



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2018 00944**

(22) Data de depozit: **23/11/2018**

(41) Data publicării cererii:
30/06/2020 BOPI nr. **6/2020**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE TEXTILE
PIELĂRIE - SUCURSALA INSTITUTUL DE
CERCETARE PIELĂRIE ÎNCĂLȚĂMINTE,
STR.ION MINULESCU NR.93, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **GAIDAU CARMEN CORNELIA,
STR.AL.PAPIU ILARIAN, NR.6, BL.42, SC.2,
AP.53, ET.6, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **STĂNCULESCU IOANA RODICA,
ALEEA DOLINA, NR.8, BL.137, SC.2, ET.1,
AP.25, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **CUTRUBINIS MIHALIS,
BLD.FERDINAND 1, NR.101, BL.P31, SC.1,
ET.9, AP.39, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **TRANDAFIR LAURA,
ALEEA LUNCA CERNEI, NR.2, BL.D48,
SC.E, ET.3, AP.70, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ALEXANDRU MIOARA,
ȘOS. ALEXANDRIA, NR.112, BL.M1, SC.1,
ET.7, AP.46, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **STANCA MARIA,
STR. SERG. MAJ. CARA ANGHEL, NR.9,
BL.C56, SC.2, ET.7, AP.99, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **METODĂ DE TRATARE ȘI PIEI CONSERVATE PRIN IRADIERE GAMA**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de tratare a pieilor naturale aflate în diverse stadii, ca de exemplu piele crudă, tăbăcită sau crust, cu ajutorul radiațiilor gama, în vederea eliminării clorurii de sodiu care este corozivă și greu de îndepărtat din efluenți, și a substanțelor organice biocide, volatile, care au un impact major pentru mediu, lucrători și consumatori. Procedeul conform invenției constă în ambalarea etanșă a pieilor în pungi de polietilenă și introducerea lor în iradiatorul tip SVST Co - 60/B, cu surse de Co - 60 de 100000 Ci,

timp de 12 h la o temperatură de 18°C, timp în care probele se rotesc în jurul sursei de iradiere până când se acumulează doza de 25 KGy, pieile astfel tratate devenind sterile imediat după iradiere și până la 28 zile după tratare, prezentând modificări fizico-chimice minime, comparativ cu pieile tratate clasic.

Revendicări: 4
Figuri: 3



METODA DE TRATARE SI PIEI CONSERVATE PRIN IRADIERE GAMA

Inventia se adreseaza industriei de pielarie si se refera la un procedeu prin care se trateaza pieile naturale in diverse stadii: piele cruda, tabacita sau crust, cu radiatie gama, in vederea eliminarii clorurii de sodiu care este coroziva si greu de indepartat din efluentii, substantelor organice biocide, volatile, cu impact toxic major pentru mediu, lucratori si consumatori. Inventia este de interes si pentru procesatorii de carne, respectiv abatoarele, care prin aplicarea ei pot asigura un grad mai mare de securitate a produselor alimentare si mediului de lucru.

Sunt cunoscute tratamentele cu radiatie gama in special pentru sterilizarea dispozitivelor medicale, care se practica si in prezent, printre acestea se numara si produsele pe baza de collagen. Aplicarea radiatiei gama la tratarea pieilor naturale este mai putin cunoscuta, probabil datorita dificultatilor de a accesa aceste instalatii pentru cercetare.

Patentele **US4865602** si **USOO5123925A** prezinta o metoda de sterilizare si reticulare a amestecului collagen/minerale pentru reconstituire osoasa, in care doze de 0,5-4 Mrad (5-40 kGy) conduc la modificari, in sensul in care in stare uscata, ponderea zonelor neelicoideale (dezorganizate) ale collagenului cresc, rezistenta la compresie creste, cu cresterea dozei de radiatie pana la 2 Mrad (20 kGy); doza de 3 Mrad (30 kGy) conduce la o scadere a compresibilitatii (ceea ce indica o dezorganizare a moleculei de collagen). Influenta dozelor de sterilizare cu radiatie gama asupra dispozitivelor pe baza de collagen pentru reconstituire osoasa, a fost evaluata comparativ cu alte tipuri de sterilizare (cu etilen oxid, cu fascicol de electroni, plasma, acid peracetic, alcool etilic) si s-a concluzionat ca radiatia gama este eficienta si nu induce citotoxicitate; fiecare din tehnicile de sterilizare [1] prezinta avantaje si dezavantaje, iar tehnica de sterilizare trebuie aleasa in functie de scopurile urmarite. Studiul recent privind sterilizarea alogrefelor de piele umana conditionate in glicerol, cu doze de 25 kGy [2], indica capacitatea nealterata de reintegrare a acestora in tesuturile gazda si de vindecare, fara a fi alterate de tratamentul cu radiatie gama.

