



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118900910 A

(43) 申请公布日 2024. 11. 05

(21) 申请号 202380028298.4

(22) 申请日 2023.03.29

(30) 优先权数据

2022-056103 2022.03.30 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.09.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2023/012814 2023.03.29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/190689 JA 2023.10.05

(71) 申请人 富士胶片株式会社

地址 日本

(72) 发明人 下野胜弘

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

专利代理师 周欣

(51) Int.Cl.

C12N 1/00 (2006.01)

权利要求书1页 说明书14页

(54) 发明名称

混合粉体的制造方法、混合粉体、粉体及粉体培养基

(57) 摘要

本发明的课题在于提供一种粉体的制造方法、上述粉体及含有上述粉体的粉体培养基,该粉体的制造方法用于得到关于难溶性的胱氨酸,溶解性优异且溶解于水时的液性成为中性(pH6.0~8.5)的粉体。本发明的混合粉体的制造方法具备如下工序:溶解工序,通过使胱氨酸和作为选自色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种的特定成分溶解于溶剂中,得到含有胱氨酸和上述特定成分的溶液;及粉体化工序,通过对上述溶液进行干燥,得到胱氨酸和上述特定成分的混合粉体。

1. 一种混合粉体的制造方法,其具备如下工序:

溶解工序,通过使胱氨酸和作为选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种的特定成分溶解于溶剂中,得到含有胱氨酸和所述特定成分的溶液;及

粉体化工序,通过对所述溶液进行干燥,得到胱氨酸和所述特定成分的混合粉体。

2. 根据权利要求1所述的混合粉体的制造方法,其中,

在所述溶解工序中,溶解中使用加热和/或碱。

3. 根据权利要求1所述的混合粉体的制造方法,其中,

在所述溶解工序中,溶解中使用加热。

4. 根据权利要求1所述的混合粉体的制造方法,其中,

所述粉体化工序是通过喷雾干燥来对所述溶液进行干燥的工序和/或通过加热及减压来对所述溶液进行干燥的工序。

5. 根据权利要求1所述的混合粉体的制造方法,其中,

在所述溶解工序中,所述特定成分相对于胱氨酸的混合比以质量比计为1~10。

6. 一种混合粉体,其通过权利要求1所述的混合粉体的制造方法来制造。

7. 一种混合粉体,其为胱氨酸和作为选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种的特定成分的混合粉体,其中,

在15~25℃下在水中溶解7分钟时,所得溶液的pH为6.0~8.5,所得溶液中的胱氨酸浓度为0.12g/L以上。

8. 一种粉体,其为含有胱氨酸和作为选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种的特定成分的粉体,其中,

在水中溶解时满足以下条件,以使在15~25℃下全部溶解时胱氨酸的最终浓度成为0.14g/L以上,

条件:将添加用于达到最终浓度的水量的水的时间设为0分钟,经过7分钟后取出,用0.2μm过滤器过滤后的液体的pH为8.5以下,所含的胱氨酸为0.12g/L以上的浓度。

9. 一种粉体培养基,其包含权利要求6至8中任一项所述的混合粉体或粉体。

混合粉体的制造方法、混合粉体、粉体及粉体培养基

技术领域

[0001] 本发明涉及一种混合粉体的制造方法、混合粉体、粉体及粉体培养基。

背景技术

[0002] 以往,为了提高难溶性培养基的溶解性,提出了与其他成分一起制备水溶液后进行冷冻干燥的方法(专利文献1)。

[0003] 以往技术文献

[0004] 专利文献

[0005] 专利文献1:日本特表2018-521682号公报

发明内容

[0006] 发明要解决的技术课题

[0007] 其中,本发明人参考专利文献1,对难溶性的胱氨酸制备与其他成分(以下,也称为“第2成分”)的水溶液后进行了冷冻干燥,结果明确了根据第2成分的种类,所得混合粉体的溶解性不充分。并且,明确了根据第2成分的种类,将所得混合粉体溶解于水时的液性成为碱性。如果液性成为碱性,则培养基中存在维生素等成分时可能会分解,因此存在问题。

[0008] 因此,鉴于上述实际情况,本发明的目的在于提供一种粉体的制造方法、上述粉体及含有上述粉体的粉体培养基,该粉体的制造方法用于得到关于难溶性的胱氨酸,溶解性优异且溶解于水时的液性成为中性(pH6.0~8.5)的粉体。

[0009] 用于解决技术课题的手段

[0010] 本发明人对上述课题进行了深入研究,结果发现通过使用选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种成分作为第2成分能够解决上述课题,从而完成了本发明。

[0011] 即,本发明人发现通过以下结构能够解决上述课题。

[0012] (1)一种混合粉体的制造方法,其具备如下工序:溶解工序,通过使胱氨酸和作为选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中至少一种的特定成分溶解于溶剂中,得到含有胱氨酸和上述特定成分的溶液;及粉体化工序,通过对上述溶液进行干燥,得到胱氨酸和上述特定成分的混合粉体。

