

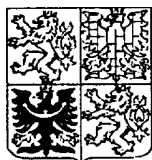
PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

285 164

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **3435-92**

(22) Přihlášeno: **26. 03. 91**

(30) Právo přednosti:
26. 03. 91 DE 91/4109826

(40) Zveřejněno: **11. 08. 93**
(Věstník č. 8/93)

(47) Uděleno: **29. 03. 99**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **12. 05. 99**
(Věstník č. 5/99)

(86) PCT číslo: **PCT/DE92/00233**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 92/17613**

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁶:

C 14 C 1/08

C 14 C 1/04

C 14 C 1/06

C 14 C 1/00

(73) Majitel patentu:

RÖHM GMBH, Darmstadt, DE;

(72) Původce vynálezu:

Christner Jürgen, Seeheim-Jugenheim, DE;

Taeger Tilman, Seeheim-Jugenheim, DE;

Wick Gertrud, Darmstadt, DE;

(74) Zástupce:

**Korejzová Zdeňka JUDr., Břehová 1, Praha
1, 11000;**

(54) Název vynálezu:

**Způsob výroby holin, připravených
k vyčínění**

(57) Anotace:

Způsob výroby holin, připravených k vyčínění, z kůže a kožek při použití proteolytických a lipolytických enzymů, při kterém se kůže po rehydrataci a měkčení proteolytickými enzymy podrobí loužení po dobu 2 až 6 hodin při teplotě s výhodou 28 °C při pH 11,5 až 14, a pak moření po dobu 1 až 3 hodin při teplotě 32 až 37 °C a při pH 5 až 11,5, přičemž se do příslušných vodních lázní přidávají alkalické lipázy E.C.3.1.3 s optimem účinku při pH 9 až 11 v množství odpovídajícím 100 až 10 000 LCA/kg kůže, měřeno při pH 9,5.

CZ 285 164 B6

Způsob výroby holin, připravených k vyčíněníOblast techniky

5

Vynález se týká způsobu výroby holin, připravených k vyčínění, zejména enzymaticky doplněného loužení a moření, při nichž se užívá alkalických lipáz, s výhodou v kombinaci s proteolytickými enzymy.

10

Dosavadní stav techniky

Cílené použití enzymů při výrobě usní začalo se zavedením enzymatické poříčí lázně Dr. Otto Röhmen r. 1907 podle DE 200 519. Od této doby je čím dále tím častěji, zejména s ohledem na šetření životního prostředí, navrhováno použití proteáz při různých dílčích postupech v luhárně a velmi často jsou enzymy také skutečně využívány, jak je zřejmé například z publikace E. Pfeleiderer a R. Reiner, Biotechnology, Ed. H. J. Rehm, str. 729-743, VCH 1988. Také amylázy, zejména v kombinaci s proteázami, mají své použití při moření, například podle US č. 4 273 826. Současné použití lipázy a amylázy ve formě pankreatinu za přítomnosti kyseliny desoxycholové je známo z maďarského patentového spisu č. 3325, Chem. Abstr. 77, 7341 k. Je přirozené, že se použití lipáz navrhuje zvláště k odstranění tuku z kůží a kožek, zejména v případech materiálů s vysokým obsahem tuku, jako je tomu u vepřové kůže a ovčích kožek a u různých odpadových materiálů. Použití k odstranění tuku bylo popsáno například v publikacích L. H. Posorske, J. Am. Oil Chem. Soc., 1, (11), 1758-1760, 1984, K. Yeshodha a další, leather Sci (Madras) 25 (2), 77-86, 1978, Chem. Abstr. 89, 199097, T. Nielsen, Fette, Seifen, Anschrichm. 87 (1), 15-19, 1985, kde se případně popisují také nepříznivé účinky, například na piklované a odvápněné ovčí holiny, například také v publikacích A. Vuilliermet a další, Techni-cuir 16 (4) 64-76, 1982, Chem. Abstr. 97, 57467 q, Chem. Abstr. 82, 113205g. V posledním literárním údaji se enzymatické odbourávání tuků provádí pomocí lipáz nebo enzymatických prostředků, které lipázu obsahují, při pH nižším, než 8, s výhodou v mírně kyselé oblasti.

V publikaci Biotechnology, Ed. H. J. Rehm, sv. 7a, str. 644 se uvádí, že mikrobiální a pankreatické lipázy E.C.3.1.1.3 není možno užívat k propírání vzhledem k velké nestálosti těchto enzymů za alkalických podmínek bez ohledu na cenu enzymu. Proti společnému použití lipázy a proteázy mluví především to, že proteázy mohou odbourávat bílkoviny, přičemž lipázy mají bílkovinnou povahu.

V poslední době jsou navrhovány enzymatické změkčovací postupy pro kůže a kožky. Při těchto postupech obsahují změkčovací lázně:

40

A) lipázy s optimem účinnosti v oblasti pH 9 až 11,

B) proteázy s účinností v oblasti pH 9 až 11, a

45

C) povrchově aktivní látky, přičemž hodnota pH celé změkčovací lázně je 9 až 11, jak je popsáno například v DE 39 22 748.0.

