



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

217 459
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
A 61 L 2/16

(22) Prihlášené 25 06 81
(21) (PV 4826-81)

(40) Zverejnené 26 02 82

(45) Vydané 15 05 84

(75)
Autor vynálezu

KUBEC FRANTIŠEK RNDr., HLOHOVEC, MINCZINGER ŠTEFAN RNDr.,
SENEC, FRIMM RICHARD doc. ing. CSc., BRATISLAVA

(54) Spôsob antimikrobiálneho ošetrovania látok studenou sterilizáciou

Vynález sa týka studenej sterilizácie látok kyselinou peroxyoctovou, kde reziduá aktívneho kyslíka sú rozrušené redukčnými látkami. Detekcia vyhovujúceho produktu sa prevádza jódskrobovým papierikom.

Problém antimikrobiálneho ošetrovania látok vo farmaceutickom a potravinárskom priemysle ako aj v poľnohospodárstve prípadne v iných odvetviach národného hospodárstva je čoraz aktuálnejší. Kyselina peroxyoctová, ktorá je dobre známym antimikrobiálnym činidlom týmto požiadavkám zvlášť vyhovuje. Nevýhodou sú reziduá uvedenej kyseliny, ktoré môžu byť zdravotne závažné.

Uvedený vynález rieši tento problém prídavkom redukujúcej látky do systému ošetrovanej látky – kyselina peroxyoctová po primeranej expozičnej dobe. Rozrušenie kyseliny peroxyoctovej sa deteguje jódskrobovým indikátorom. Rozkladné produkty kyseliny peroxyoctovej a redukčného činidla sú v minimálnej koncentrácii a sú zdravotne nezávažné.

Vynález sa týka spôsobu antimikrobiálneho oštenia látok studenou sterilizáciou.

Na prípravu liečiv, liečivých prípravkov, potravinárskych výrobkov a krmív je potrebné vychádzať z mikrobiálne nezávadných surovín.

Povolené množstvá mikrobiálnych zárodkov sú udávané príslušnými normami. Konzervačné látky zabraňujú rastu a rozmnoženiu sa mikróbov, ale ich účinok je obmedzený, predovšetkým vzhľadom k východnému stavu mikrobiálneho znečistenia konzervovaného systému. Z toho dôvodu je výhodné znížiť množstvo mikrobiálnych zárodkov na hodnotu čo možno najnižšiu. Vychádzajúc z definície sterilizácie je výhodné látky pred konzerváciou sterilizovať. Podľa autora Wallhäussera sa rozumie sterilizáciou usmrtenie všetkých mikroorganizmov a inaktivácia všetkých virov, pričom v sterilizovanom systéme neostanú žiadne množenia sa schopné bunky (Wallhäusser, K. H., Sterilisation — Desinfektion — Konservierung, 2. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart 1978, str. 193).

Medzi najpoužívanjšie postupy patrí sterilizácia tepelná, ktorá má mnoho modifikácií vlastného prevedenia — sterilizácia suchým teplom, vlhkým teplom, v autokláve, teplovzdušná a v plameni. Mnohé látky a zariadenia nie je možné ani na krátku dobu vystavovať tepelnému zaťaženiu, preto sa k sterilizácii používa aj plynov a pár látok s vhodným antimikrobiálnym účinkom (etylénoxid, beta-propiolaktón, ozón, perkyseliny). Ďalším sterilizačným postupom je ožiarovanie gama-žiarením o vhodnej prenikavosti a ultrafialové žiarenie s vhodnou vlnovou dĺžkou (germicídne žiarenie). Zvláštnym sterilizačným postupom je sterilná filtrácia, ktorá ale patrí medzi takzvanú aseptickú prácu.

Pri súčasnom stave techniky je možné sterilizovať východzie látky (prípadne medzi produkty) peroxykyselinami (kyselina peroxymravnčia, kyselina peroxybenzoová), kde z praktických dôvodov sa najbežnejšie používa kyselina peroxyoctová (na trh je dodávaná ako asi 40 %-ný roztok vo vode pod názvom Persteril).