[0013] (2)根据上述(1)所述的混合粉体的制造方法,其中,在上述溶解工序中,溶解中使用加热和/或碱。

[0014] (3)根据上述(1)或(2)所述的混合粉体的制造方法,其中,在上述溶解工序中,溶解中使用加热。

[0015] (4)根据上述(1)至(3)中任一项所述的混合粉体的制造方法,其中,上述粉体化工序是通过喷雾干燥来对上述溶液进行干燥的工序和/或通过加热及减压来对上述溶液进行干燥的工序。

[0016] (5)根据上述(1)至(4)中任一项所述的混合粉体的制造方法,其中,在上述溶解工序中,上述特定成分相对于胱氨酸的混合比以质量比计为1~10。

[0017] (6) 一种混合粉体,其通过上述(1)至(5)中任一项所述的混合粉体的制造方法来制造。

[0018] (7) 一种混合粉体,其为胱氨酸和作为选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种的特定成分的混合粉体,其中,在15~25℃下在水中溶解7分钟时,所得溶液的pH为6.0~8.5,所得溶液中的胱氨酸浓度为0.12g/L以上。

[0019] (8) 一种粉体,其为含有胱氨酸和作为选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种的特定成分的粉体,其中,在水中溶解时满足以下条件,以使在15~25℃下全部溶解时胱氨酸的最终浓度成为0.14g/L以上。

[0020] 条件:将添加用于达到最终浓度的水量的水的时间设为0分钟,经过7分钟后取出,用0.2μm过滤器过滤后的液体的pH为8.5以下,所含的胱氨酸为0.12g/L以上的浓度。

[0021] (9) 一种粉体培养基,其包含上述(6)至(8)中任一项所述的混合粉体或粉体。

[0022] 发明效果

[0023] 如下所示,根据本发明,能够提供一种粉体的制造方法、上述粉体及含有上述粉体的粉体培养基,该粉体的制造方法用于得到关于难溶性的胱氨酸,溶解性优异且溶解于水时的液性成为中性(pH6.0~8.5)的粉体。

具体实施方式

[0024] 以下,对本发明的混合粉体的制造方法及本发明的混合粉体进行说明。

[0025] 另外,在本说明书中,使用“~”表示的数值范围是指,将记载于“~”前后的数值作为下限值及上限值而包含的范围。

[0026] 并且,各成分可以单独使用1种,也可以并用2种以上。在此,在各成分并用2种以上的情况下,只要没有特别说明,该成分的含量就是指总含量。

[0027] [1]混合粉体的制造方法

[0028] 本发明的混合粉体的制造方法(以下,也简称为“本发明的制造方法”)具备如下工序:

[0029] 溶解工序,通过使胱氨酸和作为选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种的特定成分溶解于溶剂中,得到含有胱氨酸和上述特定成分的溶液;及

[0030] 粉体化工序,通过对上述溶液进行干燥,得到胱氨酸和上述特定成分的混合粉体。

[0031] 本发明的制造方法采用这种结构,因此认为能够解决上述课题。其理由尚不明确,但认为大致如下。

[0032] 作为胱氨酸的难溶性的主要因素之一,认为是胱氨酸的分子之间的疏水部的凝聚。相对于此,在本发明中,将胱氨酸和特定成分溶解于溶剂中后进行干燥,因此认为特定成分进入到胱氨酸的分子之间,抑制由胱氨酸的分子之间的凝聚而形成的疏水部,容易使溶剂(尤其是亲水性溶剂)渗透。而且,特定成分显示出优异的溶解性。因此,根据本发明,认为可以得到胱氨酸和溶解性高的特定成分在分子水平上混合而成的粉体。其结果,认为通过本发明的制造方法得到的混合粉体显示出优异的溶解性。这也可以从单纯混合胱氨酸和特定成分也不会提高溶解性这一点推测出来。

[0033] 以下,对本发明的制造方法的各工序进行说明。

[0034] [溶解工序]

[0035] 溶解工序是通过使胱氨酸和特定成分溶解于溶剂中而得到含有胱氨酸和特定成分的溶液的工序。

[0036] (胱氨酸)

[0037] 胱氨酸相对于溶剂的混合量没有特别限制,但从本发明的效果更优异的理由出发,溶解中使用加热时,优选为0.01~100g/L,更优选为0.05~10g/L,进一步优选为0.1~2g/L,溶解中使用碱时,优选为0.1~1000g/L,更优选为1~200g/L,进一步优选为10~100g/L。

[0038] (特定成分)

[0039] 特定成分是选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种。从本发明的效果更优异的理由出发,特定成分优选为苏氨酸或丝氨酸,更优选为苏氨酸。

[0040] 特定成分相对于溶剂的混合量没有特别限制,但从本发明的效果更优异的理由出发,溶解中使用加热时,优选为0.01~1000g/L,更优选为0.1~100g/L,进一步优选为1~5g/L,溶解中使用碱时,优选为1~3000g/L,更优选为10~2000g/L,进一步优选为100~1000g/L。

[0041] (混合比)

[0042] 从本发明的效果更优异的理由出发,特定成分相对于胱氨酸的混合比(特定成分的混合量/胱氨酸的混合量)以质量比计优选为0.1~100,更优选为0.5~80,进一步优选为1~60,尤其优选为2~40,最优选为5~20。另外,以下,将第2成分相对于胱氨酸的混合比(第2成分的混合量/胱氨酸的混合量)(质量比)也简称为“混合比”。