Jako zvláště vhodné k tomuto účelu se uvádějí enzymy z kmenů *Aspergillus*, zejména z některých geneticky pozměněných kmenů. Může být užita například alkalická lipáza z kmene *Aspergillus oryzae*, který byl získán rekombinací, tato lipáza má optimum účinnosti v rozmezí pH 9 až 11. Použit je možno také lipázu, běžně dodávanou pod obchodním názvem LIPOLASE 100 T (Novo Industri A/S, DK 2880, Bagsvaerd).

50

Zpracování materiálů s vysokým obsahem tuku, například vepřových kůží, ovčích kožek, odpadových materiálů a podobně, je však stále ještě zatíženo velkými problémy. Jde zejména o skutečnost, že tyto materiály jsou nedostatečně louženy v celé tloušťce a získané holiny nejsou dostatečně čisté, takže dochází k tvorbě nežádoucích vápenatých mýdel, které u hotových materiálů mohou vést ke špinění.

Také při moření holin, bohatých na tuk, vznikají velké obtíže vzhledem k tomu, že vrstva tukových materiálů ve formě filmu, uloženého na povrchu, brání průniku enzymů při moření a tím současně brání také optimálnímu rozvolnění zpracovávaných materiálů.

Ze svrchu uvedeného DE patentového spisu č. 39 22 748.0 vyplývá, že mají být užity zejména určité lipázy, které jsou účinné v oblasti pH 9 až 11. Vzhledem k tomu, že tyto enzymy podle údajů výrobce mají optimum svého účinku obvykle při pH 10 až 11, není obvykle možné postup provádět v nižší části uvedeného rozmezí a postup je obvykle prováděn v jeho horní části. Překročení uvedeného rozmezí pH obvykle nemá žádné podstatné výsledky, avšak čím více se pH vzdaluje svrchu uvedenému rozmezí, tím více je nutno počítat se sníženou účinností a také se sníženou stabilitou použitého enzymu, což musí být bráno v úvahu.

20 Podstata vynálezu

Nyní bylo neočekávaně zjištěno, že k uvedenému postupu je možno užít i lipázy, jejichž optimum účinku leží mnohem dále v alkalické oblasti.

Podstatu vynálezu tedy tvoří způsob výroby holin, připravených k vyčištění, z kůží a kožek, při použití proteolytických a lipolytických enzymů. Postup spočívá v tom, že se kůže po rehydrataci a měkčení proteolytickými enzymy podrobí loučení po dobu 2 až 6 hodin při teplotě s výhodou 28 °C při pH 11,5 až 14, a pak moření po dobu 1 až 3 hodin při teplotě 32 až 37 °C a při pH 5 až 11,5, přičemž se po příslušných vodních lázní přidávají alkalické lipázy E.C.3.1.3 s optimem účinku při pH 9 až 11 v množství, odpovídajícím 100 až 10 000 LCA/kg kůže, měřeno při pH 9,5.

Účinnost je zvláště vyjádřena v tom případě, že se uvedené lipázy užijí v enzymatické kombinaci EK spolu s neutrálními, popřípadě alkalickými proteázami P, které odpovídají příslušnému stupni zpracování. Jde s výhodou o běžně užívané proteázy k uvedenému účelu. Loužením se rozumí známý postup, při němž dochází k nabobtnání povrchových vrstev kůže a k uvolnění, popřípadě odstranění chlupů a pesíků za působení alkalických loužicích chemických látek. Postup je popsán na příklad v publikacích F. Stather, Gerbereichemie und Gerbereitechnologie, str. 166-199, Akademie-Verlag 1967 a Ullmann's Encyklopedia of Industria Chemistry 5. vydání, sv. A15, str. 259-282, VCH 1990. Podle provedení postupu může být luh složen z látek, které působí uvolnění chlupů, nebo látek, které dovolí zachování chlupů. Loužení se obvykle provádí v oblasti pH 12 až 13, lázní je buď tak zvaný „hydroxylový luh“, obsahující zejména hydroxid vápenatý, hydroxid alkalického kovu, amoniak a popřípadě další hydroxidy kovů alkalických zemin, nebo může jít o tak zvaný „sulfidový luh“, jehož základními složkami jsou siřníky alkalických kovů nebo kovů alkalických zemin, popřípadě ve směsi s dalšími zásaditými sloučeninami alkalických kovů nebo kovů alkalických zemin. Způsob podle vynálezu navazuje na známé postupy, tak jak byly popsány například v Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 5. vydání, sv. 15A, str. 259-232, VCH (1990), Ullmann's Enzyklopädie der Techn. Chemie, 4. vydání, sv. 16, str. 119 až 120, Verlag Chemie 1978, 3. vydání, sv. 11 str. 609, Urban a Schwarzenberg.

Luh může obsahovat 50 až 250, s výhodou 50 až 150 % vody, vztaženo na hmotnost zpracovávané kůže.

Loužení materiálu trvá obvykle 12 až 36 hodin, s výhodou 16 až 20 hodin.