Studiul dozelor de iradiere a pielii de iepure tabacita cu tananti vegetali [3] identifica modificari in legaturile collagenului cu tanantii vegetali, la doze cuprinse intre 10-30,3 kGy; dozele mari inducand detanari.



Este cunoscut faptul ca sterilizarea antibacteriana se realizeaza cu doze de 25 kGy, tratamentele fungicide cu doze de 2-10 kGy si dezinsectia cu doze de 0,2 kGy [4], in special pentru obiectele de patrimoniu din lemn, hartie, textile etc. Astfel, decontaminarea a trei perechi de manusi din piele care au apartinut lui Nikola Tesla si care au fost serios afectate de fungi (*Aspergillus halophilicus*) s-a realizat cu doze de 5 kGy [5]. Alte studii [6] privind aparitia unor radicali liberi in gelul de collagen, comparativ cu collagenul tratat cu formaldehida sau saruri de aluminiu cand este radiat cu doze de 1-15 kGy, identifica efectul de ecranare al formaldehidei (care blocheaza grupele aminice) si aparitia unor centre paramagnetice numeroase in cazul collagenului tanat cu saruri de aluminiu (care interactioneaza cu grupele carboxilice). Un alt studiu [7] efectuat pe blanuri de iepure tabacite cu saruri de aluminiu si combinatii ale sarurilor de aluminiu cu saruri de crom si unse, identifica in cazul tuturor dozelor studiate (5-115 kGy) o detanare a collagenului tabacit prin legaturi ionice si coordinative slabe, cu efect de ionizare a grupelor carboxilice si aminice ale collagenului si cu cresterea capacitatii de retinere a apei. Blanurile tabacite cu saruri de crom sunt insa stabile chiar si la doze mari de radiatie gama, datorita legaturilor covalente dintre collagen si aceste saruri. Tratamentul cu radiatie gama conduce la formarea de noi legaturi intre agentii de ungere si collagen, fara insa a mari temperatura de contractie. Cercetatorii rusi au studiat influenta dozelor de 10-100 kGy de radiatie gama asupra proprietatilor pieilor atunci cand sunt sterilizate in stare conservata prin sarare si uscate pana la 8% umiditate [8]. Dozele de 5-6,2 kGy asigura o sterilizare incompleta pieilor crude si uscate la 10-20 % umiditate. Concluziile studiului sunt ca sterilizarea pieilor crude cu doze de 20-30 kGy necesita studii suplimentare pentru aplicarea industrială. Necesitatea sterilizării carcaselor de animale inca din abator este importanta pentru igiena alimentelor si tehnicile de tratare cu apa, abur, acid acetic sau lactic reduc incarcatura biologica de maxim doua ori, conform unui studiu din 2011 [9]. Conform unui alt studiu, eficienta tratamentelor cu radiatie gama pentru carcase se considera ca depinde de tipul de animal, incarcatura microbiana, de prezenta oxigenului si de continutul de apa [10]. Obiectivul prezentei inventii este realizarea unui procedeu nou, ecologic, de conservare a pieilor crude, pieilor wet-blue (tabacite cu saruri bazice de crom, in stare umeda) si pieilor in stare crust (tabacite si retanate). Problema tehnica pe care o rezolva inventia consta in sterilizarea pieilor crude, pieilor wet-blue si crust prin iradiere gama, metoda ecologica, care nu polueaza mediul si nu afecteaza sanatatea