[0043] (溶剂)

[0044] 在溶解工序中使用的溶剂没有特别限制,但从本发明的效果更优异的理由出发,优选为水或亲水性溶剂,更优选为水。并且,加热时液体化即可,在室温下可以是固体。

[0045] 亲水性溶剂只要是亲水性的溶剂,就没有特别限制,作为具体例,可以举出四氢呋喃、二甲氧基乙烷、二乙二醇二甲醚、聚乙二醇二烷基醚之类的含有醚基的化合物; γ -丁内酯、 γ -戊内酯之类的含有内酯基的化合物;己内酰胺、N-甲基己内酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、N-甲基乙酰胺、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N-甲基甲酰胺、N-甲基甲酰苯胺、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、N-辛基吡咯烷酮、吡咯烷酮之类的含有酰胺或内酰胺基的化合物;环丁砜(四亚甲基砜)、二甲基亚砜(DMSO)之类的砜及亚砜;蔗糖、葡萄糖、果糖、乳糖之类的糖或糖衍生物;山梨糖醇、甘露醇之类的糖醇;2-呋喃羧酸、3-呋喃羧酸之类的呋喃衍生物;甲醇、乙二醇、甘油、二乙二醇、三乙二醇之类的醇;二甲氧基苯酚、间甲酚、邻甲酚、对甲酚、苯酚、萘酚等酚化合物。这些亲水性溶剂可以单独使用1种,并且也可以同时使用2种以上。

[0046] (溶解方法)

[0047] 将胱氨酸和特定成分溶解于溶剂的方法没有特别限制,但从本发明的效果更优异的理由出发,优选使用加热和/或碱,更优选使用加热。另外,“使用加热”表示对溶剂进行加热,“使用碱”是指在溶剂中添加碱(氢氧化钠等)。

[0048] 溶解中使用加热时的温度没有特别限制,但从本发明的效果更优异的理由出发,优选为40~300℃,优选为40~200℃,更优选为60~90℃。溶解时溶剂可以在沸点以上,成为加压下的亚临界、超临界状态。

[0049] 溶解中使用碱时,从本发明的效果更优异的理由出发,优选使溶液的pH为12以上。

并且,溶解中使用碱时,从本发明的效果更优异的理由出发,优选在溶解后使用酸(盐酸等)将pH调整为中性(中和工序)。另外,在本说明书中,中性表示pH6.0~8.5。

[0050] 使用碱溶解,然后使用酸将pH调整为中性时,所得溶液含有盐。认为溶液含有盐时,特定成分对胱氨酸的分子之间缔合的抑制稍微降低。并且,溶液含有盐时,所得混合粉体也含有盐。混合粉体含有盐时,溶解于水中时渗透压可能会上升。从这种理由出发,溶解中使用加热比使用碱更优选。

[0051] [粉体化工序]

[0052] 粉体化工序是对通过上述溶解工序得到的溶液进行干燥从而得到胱氨酸和特定成分的混合粉体工序。

[0053] [干燥方法]

[0054] 对溶液进行干燥的方法没有特别限制,作为其具体例,可以举出喷雾干燥(spray-dry)、利用加热(例如,40~80℃)及减压(例如,100mmHg以下)的干燥(例如,使用蒸发器的干燥)、冷冻干燥等。

[0055] 从所得混合粉体的均匀性高、作为结果溶解性更优异以及干燥所需时间短的方面出发,溶液的干燥方法优选除了冷冻干燥以外的干燥方法,更优选喷雾干燥和/或利用加热及减压的干燥,进一步优选喷雾干燥。

[0056] [混合粉体]

[0057] 通过本发明的制造方法得到的混合粉体作为培养基用粉体特别有用。

[0058] [2]混合粉体

[0059] 本发明的混合粉体,其为胱氨酸和作为选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种的特定成分的混合粉体,其中,在15~30℃(优选为15~25℃)下在水中溶解7分钟时,所得水溶液的pH为6.0~8.5,所得溶液中的胱氨酸浓度为0.12g/L以上。

[0060] 胱氨酸浓度优选为0.12g/L以上且0.5g/L以下,进一步优选为0.13g/L以上且0.4g/L以下,最优选为0.15g/L以上且0.3g/L以下。

[0061] 上述混合粉体优选为通过上述本发明的制造方法得到的混合粉体。

[0062] 实施例

[0063] 以下,通过实施例对本发明进一步详细地进行说明,但本发明并不限于此。

[0064] [粉体的制造]

[0065] 如下制造了各粉体。

[0066] [实施例1]

[0067] <溶解工序>

[0068] 向具备搅拌叶片的1000mL三口烧瓶中添加蒸馏水500mL、L-胱氨酸80mg(0.33mmol、FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation制)、L-色氨酸240mg(1.17mmol, FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation制),一边以300rpm(转/分钟)进行搅拌,一边在80℃下加热2小时,确认了完全溶解。这样得到了过饱和液。将所得过饱和液也称为A1。即使恢复到室温,A1也稳定了几个小时左右。