Při odvápnění a moření, které se provádí v luhárně po loužení, dochází k neutralizaci kůží a kožek a k jejich enzymatickému zpracování. Kůže a kožky se při tomto postupu nejprve promyjí a pak se dále zpracovávají, s výhodou působením slabých kyselin, například organických kyselin, jak kyseliny mléčné, mravenčí, octové, máselné, propionové, nebo působením dikarboxylových kyselin, a také se zbavují vápníku působením slabě kyselých anorganických sloučenin, jako jsou hydrogensířičitan sodný, kyselina sulfoftalová, síran amonný, nebo také kyselina uhličitá. Obecně je při odvápnění materiálů zapotřebí dbát toho, aby při konečném zpracování před působením enzymu v mořidle bylo dosaženo příznivého rozmezí pH. Pro pankreatické enzymy leží toto rozmezí mezi pH 7,5 až 8,2. Následující moření slouží k odstranění zbytků epidermis a zbytků chlupů a k dalšímu uvolnění kůže. Zpravidla se po určité době přidávají k enzymatickému mořidlu zejména enzymu pankreatického komplexu. K enzymům pankreatického komplexu je možno přičíst také lipázy, jichž se využívá podle DE 37 04 46. Účelnou teplotou při moření je teplota v rozmezí 32 až 37 °C. Moření obvykle trvá 1 až 3 hodiny.

Enzymatické směsi s výhodou obsahují, zvláště v případě enzymatických kombinací, ještě sekvenční činidlo známého typu pro zábranu tvorby vápenatých mýdel.

Mimoto se ukázalo, že je vhodné přidat také emulgační činidla ES, aby bylo dosaženo zvláště dobré emulgace tuků. Množství použité lázně odpovídá množství, které bylo uvedeno pro loužení.

25 Alkalické lipázy AL

V souladu s běžnými definicemi enzymů jde u lipáz, užívaných v průběhu způsobu podle vynálezu, o esterázy, které hydrolyzují glycerolestery nasycených alifatických kyselin ve vodném prostředí E.C.3.1.1.3. Ke štěpení triglyceridů s výhodou dochází v poloze 1,3. Na rozdíl od lipáz, používaných při známých postupech, které mají rozmezí optimální účinnosti při pH 6 až 9, mají lipázy, použité při provádění způsobu podle vynálezu, rozmezí optimálního účinku, například v případě štěpení olivového oleje nebo tributyrinu, v rozmezí pH 9 až 11. Alkalické lipázy tohoto typu byly vyvinuty speciálně pro průmysl mycích prostředků. Jde o enzymy mikrobiálního původu. Potenciálními zdroji pro tyto, popřípadě geneticky pozměněné kmeny mikroorganismů, schopné produkovat uvedené lipázy, jsou zejména houby a bakterie. Některé alkalické lipázy jsou například produkovány kmeny *Pseudomonas*. Dále padají v úvahu čeledi *Rhizopus*, *Candida* a *Chromobacterium* jako čeledi, vhodné pro produkci lipázy tohoto typu. Dalšími důležitými producenty lipázy jsou čeledi *Geotrichium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* a *Achromobacter*. Zvláště je možno uvést *Rhizopus arrhizus* a *Rh. oryzae*, *Candida cylindracea*, *Chromobacterium viscosum*, *Geotrichium candidum*, *Mucor miehi*, *Mucor pusillus*, *Penicillium roqueforti* a *P. cyclopium*, *Cyrenebacterium acne*, *Propionibacterium shermanii*, *Achromobacter lipolyticum*, *Aspergillus niger* a zvláště *Aspergillus oryzae*. Zvláště vhodné jsou také některé geneticky pozměněné kmeny, například rekombinací získaný kmen *Aspergillus oryzae* produkuje alkalickou lipázu s vyjádřeným optimem účinku v rozmezí pH 9 až 11. Dále je možno uvést lipázu, běžně dodávanou pod názvem ^RLipolase TM 30 T (Novo Industri A/S, DK 2880 Bagsvaerd, Dánsko).

Účinnost lipáz se obvykle hodnotí na olivovém oleji jako na substrátu, k určení se rovněž užívá triacetin a tributyrin, postupy jsou popsány v publikacích M. Sémériva a další, *Biochemistry* 10, 2143, 1971, *Pharmaceutical Enzymes*, ed. R. Ruysen a A. Lauwers 1978, FIP.

V případě, že se účinnost na štěpení tuků vyjádří v kilojednotkách lipázy KLCA, pracuje se za standardních podmínek při teplotě 40 °C při pH 5,5 při použití tributyrinu jako substrátu, tak, jak je uvedeno ve svrchu uvedené publikaci M. Sémériva a dalších.

Pro účely vynálezu se účinnost lipázy udává v jednotkách LCA, které jsou však měřeny při pH 9,5. Při provádění způsobu podle vynálezu se postupuje tak, že se při pH 9,5 v lázni zajistí účinnost lipázy v rozmezí 100 až 10 000, s výhodou 2000 až 4000 LCA na 1 kg zpracovávané kůže.

Proteolytické enzymy P

Použití proteáz v luzích o pH v rozmezí 9 až 13 při dosažení dostatečného proteolytického účinku je známé. Jde o neutrální proteázy E.C.3.4.24, a zejména o alkalické proteázy E.C.3.4.21, popsané například v publikacích Kirk-Othmer, 3. vyd., str. 199 až 202, J. Wiley 1990, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, sv. A9, str. 409 až 414, VCH 1987, L. Keay, Process Biochemistry 17 až 21, 1971.

