

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

64098

Patent dodatkowy
do patentu

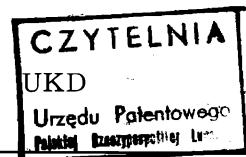
Zgłoszono: 25.X.1967 (P 123 227)

Pierwszeństwo:

Opublikowano: 20.XII.1971

Kl. 12 q, 6/01

MKP C 07 c,
101/00



Współtwórcy wynalazku: Janusz Lindeman, Mieczysław Gostomczyk,
Wiesław Józefowicz, Stanisław Machowski, Je-
rzy Grelewicz, Jerzy Szczerbiński

Właściciel patentu: Spółdzielnia Pracy Chemików XENON, Łódź (Polska)

Sposób otrzymywania aminokwasów z hydrolizatów białkowych

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania aminokwasów z hydrolizatów białkowych jak np. z kazeiny, glutenu lub galalitu.

Znane sposoby otrzymywania aminokwasów z surowców białkowych polegają na hydrolizie kwaśnej lub zasadowej. Do hydrolizy najczęściej używa się kwasu solnego o różnych stężeniach od 20% do 36%.

Według znanych sposobów z tak otrzymanego hydrolizatu otrzymuje się głównie kwas glutaminowy. Pozostałe aminokwasy można wydzielać z zasolonych hydrolizatów w określonych warunkach pH i stężenia w postaci soli metali ciężkich należących do I i II grupy układu okresowego pierwiastków (Ag, Cu, Hg), jak i przy stosowaniu szeregu odczynników organicznych takich jak kwas pikrolonowy, kwas β -naftalenowy, kwas flawianowy w kombinacji z solą Reinecke, kwas 3,4-dwuchlorobenzenosulfonowy itp. Metody te są jednak bardzo kosztowne i charakteryzują się niską wydajnością wskutek zasolenia hydrolizatów.

Znane są też próby zastosowania elektrodializy do usuwania elektrolitu z roztworów hydrolizatów białkowych, w wyniku prowadzenia elektrodializy w klasycznym układzie trzy lub wielokomorowym, przez na przemian umieszczone selektywne membrany (przepuszczalne tylko dla jonów tego samego znaku) kationo- i aniono-wymienne. Schemat tego procesu przedstawiono na fig. 2.

Jak wiadomo aminokwasy w zależności od pH

2

środowiska, w jakim się znajdują, mogą występować w formie kationu, anionu lub też jonu obojnego, przy czym ruchliwość i rozpuszczalność tej ostatniej formy jest najmniejsza. Po przyłożeniu napięcia do zacisków elektrod zajdą następujące procesy w komorze 3, która wypełniona jest roztworem hydrolizatu białkowego.

W początkowej fazie procesu przy pH = 1 przez membranę anionowymienną A_2 do komory 4 przenoszone będą z komory 3 aniony X^- . Równocześnie do komory 2 poprzez membranę K_1 będą przenoszone z komory 3 kationy Me^+ , H^+ i kationy wszystkich zawartych w komorze 3 aminokwasów. W wyniku powyższego procesu w komorze 3 maleje stężenie elektrolitów MeX i HX , wzrasta pH roztworu i zmniejsza się stężenie aminokwasów, z których po wzroście pH powyżej 2,77 kwas asparaginowy, a przy pH powyżej 3,22 kwas glutaminowy, są przenoszone do komory 4 przez membranę A_2 w formie anionów.

Końcowym efektem tego procesu jest pozbawiony elektrolitu roztwór aminokwasów w komorze 3 oraz zawierające nieco większe stężenie elektrolitu, aniżeli poddany elektrodializie hydrolizat w komorze 3, roztwory aminokwasów w komorach 2 i 4. Roztwór aminokwasów z komory 3 po prowadzonej w ten sposób elektrodializie pozbawiony jest znacznej części aminokwasów kwaśnych (kwas asparaginowy i glutaminowy) oraz aminokwasów zasadowych (histydyna, lizyna i arginina).

Znane są też próby zastosowania w przedstawionym na fig. 2 procesie w miejsce membran K_1 i A_2 takich membran aniono- i kationo-wymennych, które byłyby przepuszczalne tylko dla małych anionów lub kationów elektrolitu, a zatrzymywałyby większe aniony i kationy aminokwasu. Przeprowadzone próby na preparowanych lub specjalnie do tego celu syntetyzowanych membranach o odpowiednio małych porach wykazały, że na tej drodze można uzyskać wyższe współczynniki rozdziału, ale wraz ze zmniejszeniem się wielkości por membran maleje jej przewodnictwo elektryczne, co z kolei prowadzi do większego zużycia energii na jednostkę odsalanego hydrolizatu białkowego.