[0069] <粉体化工序>

[0070] 将在溶解工序中得到的过饱和液(A1)放入1000mL烧瓶中。然后,使用蒸发器进行加热(50~60℃)及减压(50mmHg以下)来进行了干燥。这样得到了粉体。将所得粉体也称为

CT1。

[0071] 针对CT1,使用¹H-NMR法(核磁共振法)确认了组成,结果为胱氨酸:色氨酸=1:3.5(摩尔比)的混合粉体。

[0072] (实施例2~3)

[0073] 将溶解工序中的L-色氨酸的混合量如表1中记载那样进行了变更,除此以外,按照与实施例1相同的步骤,得到了胱氨酸和色氨酸的混合粉体。

[0074] (实施例4)

[0075] 在粉体化工序中,使用小型喷雾干燥机B-290(Buchi公司制)对在溶解工序中得到的过饱和液进行了喷雾干燥,除此以外,按照与实施例1相同的步骤得到了胱氨酸和色氨酸的混合粉体。另外,在得到粉体时过饱和液不足的情况下,追加准备过饱和液使用。

[0076] (实施例5~6)

[0077] 将溶解工序中的L-色氨酸的混合量如表1中记载那样进行了变更,除此以外,按照与实施例4相同的步骤,得到了胱氨酸和色氨酸的混合粉体。

[0078] (实施例7)

[0079] 在粉体化工序中,使用冷冻干燥机FDU-12AS(AS ONE CORPORATION制)对在溶解工序中得到的过饱和液进行冷冻干燥1周以得到粉体,除此以外,按照与实施例1相同的步骤,得到了胱氨酸和色氨酸的混合粉体。

[0080] (实施例8)

[0081] 将溶解工序中的L-色氨酸的混合量如表1中记载那样进行了变更,除此以外,按照与实施例7相同的步骤,得到了胱氨酸和色氨酸的混合粉体。

[0082] (实施例9)

[0083] <溶解工序>

[0084] 向100mL烧杯中添加蒸馏水30mL、L-胱氨酸2.0g(8.32mmol,FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation制)、L-色氨酸6.0g(29.3mmol)、氢氧化钠(FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation制)4.23g,使其成为pH12以上而暂时完全溶解。然后,添加5N(当量浓度)的HCl水溶液(FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation制),将其调整到pH7~8之间。这样得到了浆液。将所得浆液也称为NA1。

[0085] <粉体化工序>

[0086] 将在溶解工序中得到的浆液(NA1)放入1000mL烧瓶中。然后,使用蒸发器进行加热(50~60℃)及减压(50mmHg以下)来进行了干燥。这样得到了粉体。将所得粉体也称为CT9。针对CT9,使用¹H-NMR法确认了组成,结果为胱氨酸:色氨酸=1:3.5(摩尔比)的混合粉体。

[0087] (实施例10~11)

[0088] 将溶解工序中的L-色氨酸的混合量如表1中记载那样进行了变更,除此以外,按照与实施例9相同的步骤,得到了胱氨酸和色氨酸的混合粉体。

[0089] (实施例12)

[0090] 在粉体化工序中,使用冷冻干燥机FDU-12AS(AS ONE CORPORATION制)对在溶解工序中得到的浆液进行冷冻干燥1周以得到粉体,除此以外,按照与实施例9相同的步骤,得到了胱氨酸和色氨酸的混合粉体。

[0091] (实施例13~14)

[0092] 将溶解工序中的L-色氨酸的混合量如表1中记载那样进行了变更,除此以外,按照与实施例12相同的步骤,得到了胱氨酸和色氨酸的混合粉体。

[0093] (实施例15~28)

[0094] 在溶解工序中,使用L-丝氨酸来代替L-色氨酸,除此以外,按照与实施例1~14相同的步骤得到了胱氨酸和丝氨酸的混合粉体。

[0095] (实施例29~42)

[0096] 在溶解工序中,使用L-苏氨酸来代替L-色氨酸,除此以外,按照与实施例1~14相同的步骤,得到了胱氨酸和苏氨酸的混合粉体。

[0097] (比较例1)

[0098] <溶解工序>

[0099] 向具备搅拌叶片的1000mL三口烧瓶中添加蒸馏水500mL、L-胱氨酸80mg (0.33mmol, FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation制),一边以300rpm进行搅拌,一边在80℃下加热2小时,确认了完全溶解。这样得到了过饱和液。将所得过饱和液也称为D1。

[0100] <粉体化工序>

[0101] 将在溶解工序中得到的过饱和液(D1)放入1000mL烧瓶中。然后,使用蒸发器进行加热(70℃)及减压(50mmHg以下)来进行了干燥。这样得到了粉体。将所得粉体也称为CH1。

[0102] (比较例2)

[0103] 将L-胱氨酸(FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation制)作为比较例2的粉体。

[0104] (比较例3)

[0105] 在溶解工序中,使用L-苯丙氨酸来代替L-色氨酸,除此以外,按照与实施例1相同的步骤得到了粉体。将所得粉体也称为CH2。

[0106] 针对CH2,使用¹H-NMR法确认了组成,结果为胱氨酸:苯丙氨酸=1:6.9(摩尔比)的混合粉体。

[0107] (比较例4)

