

NORGE



STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

Utlegningskrift nr. 115 246

Int. Cl. C 12 d 13/06

kl. 6 b-16/02

Patentsøknad nr. 149 783 Inngitt 19. august 1963

Søknaden alment tilgjengelig fra 1. juli 1968

Søknaden utlagt og utlegningskrift utgitt 9. sept. 1968

Prioritet begjært fra 22/8-62, 13/3- og 17/4-63 Sveits,
nr. 9988/62; 3167/63 og 4794/63.

Maggi A.G.; Kemptthal, Sveits:

Oppfinner: Tullio Giacometti, Avenue de Traménaz 22, La Tour-de-Peilz, Sveits:

Fullmektig: Mag. scient. Knud-Henry Lund.

Fremgangsmåte til å fjerne cellematerialer fra glutaminsyreholdig fermenteringsvæske.

Oppfinnelsen vedrører en fremgangsmåte til rensning av glutaminsyreholdig fermenteringsvæske ved adskillelse av cellematerialene og andre forurensninger fra denne.

Ved fremstilling av glutaminsyre på fermentativ måte fremkommer det ved fermentasjonens slutt en såkalt fermenteringsvæske som foruten glutaminsyre inneholder forskjellige faste eller halvfast stoffer som cellematerialene av de mikroorganismer som er anvendt ved fermenteringen, resterende utgangsstoffer og andre tilfældige forurensninger i vandig suspensjon resp. oppløsning. Glutaminsyren forblir vanligvis i oppløsning og kan utvinnes, etterat de faste stoffer og halvfast stoffer først er fraskilt, på kjent måte, som f. eks. ved krystallisering, ekstrahering, utfelling og liknende.

Fraskillelsen av cellematerialene før den videre forarbeidelse av fermenteringsvæsken er vanligvis uunngåelig. Blir cellematerialene til-

bake i fermenteringsvæsken, så er det i alminnelighet meget vanskelig med en direkte isolering av glutaminsyren. Således virker cellematerialene eksempelvis krystallisasjonshemmende. Likeledes er det umulig å isolere glutaminsyre ved hjelp av ionutvekslere, da cellematerialene i løpet av kort tid tilstopper utveksleren. Fraskillelsen av cellematerialene ved enkel filtrering er industrielt sjeldent gjennomførbart på grunn av cellenes lille størrelse. Heller ikke fører en sentrifugering av fermenteringsvæsken til målet.

Oppfinnelsen vedrører en fremgangsmåte for å fjerne cellematerialer fra glutaminsyreholdig fermenteringsvæske, og fremgangsmåten er karakterisert ved at fermenteringsvæsken behandles med kalsiumhydroksyd eller kalsiumoksyd i en mengde tilstrekkelig til å tilveiebringe et kalsiuminnhold på 0,1 til 10 vektprosent (beregnet som CaO); idet væsken opprett-

holdes ved en temperatur på 70—90° C, fortrinnsvis 75 til 85° C, i 5 til 40 minutter, hvorefter kalsium utfelles som kalsiumkarbonat, og til slutt fraskilles uoppløselig stoff fra væsken.

Det kjennes tidligere en fremgangsmåte til utvinning av proteinrike produkter fremstilt ved gjæring av industriavvann med proteindannende muggsoppliknende mikroorganismer, ved hvilken fremgangsmåte det etter gjæringens avslutning tilsettes kalkmelk til en pH-verdi på 9—10,5, hvorpå væsken etter klaring avtappes og det bunnfelte slam frafiltreres på slampresser og tørkes. Det understrekes at det er den kombinerte anvendelse av muggsoppliknende mikroorganismer som danner langt mycelium og kalkmelk, som resulterer i den oppnådde klaringseffekt. Det var ikke nærliggende å anvende en behandling med kalkmelk til adskillelse av mikroorganismene fra en gjæringsvæske inneholdende glutaminsyre, dvs. til adskillelse av glutaminsyreproduserende mikroorganismer. De to celletyper som det her er tale om, er meget forskjellige, og det var ikke mulig på forhånd å si noe om hvorledes de glutaminsyreproduserende organismer ville forholde seg ut fra kjennskapen til de muggsoppliknende mikroorganismers forhold ved kalkmelktilsetning.

