



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ

(11) 884574

(61) Дополнительный к патенту -

(22) Заявлено 20.05.77 (21) 2485597/28-13

(23) Приоритет - (32) 21.05.76

(31) Р 26 22 982.3 (33) ФРГ

(51) М. Кл.³

С 12 D 13/06

Опубликовано 23.11.81. Бюллетень №43

(53) УДК 668.392
(088.8)

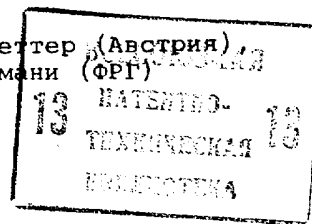
Дата опубликования описания 23.11.81

(72) Авторы
изобретения

Иностранцы
Эрих Хайд (ФРГ), Михаэль Нельбёк-Хохштеттер (Австрия),
Готтхильф Нээр (ФРГ) и Гюнтер Ваймани (ФРГ)

(71) Заявитель

Иностранная фирма
"Берингер Маннхайм ГмбХ"
(ФРГ)



(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТЕИНА ИЗ СУСПЕНЗИИ
МИКРООРГАНИЗМОВ

1

Изобретение относится к микробиологической промышленности, в частности к получению протеина из суспензии микроорганизмов с пониженным содержанием в нем нуклеиновых кислот, например до 0,2 вес.% с одновременным получением 5'-нуклеотидов путем расщепления нуклеиновой кислоты.

Известен способ получения протеина из суспензии микроорганизмов путем кратковременной ее тепловой обработки в течение 2-20 с при 60-70°C и последующего ее нагревания примерно в течение 20 мин до 45-50°C при pH 4,5-7 [1].

Однако в процессе обработки суспензии высвобождаются протеазы, которые расщепляют протеин, что приводит к снижению его выхода. При этом остаточное содержание рибонуклеиновых кислот - RNA составляет более 2%.

Известен также способ получения протеина с пониженным содержанием нуклеиновой кислоты из суспензии микроорганизмов путем ее нагревания при определенных значениях pH с последующим выделением целевого продукта - протеина и 5'-нуклеотидов. Данный спо-

2

соб предусматривает обработку суспензии микроорганизмов при 60-140°C и при pH 8,0-11 [2].

Недостатком его является то, что в значительной мере образуются 3'-нуклеотиды за счет расщепления рибонуклеиновых кислот.

Цель изобретения - снижение содержания нуклеиновых кислот в протеине с одновременным получением 5'-нуклеотидов в среде.

Поставленная цель достигается тем, что нагревание суспензии осуществляется в течение 2-15 ч при температуре 63-67°C и pH 7-8,5, после чего в нее вводят суспензию солодовых ростков или их экстракт и смесь кипятят в течение 0,5-5 мин.

Согласно предлагаемому способу нуклеиновая кислота расщепляется исключительно на 5'-нуклеотиды, при этом не образуется никаких 2' и/или 3'-нуклеотидов. При этом решающее значение имеет соблюдение точных температурных границ 63-67°C, преимущественно 65°C. Необходимая длительность нагревания зависит от применяемого микроорганизма, в частности от содержания в нем эндогенных нуклеаз-

25

30

нов и колеблется в основном от 20 мин до 20 ч.

Способ предусматривает использование всех видов микроорганизмов, т.е. дрожжей, бактерий, грибов и т.д. Так, в качестве дрожжей используют *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida boidinii*, в качестве микробактерий *Nocardia erythropolis*, *Aspergillus niger* для плесневых грибов.

Микроорганизмы используются как обработанные, например высушенные в мягких условиях или лиофилизированные одноклеточные, либо необработанные. Согласно данному способу длительность нагрева снижают путем введения биологических препаратов, содержащих рибонуклеазу, например солодовые ростки трав и зерновых, в частности ростки солода или экстракты из них.

Снижение содержания RNA в одноклеточном протеине достигает до 0,2 вес.%, потери протеина незначительны и выход его практически достигает 90% и выше. Особое преимущество способа заключается в том, что рибонуклеиновая кислота практически полностью расщепляется до 5'-нуклеотидов, которые сами по себе являются достаточно ценными веществами. Кроме того, фильтрат, используемый для получения нуклеотидов после отделения протеина, можно снова использовать для выращивания микроорганизмов с получением нуклеиновых кислот, т.е. таким образом, получается практически циркуляционный цикл нуклеотидов. Одновременно микроорганизмы для нового роста используют имеющиеся в растворе составные части клеток, остаточный растворимый протеин, и т.п., что приводит к снижению используемых при выращивании микроорганизмов добавок биотина и дрожжевого экстракта.

