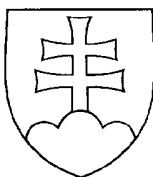


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

278 575

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁶ :

C 12N 1/06

C 12M 3/08

(21) Číslo prihlášky: 928-94

(22) Dátum podania: 03.12.93

(31) Číslo prioritnej prihlášky: P 42 41 154.8

(32) Dátum priority: 07.12.92

(33) Krajina priority: DE

(40) Dátum zverejnenia: 12.04.95

(45) Dátum zverejnenia udelenia vo Vestníku: 08.10.97

(86) Číslo PCT: PCT/EP93/03406, 03.12.93

(73) Majiteľ patentu: LANCASTER GROUP AG, Wiesbaden, DE;

(57) Pôvodca vynálezu: Zastrow Leonhard, Wiesbaden-Nordenstadt, DE;
Stanzl Klaus, Waldesch, DE;
Röding Joachim, Wiesbaden, DE;
Golz Karin, Berlin, DE;

(54) Názov vynálezu: **Spôsob dezintegrácie bunkových disperzií alebo suspenzií pomocou ultrazvukových vibrácií**

(57) Anotácia:
Do prietokovej nádoby sa zasunie synotróda jednou polovicou až dvoma tretinami svojej dĺžky a uhol synotródy v akustickej ožarovacej nádobke sa nastaví od 80,5° do 88,5°. Pomer dĺžky zasunutia synotródy v milimetroch k objemu akustického ožarovacieho priestoru v mililitroch sa nastaví v rozsahu od 1 : 1,1 do 1 : 20 a pomer dĺžky zasunutia synotródy v milimetroch k podielu pevných látok v materiáli spracovávanom ultrazvukom sa v hmotnostných množstvách nastaví v rozsahu od 1 : 0,02 do 1 : 2,2.

Oblasť techniky

Bunkové komponenty, ako sú enzýmy, proteíny, vitamíny a látky s protizápalovými alebo cytostatickými účinkami, nachádzajú využitie v lekárstve a ďalej i vo farmaceutických a kozmetických aplikáciách.

Doterajší stav techniky

V nemeckom spise DE-C-32 26 016 je opísané zariadenie, využívajúce na rozrušenie buniek pretlačací homogenizátor, v ktorom sa bunky rozrušujú veľkým tlakovým spádom a kavitačnými a turbulečnými účinkami v úzkom otvore. Základným nedostatkom týchto spôsobov a zariadení je ich veľká časová náročnosť a nedostatočné rozrušovanie buniek.

Nevýhodou je tiež skutočnosť, že v mnohých prípadoch sa získajú len stabilné organické zlúčeniny. Okrem toho sú tieto mechanické procesy veľmi náročné na spotrebu energie a na svoju realizáciu vyžadujú vysoké zaobstarávacie a prevádzkové náklady, pričom ich účinnosť v aplikáciách s pomerne nestálymi zlúčeninami je obmedzená.

O rôznych dezintegračných metódach, pri ktorých sa využívajú ultrazvukové prístroje, sa vie pomerne málo a v odbornej literatúre a v informačných materiáloch výrobcov je opísaných len niekoľko takýchto postupov, ktoré sú navyše obmedzené na laboratórne podmienky. Tieto procesy sú charakterizované známym usporiadaním ultrazvukového prístroja pozostávajúceho z vysokovýkonného generátora, elektromechanického meniča s pracovným nástrojom, najmä synotródou a z niekoľkých akustických iradiačných nádob, ktoré sú väčšinou otvorené, navyše môžu byť chladené a umožňujú kontinuálne plnenie spracovanej látkou.

Známe sú tiež špeciálne akustické iradiačné ústrojenstvá (bunky), ktoré sú spojené priamo s elektromechanickým meničom ultrazvukových vibrácií a ktoré sú opísané napríklad v spise DE-C-20 27 533. Nevýhoda tohto riešenia spočíva v tom, že výsledkom nutného usporiadania tohto ústrojenstva ako rezonátora závislého od dĺžky akustických vln je v podstate značne nevýhodný konštrukčný návrh akustického ožarovania a nutnosť vynechať chladenie.

Zo stavu techniky, opísaného v rade ďalších opisov vynálezov, sú známe ešte iné vyhotovenia synotródy, ktoré sú vhodné na akustické ožarovanie spracúvaných materiálov. Základným nedostatkom týchto procesov a usporiadaní je však neuspokojivý stupeň dosiahnutého rozrušenia buniek, dosahujúceho maximálne 60 %, čo je spôsobené tým, že sa nepoužívajú žiadne prostriedky podporujúce účinok ultrazvukových vibrácií a nie sú vytvorené predpoklady na vhodný konštrukčný návrh akustického vyžarovacieho priestoru.

