncreas congelado se desmenuzan en el mezclador cortador a un tamaño de grano de arroz hasta grano de lenteja y se introducen en un recipiente con camisa doble provisto de mecanismo agitador. A través de la camisa del recipiente fluye agua de refrigeración de 15°C. - - - -

15. La sustancia sólida se mezcla con 150 l de tricloroetileno, el cual puede contener hasta el 0,6% en peso de acetona y 25 l de butanol (1) y se mezcla la sustancia sólida y el disolvente con ayuda del mecanismo agitador. Al cabo de 1 hora se ha ablandado la sustancia sólida. Se tapa el recipiente y se deja funcionar el mecanismo agitador durante 15 horas. A continuación se detiene la marcha del mecanismo agitador, la sustancia sólida flota en la superficie y se deja salir la solución amarilla con contenido de grasa que se encuentra debajo. El agua de refrigeración que fluye a través del recipiente se substituye por agua caliente de 30-32°C, se mezcla la sustancia sólida nuevamente
- 20.

- con 165 l de mezcla desengrasante y se agita la mezcla durante 1 hora. La mezcla alcanza durante este tiempo una temperatura final de 28-30°C. Se detiene la marcha del motor del agitador y se deja que la emulsión y la substancia sólida asciendan y floten en la superficie. Primero se hace salir una parte de los disolventes como solución amarillenta clara, la cual se hace pasar a la recuperación de disolventes. Se recoge la emulsión marrón que sale a continuación. El lodo espeso que sale al final se exprime en una prensa de tornillo sinfín de tamiz encima de una caja de tamizado. El líquido extraído de la prensa se adiciona a la emulsión. - - - - -
- 5.
- 10.

- Se vuelve a introducir la emulsión en el depósito agitador, se la recubre con 1 a 1,5 l de acetona/kg de páncreas, pudiendo estar la acetona mezclada con hasta el 3% en peso de tricloroetileno, pero con menos del 1% de agua, y se mezclan las dos fases mediante la puesta en marcha del mecanismo agitador. Al cabo de 15 minutos se para la marcha del mecanismo agitador. El producto desciende como substancia sólida al fondo del recipiente agitador. Se aspira la solución que se encuentra encima, se efectúa la suspensión de la substancia sólida para el lavado en 0,3-0,5 l de acetona/kg de páncreas, se agita durante 5 minutos, se deja reposar nuevamente y se efectúa la aspiración de la solución.
- 15.
- 20.
- 25.

- ra separar la pancreatina en la operación de reposo en el último lavado. También se puede dejar salir la pasta a una jaula de tamizado, en cuyo caso, naturalmente, las pérdidas de acetona se vuelven mayores. El producto húmedo se seca a continuación en el armario de secado bajo vacío a una temperatura de calentamiento de 45-50°C y 30 Torr o en el secador en lecho fluidizado a una temperatura de entrada de aire de 50°C y una temperatura de salida de aire de 40°C. El material puede dividirse mediante cribado en diferentes clases de granos. El grano más fino puede aglomerarse en una granulación de pulverización, el grano grueso puede desmenuzarse mediante trituración. Los resultados de los ensayos en la utilización de glándulas de la misma procedencia se muestra en la tabla que sigue a continuación. - - - - -
- 5.
- 10.



PANCREATINA

Procedencia de las glándulas	Rendimiento	Actividad de lipasa (FIP-E./g)	Procedimiento de fabricación
A	7,3	96.200	Estado de la técnica
A	10,1	100.000	La presente solicitud
B	6,3	71.000	Estado de la técnica
B	7,4	86.000	La presente solicitud
C	7,8	106.000	Estado de la técnica
C	10,1	119.000	La presente solicitud
C	9,2	120.000	La presente solicitud

Tabla 1: Comparación del rendimiento y de la actividad de lipasa de pancreatina fabricada según el estado de la técnica y según la presente solicitud.

(FIP-E./g significa Federación Internacional de Farmacia - Unidades por gramo (substrato))

Distribución de los tamaños de los granos

Rendimiento (%)	Peso específico aparente (g/l)	Actividad de lipasa (FIP.-E./g)	Clase del adiciónamiento de acetona en la precipitación	0,315 (%)	0,315-0,800 (%)	0,800 (%)
9,4	360	84.000		-	-	-
10,1	417	93.000	lentamente	98,1	1,2	0,7
11,5	440	76.000	con	97,5	2,1	0,4
9,8	463	93.000	agitación			
13,7	460	76.500		46,4	52,6	1,0
12,9	514	81.500	procedimiento de capas	-	-	-
9,1	521	83.000	sobrepuestas	-	-	-
14,6	482	79.200		8,0	42,9	49,1

Tabla 2: Comparación del peso específico aparente y de la distribución del tamaño de los granos en pancreatina de glándulas de la misma procedencia al aplicar procedimientos diferentes del adiciónamiento de acetona en la precipitación.

