

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

93 184

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 10.09.73 (P. 165135)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 01.04.75

Opis patentowy opublikowano: 15.12.1977

MKP
C12d 9/20

Int. Cl.².
C12D 9/20

CZYTELNIA

Urząd Patentowy
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórcy wynalazku: Jerzy Meller, Halina Wośko, Ewa Garstka,
Teresa Zakrzewska

Uprawniony z patentu: Kutnowskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfar”,
Kutno (Polska)

Sposób otrzymywania stężonych koncentratów nizyny

Wynalazek dotyczy sposobu otrzymywania stężonych koncentratów nizyny.

Z opisu patentowego nr 68835 znany jest sposób otrzymywania stężonych koncentratów nizyny z brzeczki po hodowli szczepu nizynotwórczego *Streptococcus lactis* na pożywkach, zawierających mleko, serwatkę, syrop ziemniaczany, glukozę, hydrolizat pepsynowy hodowli paciorkowców z grupy serologicznej N po zakończonej fermentacji, przeprowadzonej w celu wytworzenia nizyny, na drodze zakwaszenia kwasem solnym do pH = 3,3 – 3,7, ogrzania do temperatury 60–120°C, schłodzenia do temperatury 25°C i wydzielania osadu białkowego. Następnie brzeczkę po wydzieleniu osadu białkowego poddaje się spienieniu, a po osuszeniu piany uzyskuje się wysoko stężony roztwór nizyny i brzeczkę wyczerpaną, za pomocą której ekstrahuje się uprzednio wydzielony osad białkowy przez rozmieszanie i odsączenie, po czym otrzymany ekstrakt poddaje się spienieniu i uzyskuje frakcję nizynową, którą łączy się z frakcją, uzyskaną z procesu głównego.

Z połączonych obu frakcji nizynowych wysala się nizynę przy pH = 3,3 – 3,7, a następnie odwirowuje i odwadnia przez trzykrotne rozmieszanie z oziębionym poniżej zera acetonem. Osad nizyny po odsączeniu suszy się pod próżnią w temperaturze poniżej zera. Sposób ten jednak na etapie wydzielania nizyny z roztworów wodnych po wysoleniu posiada wady, ponieważ wydzielająca się nizyna stanowi drobny i słabo osadzający się osad, i nie nadaje się do odwirowywania na zwykłej wirówce.

Znane są także jeszcze inne sposoby otrzymywania stężonych koncentratów nizyny na etapie jej wydzielania. W opisie patentowym Wielkiej Brytanii nr 683423 stężony roztwór nizyny wysala się i wytrącony osad oczyszcza na drodze krystalizacji z 70-procentowego wodnego roztworu acetonu.

Według szwajcarskiego opisu patentowego nr 370794 stężony wodny roztwór nizyny wysala się i wydzielony osad rozpuszcza w metanolu, a następnie z metanolowego roztworu wydziela się osad nizyny przez dodanie acetonu.

W Ullmanns Encykl. der tech.Chemie, tom 3 z 1953 r. str.750 opisany jest sposób, według którego brzeczkę pofermentacyjną z nizyną zakwasza się do pH = 2,0, stałe zanieczyszczenia odwirowuje, z przesączu wyekstrahuje nizynę za pomocą chloroformu, ekstrakt chloroformowy wydziela, miesza go z etanolem i powstałą mieszaninę odstawia do krystalizacji.

Wszystkie te znane sposoby mają jednak wady, polegające bądź na trudności wydzielania osadu aktywnego z roztworów wodnych, bądź też są kosztowne i pracochłonne w przypadku zastosowania rozpuszczalników.

Wynalazek ma na celu takie rozwiązanie zagadnienia, które by umożliwiło wydzielanie nizyny po jej wysoleniu z frakcji nizynowej w postaci łatwo osadzającego się osadu, nadającego się do odwirowywania na zwykłych wirówkach.