Istnieje poza tym możliwość blokowania por membran przez przenoszone przez nią większe aniony lub kationy, a poza tym koszt wytwarzania membran o określonej wielkości por jest znacznie większy niż standartowych membran jono-wymennych.

Opisane metody prowadziły w efekcie do otrzymania odsolonej mieszaniny aminokwasów z wydajnością zależną od rodzaju stosowanych membran jono-wymennych. Wydajność ta przy stosowaniu membran standartowych (Permaplex, Amfion) wynosiła około 60%, a przy stosowaniu membran preparowanych lub syntetyzowanych o porach nieco większych od średnic jonów Cl^- i Na^+ osiągała około 80%, przy czym ten ostatni proces prowadzono tylko w skali laboratoryjnej.

Istotnymi wadami omawianych sposobów elektrodializy poprzez na przemian umieszczone selektywne membrany aniono- i kationo-wymienne są straty aminokwasów w wyniku przenoszenia jonów aminokwasów wraz z jonami elektrolitu do sąsiednich komór zatażających, co znacznie obniża wydajność procesu i stwarza konieczność zagospodarowania roztworów aminokwasów zawierających elektrolit o stężeniu zbliżonym do wyjściowego stężenia w poddawanym elektrodializie roztworze hydrolizatu białkowego.

Sposób według wynalazku usuwa powyższe niedogodności i pozwala na otrzymanie pozbawionego elektrolitu roztworu aminokwasów na znacznie prostszej drodze technologicznej i przy minimalnych stratach poddawanego elektrodializie hydrolizatu białkowego. Znane schematy elektrodializy polegają na jednoczesnym usuwaniu kationów i anionów z roztworu aminokwasów.

Sposób według wynalazku polega na usuwaniu na drodze wymiany poprzez selektywną membranę aniono-wymienną tylko anionu kwasu użytego do hydrolizy białka, przy jednoczesnym zobojętnianiu kationów wodorowych strumieniem jonów wodorotlenowych, które poprzez selektywną membranę aniono-wymienną wprowadzane są pod wpływem przyłożonego do zacisków elektrod napięcia do komory wypełnionej roztworem kwaśnego hydrolizatu białkowego.

Do prowadzenia procesu w powyższy sposób można stosować wszystkie produkowane obecnie selektywne membrany aniono-wymienne, przy czym o ich przydatności nie decyduje wielkość por lecz dobre przewodnictwo elektryczne, odporność na kwasy i zasady, odpowiednia wytrzymałość me-

chaniczna oraz selektywne przenoszenie wyłącznie anionów.

W warunkach prowadzonego sposobem według wynalazku procesu, aminokwasy, znajdujące się w komorze elektrodializera w roztworze użytego do hydrolizy białka kwasu, występują w formie kationów, nie mogą więc przeniknąć do komór sąsiednich przez nieprzepuszczalne dla nich selektywne membrany aniono-wymienne. Nie następuje zatem zmniejszenie ilości aminokwasów w komorze elektrodializera, za wyjątkiem kwasów asparaginowego i glutaminowego, które to w wyniku rosnącego w czasie elektrodializy pH roztworu aminokwasów przechodzą powyżej swoich punktów izoelektrycznych (2,77 i 3,22 odpowiednio) w formę anionów i mogą opuścić komorę elektrodializera wraz z anionami użytego do hydrolizy kwasu.

Malejąca jednak rozpuszczalność tych aminokwasów wraz ze spadkiem stężenia elektrolitu, powoduje, że w granicach pH = 2,6—3,3 wytrącają się one w formie osadu i mogą być wyizolowane z roztworu znajdującego się w komorze elektrodializera. Pozostałe aminokwasy do pH około 6 występują w formie kationów i w związku z tym nie mogą opuścić komory elektrodializera, której ściany stanowią dwie selektywne membrany aniono-wymienne.

Prowadząc proces sposobem według wynalazku, można doprowadzić do dowolnego pH hydrolizatu, a co za tym idzie spowodować wytrącenia się aminokwasów w punktach izoelektrycznych.

Według wynalazku hydrolizat umieszcza się w środkowej komorze aparatu do elektrodializy według schematu pokazanego na fig. 1. Fig. 1 przedstawia schemat działania proponowanego elektrodializera. Pod wpływem prądu elektrycznego o gęstości 0,5 mA/cm²—500 mA/cm² powierzchni membrany, aniony OH^- z komory 1 przechodzą poprzez membranę anionitową 4, charakteryzującą się tym, że łatwo przepuszcza ona aniony, a nie przepuszcza kationów, do komory 2, gdzie aniony OH^- są zobojętniane przez kationy H^+ , tworząc wodę. Jednocześnie aniony X^- kwasu zastosowanego do hydrolizowania substancji białkowych z komory 2 przechodzą przez membranę 5 do komory 3, gdzie tworzą sól $Me X$ ze znajdującymi się w komorze 3 jonami metalu alkalicznego.