Tyto proteázy je možno uvést jako:

- alkalické proteázy, jejichž optimum účinku leží přibližně v rozmezí pH 8,5 až 13. K těmto enzymům náleží alkalické bakteriální proteázy, většinou serinového typu, a alkalické proteázy z hub. Především je nutno uvést proteázy z různých rodů *Bacillus*, například jednotlivých kmenů *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. firmus*, *B. alcalophilus*, *B. polymyxa*, *B. mesentericus*, dále mohou tyto proteázy produkovat některé kmeny čeledi *Streptomyces*, například *S. alcalophilus*. Vhodná pracovní teplota při použití bakteriálních alkalických proteáz je obecně v rozmezí 40 až 60 °C, v případě proteáz z hub v rozmezí 20 až 40 °C. Z alkalických proteáz, produkovaných houbami, je možno uvést například enzymy z *Aspergillus*, například *A. oryzae*, z různých kmenů *Penicillium*, jako *P. cyanofulvum*, nebo z *Paecilomyces persicinus*. Účinnost alkalických proteáz z hub je optimální převážně v rozmezí pH 8,0 až 11,0. Je možno zpravidla vycházet z použití enzymatické účinnosti v rozmezí 8000 až 10 000 Löhlein-Volhardových jednotek LVE na 1 g enzymu.
- Neutrální proteázy s optimem účinnosti v rozmezí pH 6,0 až 9,0. Je nutno uvést především neutrální bakteriální proteázy, které zpravidla náleží k metaloenzymům, a proteázy z hub, například neutrální proteázy z různých kmenů *Bacillus*, jako *B. subtilis*, *B. natto* a *B. polymyxa*, proteázy z různých kmenů *Pseudomonas* nebo *Streptomyces* a také z *Aspergillus*, například *A. oryzae*, *A. parasiticus* a *Penicillium glaucum*. Neutrální proteázy z bakterií vyvíjejí svoji účinnost optimálně při pracovní teplotě v rozmezí 20 až 50 °C, kdežto příznivá pracovní teplota pro neutrální proteázy z hub leží v rozmezí 35 až 40 °C.

Proteolytická účinnost těchto enzymů se stanoví obvykle podle Anson-hemoglobinové metody podle publikace M. L. Anson, J. Gen. Physiol., 22, 79, 1939, nebo také podle Löhlein-Volhardova jednotka LVE za standardních podmínek, to znamená působení 1 hodina při teplotě 37 °C, odpovídá tomu množství enzymu, který vyvolá ve 20 ml filtrátu kaseinu vzestup produktu hydrolýzy, který odpovídá ekvivalentu $5,75 \times 10^{-3}$ ml 0,1 N hydroxidu sodného. Účinnost proteáz je obvykle 1000 až 60 000 LVEP/kg, s výhodou 2000 až 14 000 LFE/1 kg kůže.

Podle účinnosti se užívá při provádění způsobu podle vynálezu množství proteázy v rozmezí 0,05 až 0,8, s výhodou 0,1 až 0,25 % hmotnostních, vztaženo na hmotnost výchozí kůže nebo kůže.

Ze (syntetických) povrchově aktivních látek je možno použít například běžné emulgátory, zvláště ty, které se obvykle užívají k emulgaci tuku ve vodě, tak jak jsou uvedeny například v GB 586 540, DE 894 142, FR 899 983 a FR 918 523. V první řadě jsou vhodné neionogenní emulgátory, které je možno volit například z následujících skupin:

I. Polyglykolové deriváty (v závorce jsou uvedeny použitelné běžně dodávané produkty)

- a) polyglykoly nasycených alifatických kyselin (EMULPHOR^R)
 b) polyglykolethery alifatických alkoholů (DEHYDOR^R)
 5 c) polyglykolethery alkylfenolů (EMULGIN 286^R, FLUIDOL W 100^R, MARLOPHEN, IGEPAL^R)
 d) ethanolamidopolyglykolethery alifatických kyselin (C^R, FORYL KW^R, EMULGIN)

10 II. Deriváty glycerolu

- a) monoglyceridy alifatických kyselin (TEGOMOLS^R)
 b) polyglycerolestery alifatických kyselin

15 Dále je možno použít aniontové emulgátory, například následujících typů:

III. Sulfáty vzorce R-OSO₃Na

- a) primární a sekundární sulfáty alifatických alkoholů (EPPOL DL conc.^R, PERAMIN ML^R, TEEPOL^R)
 b) ethersulfáty alifatických alkoholů (TEXAPON Q^R)
 c) monoglyceridsulfáty (VEL^R)
 d) sulfatační produkty nenasycených olejů a alifatických kyselin (LEDEROLINOR DKMS^R)
 25

IV. Sulfonáty vzorce R-SO₃Na

- a) alkylbenzensulfonáty (MARLOPON^R, MARLON^R)
 30 b) alkylsulfonát (MERSOLAT^R)
 c) kondenzační produkty alifatických kyselin (IGEPONA^R, IGEPONT^R)
 d) sulfonované deriváty nafty (obsaženy v GRASSAN B^R)
 e) sulfatační produkty nenasycených alifatických olejů a alifatických kyselin (CUTISAN BS^R)
 35 f) alkylbenzensulfonáty s krátkým řetězcem, například kumely, toluoly nebo xylenoly.

Méně vhodné jsou kationtové emulgátory, například následujících typů:

40 V. Soli s aminy vzorce RNR₁, R₂Hx (SAPAMIN^R, SOROMIN^R)

VI. Kvarterní amoniové soli R₁ (REPELLANT^R)

- a) amoniové soli
 50 b) pyridiniové soli.