Ejemplo 2:

150 kg de páncreas congelado se desmenuzan en el mezclador cortador tal como se ha indicado en el ejemplo 1 y se introducen en un recipiente con camisa doble provisto de mecanismo agitador. A través de la camisa del recipiente fluye agua de refrigeración de 15°C. La substancia sólida se mezcla con 150 l de metilencloruro y 15 l de butanol (1) y se desengrasa bajo agitación durante 15 horas. A la mezcla se adicionan 100 l más de metilencloruro, se agita bien y se detiene la marcha del mecanismo de agitación. Se evacúa la fase inferior clara. Se adicionan nuevamente 150 l de metilencloruro y 15 l de butanol (1), se calienta la mezcla a 30°C (1 h) y se separa la capa clara de disolvente y la capa de fibras. - - - - -

Después de exprimir la fibra se obtienen 140 l de emulsión, la cual se enfría a 15°C y se recubre con una capa de 140 l de acetona. Se mezcla la emulsión y la acetona, se decanta de la pancreatina precipitada y se obtiene de manera correspondiente al ejemplo 1 un rendimiento de concentrado enzimático del 9,3% en relación con el páncreas empleado. - - - - -

Actividad de lipasa del concentrado enzimático:

86.500 FIP-E/g - - - - -

Ejemplo 3:

150 kg de páncreas congelado se desmenuzan como

- se ha indicado en el ejemplo 1 y se introducen en un recipiente agitador refrigerado a 15°C. Se adicionan 150 l de tetracloruro de carbono y 15 l de n-amilalcohol y el páncreas se desengrasa a 15°C (15 h). Se adicionan 75 l de CCl₄ y 100 l de acetona, se detiene la marcha del mecanismo agitador y se separa la fase inferior con contenido de grasa. A continuación se calienta la mezcla a 29°C, se adicionan nuevamente 15 l de amilalcohol y 150 l de CCl₄, se agita durante 1 hora y se separan 100 l de emulsión como en el ejemplo 1. Se recubre la emulsión con una capa de 100 l de acetona y se separa el concentrado enzimático por precipitación. Después del lavado y secado se obtiene el 10,1% de concentrado enzimático con 91.000 FIP-E./g de actividad de lipasa. - - - - -
- 5.
- 10.

Ejemplo 4:

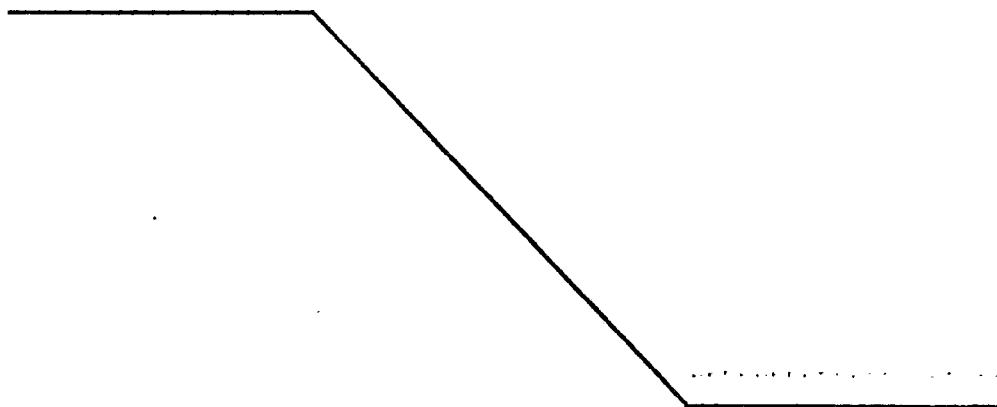
15. 150 kg de páncreas congelado se desmenuzan como en el ejemplo 1 y se introducen en un recipiente agitador refrigerado a 15°C. Se adicionan 15 l de butanol-(1) y 150 l de 1,1,1 tricloroetileno y se efectúa el desengrase bajo agitación a 15°C (15 h). A continuación se adicionan 75 l de acetona y se separa la solución con contenido de grasa. Se adicionan nuevamente 150 l de 1,1,1-tricloroetileno, se calienta a 25°C y al cabo de 1 hora se separan 100 l de emulsión. La emulsión se cubre con una capa de 100 l de acetona y se separa el concentrado enzimático por precipitación. Después del lavado y secado se obtiene el 9,8% de rendimiento de un producto con 88.500 FIP-E./g de actividad de lipasa. - - - - -
- 20.
- 25.