Hydrolizat poddaje się działaniu prądu elektrycznego w komorze 2 tak długo, aż osiągnie się żądane pH i odpowiednie zmniejszenie stężenia anionu X^- . Elektrodializę prowadzić można w sposób statyczny lub w warunkach przepływu cieczy przez komory 1, 2, 3 przy szybkości liniowej do 20 m/sek., w temperaturze od 0°C do 60°C. Otrzymany w wyniku tego działania w komorze 2 osad aminokwasów można odsączyć lub odwirować, lub też prowadzić proces dalej, aż do całkowitego usunięcia anionu X^- z hydrolizatu. W zależności od obranej drogi, można sposobem według wynalazku uzyskiwać bezpośrednio z hydrolizatu białkowego zawarte w nim aminokwasy, przez kolejne oddzielanie wypadających osadów, lub też otrzymać mieszaninę aminokwasów pozbawioną prawie cał-

kowiecie związków nieorganicznych, utrudniających wyodrębnianie wolnych aminokwasów.

Przy prowadzeniu elektrodializy w sposób statyczny wydzielający się osad aminokwasów zbiera się w osadnikach umieszczonych w dolnej części komory 2, natomiast przy przepływie roztworu dozuje się do dolnej części komór 1, 2 i 3, przy czym poniżej doprowadzenia roztworu do komory 2 znajduje się osadnik, w którym zbiera się wytrącający się w czasie elektrodializy osad aminokwasów. Część osadu znajduje się też w wypływającym z górnej części komory 2 roztworze, który przed ponownym zawróceniem do komory 2 podaje się na nuczce próżniowej.

Przykład I. W środkowej komorze aparatu do elektrodializy umieszczono 1000 g hydrolizatu kazeinowego zawierającego 25 g lizyny, 7,5 g argininy, 7,5 g histydyny, 9 g glicyny, 70 g kwasu glutaminowego, 9 g alaniny, 60 g proliny, 7,5 g tyrozyny, 8 g waliny, 8 g leucyny oraz 195 g HCl.

W komorach elektrodowych umieszczono po 5 litrów 10% NaOH w każdej. Powierzchnia czynna użytych membran anionitowych Permaplex A-20 wynosiła 4000 cm². Stosowano prąd o gęstości 4 mA/cm². Całkowity czas usunięcia 193 g HCl z komory środkowej wynosił 10 godzin, a końcowe pH = 6,2. Następnie roztwór z komory środkowej przeniesiono do kolby o pojemności 2000 ml i poddano destylacji próżniowej w temperaturze 70°C, aż do całkowitego usunięcia wody, a następnie suszono w suszarce próżniowej w temperaturze 80°C przez 6 godzin. Otrzymano 182,5 g mieszaniny aminokwasów zawierających 0,97% Cl⁻.

Przykład II. Przez środkową komorę aparatu do elektrodializy przetłaczano z szybkością 1 m/sek. 1000 g hydrolizatu kazeinowego o składzie jak w przykładzie I w tych samych warunkach jak w przykładzie poprzednim. Po 2 godzinach elektrodializy zaczął wytrącać się osad przy pH = 1,6. Elektrodializę prowadzono dalej, po 3 go-

dzinach wyłączono prąd i odsączono osad, który następnie wysuszono w suszarce próżniowej, zważono i poddano analizie. pH roztworu wynosiło 2,0. Ciężar osadu 8 g, w tym tyrozyny 7,2 g, kwasu glutaminowego 0,15 g, leucyny 0,12 g, glicyny 0,14 g, jonu Cl⁻ 0,39 g.

Przesącz poddano ponownie elektrodializie przez następne 3 godziny aż do pH = 3,2 i ponownie odsączono osad, z którym postępowano podobnie jak poprzednio. Otrzymano 64,2 g aminokwasów, w tym 63,5 g kwasu glutaminowego i 0,6 g jonu Cl⁻. Pozostały przesącz poddano dalszej elektrodializie przez 4 godziny (końcowe pH = 6,2), a następnie odwodniono i wysuszono jak poprzednio. Otrzymano 115,3 g mieszaniny aminokwasów o zawartości jonu Cl⁻ 1,12%.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób otrzymywania aminokwasów z hydrolizatów białkowych na drodze elektrodializy przez selektywne membrany jonowymienne, **znamienny tym**, że elektrodializę prowadzi się w elektrodializerze zaopatrzonym w dwie membrany anionitowe przepuszczające w warunkach procesu wyłącznie jony OH⁻ i aniony X⁻ kwasu zastosowanego do hydrolizowania substancji białkowych, przy czym hydrolizat białkowy wprowadza się do przestrzeni zawartej między membranami, a do przestrzeni anodowej i katodowej zawartej między membranami i odpowiednimi elektrodami wprowadza się roztwory wodorotlenków metali alkalicznych i proces elektrodializy prowadzi się w warunkach statycznych lub w przepływie przy gęstości prądowej 0,5—500 mA/cm² powierzchni membrany, w temperaturze 0—60°C, zaś wytrącające się kolejno oczyszczone aminokwasy odprowadza się w sposób ciągły lub periodyczny z przestrzeni zawartej między membranami.