V těchto zbytcích znamená R alkylový zbytek o 8 až 24 atomech uhlíku, zbytky R₁, R₂ a R₃ znamenají alkylové zbytky až o 6 atomech uhlíku.

Emulgátory, použitelné při provádění způsobu podle vynálezu, mají hodnotu HLB (emulze olej ve vodě) v rozmezí 8 až 18, s výhodou 9 až 15 a zvláště 12 až 15, jak bylo popsáno například v Ullmanns Encyklopädie der Techn. Chemie, 4. vyd., sv. 19. S výhodou je možno použít také kombinací emulgátorů, zejména neiontových a aniontových emulgátorů. Zvláště je nutno s zmínit o kombinacích emulgátorů ES následujících typů, EO = stupeň ethoxylace.

x % ethoxylátu alifatického alkoholu o 11 až 13 atomech uhlíku s hodnotou EO 6 až 10, s výhodou 8 až 9,

y % sodné soli sulfonátu nasyceného uhlovodíku o 15 až 17 atomech uhlíku,

z % ethoxylátu alifatického alkoholu o 16 až 18 atomech uhlíku s 5 až 7 mol kvarternizovaného ethylenoxidu, do 100 % voda,

přičemž x = 10 až 50 % hmotnostních
y = 10 až 50 % hmotnostních
z = 1 až 10 % hmotnostních.

Obsah emulgátoru v lázni se pohybuje v závislosti na použitém typu emulgátoru zpravidla v rozmezí 0,1 až 1 % hmotnostní, v závislosti na čerstvé hmotnosti kůže nebo kožky nebo na hmotnosti kůže nebo kožky v soli. Je důležité, že při použití těchto kombinací nedochází k tvorbě sraženin, které je jinak nutno očekávat. Dále mohou floty obsahovat známá sekvestrační činidla. Sekvestrační činidlo se volí ze skupiny polyfosfátů, fosfonátů, polykarboxylátů, kyseliny ethylendiamintetraoctové EDTA, kyseliny nitriltriocetové, kyseliny diethylentriaminpentaocetové. Obsah sekvenčních činidel v lázni se může pohybovat v rozmezí 0 až 0,5, s výhodou 0,05 až 0,15 % hmotnostního, jak je uvedeno v publikaci Kirk-Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology, 3. vyd. sv. 5, str. 344 až 345, J. Wiley 1979.

Při provádění způsobu podle vynálezu je možno postupovat následujícím způsobem:

Použité lipázy odpovídají svrchu uvedenému vymezení, totéž platí o proteázách.

Loužení

U změkčených kůží nebo kůže se na počátku postupu přidávají kombinace enzymů nebo enzymy jako takové k odstranění chlupů. Jako výhodné se ukázala zejména enzymatické kombinace EK s následujícím složením:

100 - 1000 KLVE	alkalické proteázy z bakterií, například z Bac. subtilis, nebo Bac. licheniformis,
0,1 - 5 % hmot.	lipáza s účinností 5000 LU/mg,
1,0 - 20 % hmot.	tripolyfosfát sodný,
do 100 % hmot.	síran sodný.

Celkové množství této směsi se pohybuje obvykle v rozmezí 0,05 až 1 % hmotnostní, vztaženo na čerstvou hmotnost kůže, nebo na její hmotnost v soli.

Množství použité floty je 150 ± 50 %, teplota se pohybuje s výhodou přibližně okolo 28 °C. Luhy s obsahem síry obsahují poměrně menší podíl chemických látek, obvykle 0,6 % hmotnostního 72% hydrogensulfidu sodného a přibližně 0,2 % hmotnostního 60% sulfidu sodného a mimoto přibližně 0,5 % hmotnostního hydrátu oxidu vápenatého, vztaženo na kůži při pH 12,8.

5 Za těchto podmínek se kůže zpracovává 1,5 hodiny a pak se přidává enzym, zvláště kombinace enzymů EK-II, zpravidla v podílu přibližně 0,3 % hmotnostních, s výhodou současně se stejným množstvím hydroxidu vápenatého, a pak se kůže krátkou dobu ponechávají v této lázni za stálého pohybování kůžemi a pak se kůže v téže lázni ponechají ještě 16 hodin za občasného promíchání lázně.

Po vypuštění lázně a po promytí, s výhodou při použití přibližně 150 % vody při teplotě 28 °C, se získají holiny s velmi dobrou kvalitou. Velmi dobrá je například hladkost a čistota takto zpracovaných holin.