lucratorilor. Eficienta metodei a fost evaluata prin testarea sterilitatii pieilor, dupa iradiere si dupa 28 de zile de depozitare in comparatie cu pieile neiradiate, crude si conservate prin sarare, pieile wet-blue tratate cu fungicide si pieile crust netratate cu biocizi. Stabilirea dozei optime de iradiere gama s-a facut prin experimentarea a 3 doze de iradiere si evaluarea sterilizarii pieilor crude imediat dupa tratament si dupa 28 de zile dupa tratament. In plus s-au efectuat analize pe zone topografice (zona de analiza, zona de poale si zona de gat) privind modificarea temperaturii de contractie si a azotului solubil, analize care furnizeaza informatii privind modificari majore in structura si proprietatile colagenului. Procedeu conform inventiei, spre deosebire de alte procedee cu iradiere gama, a fost aplicat pe pieile crude, neconservate, la umiditatea de 80-65%, pe pieile wet-blue la umiditate de 50-55% si pe piei crust cu umiditate de 14-16% si a stabilit doza optima de iradiere gama, cu efecte minime asupra structurii pieilor.

Procedeu de sterilizare a pieilor crude prin iradiere gama, conform inventiei inlatura dezavantajele pe care le prezinta conservarea prin sarare deoarece:

- clorura de sodiu este coroziva, polueaza apele reziduale, iar clorura de sodiu este dificil de indepartat;
- pieile conservate necorespunzator se degradeaza mai repede si valoarea produsului finit scade;
- metoda de conservare a pieilor prin iradiere gama, conform inventiei, prin modul de ambalare a carcaselor, asigura protectia carni de infestarea cu agenti patogeni in abatoare, asigura un mediu curat depozitelor de piei crude;
- conservarea pieilor se poate realiza la un nivel mult mai ridicat, comparativ cu cea traditionala, cu sare, ceea ce asigura obtinerea unui produs finit de calitate mai buna;
- conservarea cu radiatie gama permite eliminarea utilizarii biocizilor (clorura de didecildimetilamoniu, cel mai frecvent utilizat bactericid, dar si alti biocizi cu spectul larg: dimetilditiocarbamat de sodiu, N-hidroximetil-N-metilditiocabamat, tetrahidro-3,5-dimetil-2H-1,3,5-tiadiazina-2-tiona, 2-tiocianometiltiobenzotiazol sau TCMTB) in etapele de inmuire a pielii, deoarece incarcatura microbiologica este redusa substantial prin tratament cu radiatie gama;
- se poate aplica si pentru pieile ovine piclate care se transporta in stare piclata si necesita adaos de fungicide;



-se poate reduce timpul de piclare a pieilor, deoarece iradierea gama conduce la o reducere a temperaturii de contractie a colagenului, ceea ce realizeaza si prin piclare.

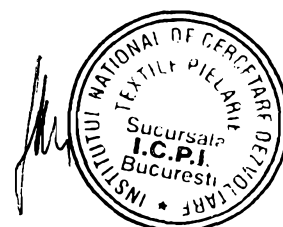
Procedeul de conservare a pieilor wet-blue (tabacite cu saruri bazice de crom, in stare umeda) prin iradiere gama prezinta urmatoarele avantaje:

- permite inlaturarea biocizilor utilizati in prezent la conservarea pieilor wet-blue, substante organice, volatile (care au la baza substante active de tipul o-fenilfenol-OPP, p-cloro-m-crezol-CMK, n-octil-izo-tiozalinon-OIT si 2-tiocianometiltiobenzotiazol- TCMTB), cu efecte toxice pentru lucratori si pentru mediu;
- permite realizarea unui grad de conservare mai avansat, comparativ cu pieile tratate cu fungicizi;
- se poate aplica si pentru pieile wet-white (tabacite fara crom, cu agenti auxiliari organici de tip aldehide, sintani), care sunt mult mai susceptibile atacului la fungi.

Procedeul de conservare al pieilor crust cu radiatie gama prezinta avantaje privind:

- posibilitatea eliminarii sau reducerii produselor chimice fungicide;
- posibilitatea eliminarii sau reducerii produselor chimice fungicide utilizate pentru conservarea pieilor crust wet-white, mult mai vulnerabile atacului fungic fata de pieile crust tabacite cu saruri de crom;
- reducerea poluarii mediului, protectia lucratorilor prin reducerea sau eliminarea fungicidelor.