Получаемый протеин по предлагаемому способу более чистый, лучше усваивается, содержит детергенты солей или RNA, не имеет запаха и может быть использован в качестве пищевого продукта.

Пример 1. 200 л водной суспензии приведенных в табл.1 микроорганизмов с содержанием сухой массы 15-20% нагревают до 65°C и 15 ч выдерживают при этой температуре при перемешивании. pH поддерживают между 7-8,5 путем добавления NaOH. Затем смесь кратковременно кипятят и сырой протеин отделяют и сушат.

Выход составляет 25-32 кг сырого протеина. Табл.1 показывает содержание RNA в исходном материале и достигнутое при этом расщепление RNA.

Пример 2.

а) 3 кг солодовых ростков измельчают, добавляют 30 л H₂O и 40 мин выдерживают при 65°C. Полученную суспензию непосредственно или после отделения нерастворимых элементов ростков солода на центрифуге применяют в следующем процессе.

б) По 200 л суспензии таких же микроорганизмов, как и в примере 1 с таким же содержанием сухих веществ, нагревают до 65°C, добавляют приготовленную суспензию солодовых ростков или экстракт (пример 2а) и затем смесь нагревают 2-15 ч при 65°C. Затем обработку проводят как в примере 1. Выход составляет 25-35 кг сырого протеина, среднее содержание чистого протеина около 70%.

Табл.2 показывает достигнутое расщепление RNA. Выход 5'-нуклеотидов при примерном 10%-ном содержании RNA в сухом продукте 7-800 г каждого из четырех различных 5'-нуклеотидов, при меньшем содержании RNA в исходном материале они были соответственно ниже.

Т а б л и ц а 1

Биомасса	Семейство	Содержание RNA*	Разложение RNA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Дрожжи	0,5-1,5%	100%
"- carlsbergensis	" "	1,8%	87%
<i>Candida boldinii</i>	" "	1,6%	11,3%
(примерно возраст 14 мес)			
<i>Nocardia erythropolis</i>	Микробактерии	1,6%	77%
<i>Bacillus cereus</i>	" Bacillaceae	2,2%	16%
(возраст минимум 1 год)			
<i>Streptococcus faecalis</i>	Стрептококки	2,3%	100%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Псевдомонады	5,1	55%

*) Содержащаяся RNA выделялась по Z.M. Valttschewa et al (Arch. Biochem Biophys 176, 630, 1976) и определялась путем измерения абсорбции света при 260 нм по Н.С. Суго (Arch. Biochem. Biophys 124, 924, 1968).

Т а б л и ц а 2

Биомасса по примеру 2	Разложение RNA экстрактом рост- ков солода
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100%
" " <i>carlsbergensis</i>	90%
<i>Candida boidinii</i> (примерно возраст 14 мес.)	26%
<i>Nocardia erythropilis</i>	100%
<i>Bacillus cereus</i> (возраст 1 год)	30%
<i>Streptococcus faecalis</i>	100%
<i>Pseudomonas fluoreszens</i>	70%

Формула изобретения

Способ получения протеина из суспензии микроорганизмов путем ее нагревания при определенных значениях pH с последующим выделением целевого продукта и 5'-нуклеотидов, отличающийся тем, что, с целью снижения содержания нуклеиновых кислот в протеине с одновременным повышением выхода 5'-нуклеотидов, нагревание

20 суспензии осуществляют в течение 2-15 ч при температуре 63-67°C и pH 7-8,5, после чего в нее вводят суспензию солодовых ростков или их экстракт и смесь кипятят в течение 0,5-5 мин.

25 Источники информации, принятые во внимание при экспертизе
1. Патент США № 3720585, кл. 260-112, опублик.1973.
2. Патент Великобритании № 1372870, кл. C 6 F, опублик.1974 (прототип).

Редактор Р.Цицка

Составитель М.Ларина

Техред Ж.Кастелевич Корректор Н.Степ

Заказ 10272/89

Тираж 531

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР

по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д.4/5

Филиал ППП "Патент", г.Ужгород, ул.Проектная, 4