Ejemplos 5-13:

150 kg de páncreas congelado se desmenuzan y se desengrasan como en el ejemplo 1 - 5. La clase y la cantidad utilizada de solución desengrasante se indican en la Tabla 3.

5. Del mismo modo se ha indicado en la Tabla 3 un eventual adicinamiento V_1 de acetona después del 1^{er} desengrasado, antes de la primera separación entre la sustancia fibrosa y la solución clara de grasa. - - - - -

10. Al residuo se añaden en cada caso 50 l de hidrocarburo halogenado y 15 l de alcohol, la mezcla se mantiene luego durante 1 hora a $t^{\circ}C$ y se obtienen V_2 l de emulsión de manera correspondiente al ejemplo 1. La emulsión se enfría a $15^{\circ}C$, se recubre con una capa de V_3 l de acetona y se mezcla. Después del lavado con acetona -de manera correspondiente al ejemplo 1- y del secado, se obtiene un rendimiento del A% de concentrado enzimático con un contenido de lipasa de B FIP-E./g.
15. Todos los números están contenidos en la Tabla 3. - - - - -



Ejem- plo N°	Mezcla desengrasante	Adicionamiento de acetona al final del 1er desengrasado V ₁ (1)	Temperatura en el desen- grasado y en la autólisis t ₁ (°C)	Cantidad de emul- sión V ₂ (1)	Cantidad de acetona pa- ra la preci- pitación V ₃ (1)	Rendimiento de páncrea- tina A (%)	Actividad de lipasa B (FIP-E/g)
5	150 l de CCl ₄ 15 l de butanol (1)	0	31	185	305	10,2	90.000
6	150 l de tricloroetileno 15 l de n-hexanol	100	30	165	185	9,7	86.000
7	150 l de tricloroetileno 15 l de butanol (1)	0	28	145	160	9,9	88.000
8	150 l de tricloroetileno 15 l de n amilalcohol	90	30	150	150	10,5	87.500
9	150 l de tricloroetileno 30 l de n-butanol	0	28	150	150	10,8	90.500
10	150 l de cloroformo 15 l de n-butanol	80	29	150	180	9,9	86.500
11	150 l de tricloroetileno 7,5 l de n-butanol	60	28	145	155	10,7	91.000
12	150 l de tricloroetileno 15 l de n-hexanol	100	29	110	120	10,3	87.000
13	150 l de tetracloroetileno 15 l de n-butanol	0	30	120	130	10,1	89.000

Tabla 3: Utilización de diferentes mezclas desengrasantes para la obtención de pancreáticas con una elevada actividad de lipasa.

Ejemplo 14

100 kg de páncreas congelado se desmenuzan al tamaño de lenteja, se mezclan con 75 l de tolueno y 25 l de n-butanol y se desengrasan durante 4 horas bajo agitación en un recipiente agitador rodeado de un flujo de agua a 15°C. La suspensión que se origina se lleva a un decantador centrífugo y se separa la sustancia sólida. - - - - -

El producto decantado es una leche blanca que se precipita con acetona. El precipitado se lava y se seca. -

10. Rendimiento en concentrado enzimático: 10,0% en relación con el páncreas. - - - - -

Actividad de lipasa: 81 000 FIP-E./g.

Contenido de grasa residual: 0,052%.

Peso específico aparente: 530 g/l.

15. Ejemplo 15

100 kg de páncreas congelado se desmenuzan al tamaño de lenteja, se mezclan con 75 l de tolueno o de hexano, 15 l de acetona y 20 l de n-butanol, y se desengrasan durante 4 h bajo agitación con calentamiento a 15°C. La mezcla se libera de sustancias sólidas con ayuda de un decantador centrífugo. El producto lechoso decantado se precipita con acetona. El precipitado se lava y se seca. - - - - -

Rendimiento en concentrado enzimático: 11,8% en
relación con el páncreas. - - - - -