In vederea elaborarii procedeului nou de conservare a pieilor crude prin iradiere gama, s-a utilizat o piele bovina tip 35 kg cruda (**Figura 1**), achizitionata de la un abator, care a fost impartita in 2 parti simetrice fata de coloana vertebrala. S-au prelevat probe de piele din 3 zone topografice simetrice: zona de analiza, zona de gat si zona de poale pentru analiza temperaturii de contractie si a azotului solubil, pentru pielea neiradiata si dupa iradiere cu 3 doze de radiatie gama: 25 kGy, 35 kGy si 50 kGy. Probele de piei au fost introduse in pungi de PP si au fost sigilate etans, la temperatura (**Figura 2**). Iradierea s-a facut la o instalatie de laborator, apoi s-a repetat pentru doza optima selectata, la instalatia industrială de tip SVST Co-60/B, cu surse de Co-60 de 100.000 Ci (**Figura 3**). Dozele de iradiere au fost alese avand in vedere incarcarea microbiologica mare a pieilor netratate, in diverse stadii de



6

prelucrare (**Tabel 1**), cuprinsa intre 10^4 si 10^7 UFC/g. O alta serie de probe au fost prelevate pentru a fi pastrate timp de 28 de zile dupa iradiere, in vederea verificarii durabilitatii conservarii prin iradiere gama. O alta portiune din aceeasi piele a fost conservata prin sarare, conform metodelor practice in prezent, in vederea compararii incarcarii microbiologice cu cea a pielii tratate cu radiatie gama. S-a analizat si incarcarea microbiologica a pieilor wet-blue tratate cu fungicizi pentru a putea compara cu tratamentul cu radiatie gama, propus de inventive. Metoda utilizata pentru determinarea incarcarii microbiologice a pieilor tratate cu fungicizi a fost metoda filtrarii, in timp ce pentru analiza incarcarii microbiologice a pieilor netratate s-a utilizat metoda turnarii in placa. Analiza sterilitatii probelor iradiate s-a facut prin metoda insamantarii directe (incorporarii in mediul de cultura). Rezultatele evaluarii microbiologice privind sterilizarea pieilor indica un grad avansat de tratare si practic lipsa incarcarii microbiologice, atat dupa iradiere, cat si dupa 28 de zile de la iradiere. Starea de sterilizare este o forma de eliminare a incarcaturii microbiologice la un nivel mult mai avansat decat ceea ce se practica in prezent; conservarea prin sarare asigura o reducere a incarcarii microbiologice de 24,7 ori fata de incarcarea microbiologica a pielii crude, in timp ce tratamentul cu radiatie gama asigura o reducere de 52×10^6 ori fata de starea cruda a pielii si de $2,1 \times 10^6$ ori fata de starea de conservare prin sarare (**Tabel 2**). In urma experimentarilor si analizelor fizico-chimice se poate concluziona ca iradierea cu 25 kGy asigura gradul de conservare optim pentru pieile crude, in stare wet-blue sau in stare crust. Proprietatile fizico-chimice indica modificari ale temperaturii de contractie de $1,5^{\circ}\text{C}$ fata de conservarea prin sarare, de $4,5^{\circ}\text{C}$ pentru pieile wet-blue, fara a scadea sub valoarea de 100°C si de $2,5^{\circ}\text{C}$ pentru pieile crust (**Tabel 3**). Azotul solubil creste cu 3,5 mg/L la pieile crude iradiate, fata de cele neiradiate. Modificarile fizico-chimice inregistrate in cazul iradierii pielii cu 25 kGy se pot considera nesemnificative, comparativ cu tratamentele clasice.

In continuare se prezinta 2 exemple de conservare prin iradiere gama pentru piei bovine crude, wet-blue si crust, conform inventiei.

Exemplul 1

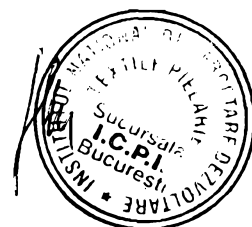
Pielea de bovina cruda se ambaleaza intr-o punga de plastic, care se sigileaza etans cu masina de lipit pungi tip Laica Fresco Piu, si apoi se aseaza intr-un cotainer (tote-box), in instalatia SVST Co-60/B de iradiere gama, cu sursa de Co-60 de 100.000 Ci. Containerul cu proba se deplaseaza pneumatic, intr-un numar de