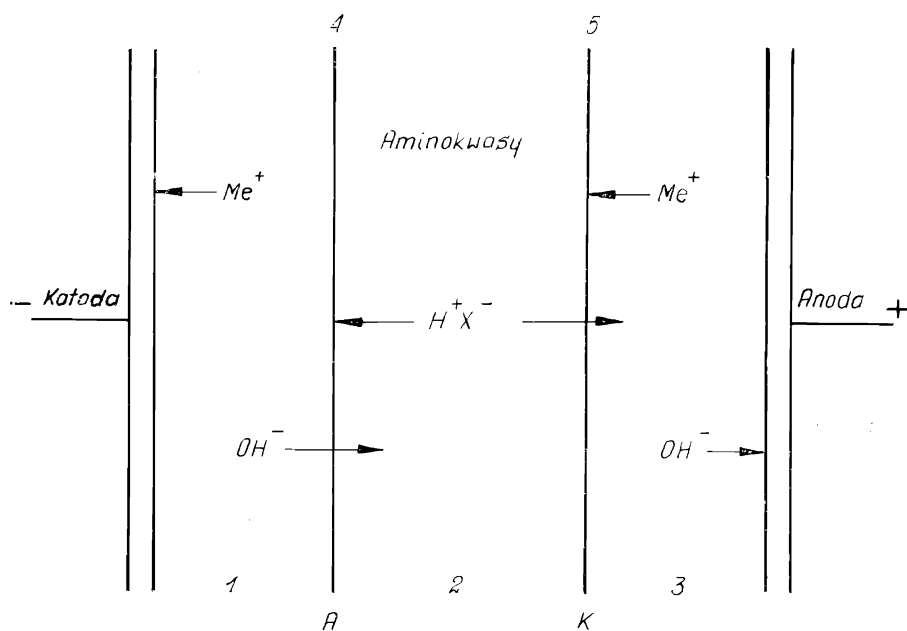


Fig 1

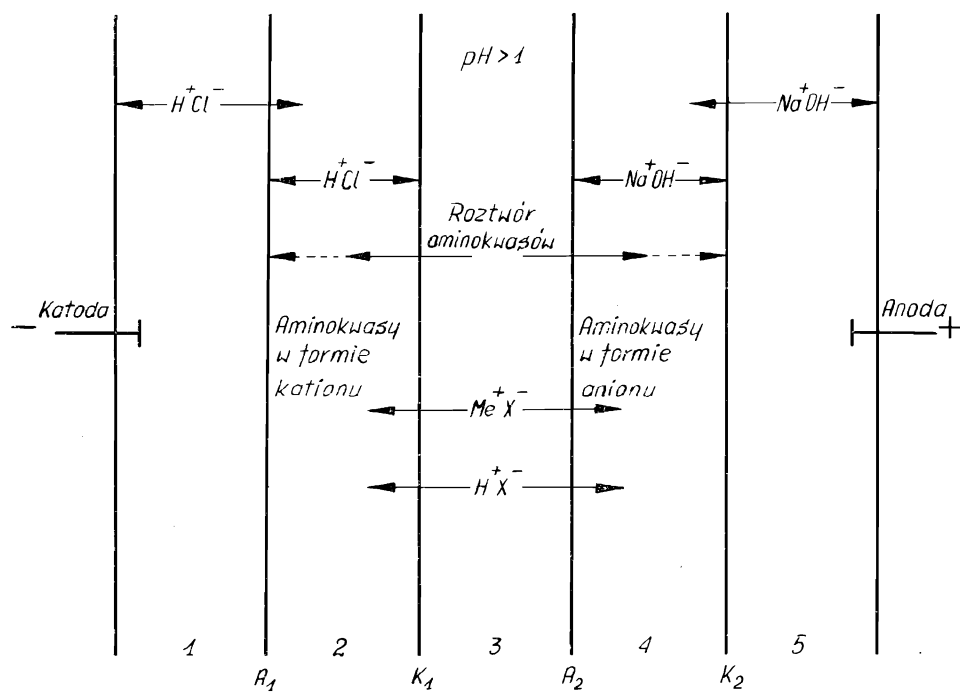


Fig 2