Látky, ktoré chceme sterilizovať, necháme vo vhodnom homogenizačnom zariadení dokonale zhomogenizovať, a potom pridáme kyselinu peroxyoctovú v koncentrácii 0,001 % — 1 % hmotnostných počítané ako produkt obsahujúci 100 % kyseliny peroxyoctovej. Čas, po ktorý sa budú látky sterilizovať, závisí od stupňa ich kontaminácie mikroorganizmami a od teploty, pri ktorej sa bude sterilizovať. Z hľadiska termolability mnohých takto sterilizovaných látok je výhodné teplotu nezvyšovať, ale prípadne ešte ju znížiť. Z praktických dôvodov je možné v prevažnej väčšine prípadov pracovať za teploty okolia, tzn. asi pri 18° až 25 °C.

Antimikrobiálne spektrum kyseliny peroxyoctovej je v porovnaní s inými látkami značne široké a z tohoto dôvodu sa kyselina peroxyoctová uplatnila v celom rade odborov. V potravinárstve sa zistil pozitívny vplyv na

plesne pri dezinfekcii zeleniny (Greenspan F., Mc Kellar D.: The application of peracetic acid germicidal washes to mold control of tomatoes, Food Technology 5, 3, 95, 1951) a (Greenspan F. P., Margulles P. H.: Treatment of rag plant tissue, US Patent 2, 512640/1950). Z týchto prác vyplýva, že účinku sa dosiahlo do 10 minút pri koncentrácii 0,01 až 0,001 % u vegetatívnych mikróbov a plesní. Spóry boli zničené až pri koncentrácii 0,3 až 0,5 %. Kyselina peroxyoctová je doporučená ako základný prostriedok pre prevenciu laboratórnych nákaz (Wedum A. C.: Control of laboratory air-borne infection, Bast. Rev., 25, 3, 210, 1961). Autori Kline a Hull (1960) — (Kline L. B., Hull R. N.: The virucidal properties of peracetic acid, Amer. J. clin. Path., 33, 30, 1960) dokázali virucídnu aktivitu oproti širokému spektru virov v niekoľkých minútach. Na spórach a kultúrach plesní bol vedľa seba študovaný účinok formaldehydu, fenolu, chlornanu sodného, etanolu, rôznych derivátov fenolu, kvartérnych amóniových zlúčenín a kyseliny peroxyoctovej. Účinok kyseliny peroxyoctovej bol taký rýchly a vynikajúci, že nebolo možné použiť vzorca na stanovenie účinnej expozície (Kruse R. H., Green T. D. et al.: Desinfection of aerosolized pathogenic fungi on laboratory surfaces, Appl. Microbiol. I., 11, 436, 1963, II., 12, 155, 1964). Autor Greenspan (cez Ticháček, B.: Persteril, Avicenum, Praha 1972 str. 26) upozornil na rozdiel medzi peroxidom vodíka a kyselinou peroxyoctovou v ich chovaní sa voči enzýmu kataláze. Peroxid vodíka je rýchlo rozkladný, ale kyselina peroxyoctová ostáva nielen nedotknutá, ale ešte sama uvedený enzým atakuje. Kataláza je kyselinou peroxyoctovou inaktivovaná. Tento fakt má význam pri používaní kyseliny peroxyoctovej v nízkych koncentráciách tam, kde by peroxid vodíka nebol dostatočne účinný. V medicínskom použití dominuje dezinfekcia povrchu tela (Pazdiora A.: K možnosti dezinfekcie rúk pomocou kyseliny peroxyoctovej, Čs. Epidem., 15, 2, 102, 1966) a sterilizácia nástrojov a pomôcok ich ponorením do 1/2 % roztoku kyseliny peroxyoctovej. Všetky mikroorganizmy boli zničené do 2 minút (Podstatová H., Podstata J., Jurák J.: Sterilizace nástrojů Persterilem, Zprávy ÚEM Praha, 12, 4, 40, 1970). Výhodné je používať kyselinu peroxyoctovú v zubnom lekárstve a na TBC oddeleniach (Svoboda K., Sytářová J.: Využití kyseliny peroxyoctovej k dezinfekcii na tuberkulóznom oddelení, Čs. Epidem., 19, 4, 206, 1970). V potravinárskom priemysle nebola z hľadiska toxikologického priama inkorporácia kyseliny peroxyoctovej do potravín povolená. Na dezinfekciu strojov a náradí v potravinárskom priemysle sa ale masívne používa.