52 de pasi, in jurul sursei de iradiere gama, timp de 12 ore la 18°C. Dupa parcurgerea tuturor pozitilor din jurul sursei, proba este iradiata cu doza prestabilita de tratare, de 25 kGy, dupa care proba este evacuata pneumatic din instalatie, iar sursa de iradiere este coborata in fundul unei piscine de stocare. Pielea astfel tratata prezinta o incarcare microbiologica de $2,1 \times 10^6$ mai mica fata de starea de conservare prin sarare si de 52×10^6 ori mai mica fata de starea cruda a pielii, Aceasta stare de conservare se mentine si in cazul pielii pastrate timp de 28 de zile in stare iradiata si sigilata in punga de plastic. Modificarile privind temperatura de contractie si azotul solubil sunt minime, comparativ cu modificarile inregistrate in cazul conservarii cu doze de 35 kGy si 50 kGy.

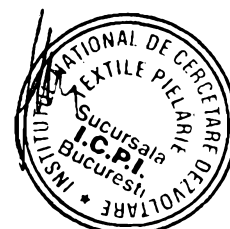
Exemplul 2

Pielea bovina in stare wet-blue nespaltuita sau spaltuita, sau crust este ambalata in pungi de PE sau PP, pungile sunt sigilate ermetic prin sudare la cald, cu o instalatie comerciala de sigilat pungi. Pieile ambalate se incarca in cotainerul (tote-box) din instalatia SVST Co-60/B de iradiere gama cu sursa de Co-60 de 100.000 Ci si se trateaza cu radiatie gama de 25 kGy, timp de 12 ore la 18°C, in mod similar cu pcedeul descris la Exemplul 1. Probele tratate prin iradiere gama sunt sterile imediat dupa tratare si dupa 28 de zile de pastrare. Modificarile privind temperatura de contractie inainte si dupa iradiere sunt minime, comparativ cu piele tratate clasic.



Bibliografie

1. Luis M Delgado, Abhay Pandit & Dimitrios I Zeugolis, Influence of sterilisation methods on collagenbased devices stability and properties, *Expert Review of Medical Devices*, 11:3, 305-314, DOI: 10.1586/17434440.2014.900436, 2014
2. Linda Guerrero , Bernardo Camacho, Comparison of different skin preservation methods with gamma irradiation, *Burns* (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2017.01.003>
3. K. Raina, B. K. Wali and A. M. Wani, *Radiat. Phys. Chem.* Vol. 36, No. 3, pp. 313-315, 1990
4. Branka Katusin-Razema, Dusan Razema, Mario Braun, Irradiation treatment for the protection and conservation of cultural heritage artefacts in Croatia, *Radiation Physics and Chemistry* 78 (2009) 729–731
5. Ivica Vujcic¹, S. Masic, M. Medic, S. Putic, M. D. Dramicanin, Gamma irradiation leather gloves in terms of cultural heritage preservation, XXV International Conference "Ecological Truth" ECO-IST'17, 12 – 15 June 2017, Hotel "BREZA", Vrnjacka Banja, SERBIA, 531-535
6. O.G. Duliua, M. Epurasa, V. Trandafir, EPR investigation of the gamma-ray irradiated natural and tanned collagen, *Applied Radiation and Isotopes* 54 (2001) 887-891
7. R. K. Raina, Effect of ⁶⁰Co-gamma radiation on the binding properties in furs, *Radiat. Phys.Chem.* Vol.4 0, N o. 3.p~.2 45-247.1 992
8. I. P. Strakhov, P. I. Lebenko, I. G. Shifrin, A. I. Metelkin, V. P.Yu. F. Pavlov, and G. D. Rybakova Averkiev, Change of properties of leather hides when irradiated with 1-10 Mrad, *Atomnaya Energiya*, Vol. 29, No. 1, pp. 26-29, July, 1970
9. Marianne Loretz, Roger Stephan, Claudio Zweifel, Antibacterial activity of decontamination treatments for cattle hides and beef, carcasses, *Food Control* 22 (2011) 347e359
10. Farkas, J. (1998). Irradiation as a method for decontaminating food. *International Journal of Food Microbiology*, 44, 189e204