10 Při loužení, při němž má být srst zachována, se kůže nebo kožky změkčí obvyklým způsobem. Bylo prokázáno, že kůže a kožky, které byly předběžně zpracovávány 4 až 20 hodin působením alkalické proteázy o pH 8 až 11 a pak byly zpracovány při téže hodnotě pH 2 až 6 hodin působením alkalické lipázy v téže nebo v čerstvé lázni, jsou zvláště dobře připraveny pro
 15 následující proteolytické odstranění srsti. S výhodou se po změkčení zařazuje stupeň, při němž se v souladu s obsahem DE 38 02 640 užije hydroxid vápenatý spolu s organickými thiosloučeninami a aminy v přibližně 80 % vody při pH 12. Pak se provádí stupeň, při němž se uvolní srst. Při použití enzymatické kombinace EK-II podle vynálezu je možno vystačit se sníženým množstvím sulfidu, například 0,4 % hmotnostního hydrogensulfidu sodného o koncentraci 72 %, vztaheno na hmotnost kůže. Po poměrně krátké době, například přibližně za dvě hodiny, je kůže
 20 zcela zbavena ochlupení. Pak se s výhodou přidá ještě 70 % hmotnostních vody společně se 2 % hmotnostními hydroxidu vápenatého a přibližně 0,3 % hmotnostního 50% hydroxidu sodného a postup se nechá probíhat po dobu přibližně 14 hodin při teplotě 28 °C za krátkodobého promíchání v určitých časových intervalech. Pak se lázeň vypustí a další zpracování probíhá
 25 obvyklým způsobem. Po loužení může následovat odstranění zbytků svaloviny a štěpení kůže.

Moření

30 Materiál, připravený obvyklým způsobem, například holiny, zbavené zbytků svaloviny po štěpení, se zpravidla nejprve běžným způsobem promyjí a odvápní. Obvykle stačí přidání přibližně 2 % hmotnostních činidla pro odvápnění, vztaheno na hmotnost kůže, k lázni s objemem přibližně 50 % při teplotě 30 °C, například ve formě některé ze svrchu uvedených kyselin, jako kyseliny uhličitě nebo některé dikarboxylové kyseliny v kombinaci s amonnými solemi, přísady se s výhodou přidávají ve dvou podílech po 1 % hmotnostním a nechají se účinkovat vždy 10 až
 35 20 minut, čímž dojde k poklesu pH přibližně na 8,5. Pro mořicí lázně platí, že se přidává ještě totéž množství vody, s výhodou s teplotou 35 °C, a enzymy se přidávají s výhodou ve formě enzymatické kombinace EK.

Zpravidla se užijí enzymatické kombinace EK s následujícím typickým složením:

40	50 až 1000 KLVE	pankreatický komplex enzymů,
	0,5 až 5 % hmotnostních	alkalická lipáza s účinností 5000 LU/mg,
	1,0 až 30 % hmotnostních	tripolyfosfát sodný,
	do 100 % hmotnostních	síran sodný nebo amonný.

45 Směs podle vynálezu se použije po odvápnění a nechá se působit při teplotě 30 až 35 °C po dobu 20 až 120 minut. Použije se 0,5 až 2 % této směsi, vztaheno na hmotnost zpracovávané holiny.

50 S výhodou se holina zpracovává jednu hodinu při teplotě 33 °C za pohybování kůží, při pH v rozmezí 8 až 8,5, s výhodou 7,9. Pak se flota vypustí a holiny se promyjí při použití přibližně 200 % vody při teplotě 22 °C za pohybování kůžemi. Pak je možno kůže běžným způsobem zpracovávat piklováním a chromočiněním.

Výhody způsobu podle vynálezu

5 Způsob podle vynálezu je založen na pozorování, že je možno s výhodou použít enzymatické preparáty, které obsahují jednu nebo větší počet lipáz, jejichž optimum účinku podle údajů výrobce leží v oblasti pH 10 až 11, a to jak v luhu o pH přibližně 13, tak v mořidle o pH 7 až 9. Zvláště dobrého účinku je možno dosáhnout při kombinaci uvedených lipáz s odpovídajícími

- 10 - zlepšeného uvolnění pigmentového základu,
 - zlepšeného odstranění tuku z holin,
 - nižšího výskytu žírných vrásek a menšího stažení líce výsledné usně,
 - možnosti provést odchlupení za podmínek, při nichž se použije postupu s malým množstvím sulfidu, nebo zcela bez použití sulfidu.

15 Při použití alkalických lipáz v mořidle, jehož pH je v oblasti 7 až 9, s výhodou v kombinaci s pankreatickými enzymy, je možno pozorovat především zlepšené uvolnění kůže od jejího podkladu a menší výskyt špíny na kůži.

20 Praktické provedení způsobu podle vynálezu bude osvětleno následujícími příklady, které však nemají sloužit k omezení rozsahu vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

25 Použití prostředky:

30	Prostředek EK-I: 100 KLVE 1 % hmot. 15 % hmot. 20 % hmot. do 100 % hmot.	mořidlo s obsahem lipáz, komplex pankreatických enzymů, alkalická lipáza, (Lipolase ^R 100 T NOVO), 5000 LU/mg, tripolyfosfát sodný, síran sodný, síran amonný.
----	---	--

35	Prostředek EK-II: 500 KLVE 2 % hmot. do 100 % hmot.	pomocný luh s obsahem lipázy, bakteriální alkalická proteáza z <i>Bacillus subtilis</i> , alkalická lipáza (Lipolase ^R 100 T), síran sodný.
----	--	---

40 Činidlo pro odvápnění:

na bázi síranu amonného a dikarboxylových kyselin:

45	emulgátor-kombinace ES: 15 % hmot. 15 % hmot. 6 % hmot. do 100 % hmot.	ethoxylát alifatického alkoholu o 13 atomech uhlíku s 8 mol ethylenoxidu, sodná sůl sulfonátu nasyceného uhlovodíku o 15 atomech uhlíku, ethoxylát alifatického aminu o 16 až 18 atomech uhlíku s 8 mol ethylenoxidu, kvarternizovaný, voda.
----	--	---

50

Pokus 1: Výroba měkkého materiálu pro svršky bot, moření

Materiál: Rozštěpení holiny skotu s tloušťkou 2,5 mm (údaje jsou vztaženy na hmotnost holiny)

Výchozí materiál: 100 kg surové kůže.