Det antas at det herunder foregår følgende prosesser: Under innvirkning av kalsiumhydroxyd denaturerer celleveggen som overveiende består av eggehvitestoffer, skrumper sammen og oppløses samtidig negativt. Ved overføring av kalsiumhydroxydet i kalsiumkarbonatet danner det seg in statu nascendi kalsiumkarbonat med en positiv ladning. Dette adsorberer med en gang cellematerialene, samt også eventuelt tilstedeværende fargestoffer og lades derved negativt. Når det er til stede på forhånd utfelt kalsiumkarbonatpartikler som på grunn av adsorpsjon av mikroorganismer eller andre forurensninger har antatt en negativ ladning, danner de nyutfelte positivt ladede partikler agglomerater med de eldre negativt ladede partikler. Derved muliggjøres en enkel og hurtig fraskillelse av utfellingen, eksempelvis ved filtrering, sentrifugering, dekantering eller liknende.

Kalsiumhydroxydets overføring i kalsiumkarbonat kan foregå ved at man innfører karbonationer i fermenteringsvæsken. Dette foregår hensiktsmessig ved at man innfører karbondioksyd inntil det er nådd en pH-verdi på ca. 7,5. Istedenfor karbondioksyd kan det også anvendes en støkiometrisk mengde alkalikarbonat, spesielt natriumkarbonat.

En foretrukket utførelsesform av fremgangsmåten består i at man gjennomfører overføringen av kalsiumhydroxydet i kalsiumkarbonatet i to trinn ved forskjellige pH-verdier og såvel etter det første som etter annet trinn fraskiller utfelt kalsiumkarbonat sammen med de medutfelte cellematerialer, eksempelvis ved filtrering.

Overføringen gjennomføres fortrinnsvis således at pH-verdien i første trinn innstilles på 9,4—9,5 og i annet trinn til 7,7, idet uoppløselig

stoff fjernes etter begge trinn. pH-innstillingen foregår ved innføring av karbondioksyd.

Foregår utskillelsen av de utfelte stoffer ved filtrering, så gjennomføres denne hensiktsmessig ved værelsestemperatur eller ved 50—60° C.

Ved den nevnte rensning fåes en fermenteringsoppløsning som ikke bare er fri for cellematerialer og eventuelle kolloidale stoffer, men også for tilfeldig tilstedeværende fargestoffer, og hvorav glutaminsyren vanligvis kan isoleres direkte og med stor renhet.

De i følgende eksempler nevnte mengdeforhold er vektdeler resp. vektprosent.

Eksempel 1.

100 vektdeler av en fermenteringsvæske, som inneholder 16 vektprosent tørrmasse, herav 5 vektprosent glutaminsyre og 3 vektprosent bakterieceller oppvarmes til 80° C. Deretter tilsettes 10 vektdeler av en kalkmelk med 40 % kalsiumhydroksyd-innhold i løpet av 20 minutter under stadig sterk omrøring. Etter 10 minutters innvirkningstid innføres under stadig omrøring kullsyre inntil væskens pH-verdi har nådd 7,5. Etter 15 minutters reaksjonstid frafiltreres det utfelte kalsiumkarbonat sammen med de medutfelte bakterieceller. Av den nå klare oppløsning kan man isolere glutaminsyre på kjent måte, f. eks. ved utfelling ved det isoelektriske punkt ved pH 3,2.

Eksempel 2.

3,5 vektdeler brent kalk settes til 100 vektdeler gjæringsvæske som inneholder 5,5 vektdeler glutaminsyre. Fermenteringsvæskens pH utgjør 12,2—12,4. Væsken ble oppvarmet til 75—85° C og holdt ved denne temperatur under kraftig omrøring i 10—20 minutter.