Dnes už existuje celý rad fundovaných prác, ktoré sa zaoberajú stabilitou roztokov kyseliny peroxyoctovej (Pazdiora E.: Možnosti použití persterilu k ohniskovej dezinfekcii, Správy ÚEM, 12, 11, 59, 1970) Fürtig, W., Box, A.: Ein Beitrag zur Stabilität wässriger verdünnter Peressigsäurelösungen,

Pharmazie 32, 59–60, 1977). Za vyčerpávajúcu prácu môžeme bezo sporu považovať prácu autora Mückeho (Mücke, H.: Untersuchungen über Einflüsse auf die Zersetzung von verdünnter Peressigsäure, Pharmazie 32, 613–619, 1977).

Aj keď väčšina autorov uvádza, že kyselina peroxyoctová má malú chemickú stabilitu, a to predovšetkým v zriedených roztokoch, môžeme konštatovať, že reziduá aktívneho kyslíka (z kyseliny peroxyoctovej a v nej obsiahnutého peroxidu vodíka) sú detegovateľné aj po dlhšej dobe. Tento záver je v súhlase s nepovolením kyseliny peroxyoctovej k priamej inkorporácii do potravín. Podobná situácia je aj pri používaní na antimikrobiálnu úpravu pitnej vody.

Vyššie uvedené nedostatok, že aj pri použití veľmi zriedených roztokov kyseliny peroxyoctovej ostáva v sterilizovanom systéme určité množstvo aktívneho kyslíka a v niektorých prípadoch aj pretrvávajúci neprijemný zápach kyseliny peroxyoctovej. Je odstránený tým, že po sterilizačnom procese rozrušíme rezídium kyseliny peroxyoctovej malým prídavkom redukčného činidla. Do úvahy prichádzajú siričitany, sírnatany, ditionitany, cysteín, glutatión, kyslíčnik siričitý. Z praktických dôvodov je výhodné používať bežne dostupný siričitan sodný. Z hľadiska stanovenia stupňa rozrušenia kyseliny peroxyoctovej je možné toto stanoviť absolútne presne jodometricky, ale toto stanovenie je z praktického pohľadu zdĺhavé a nakoľko nepotrebuje poznáť presné množstvo reziduálnej kyseliny peroxyoctovej, postačuje nám jednoduchý a presný dôkaz aktívneho kyslíka zmokraním reagenčného papierika jódskrobového (ČSN 687 302).

Navrhovaná a používaná detekcia s jódskrobovým papierikom je veľmi citlivá, veľmi presná, veľmi lacná a postačuje vo všetkých oboroch, kde sa s kyselinou peroxyoctovou pracuje.

Spôsob antimikrobiálneho ošetrenia látok studenou sterilizáciou je nasledovný. Do vhodného homogenizátora sa vpraví látky, ktoré chceme sterilizovať a dokonale sa zhomogenizujú. Vypočítané množstvo kyseliny peroxyoctovej vlejeme do homogenizátora a zhomogenizujeme s jeho obsahom. Podľa stupňa kontaminácie s mikroorganizmami a podľa zvolenej teploty určíme čas pôsobenia a koncentráciu kyseliny peroxyoctovej. Po ukončení sterilizácie pridáme vypočítané množstvo redukčného činidla, napr. siričitanu sodného a znovu dokonale zhomogenizujeme. Po opätovnom otvorení homogenizátora detegujeme steny a povrch vlastného sterilizovaného materiálu papierikom jódskrobovým. V prípade dokonalého rozrušenia kyseliny peroxyoctovej papierik nezmení svoju farbu, tzn. nezmodrá. V opačnom prípade pridáme ešte ďalšie malé množstvá siričitanu sodného. Takýmto spôsobom získame produkt, ktorý z hľadiska mikrobiologického neobsahuje vegetatívne zárodky a k jeho ďalšiemu spracovaniu postačuje použiť bežné konzervačné či-

nidlá ako sú kyselina sorbová a jej soli, kyselina benzoová a jej soli, estery kyseliny parahydroxi benzoovej, (metyl, propyl atď.) etanol, propylénglykol a tak pod.