- 5 Promytí:
200 % voda, 30 °C, 10 minut pohybování kůží - interval, flota se vypustí,
- 10 odvápnění:
50 % voda, 30 °C,
1 % činidlo pro odvápnění, vždy po 10 minutách pohyb kůží,
+1 % činidlo pro odvápnění, pohyb kůží v intervalech 20 minut,
K = pH 8,5, bez barvy.
- 15 Mořidlo:
+50 % voda, 35 °C,
1 % produkt EK-I,
pohyb kůží v intervalech 60 minut, flota se vypustí.
- 20 Promytí:
200 % voda, 22 °C, pohyb kůží v intervalu 10 minut, flota se vypustí.
- 25 Piklování a chromočinění: tyto postupy se provádějí běžným způsobem.
- 25 Analytické údaje:
obsah tuku ve flotě 0,6 g/l,
obsah tuku v holině 0,25 % hmot., vztaženo na sušinu.
- 30 Pro srovnání byl proveden obdobný pokus, avšak bez použití lipázy. V tomto případě bylo dosaženo následujících analytických výsledků:
- 30 obsah tuku ve flotě: 0,4 g/l,
obsah tuku v holině: 0,4 % hmot., vztaženo na sušinu.

Pokus 2: Způsob výroby materiálu, vhodného pro výrobu oděvů z ovčí kůže.

- 35 (Údaje jsou vztaženy na hmotnost holiny.)

Výchozí materiál:

- 40 100 kg nerozštěpených ovčích holin (činicí nádoba).
- 40 Promytí:
200 % voda, 30 °C,
pohyb kůže v intervalech 10 minut, flota se vypustí.
- 45 Odvápnění:
50,0 % voda, 30 °C, pohyb kůží,
1,4 % činidlo pro odvápnění, pohyb kůží 20 minut, pH 8,6.
- 50 Mořidlo:
+50,0 % voda, 35 °C,
0,3 % emulgátor ES,
1,0 % produkt EK-I, 2 hodiny pohyb kůží, pH 8,5, teplota 32 °C,
flota se vypustí.

- Promytí:
200,0 % voda, 22 °C, 10 minut pohyb kůží, flota se vypustí.
- Piklování a činění: tyto postupy se provádějí obvyklým způsobem.
- 5 Analytické údaje:
- Obsah tuku ve flotě 9,8 g/l,
obsah tuku v holině 3,5 % hmot., vztaženo na sušinu.
- 10 Pro srovnání byl týž výchozí produkt zpracováván stejným způsobem, avšak bez použití alkalické lipázy, s následujícím výsledkem:
- Obsah tuku ve flotě: 6,1 g/l,
15 obsah tuku v holině: 4,9 % hmot., vztaženo na sušinu.
- Pokus 3: Výroba materiálu pro výrobu ošacení z vepřové kůže (mořidlo)
- Materiál: vepřové holiny, štěpené na 2,0 mm
20 činění, údaje jsou uvedeny v hodnotách, vztažených na hmotnost holin.
- Promytí:
200 % voda, 30 °C, 10 minut pohyb kůží, flota se vypustí.
- 25 Odvápňení:
50 % voda, 30 °C,
2 % činidlo pro odvápňení, 30 minut pohyb kůží, flota o pH 8,6.
- Mořidlo:
30 +100,0 % voda, 35 °C,
0,3 % kombinace emulgátorů ES,
1,0 % prostředek EK-I, 90 minut pohyb kůží, pH = 8,3, teplota 33 °C.
- Promytí:
35 200 % voda, 22 °C, 10 minut pohyb kůží, flota se vypustí.
- Piklování a chromočinění: oba tyto postupy se provádějí obvyklým způsobem.
- 40 Analytické údaje:
- Obsah tuku ve flotě 13,1 g/l,
obsah tuku v holině 7,1 % vztaženo na sušinu.
- Pro srovnání byl proveden ještě pokus, při němž byl týž výchozí materiál zpracováván stejným
45 způsobem, avšak bez použití alkalické lipázy s následujícím výsledkem:
- obsah tuku ve flotě 10,2 g/l,
obsah tuku v holině 8,9 %, vztaženo na sušinu.

Pokus 4: Enzymatické odstranění srsti z ovčích kůže.

Materiál:

5	200,0 %	voda, 28 °C,
	0,1 %	neiontový emulgátor na bázi alifatického alkoholu o 13 atomech uhlíku s 8 mol ethylenoxidu, 20 minut pohyb kůží, 30 minut bez pohybu, 20 minut pohyb kůží, flota se vypustí.

Hlavní měkkčící lázeň:

10	200,0 %	voda, 26 °C
	0,2 %	enzymatické změkčovadlo na bázi proteolytických enzymů z <i>Bacillus licheniformis</i> , 4000 LVE/g,
15	0,7 %	uhličitan sodný, pH 9 až 10, 260 minut pohyb kůží, flota se vypustí.