Na odstránenie týchto nedostatkov sa v DD-PS 284 131 odporúča využiť takzvané aktivátory ultrazvukových vibrácií, vytvorené napríklad vo forme teliesok vyrobených z materiálu, v ktorom sa netvorí dutina a ktorý je schopný odrážať zvukové vlny, napríklad z tvrdej keramiky. Tieto telieska zaberajú pomerne veľkú časť akustického vyžarovacieho priestoru a tým znižujú kapacitu vnútorného priestoru, ktorý sa môže využiť na vyplnenie látkou spracúvanou ultrazvukovými vibráciami. Okrem toho v praxi je možné v takýchto známych zariadeniach spracúvať len také látky, ktoré majú koncentráciu

pevných zložiek v hmotnostných množstvách najviac 19 %. Ďalšou nevýhodou tejto známej metódy je nevyhnutné použitie guľového akustického ožarovacieho priestoru, v strede ktorého je umiestnený radiačný povrch synotródy.

Úlohou vynálezu je prekonať obmedzenie týkajúce sa koncentrácie pevných látok v materiáli spracúvanom ultrazvukovými vibráciami a charakteristickými znakmi priestoru, v ktorom dochádza k vyžarovaniu akustickej energie, pričom sa má vyriešiť tiež vhodné usporiadanie synotródy so zreteľom na povahu akustického iradiačného priestoru a umiestnenie synotródy, umožňujúcej akustický iradiačný proces, ktorým by sa dosiahlo optimálne rozrušovanie bunkovej štruktúry pri koncentrácii pevnej látky v hmotnostnom množstve až do 65 % v prietokovej bunke bez aktivačných teliesok.

Podstata vynálezu

Táto úloha je vyriešená spôsobom dezintegrácie bunkových disperzií alebo suspenzií pomocou ultrazvukových vibrácií na izoláciu základných bunkových zložiek, ktorého podstata spočíva v tom, že do prietokovej nádoby sa zasunie synotróda jednou polovicou až dvomi tretinami svojej dĺžky a uhol synotródy v akustickej ožarovacej nádobe sa nastaví v uhle od 80,5° do 88,5°, pomer dĺžky zasunutia synotródy v milimetroch k objemu akustického ožarovacieho priestoru v milimetroch sa nastaví od 1:1,1 do 1:20 a pomer dĺžky zasunutia synotródy v milimetroch k podielu pevných látok v materiáli spracúvanom ultrazvukom v hmotnostných množstvách je v rozsahu od 1:0,02 do 1:2,2.

Vo výhodnom uskutočnení spôsobu podľa vynálezu sa na spracúvaný materiál pôsobí ultrazvukovými kmitmi s amplitúdou v rozsahu od 20 do 70, pričom synotróda sa nastaví v uhle 85,3°.

Podľa iného výhodného uskutočnenia vynálezu je koncentrácia pevných látok v materiáli spracúvaného ultrazvukovými vibráciami v hmotnostných množstvách od 0,5 do 65 %.

Pri praktickom používaní tohto spôsobu sa neobjavili žiadne ťažkosti, pretože vodná disperzia alebo suspenzia bunkového materiálu vo vode sa čerpá pomocou čerpadla chladenou prietokovou nádobou, v ktorej je usporiadaná synotróda, ktorá zasahuje do tejto nádoby v určitej dĺžke a ktorá sa v priebehu uskutočnenia spôsobu podľa vynálezu predbežne nastavuje vzhľadom na príslušný objem ožarovacieho priestoru.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Vynález bude podrobnejšie objasnený pomocou príkladov vyhotovenia uvedených v nasledujúcej časti opisu.

Príklad 1

Spôsob rozrušovania bunkových disperzií alebo suspenzií spôsobom podľa vynálezu sa v prvom príklade realizoval na kvasinkách, najmä na pekárskych kvasniciach, pivovarských kvasniciach, vinárskych kvasinkách a špeciálnych kvasinkách, napríklad na kvasinkách obohatených hyperoxidovou dismutázou SOD a inými látkami.

Zloženie

Pracovná zmes obsahovala v hmotnostných množstvách

nasledujúce zložky:

23,5 % kvasníc, napríklad pekárskoho droždia
10,5 % glycerínu
5,5 % propylénglykolu
zvyšok tvorí destilovaná voda podľa potreby.