[0108] 在溶解工序中,使用L-精氨酸来代替L-色氨酸,除此以外,按照与实施例1相同的步骤得到了粉体。将所得粉体也称为CH3。

[0109] 针对CH3,使用¹H-NMR法确认了组成,结果为胱氨酸:精氨酸=1:6.9(摩尔比)的混合粉体。

[0110] [评价]

[0111] 对所得各粉体进行了以下评价。

[0112] (溶解性)

[0113] 向100mL烧杯中加入蒸馏水30mL,用搅拌棒(Stirring bar)进行搅拌,并添加了所得粉体(25℃)。粉体的添加量如表1~3中的“添加量”一栏中所记载。将添加时间设为0分钟,按照以下评价基准,目视评价了溶解性。

[0114] 将结果示于表1~3。在实用上,优选为AA、A、B、C或D,更优选为AA、A、B或C,进一步优选为AA、A或B,尤其优选为AA或A,最优选为AA。

[0115] 另外,上述添加量是根据混合比计算的,使得溶液中的胱氨酸的量成为0.17g/L。

[0116] • AA:在30秒以内完全溶解

- [0117] • A: 在超过30秒且5分钟以内完全溶解
- [0118] • B: 在超过5分钟且10分钟以内完全溶解
- [0119] • C: 在超过10分钟且15分钟以内完全溶解
- [0120] • D: 在超过15分钟且1小时以内完全溶解
- [0121] • E: 即使超过1小时, 仍有白浊、沉淀物

[0122] (液性)

[0123] 对在溶解性的评价中得到的溶液的pH进行了评价。然后, 按照以下评价基准对液性进行了评价。将结果示于表1~3。在实用上, 优选为中性。

[0124] • 酸性: pH小于6.0

[0125] • 中性: pH6.0~8.5

[0126] • 碱性: pH超过8.5

[0127] (综合评价)

[0128] 根据溶解性及液性的评价结果, 按照以下评价基准进行了综合评价。将结果示于表1~3。

[0129] • AA: 在30秒以内完全溶解, 液性为中性。

[0130] • A: 在5分钟以内完全溶解, 液性为中性

[0131] • B: 在10分钟以内完全溶解, 液性为中性

[0132] • C: 在15分钟以内完全溶解, 液性为中性。

[0133] • D: 在1小时以内完全溶解, 液性为中性。

[0134] • E: 在1小时后仍有白浊和/或pH不为中性。

[0135]

[表1]

	溶解工序					粉体化工序				评价						
	蒸馏水 [mL]	L-脱氨酸 [mg]	第2成分		混合比 (质量比)	溶解方法	溶液		干燥方法	粉体		添加量 [mg] (脱氨酸0.17g/L)	溶解性	液性	综合评价	
			种类	混合量[mg]			简称	性状		简称	组成比 (摩尔比)					盐含有率 (%)
实施例1	500	80	L-色氨酸	240	3	加热	A1	均匀	蒸发器	CT1	3.5	0	20.4	A	中性	A
实施例2	500	80	L-色氨酸	80	1	加热	A2	均匀	蒸发器	CT2	1.2	0	10.2	B	中性	B
实施例3	500	80	L-色氨酸	800	10	加热	A3	均匀	蒸发器	CT3	11.8	0	56.1	A	中性	A
实施例4	500	80	L-色氨酸	240	3	加热	A1	均匀	喷雾干燥	CT4	3.5	0	20.4	AA	中性	AA
实施例5	500	80	L-色氨酸	61	0.76	加热	A4	均匀	喷雾干燥	CT5	0.89	0	9.0	B	中性	B
实施例6	500	80	L-色氨酸	800	10	加热	A3	均匀	喷雾干燥	CT6	11.8	0	56.1	AA	中性	AA
实施例7	500	80	L-色氨酸	240	3	加热	A1	均匀	冷冻干燥	CT7	3.5	0	20.4	B	中性	B
实施例8	500	80	L-色氨酸	80	1	加热	A2	均匀	冷冻干燥	CT8	1.2	0	10.2	B	中性	B
实施例9	30	2000	L-色氨酸	6000	3	碱	NA1	浆料	蒸发器	CT9	3.5	36	27.7	B	中性	B
实施例10	30	2000	L-色氨酸	20000	10	碱	NA2	浆料	蒸发器	CT10	11.8	45	81.3	B	中性	B
实施例11	30	2000	L-色氨酸	2000	1	碱	NA3	浆料	蒸发器	CT11	1.2	33	13.6	C	中性	C
实施例12	30	2000	L-色氨酸	6000	3	碱	NA1	浆料	冷冻干燥	CT12	3.5	37	27.9	B	中性	B
实施例13	30	2000	L-色氨酸	20000	10	碱	NA2	浆料	冷冻干燥	CT13	11.8	45	81.3	B	中性	B
实施例14	30	2000	L-色氨酸	2000	1	碱	NA3	浆料	冷冻干燥	CT14	1.2	33	13.6	C	中性	C