V ďalšom je predmet vynálezu objasnený na 4 príkladoch bez toho, že by sa na tieto výlučne obmedzoval.

Príklad 1

Síran barnatý	55,000 % hmot.
Voda destilovaná	35,000 % hmot.
Glycerín	4,000 % hmot.
Kyselina citrónová	0,040 % hmot.
Sacharín rozpustný	0,008 % hmot.
Aróma citrónová	0,100 % hmot.
Propylénglycol alginát	0,600 % hmot.
Chelaton 3	0,055 % hmot.
Zmes metyl a propylperabenu (4 : 1)	0,100 % hmot.
Sorban draselný	0,210 % hmot.
Kyselina peroxyoctová	0,100 % hmot.
Siričitan sodný heptahydrát	0,330 % hmot.
Voda destilovaná	do 100,000 % hmot.

Príklad 1 – Spôsob prípravy

Do vhodného homogenizátora sa našaržuje voda a síran barnatý a dokonale sa zhomogenizujú. Potom sa pridá vypočítané množstvo kyseliny peroxyoctovej a pri obvyčajnej teplote sa zhomogenizuje so suspenziou síranu barnatého vo vode. Po uplynutí potrebného času sa homogenizátor otvorí a pridá sa vypočítané množstvo siričitanu sodného heptahydrátu a znovu sa dokonale celý obsah zhomogenizuje. Jódskrobovým papierikom detegujeme dokonalosť odstránenia kyseliny peroxyoctovej, papierik nemodrá. Ďalej pridáme vopred pripravenú disperziu propylénglycolu alginátu v glyceríne, v ktorom boli za tepla rozpustené parabeny. Po zhomogenizovaní pridáme kyselinu citrónovú, sacharín, Chelaton 3, sorban draselný, citrónovú arómu a zbytok vody. Toto všetko zhomogenizuje až čo vznikne homogénna suspenzia nasladlej chuti voniaca po citrónoch.

Príklad 2

Fosforečnan hlinitý koloidný (minimálny obsah 24 % hmot.)	99,50 % hmot.
Kyselina peroxyoctová	0,05 % hmot.
Voda destilovaná	0,29 % hmot.
Siričitan sodný heptahydrát	0,16 % hmot.

Príklad 2 – Spôsob prípravy

Po separácii fosforečnanu hlinitého koloidného ho našaržujeme do vhodného homogenizátora a dokonale zhomogenizujeme. Potom sa pridá vypočítané množstvo kyseliny peroxyoctovej a zmes sa dobre zhomogenizuje. Kyselinu peroxyoctovú najprv zriedime v pomere 1 : 3 s destilovanou vodou. Zmes fosforečnanu hlinitého koloidného s kyselinou peroxyoctovou sa okamžite uloží do starostlivo vymytej nádoby z polyetylenu,

ktorá sa pevne uzatvorí. Označená nádoba sa uloží do skladu. V prípade potreby sa kyselinou peroxyoctová redukuje s vypočítaným množstvom siričitanu sodného. Z takto pripraveného polotovaru sa pripravuje napríklad antacidný prípravok Gasterin gel, ktorý je predmetom československého vynálezu AO 204 670.

Príklad 3

Mäsový odpad	32,0 % hmot.
Sójové vločky	33,0 % hmot.
Sušená srvátka	2,5 % hmot.
Cukor	20,0 % hmot.
Živočišny tuk	1,0 % hmot.
Vitamíny, stopové prvky, emulgátor	4,5 % hmot.
Chlorid sodný	0,6 % hmot.
Propylénglykol	2,0 % hmot.
Sorbitol	2,0 % hmot.
Sorban draselný	0,3 % hmot.
Kyselina peroxyoctová	0,5 % hmot.
Siričitan sodný heptahydrát	1,6 % hmot.