Odstranění srsti:

20	200,0 %	voda, 32 °C,
	0,005 %	alkalická lipáza, 5000 LU/mg,
	0,6-1,1 %	uhličitan sodný, pH 8 až 10,
		3 až 4 hodiny pohyb kůží,
25	+2,0 %	proteolytický enzym k odstranění srsti z <i>Aspergillus parasiticus</i> , 4000 LVE/g, 60 minut pohyb kůží, pak ještě 16 až 24 hodin pohyb kůží 1 min/hod. pH = 9,1, teplota 28 °C, flota se vypustí, srst se odstraní.

Promytí:

30	200 %	voda, 26 °C, 10 minut pohyb kůží, flota se vypustí,
----	-------	---

štěpení kůže:

provádí se běžným způsobem při použití hydroxidu vápenatého po dobu 4 až 8 hodin.

Pokus 5: Loužení kůží skotu, 30 až 39 kg (chudé na sulfid) pro výrobu materiálů pro nábytkářství.

Činění:

Lázeň pro předběžné měkkčení:

40	150 %	voda, 26 °C, 30 minut pohyb kůží, 30 minut klid, flota se vypustí.
----	-------	--

Měkkčení:

45	150,0 %	voda, 26 °C,
	0,3 %	neionogenní tenzid,
	0,25 %	proteolytický enzymatický produkt z <i>Bac. subtilis</i> , 4400 LVE/g, 33% hydroxid sodný, pH 9,5, a 10, 6 hodin pohyb kůží, flota se vypustí.

Luh:

50	150,0 %	voda, 28 °C,
	0,6 %	72% hydrogensulfid sodný,
	0,2 %	60% sulfid sodný,
	1,5 %	hydroxid vápenatý o pH 12,8, 90 minut pohyb kůží
	+0,3 %	prostředek EK-II,

1,5 %

hydroxid vápenatý, pohyb kůží 30 minut a pak ještě 16 hodin s pohybem kůže 2 min/hod, flota se vypustí.

Promytí:

5 150,0 %

voda, 28 °C, 10 minut pohyb kůží, flota se vypustí.

Takto zpracované holiny jsou velmi hladké a důkladně vyčištěné.

Pokus 6: Loužení hovězích kůží, 30 až 39 kg pro nábytkářský průmysl.

10

Činění:

Předběžné měkčení:

15 150,0
0,1 %

voda, 26 °C,
neionogenní tenzid na bázi ethoxylátu tuku z loje, 2 hodiny,
vždy 30 minut klid, 30 minut pohyb kůží,

Měkčení:

20 150,0 %
0,2 %
0,25 %

voda, 28 °C,
neionogenní tenzid na bázi ethoxylátu alifatického alkoholu,
proteolytický enzymatický produkt z *Bacillus subtilis*,
4400 LVE/g, 33% hydroxid sodný do pH 9,5 až 10,
5 hodin pohyb kůží, flota se vypustí.

25 Imunizace:

80,0 %
1,5 %

voda, 28 °C,
pomocné činidlo pro loužení na bázi alkanolaminu a
organických thiosloučenin,

30 1,2 %
+0,6 %
0,3 %

hydroxid vápenatý, 60 min pohyb kůží,
hydrogensulfid sodný, 72%,

+70,0 %
2,0 %

prostředek EK-II, po 2 hodinách jsou kůže zbaveny ochlupení,
voda, 28 °C,

0,3 %

hydroxid vápenatý,
50% hydroxid sodný, 14 hodin, pohyb kůží 2 min/h,
flota se vypustí,

35

další zpracování se provádí obvyklým způsobem.

Zpracování způsobem podle vynálezu při použití uvedených enzymatických produktů dovoluje vynechat následné loužení. Štěpení kůže a celé její zpracování je po 16 až 18 hodinách optimální.

40

PATENTOVÉ NÁROKY

5

1. Způsob výroby holin, připravených k vyčinění, z kůží a kožek při použití proteolytických a lipolytických enzymů, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se kůže po rehydrataci a měkčení proteolytickými enzymy podrobí loužení po dobu 2 až 6 hodin při pH 11,5 až 14, s výhodou při teplotě 28 °C, a pak moření po dobu 1 až 3 hodin při teplotě 32 až 37 °C a při pH 5 až 11,5
10 přičemž se do příslušných vodních lázní přidávají alkalické lipázy E.C.3.1.3 s optimem účinku při pH 9 až 11 v množství, odpovídajícím 100 až 10 000 LCA/1 kg kůže, měřeno při pH 9,5.

15

2. Způsob podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se alkalické lipázy užijí současně s alkalickými proteázami E.C.3.4.21 nebo neutrálními proteázami E.C.3.4.24.

15

3. Způsob podle nároků 1 a 2, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se jako proteázy užijí proteázy pankreatického komplexu.

20

4. Způsob podle nároků 1 až 3, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se enzymy použijí společně s běžnými povrchově aktivními látkami.

5. Způsob podle nároků 1 až 4, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se loužení provádí při pH 12 až 13,5.

25

6. Způsob podle nároků 1 až 5, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se moření provádí při pH 8 až 9.

7. Způsob podle nároků 1 až 6, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se enzymy použijí společně s běžnými sekvestračními činidly.

30

8. Způsob podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se ke zpracování použije 50 až 250 % floty.

35

9. Způsob podle nároku 8, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se ke zpracování užije 150 ± 50 % floty.

40

Konec dokumentu