[0136]

[表2]

	溶解工序				粉体化工序				评价							
	蒸馏水 [mL]	L-胱氨酸 [mg]	第2成分		混合比 (质量比)	溶解方法	溶液		干燥方法	粉体			添加量 [mg] (胱氨酸0.17g/L)	溶解性	液性	综合评价
			种类	混合量[mg]			简称	性状		组成比 (摩尔比)	盐含量率(%)					
实施例15	500	80	L-丝氨酸	240	3	加热	B1	均匀	蒸发器	CS1	6.9	0	20.4	A	中性	A
实施例16	500	80	L-丝氨酸	80	1	加热	B2	均匀	蒸发器	CS2	2.3	0	10.2	B	中性	B
实施例17	500	80	L-丝氨酸	800	10	加热	B3	均匀	蒸发器	CS3	22.9	0	56.1	A	中性	A
实施例18	500	80	L-丝氨酸	240	3	加热	B1	均匀	喷雾干燥	CS4	6.9	0	20.4	AA	中性	AA
实施例19	500	80	L-丝氨酸	61	0.76	加热	B4	均匀	喷雾干燥	CS5	1.7	0	9.0	C	中性	C
实施例20	500	80	L-丝氨酸	800	10	加热	B3	均匀	喷雾干燥	CS6	22.8	0	56.1	AA	中性	AA
实施例21	500	80	L-丝氨酸	240	3	加热	B1	均匀	冷冻干燥	CS7	6.9	0	20.4	B	中性	B
实施例22	500	80	L-丝氨酸	80	1	加热	B2	均匀	冷冻干燥	CS8	2.3	0	10.2	B	中性	B
实施例23	30	2000	L-丝氨酸	6000	3	碱	NB1	浆料	蒸发器	CS9	6.9	25	25.5	B	中性	B
实施例24	30	2000	L-丝氨酸	20000	10	碱	NB2	浆料	蒸发器	CS10	22.8	35	75.7	B	中性	B
实施例25	30	2000	L-丝氨酸	2000	1	碱	NB3	浆料	蒸发器	CS11	2.3	31	13.4	C	中性	C
实施例26	30	2000	L-丝氨酸	6000	3	碱	NB1	浆料	冷冻干燥	CS12	6.9	27	25.9	B	中性	B
实施例27	30	2000	L-丝氨酸	20000	10	碱	NB2	浆料	冷冻干燥	CS13	22.8	36	76.3	B	中性	B
实施例28	30	2000	L-丝氨酸	2000	1	碱	NB3	浆料	冷冻干燥	CS14	2.3	30	13.3	C	中性	C

[0137]

[表3]

	溶解工序				粉体化工序				评价							
	蒸馏水 [mL]	第2成分		混合比 (质量比)	溶解方法	溶液		干燥方法	粉体		添加量 [mg] (胱氨酸0.17g/L)	溶解性	液性	综合评价		
		种类	混合量[mg]			简称	性状		简称	组成比 (摩尔比)					盐含有率(%)	
实施例29	500	80	L-苏氨酸	240	3	加热	C1	均匀	蒸发器	CThr1	6.1	0	20.4	A	中性	A
实施例30	500	80	L-苏氨酸	80	1	加热	C2	均匀	蒸发器	CThr2	2.0	0	10.2	B	中性	B
实施例31	500	80	L-苏氨酸	800	10	加热	C3	均匀	蒸发器	CThr3	20.1	0	56.1	A	中性	A
实施例32	500	80	L-苏氨酸	240	3	加热	C1	均匀	喷雾干燥	CThr4	6.9	0	20.4	AA	中性	AA
实施例33	500	80	L-苏氨酸	61	0.76	加热	C4	均匀	喷雾干燥	CThr5	1.5	0	9.0	C	中性	C
实施例34	500	80	L-苏氨酸	800	10	加热	C3	均匀	喷雾干燥	CThr6	20.1	0	56.1	AA	中性	AA
实施例35	500	80	L-苏氨酸	240	3	加热	C1	均匀	冷冻干燥	CThr7	6.9	0	20.4	B	中性	B
实施例36	500	80	L-苏氨酸	80	1	加热	C2	均匀	冷冻干燥	CThr8	2.3	0	10.2	B	中性	B
实施例37	30	2000	L-苏氨酸	6000	3	碱	NC1	浆料	蒸发器	CThr9	6.1	32	26.9	B	中性	B
实施例38	30	2000	L-苏氨酸	20000	10	碱	NC2	浆料	蒸发器	CThr10	20.1	40	78.5	B	中性	B
实施例39	30	2000	L-苏氨酸	2000	1	碱	NC3	浆料	蒸发器	CThr11	2.3	30	13.3	C	中性	C
实施例40	30	2000	L-苏氨酸	6000	3	碱	NC1	浆料	冷冻干燥	CThr12	6.1	31	26.7	B	中性	B
实施例41	30	2000	L-苏氨酸	20000	10	碱	NC2	浆料	冷冻干燥	CThr13	20.1	41	79.1	B	中性	B
实施例42	30	2000	L-苏氨酸	2000	1	碱	NC3	浆料	冷冻干燥	CThr14	2.0	31	13.4	C	中性	C
比较例1	500	80	-	-	-	加热	D1	均匀	蒸发器	CH1	-	0.0	5.1	E	中性	E
比较例2	-	-	-	-	-	加热	-	-	-	L-胱氨酸	-	0.0	5.1	E	中性	E
比较例3	500	80	L-苯丙氨酸	240	3	加热	D2	均匀	蒸发器	CH2	6.9	0.0	20.4	E	中性	E
比较例4	500	80	L-精氨酸	240	3	加热	D3	均匀	蒸发器	CH3	6.9	0.0	20.4	B	碱性	E