Príklad 3 – Spôsob prípravy

K pomletému mäsovému odpadu sa pridá kyselina peroxyoctová a dokonale sa zhomogenizuje. Čas potrebný na sterilizáciu je úmerný stupňu mikrobiálneho znečistenia a teplote, pri ktorej sa bude sterilizácia prevádzkať. Po skončení sterilizácie sa pridá siričitan sodný heptahydrát a aktívny kyslík sa deteguje reagenčným jódsírkobovým papierikom. Potom sa postupne pridávajú ostatné ingrediencie a celá zmes sa dokonale zhomogenizuje. Finálna úprava je granuláciou a produkt sa plní do konzerv. Služí ako krmivo pre psov.

Voda (demineralizovaná, pitná,
z povrchových zdrojov do 100,000 % hmot.
Kyselina peroxyoctová 0,001–1 % hmot.
Siričitan sodný 0,0000131 %–0,0131 % hmot.

Príklad 4 – Spôsob prípravy

V nádobe opatrenej miešadlom k vode pridáme potrebné množstvo kyseliny peroxyoctovej a dokonale premiešame. Čas potrebný na sterilizáciu je úmerný stupňu mikrobiálneho znečistenia východzej vody a teplote, pri ktorej bude sterilizácia prebiehať. Koncentráciu kyseliny peroxyoctovej volíme s ohľadom na stupeň mikrobiálneho znečistenia a s ohľadom na určenie vody takto upravenej. Po ukončení sterilizácie pridáme siričitan sodný, ktorý je dobré rozpustiť vopred v malom množstve vody. Detekciu aktívneho kyslíka prevádzame pomocou reagenčného jódsírkobového papierika.

Napríklad pri úprave pitnej vody postačuje množstvo kyseliny peroxyoctovej 0,001 % a siričitanu sodného 0,0000131 %, vznikne 0,001869 % síranu sodného a 0,0007897 % kyseliny octovej. Vznikajúca kyselina octová nemení hodnotu pH a množstvo síranu sod-

ného je zanedbateľné v porovnaní so síranmi vo vode sa bežne vyskytujúcimi.

Význam úpravy vody z povrchových zdrojov kyselinou peroxyoctovou a jej uskladňovanie v rezervoároch, kde by sa siričitanom sodným zbavila aktívneho kyslíka má maximálny význam vzhľadom na ťažkosti v živočíšnej výrobe v našom poľnohospodárstve.

Uvedený spôsob dekontaminácie vody kyselinou peroxyoctovou v povrchových zdrojoch má nemalý význam, pretože vlastná dekontaminácia je veľmi rýchla a bezpečná. Zistenie mikrobiologického obrazu neznámej vody trvá podstatne dlhšie. Pričom potrebné sú len dve chemikálie a jedna nádoba.

Kyselina peroxyoctová bola objavená v roku 1900, ale začala sa používať až po druhej svetovej vojne. Je to vo vode rozpustná alifatická kyselina. Čo sa týka manipulácie s ňou, je zrovnateľná s kyselinou octovou, ľadovou. Autor Havel (Havel, S.: Příprava a vlastnosti kyseliny roztoku peroxyoctové, in: Kyselina peroxyoctová, Ticháček a kol., Zdrav. aktualita 369, Stát. zdrav. nakl. Praha, 1966) uvádza nasledovné fyzikálno-chemické konštanty:

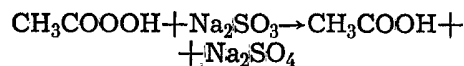
Bod topenia	– 8,2 °C
Bod varu	110 °C
Tenzia pár	$\log p = 8,911 - \frac{2311}{T}$
Index lomu n_D^{15}	1,3994
n_D^{20}	1,3974
Hustota d_4^{20}	1,1037
pK 19,5 °C	8,2
Polarografické konštanty	$E_{1/2} + 1,2 V$
	i/C 7,12
	D 1,02

V účelovej dokumentácii výrobcu kyseliny peroxyoctovej je uvedený priebeh dekompozície 1 % roztoku kyseliny peroxyoctovej pri 25 °C.