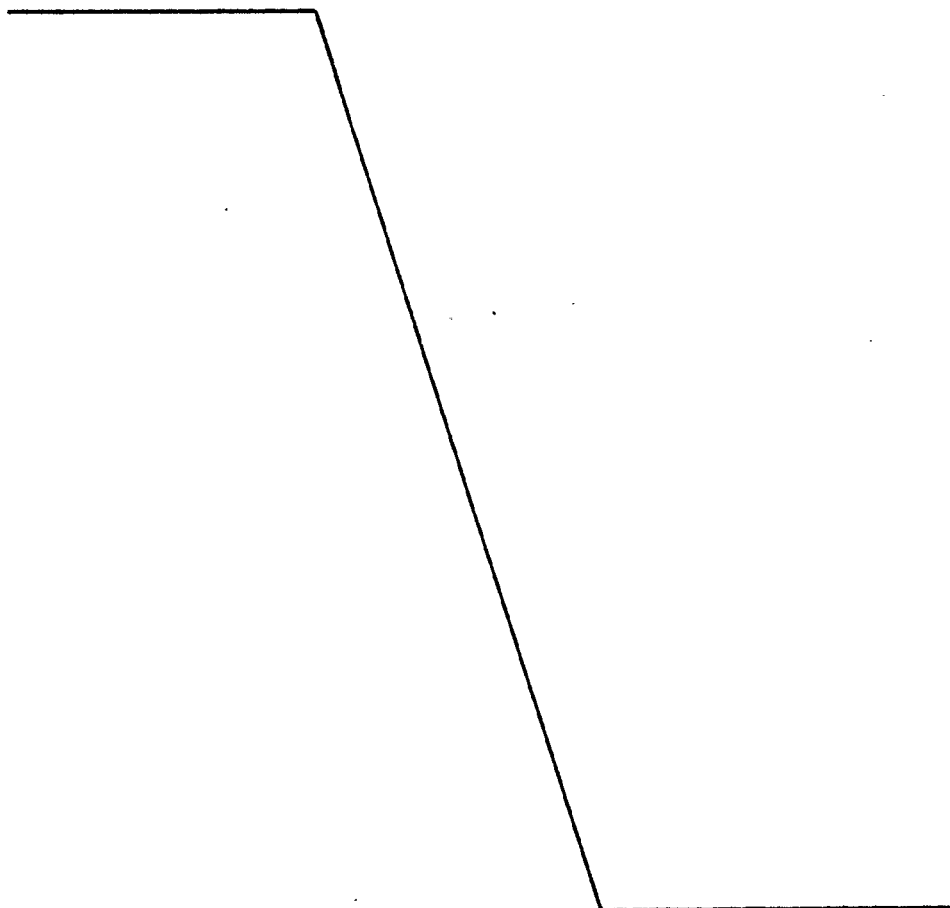
Actividad de lipasa: 77 000 FIP-E./g.

Contenido de grasa residual: 0,022%.

5.

Peso específico aparente: 490 g/l.

A los efectos consiguientes se declaran de nove-
dad y propiedad para España, sus territorios y plazas de so
beranía, las reivindicaciones que siguen. - - - - -



REIVINDICACIONES

- 1.- Procedimiento para fabricar preparados enzimáticos ricos en lipasa, de tejido pancreático mediante autólisis y desengrasado del tejido desmenuzado por medio de una
5. mezcla de disolventes de hidrocarburo halogenado y alcohol, así como precipitación de la enzima de la fase acuosa mediante el adiconamiento de acetona y secado del precipitado, caracterizado porque el tejido pancreático desmenuzado se incorpora en una mezcla de disolventes orgánicos con el 80 - 95%
10. en volumen de hidrocarburo alifático o aromático, eventualmente halogenado, cuyo punto de ebullición se encuentra a la presión normal entre 47 y aprox. 130°C y cuya densidad es superior a 1,3 en el caso de hidrocarburo halogenado y está comprendida entre 0,655 y 0,88 en el otro caso, así como con el 5 - 20% en volumen de un alcohol esencialmente no mezclable con agua con
15. 4 - 6 átomos de C, dejándose actuar a 15- 20°C durante unas 4 a unas 40 horas, separando la fase de emulsión central con contenido de linfa que se ha producido de la fase superior y de la fase inferior y obteniendo de ella el preparado enzimático
20. seco. - - - - -

- 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque al cabo de aprox. 12 - 15 horas de acción de la mezcla de disolventes se hace salir la fase inferior de disolventes con contenido de grasa y se adiciona nuevamente mezcla fresca de disolventes, se agita a continuación durante aprox.
25. 1 hora a 25 - 35°C, dejándose luego reposar y utilizando la fase

mGe

central de la emulsión para la elaboración. - - - - -

5. 3.- Procedimiento según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque la fase de emulsión se recubre con una capa de acetona y se mezcla luego con tanta rapidez que se produce la precipitación de un concentrado enzimático de granulación gruesa. - - - - -

10. 4.- Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque al tratarse de hidrocarburo no halogenado la mezcla de disolventes es susceptible de comprender alcoholes o alcoholes y acetona. - - - - -

5.- Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque al emplearse un hidrocarburo no halogenado el desengrasado y la autólisis se efectúan a 15°C en 4 horas. - - -

15. 6.- "PROCEDIMIENTO PARA FABRICAR PREPARADOS ENZIMATICOS RICOS EN LIPASA". - - - - -

Todo ello conforme se describe y reivindica en la presente memoria que consta de veinte hojas, foliadas y mecanografiadas por una sola de sus caras.

BARCELONA, - 5 MAYO 1977
P. A. M. CURELL SUÑOL

M. Curell Suñol

m/e

maf/mgs