Príprava:

Najprv sa do nádoby naleje destilovaná voda, následne sa miešaním vo vode dispergujú kvasnice a nakoniec sa do suspenzie pridá glycerín a propylénglykol.

Rozrušovanie buniek:

Homogénna suspenzia kvasiniek sa potom vedie pomocou čerpadla prietokovou nádobou a v tejto prietokovej nádobe je vystavená pôsobeniu ultrazvukových vibrácií. Tým sa dosiahne opatrné rozrušenie stien buniek, ktoré umožnia izolovať aktívne zložky buniek, napríklad proteíny, najmä Zn + Cu hyperoxidovú dismutázu, vitamíny, najmä komplex vitamínov B a vitamíny A a E.

Parametre

amplitúda vibrácií	55
uhol synotródy	83,5°
časová jednotka (rýchlosť prietoku)	1 l/hod
celkový objem prietokovej nádoby	550 ml
dĺžka synotródy v nádobe	30 mm
podiel pevných látok v hmotnostnom množstve	23,5 %
stupeň rozrušenia buniek	95-99 %

V tomto prípade platí vzťah:

dĺžka synotródy: objem: podiel pevných látok =
= 1 : 18 : 0,8.

Celková dĺžka synotródy je 50 mm. Pomer dĺžky synotródy v nádobe k jej celkovej dĺžke je preto 0,6.

Príklad 2

Rozrušovanie kôry stromu „Mexican skin tree“

Zmes v tomto príklade obsahovala v hmotnostných množstvách

35,0 % kôry v práškovom stave
5,0 % glycerínu
5,0 % propylénglykolu
zvyšok tvorí podľa potreby destilovaná voda.

Príprava

Zmes sa pripravuje pri teplote najviac 15 °C. Najprv sa do nádoby privedie destilovaná voda, následne sa vo vode disperguje miešaním prášková kôra a nakoniec sa do suspenzie pridá glycerín a propylénglykol.

Rozrušovanie práškoveho materiálu z kôry

Za stáleho miešania sa pripravená suspenzia prečerpáva do prietokovej nádoby, v ktorej sa vystaví pôsobeniu ultrazvukových vibrácií.

Parametre:

amplitúda vibrácií	65
uhol synotródy	87,0°
časová jednotka (rýchlosť prietoku)	0,5 l/hod.
dĺžka synotródy v nádobe	33,2 mm
celkový objem prietokovej nádoby	650 ml
podiel pevných látok v hmotnostnom množstve	35,0 %
stupeň rozrušenia buniek	96 % bun- kových zložiek, s antimetodickým, cytostatickým úči- nom.

V tomto prípade platí vzťah:

dĺžka synotródy: objem: podiel pevných látok =
= 1 : 19 : 1.

Celková dĺžka synotródy je 50 mm. Pomer dĺžky synotródy v nádobe k jej celkovej dĺžke je preto 0,664.

Príklad 3

Rozrušovanie rias všetkých druhov:

-napríklad zelených rias

Zmes v tomto príklade obsahovala v hmotnostných množstvách

65,0 % rias, napríklad zelených rias
5,0 % glycerínu

zvyšok podľa potreby tvorí destilovaná voda.

Príprava

Zmes sa pripravuje pri teplote od 7 do 10 °C. Najprv sa do nádoby pridá destilovaná voda, následne sa k vode pridajú riasy, napríklad zelené riasy pri súčasnom miešaní a nakoniec sa v suspenzii homogénne rozptýli glycerín.

Rozrušovanie rias

Za stáleho miešania sa pripravená suspenzia rias prečerpáva do prietokovej nádoby, v ktorej sa riasy rozrušujú pôsobením ultrazvukových vibrácií v akustickom radiačnom priestore. Maximálna teplota je 10 °C.

Parametre:

amplitúda vibrácií	60
uhol synotródy	83,8°
časová jednotka (rýchlosť prietoku)	1 l/hod.
dĺžka synotródy v nádobe	29,5 mm
celkový objem prietokovej nádoby	100 ml
podiel pevných látok v hmotnostnom množstve	65,0 %
stupeň rozrušenia buniek	98,5 %

V tomto prípade platí vzťah:

dĺžka synotródy: objem: podiel pevných látok =
= 1 : 3,4 : 2,2.

Celková dĺžka synotródy je 50 mm. Pomer dĺžky synotródy v nádobe k jej celkovej dĺžke je preto 0,59.