REVENDICĂRI

1. Procedeu de conservare a pieilor crude **caracterizat prin aceea ca**, pieile sunt ambalate etans in pungi de polietilena sau polipropilena si tratate cu radiatie gama de 25 kGy in iradiatorul de tip SVST Co-60/B, cu surse de Co-60 de 100.000 Ci, timp de 12 ore, la 18⁰C, in vederea sterilizarii, ca alternativa ecologica la conservarea prin sarare.
2. Piei crude conservate prin iradiere gama la doza de 25 kGy, **caracterizate prin aceea ca**, acestea sunt sterile imediat dupa iradiere si dupa 28 de zile de la iradiere si prezinta modificari minime privind caracteristicile fizico-chimice, comparativ cu pielea conservata prin sarare.
3. Procedeu de conservare a pieilor wet-blue sau crust **caracterizat prin aceea ca**, pieile sunt ambalate etans in pungi de polietilena sau polipropilena si tratate cu radiatie gama de 25 kGy in iradiatorul de tip SVST Co-60/B, cu surse de Co-60 de 100.000 Ci, timp de 12 ore, la 18⁰C, in vederea sterilizarii, ca alternativa ecologica la utilizarea biocizilor organici, volatili, cu potential toxic pentru mediu si lucratori.
4. Piei wet-blue si crust conservate prin iradiere gama la doza de de 25 kGy, **caracterizat prin aceea ca**, acestea sunt sterile imediat dupa iradiere si dupa 28 de zile de la iradiere si prezinta modificari minime privind caracteristicile fizico-chimice, comparativ cu pieile conservate clasic, cu biocizi organici.

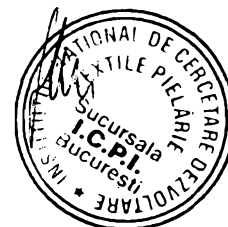




Fig. 1-Piele bovina tip
35 kg, cruda

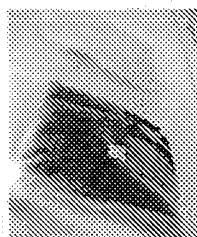


Fig. 2- Probe de piei crude
sigilate etans in pungi de PP

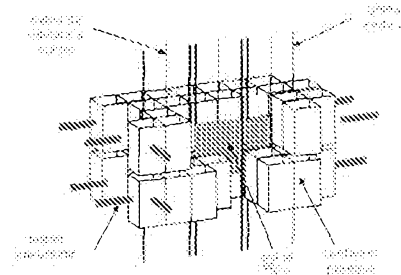


Fig. 3 Conveiorul intern si sursele de Co-60
(<http://www.nipne.ro/research/departments/irasm.php>)

Tabel 1-Incarcarea microbiologica a pieilor crude, pieilor crude sarate, wet blue conservate, wet blue si crust neconservate, UFC/g (analize din zona de analiza)

Cod proba	Piele cruda	Piele cruda sarata	Piele wet-blue, netratata	Piele wet-blue, tratata		Piele crust netratata
				bacterii	fungi	
1.	$9,3 \times 10^7$	$2,3 \times 10^6$	$3,7 \times 10^4$	12	< 2	$4,3 \times 10^4$
2.	$9,1 \times 10^7$	$2,5 \times 10^6$	$5,1 \times 10^4$	6	< 2	
3.	10^7	$2,1 \times 10^6$				
4.	$1,4 \times 10^7$	$1,5 \times 10^6$				

Tabel 2-Incarcarea microbiologica a pieilor tratate cu radiatie gama la doza de 25 kGy

Cod proba	Piele cruda iradiata	Piele cruda iradiata dupa 28 zile	Piele wet-blue, iradiata	Piele wet-blue, iradiata, dupa 28 zile	Piele crust iradiata	Piele crust iradiata dupa 28 zile
1.	Steril	Steril	Steril	Steril	Steril	Steril
2.	Steril	Steril	Steril	Steril		
3.	Steril	Steril				
4.	Steril	Steril				

Tabel 3- Evaluarea caracteristicilor fizico-chimice a pieilor conservate prin iradiere

Nr.crt.	Proba	Temperatura de contractie (°C)	Azot total solubil mg/L
1	Piei crude	65	85
2	Piei crude sarate	62.5	88.5
3	Piei crude iradiate	61	-
4	Piei wet blue	105	-
5	Piei wet blue iradiate	100.5	-
6	Piei crust	104.5	-
7	Piei crust iradiate	102	-