[0138] 另外,在表1~3中,粉体的“组成比(摩尔比)”表示第2成分相对于胱氨酸的组成比(摩尔比)。组成比是使用¹H-NMR法确认的。

[0139] 并且,表1~3中,粉体的“盐含有率”表示将胱氨酸和第2成分的合计设为100质量%时的盐(NaCl)的量(质量%)。

[0140] [表的总结]

[0141] 从表1~3可知,与仅使胱氨酸溶解于溶剂中来进行干燥从而得到的粉体(比较例1)、市售的胱氨酸(比较例2)以及使用苯丙氨酸来代替特定成分而得到的混合粉体(比较例3)相比,通过本发明的制造方法即实施例1~42而得到的混合粉体显示出优异的溶解性。另外,比较例1~2在4小时内也未完全溶解。比较例3几乎没有溶解。

[0142] 如表3可知,使用精氨酸来代替特定成分而得到的混合粉体(比较例4)溶解于水中的液性为碱性。并且,从实施例1、实施例15、实施例29、比较例3~4的对比(仅是第2成分的种类不同的方式之间的对比)可知,与使用特定成分以外的成分作为第2成分而得到的混合粉体(比较例3~4)相比,使用特定成分作为第2成分而得到的混合粉体(实施例1、实施例15、实施例29)显示出更加优异的溶解性。

[0143] [实施例1~14(特定成分:色氨酸)]

[0144] 从实施例1~3及实施例9~11的对比(干燥方法为蒸发器的方式之间的对比)可见,通过在溶解中使用了加热的实施例1~3而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性的倾向。

[0145] 从实施例1~3的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,通过混合比为2以上的实施例1及实施例3而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性。同样地,从实施例4~6的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,通过混合比为2以上的实施例4及实施例6而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性。同样地,从实施例9~11的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,混合比为2以上的实施例9~10显示出更优异的溶解性。同样地,从实施例12~14的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,混合比为2以上的实施例12~13显示出更优异的溶解性。

[0146] 从实施例1、实施例4、实施例7的对比(仅干燥方法不同的方式之间的对比)可知,通过在干燥中使用了蒸发器(加热及减压)的实施例1及使用了喷雾干燥的实施例4而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性。其中,干燥中使用了喷雾干燥的实施例4显示出进一步优异的溶解性。同样地,从实施例3与实施例6的对比(仅干燥方法不同的方式之间的对比)可知,干燥中使用了喷雾干燥的实施例6显示出更优异的溶解性。

[0147] [实施例15~28(特定成分:丝氨酸)]

[0148] 从实施例15~17及实施例23~25的对比(干燥方法为蒸发器的方式之间的对比)可见,通过在溶解中使用了加热的实施例15~17而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性的倾向。

[0149] 从实施例15~17的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,通过混合比为2以上的实施例15及实施例17而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性。同样地,从实施例18~20的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,通过混合比为2以上的实施例18及实施例20而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性。同样地,从实施例23~25的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,混合比为2以上的实施例23~24显示出更优异的溶解性。同样地,从实施例26~28的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,混合比为2以上的实施例26~27显示出更优异的溶解性。

[0150] 从实施例15、实施例18、实施例21的对比(仅干燥方法不同的方式之间的对比)可知,通过在干燥中使用了蒸发器(加热及减压)的实施例15及使用了喷雾干燥的实施例18而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性。其中,干燥中使用了喷雾干燥的实施例18显示出进一步优异的溶解性。同样地,从实施例17与实施例20的对比(仅干燥方法不同的方式之间的对比)可知,干燥中使用了喷雾干燥的实施例20显示出更优异的溶解性。

[0151] [实施例29~42(特定成分:苏氨酸)]

[0152] 从实施例29~31及实施例37~39的对比(干燥方法为蒸发器的方式之间的对比)可见,通过在溶解中使用了加热的实施例29~31而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性的倾向。

[0153] 从实施例29~31的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,通过混合比为2以上的实施例29及实施例31而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性。同样地,从实施例32~34的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,通过混合比为2以上的实施例32及实施例34而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性。同样地,从实施例37~39的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,混合比为2以上的实施例37~38显示出更优异的溶解性。同样地,从实施例40~42的对比(仅混合比不同的方式之间的对比)可知,混合比为2以上的实施例40~41显示出更优异的溶解性。