Væskens pH ble deretter ved innføring av karbondioksyd innstilt på 9,4—9,5 og temperaturen senket til 50—60° C. Væsken ble deretter uten vanskelighet filtrert ved denne temperatur. Filtratets pH ble deretter innstillet på 7,7 ved innføring av karbondioksyd og væsken igjen filtrert.

Fra filtratet ble det i 2 krystalliseringer fremstilt glutaminsyre. Det første utbyttes renhet: 95 %, det annet utbyttes renhet: 90 %. Utbytte 75—80 %.

P a t e n t k r a v :

1. Fremgangsmåte for å fjerne cellematerialer fra glutaminsyreholdig fermenteringsvæske, karakterisert ved at fermenteringsvæsken behandles med kalsiumhydroksyd eller kalsiumoksyd i en mengde tilstrekkelig til å tilveiebringe et kalsiuminnhold på 0.1 til 10 vektprosent (beregnet som CaO), idet væsken opprettholdes ved en temperatur på 70—90° C, fortrinnsvis 75 til 85° C i 5 til 40 minutter, hvorefter kalsium utfelles som kalsiumkarbonat, og til slutt adskilles uoppløselig stoff fra væsken.

holdes ved en temperatur på 70—90° C, fortrinnsvis 75 til 85° C, i 5 til 40 minutter, hvorefter kalsium utfelles som kalsiumkarbonat, og til slutt fraskilles uoppløselig stoff fra væsken.

Det kjennes tidligere en fremgangsmåte til utvinning av proteinrike produkter fremstilt ved gjæring av industriavvann med proteindannende muggsoppliknende mikroorganismer, ved hvilken fremgangsmåte det etter gjæringens avslutning tilsettes kalkmelk til en pH-verdi på 9—10,5, hvorpå væsken etter klaring avtappes og det bunnfelte slam frafiltreres på slampresser og tørkes. Det understrekes at det er den kombinerte anvendelse av muggsoppliknende mikroorganismer som danner langt mycelium og kalkmelk, som resulterer i den oppnådde klaringseffekt. Det var ikke nærliggende å anvende en behandling med kalkmelk til adskillelse av mikroorganismene fra en gjæringsvæske inneholdende glutaminsyre, dvs. til adskillelse av glutaminsyreproduserende mikroorganismer. De to celletyper som det her er tale om, er meget forskjellige, og det var ikke mulig på forhånd å si noe om hvorledes de glutaminsyreproduserende organismer ville forholde seg ut fra kjennskapet til de muggsoppliknende mikroorganismers forhold ved kalkmelktilsetning.

Det antas at det herunder foregår følgende prosesser: Under innvirkning av kalsiumhydroxyd denaturerer celleveggen som overveiende består av eggehvitestoffer, skrumper sammen og opplades samtidig negativt. Ved overføring av kalsiumhydroksydet i kalsiumkarbonatet danner det seg in statu nascendi kalsiumkarbonat med en positiv ladning. Dette adsorberer med en gang cellematerialene, samt også eventuelt tilstedeværende fargestoffer og lades derved negativt. Når det er til stede på forhånd utfelt kalsiumkarbonatpartikler som på grunn av adsorpsjon av mikroorganismer eller andre forurensninger har antatt en negativ ladning, danner de nyttfelte positivt ladede partikler agglomerater med de eldre negativt ladede partikler. Derved muliggjøres en enkel og hurtig fraskillelse av utfellingen, eksempelvis ved filtrering, sentrifugering, dekantering eller liknende.

Kalsiumhydroksydets overføring i kalsiumkarbonat kan foregå ved at man innfører karbonationer i fermenteringsvæsken. Dette foregår hensiktsmessig ved at man innfører karbondioksyd inntil det er nådd en pH-verdi på ca. 7,5. Istedenfor karbondioksyd kan det også anvendes en støkiometrisk mengde alkalikarbonat, spesielt natriumkarbonat.