Stwierdzono, że wady i niedogodności można ominąć, jeżeli do cieczy, otrzymanej z osuszonej piany nizynowej, po wysoleniu nizyny wprowadzi się przy mieszaniu podstawiony atomami chloru węglowodór o zawartości 1–5 atomów węgla w cząsteczce, na przykład chloroform lub tróchloroetylen, w ilości co najmniej 0,5 części wagowych na 100 części wagowe użytej do wysolenia cieczy, całość miesza, odstawia na kilka godzin i produkt wyodrębnia w znany sposób. Sposób według wynalazku ułatwia koagulację drobnych cząsteczek wydzielającej się nizyny, dzięki czemu zwiększa się jej ciężar właściwy i uzyskany osad można łatwo odwirować na zwykłej wirówce.

Niżej podane przykłady wyjaśniają bliżej istotę wynalazku, nie ograniczając jego zakresu.

Przykład I. 100 litrów wodnego roztworu nizyny o aktywności 75000 j/ml, uzyskanego w wyniku fermentacji szczepu *Streptococcus lactis* na mleku, oddzielenia białka i zagęszczenia przez wypienienie, poddaje się wysoleniu przez dodatek 25 kg chlorku sodu, a następnie dodaje 3 kg chloroformu i miesza w ciągu 15 minut, po czym odstawia na sześć godzin. Po tym czasie osad odwirowuje się na wirówce sedymentacyjnej i odwadnia przez zawieszenie w acetonie. Uzyskuje się 0,876 kg koncentratu nizyny o mocy $8,5 \cdot 10^6$ j/g.

Przykład II. 100 litrów wodnego roztworu nizyny o aktywności 75000 j/ml, uzyskanego, jak w przykładzie I, wysala się przez dodatek 25 kg chlorku sodu, a następnie dodaje 4 kg tróchloroetylenu i całość miesza w ciągu 15 minut, po czym odstawia na sześć godzin. Po tym czasie aktywny osad nizyny odwirowuje się na sedymentacyjnej wirówce i odwadnia przez zawieszenie w acetonie. Otrzymuje się 0,870 kg koncentratu nizyny o mocy $8,5 \cdot 10^6$ j/g.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób otrzymywania stężonych koncentratów nizyny z brzeczki po hodowli szczepu nizynotwórczego *Streptococcus lactis* na pożywkach, zawierających mleko, serwatkę, syrop ziemniaczany, glukozę, hydrolizat pepsynowy hodowli paciorkowców z grupy serologicznej N, na drodze zakwaszenia jej do pH = 3,3 – 3,7 korzystnie 3,5, podgrzania do temperatury 60–120°C, najkorzystniej 95°C, oziębienia, odsączenia wytrąconego osadu i wymycia go brzeczką wyczerpaną, pozbawioną białka i nizyny, a następnie na drodze poddania wypienieniu osobno brzeczki, uzyskanej po odsączeniu białka i zawierającej nizynę, i osobno ekstraktu, uzyskanego z wymywania wytrąconego białka, poprzez zamianę całej ilości cieczy w pianę drogą zmieszania z powietrzem za pomocą mechanicznej wytwornicy piany, osuszenia tak otrzymanej piany przez odstawanie i przeprowadzenie w ciecz poprzez zmianę szybkości strumienia piany, wysolenia z cieczy nizyny przy pH = 3,3 – 3,7, najkorzystniej 3,5, oddzielenia osadu od cieczy, odwodnienia go przez kilkakrotne zawieszanie w acetonie o temperaturze poniżej zera, korzystnie – 15°C i odpędzenie resztek acetonu pod próżnią w temperaturze poniżej zera, korzystnie – 15°C, z n a m i e n n y t y m, że do cieczy, otrzymanej z osuszonej piany nizynowej, po wysoleniu nizyny wprowadza się przy mieszaniu podstawiony atomami chloru węglowodór o zawartości 1–5 atomów węgla w cząsteczce, korzystnie chloroform lub tróchloroetylen, w ilości co najmniej 0,5 części wagowych na 100 części wagowe użytej do wysolenia cieczy, całość miesza, odstawia na kilka godzin do wydzielania się osadu, a następnie wyodrębnia go w znany sposób.