Príklad 4

Rozrušovanie baktérií:

- napríklad *Acinetobacter calcoaceticus*

Zmes v tomto príklade obsahovala v hmotnostných množstvách

45,0 % baktérií, napríklad *Acinetobacter calcoaceticus*
3,0 % glycerínu
2,0 % propylénglykolu
zvyšok tvorí podľa potreby destilovaná voda.

Príprava

Zmes sa pripravuje pri teplote od 3 do 5 °C. Najprv sa do nádoby privedie destilovaná voda, následne sa pri súčasnom miešaní pridávajú postupne glycerín, propylénglykol a baktérie.

Rozrušovanie baktérií

Pripravená homogénna suspenzia s obsahom baktérií sa prečerpáva do prietokovej nádoby, v ktorej sa baktérie vystavia pôsobeniu ultrazvukových vibrácií.

Parametre:

amplitúda vibrácií	45
uhol synotródy	84,9°

SK 278575 B6

časová jednotka (rýchlosť prietoku)	1 l/hod.	
celkový objem prietokovej nádoby	50 ml	
dĺžka synotródy v nádobe	30,9 mm	
podiel pevných látok v hmotnostnom množstve	45,0 %	5
stupeň rozrušenia buniek	99,5 %	

V tomto prípade platí vzťah:

$$\text{dĺžka synotródy} : \text{objem} : \text{podiel pevných látok} = 1 : 1,6 : 1,5.$$

Celková dĺžka synotródy je 50 mm. Pomer dĺžky synotródy v nádobe k jej celkovej dĺžke je preto 0,618.

Príklad 5

Rozrušovanie semien a zrn:

-napríklad ľanových semien 15

Zmes v tomto príklade obsahovala v hmotnostných množstvách

0,5 % ľanových semien

10,0 % propylénglykolu

zvyšok tvorí podľa potreby destilovaná voda 20

Príprava

Zmes sa pripravuje pri teplote do 15 °C. Ľanové semená sa pridávajú za stáleho miešania do zmesi vody a propylénglykolu.

25

Rozrušovanie semien

Pripravená suspenzia ľanových semien sa prečerpáva do nádoby upravenej na pôsobenie ultrazvukových vibrácií na spracúvaný materiál a semená sa rozrušujú vibráciami s nasledujúcimi parametrami:

30

Parametre:

amplitúda vibrácií	55	
uhol synotródy	80,0°	
časová jednotka (rýchlosť prietoku)	0,5 l/hod.	35
celkový objem prietokovej nádoby	100 ml	
dĺžka synotródy v nádobe	25,0 mm	
podiel pevných látok v hmotnostnom množstve	0,5 %	
stupeň rozrušenia buniek	85-87 %	40

V tomto prípade platí vzťah:

$$\text{dĺžka synotródy} : \text{objem} : \text{podiel pevných látok} = 1 : 4,35 : 0,02.$$

Celková dĺžka synotródy je 50 mm. Pomer dĺžky synotródy v nádobe k jej celkovej dĺžke je preto 0,5.

45

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Spôsob dezintegrácie bunkových disperzií alebo bunkových suspenzií pomocou ultrazvukového spracovania v ultrazvukovej prietokovej vibračnej nádobke na získanie bunkových zložiek, **v y z n a ě u j ť c i s a t ý m**, že do prietokovej nádobky sa zasunie synotróda jednou polovicou až dvomi tretinami svojej dĺžky a uhol synotródy v akustickej ožarovacej nádobke sa nastaví od 80,5° do 88,5°, pomer dĺžky zasunutia synotródy v milimetroch k objemu akustického ožarovacieho priestoru v mililitroch sa nastaví v rozsahu od 1 : 1,1 do 1 : 20 a pomer dĺžky zasunutia synotródy v milimetroch k podielu pevných látok v materiáli spracovávanom ultrazvukom sa v hmotnostných množstvách nastaví v rozsahu od 1 : 0,02 do 1 : 2,2.

65

2. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a ě u j ť c i s a t ý m**, že na spracovávaný materiál sa pôsobí ultrazvukovými kmitmi s amplitúdou v rozsahu od 20 do 70.

3. Spôsob podľa nároku 1 a 2, **v y z n a ě u j ť c i s a t ý m** že synotróda sa nastaví v uhle 85,3°.

4. Spôsob podľa nároku 1 až 3, **v y z n a ě u j ť c i s a t ý m**, že v materiáli spracovávanom ultrazvukovými vibráciami je koncentrácia pevných látok v hmotnostných množstvách v rozsahu od 0,5 do 65 %.

Koniec dokumentu