En foretrukket utførelsesform av fremgangsmåten består i at man gjennomfører overføringen av kalsiumhydroksydet i kalsiumkarbonatet i to trinn ved forskjellige pH-verdier og såvel etter det første som etter annet trinn fraskiller utfelt kalsiumkarbonat sammen med de medutfelte cellematerialer, eksempelvis ved filtrering.

Overføringen gjennomføres fortrinnsvis således at pH-verdien i første trinn innstilles på 9,4—9,5 og i annet trinn til 7,7, idet uoppløselig

stoff fjernes etter begge trinn. pH-innstillingen foregår ved innføring av karbondioksyd.

Foregår utskillelsen av de utfelte stoffer ved filtrering, så gjennomføres denne hensiktsmessig ved værelsestemperatur eller ved 50—60° C.

Ved den nevnte rensning fåes en fermenteringsoppløsning som ikke bare er fri for cellematerialer og eventuelle kolloidale stoffer, men også for tilfeldig tilstedeværende fargestoffer, og hvorav glutaminsyren vanligvis kan isoleres direkte og med stor renhet.

De i følgende eksempler nevnte mengdeforhold er vektdeleler resp. vektprosent.

Eksempel 1.

100 vektdeleler av en fermenteringsvæske, som inneholder 16 vektprosent tørrmasse, herav 5 vektprosent glutaminsyre og 3 vektprosent bakterieceller oppvarmes til 80° C. Deretter tilsettes 10 vektdeleler av en kalkmelk med 40 % kalsiumhydroksyd-innhold i løpet av 20 minutter under stadig sterk omrøring. Etter 10 minutters innvirkningstid innføres under stadig omrøring kullsyre inntil væskens pH-verdi har nådd 7,5. Etter 15 minutters reaksjonstid frafiltreres det utfelte kalsiumkarbonat sammen med de medutfelte bakterieceller. Av den nå klare oppløsning kan man isolere glutaminsyre på kjent måte, f. eks. ved utfelling ved det isoelektriske punkt ved pH 3,2.

Eksempel 2.

3,5 vektdeleler brent kalk settes til 100 vektdeleler gjæringsvæske som inneholder 5,5 vektdeleler glutaminsyre. Fermenteringsvæskens pH utgjør 12,2—12,4. Væsken ble oppvarmet til 75—85° C og holdt ved denne temperatur under kraftig omrøring i 10—20 minutter.

Væskens pH ble deretter ved innføring av karbondioksyd innstilt på 9,4—9,5 og temperaturen senket til 50—60° C. Væsken ble deretter uten vanskelighet filtrert ved denne temperatur. Filtratets pH ble deretter innstillet på 7,7 ved innføring av karbondioksyd og væsken igjen filtrert.

Fra filtratet ble det i 2 krystalliseringer fremstilt glutaminsyre. Det første utbyttes renhet: 95 %, det annet utbyttes renhet: 90 %. Utbytte 75—80 %.

Patentkrav:

1. Fremgangsmåte for å fjerne cellematerialer fra glutaminsyreholdig fermenteringsvæske, karakterisert ved at fermenteringsvæsken behandles med kalsiumhydroksyd eller kalsiumoksyd i en mengde tilstrekkelig til å tilveiebringe et kalsiuminnhold på 0.1 til 10 vektprosent (beregnet som CaO), idet væsken opprettholdes ved en temperatur på 70—90° C, fortrinnsvis 75 til 85° C i 5 til 40 minutter, hvorefter kalsium utfelles som kalsiumkarbonat, og til slutt adskilles uoppløselig stoff fra væsken.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, karakterisert ved at utfellingen av kalsium utføres i to trinn ved forskjellige pH-verdier, idet pH-verdien i første trinn innstilles på 9,4 til 9,5 og i annet trinn til 7,7, idet uoppløselig stoff fjernes etter begge trinn.

Anførte publikasjoner:

Britisk patent nr. 631.349.
Tysk utl. skrift nr. 1.017.330.
Østerriksk patent nr. 177.746.