[0154] 从实施例29、实施例32、实施例35的对比(仅干燥方法不同的方式之间的对比)可知,通过在干燥中使用了蒸发器(加热及减压)的实施例29及使用了喷雾干燥的实施例32而得到的混合粉体显示出更优异的溶解性。其中,干燥中使用了喷雾干燥的实施例32显示出进一步优异的溶解性。同样地,从实施例31与实施例34的对比(仅干燥方法不同的方式之间的对比)可知,干燥中使用了喷雾干燥的实施例34显示出更优异的溶解性。

[0155] 如下评价了将通过本发明的制造方法得到的混合粉体应用于E-MEM培养基(Eagle最低必需培养基)时的溶解性。由于含有胱氨酸和作为选自由色氨酸、苏氨酸及丝氨酸组成的组中的至少一种的特定成分的本发明的分子混合粉体中胱氨酸的溶解速度极快,因此可以说能够通过以下所示的方法来检测是否为含有本发明的胱氨酸和特定成分的分子混合粉体的培养基。

[0156] 作为培养基将除去胱氨酸、色氨酸、苏氨酸及丝氨酸的E-MEM培养基B如表4所示混合而成的混合粉体均匀地在乳钵中混合,得到了E-MEM培养基B混合粉体。E-MEM培养基B以12.0g/L的浓度溶解于水中,能够得到培养基液体。

[0157] [表4]

[0158]

成分	mg (/L)
氯化钙二水合物	264.9
氯化钾	400.0
硫酸镁七水合物	200.7
氯化钠	6800.0
磷酸二氢钠一水合物	2530.2
L-精氨酸盐酸盐	126.0
L-胱氨酸	0.0
L-谷氨酰胺	292.0
L-盐酸组氨酸一水物	42.0
L-异亮氨酸	52.0
L-赖氨酸盐酸盐	72.5
L-蛋氨酸	15.0
L-苯丙氨酸	32.0
L-苏氨酸	48.0
L-色氨酸	10.0
L-酪氨酸	36.0
L-缬氨酸	46.0
泛酸钙	1.0
氯化胆碱	1.0
叶酸	1.0
异肌醇	2.0
烟酰胺	1.0
吡哆醛盐酸盐	1.0
核黄素	0.1
硫胺素盐酸盐	1.0
葡萄糖	1000.0
苯酚红	10.0
总计[g (/L)]	12.0

[0159] 使用这样制备的E-MEM培养基B,如表5所示,作为实施例43,制备了在EMEM培养基B中添加了相当于0.15g/L的本发明的胱氨酸/苏氨酸=1/4(质量比)分子混合粉体作为胱氨酸而得的培养基B1,作为比较例5,制备了在EMEM培养基B中分别添加了相当于等量的胱氨酸、苏氨酸来代替实施例43中使用的胱氨酸/苏氨酸分子混合粉体而得的培养基B2。同样地对丝氨酸、色氨酸进行,分别得到B3、B4、B5、B6。

[0160] 在室温22℃下,在100mL的容器中添加培养基B1、培养基B2和搅拌棒,分别添加水而使其成为50mL,将添加水的时间设为0分钟,以100rpm开始搅拌,7分钟后从浆料中取出了1mL。立即用0.2μm过滤器过滤取出的浆料,分别得到了液体BL1、BL2。通过HPLC(高速液相色谱)测定液体BL1、BL2的胱氨酸含量的结果,BL1的胱氨酸量为0.15g/L,BL2的胱氨酸量为0.09g/L。对于B3、B4、B5、B6也同样地进行而得到液体BL3、BL4、BL5、BL6,胱氨酸含量分别为0.15、0.09、0.15、0.09g/L。取出前的浆液的pH为4以上且小于6的酸性。

[0161] 在本实施例中,以接近溶解度上限的0.15g/L的浓度添加了初始胱氨酸添加量,但实际上可能是不会添加到上限作为添加量的情况,以及在分别添加了胱氨酸和特定成分的粉体的情况下即使考虑误差,7分钟后检测出的胱氨酸量也不会超过0.12g/L的情况,因此如果7分钟后的取出过滤液体超过0.12g/L,则可以认为含有本发明的胱氨酸混合粉体。胱氨酸浓度优选为0.12g/L以上且0.5g/L以下,进一步优选为0.13g/L以上且0.4g/L以下,最

优选为0.15g/L以上且0.3g/L以下。

[0162] [表5]

[0163]

	实施例43	比较例5	实施例44	比较例6	实施例45	比较例7
培养基名称	B1	B2	B3	B4	B5	B6
EMEM培养基B (mg)	595	595	595	595	595	595
本发明的胱氨酸/苏氨酸=1/4 (质量比) 混合粉体 (mg)	37.5	0	0	0	0	0
本发明的胱氨酸/丝氨酸=1/4 (质量比) 混合粉体 (mg)	0	0	37.5	0	0	0
本发明的胱氨酸/色氨酸=1/4 (质量比) 混合粉体 (mg)	0	0	0	0	37.5	0
L-胱氨酸 (mg)	0	7.5	0	7.5	0	7.5
L-苏氨酸 (mg)	0	30	0	0	0	0
L-丝氨酸 (mg)	0	0	0	30	0	0
L-色氨酸 (mg)	0	0	0	0	0	30