Čas v dňoch:	Kys. peroxyoctová:	Peroxid vodíka:	Aktívny kyslík:
0	1,07	0,3	0,36
3	0,8	0,4	0,35
10	0,6	0,53	0,35
20	0,25	0,75	0,35
30	0,1	0,82	0,35

Ako je z tabuľky zjavné, tak obsah aktívneho kyslíka v priebehu dekompozície kyseliny peroxyoctovej ostáva nezmenený.

Reakciu medzi kyselinou peroxyoctovou a redukčnými látkami je možné ukázať na rovnici:



Obchodný produkt (napríklad Persteril) obsahuje taktiež peroxid vodíka, ktorý sa takisto rozkladá siričitanom sodným, ale je potrebné trochu množstva siričitanu sodného zvýšiť.

Kyselina peroxyoctová patrí svojimi vlastnosťami medzi výbušniny. Obchodný produkt Persteril má hranicu bezpečnej teploty stanovenú na 65 °C.

Toxicita kyseliny peroxyoctovej — (podľa firmy Becco) bola 100 ml 0,01 % roztoku bez zistiteľného účinku na biele myši a morčatá. Údaje v knihe Persteril (Ticháček, B., 1972, Avicenum Praha), popisujú inhalačnú toxicitu pre bielych potkanov, počnúc koncentráciou 7,2 mg na 100 litrov vzduchu, a to zodpovedá rozprašovaniu asi 1 % roztoku. Tak tiež je v uvedenej knihe popísaný fakt, že žiadny z pracovníkov v laboratóriách, kde sa s kyselinou peroxyoctovou pracovalo, nemal prejavy tejto intoxikácie ani ochorenia hor-

ných ciest dýchacích. Akútna toxicita per os pre bielych potkanov je daná hodnotou $LD_{50} = 210 \text{ mg/kg}$.

Autor Veger (Veger, J., Perorální toxicita Persterilu, Voj. zdravot. listy, 36, 3, 114, 1967) zistil napájacím pokusom na potkanoch, že dávky potrebné k dezinfekcii pitnej vody (t. j. 1 mg/l liter pri 30 minútovej expozícii alebo 10 mg na 1 liter pri 10 minútovej expozícii) sú neškodné. Priama inkorporácia do potravín sa ale nedoporučuje.

PREDMET VYNÁLEZU

1. Spôsob antimikrobiálneho ošetrovania látok studenou sterilizáciou peroxykyselinami, kde po ošetrovaní látky obsahujú reziduá aktívneho kyslíka a sú sterilné, vyznačujúci sa tým, že ošetrovaná látka sa zhomogenizuje s peroxykyselinou a jej reziduá sa odstraňuje zo systému ich rozrušením prídávaním redukčného činidla až do negatívneho výsledku pri detekcii aktívneho kyslíka.
2. Spôsob podľa bodu 1 vyznačujúci sa tým, že peroxykyselina je kyselina peroxyoctová.
3. Spôsob podľa bodov 1 a 2 vyznačujúci sa

tým, že kyselina peroxyoctová sa používa v koncentrácii 0,001 % až 1 % hmotnostných.

4. Spôsob podľa bodu 1, 2 a 3 vyznačujúci sa tým, že teplota sterilizovaného systému je od 0 °C do 50 °C.
5. Spôsob podľa bodu 1, 2, 3 a 4 vyznačujúci sa tým, že reziduá aktívneho kyslíka sú detegované jódškrobovým papierikom.
6. Spôsob podľa bodov 1, 2, 3, 4 a 5 vyznačujúci sa tým, že ako redukčné činidlá sa používajú siričitany, sírnatany, dithioničitany, cysteín, glutation, kyslíčnik siričitý, s výhodou siričitanu alkalických kovov.