



URZĄD
PATENTOWY
PRL

Patent tymczasowy dodatkowy
do patentu nr

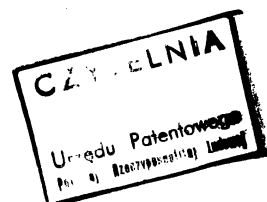
Int. Cl.³ C12N 9/00

Zgłoszono: 06.05.80 (P. 224042)

Pierwszeństwo:

Zgłoszenie ogłoszono: 13.03.81

Opis patentowy opublikowano: 15.08.1983



Twórcy wynalazku: Włodzimierz Jończyk, Kazimierz Studniarski

Uprawniony z patentu tymczasowego: Politechnika Łódzka, Łódź (Polska)

Sposób otrzymywania preparatów enzymatycznych

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania preparatów enzymatycznych z materiałów biologicznych, o dużej aktywności i stabilności zawierających enzymy hydrolityczne, zwłaszcza proteazy, lipazy czy amylazy.

Dotychczas otrzymywanie preparatów enzymatycznych o własnościach hydrolitycznych polega na stabilizacji surowców biologicznych, która uniemożliwia autolizę enzymów i zabezpiecza je przed rozkładem powodowanym działaniem mikroorganizmów.

Znane sposoby stabilizacji polegają na suszeniu surowców biologicznych, ich liofilizacji, oraz na sporządzaniu trwałych ekstraktów lub wprowadzeniu substancji powodujących zwiększenie stężenia jonów wodorowych i zmniejszenie stałej dielektrycznej jak aceton i kwas borowy. Znane sposoby powodują jednak utratę aktywności enzymatycznej materiału biologicznego, ponieważ denaturacja enzymów, która zachodzi podczas wymienionych zabiegów nie jest w pełni odwracalna.

Znane sposoby są opisane w czasopiśmie „Proces Biochemistry” 8/8, 14/1973/, w książce A.S. Cyprowicza „Enzymy”, Wydawnictwo N-T 1974 r., oraz w opisach patentowych nr nr 94629 i 46483.

Sposób otrzymywania preparatów enzymatycznych według wynalazku polega na tym, że materiał biologiczny zawierający enzymy hydrolityczne, zwłaszcza trzustkę zwierzęcą miesza się z alkoholami wielowodorotlenowymi i ich pochodnymi lub z eterami, korzystnie z produktami kondensacji tlenu etylenu i jego pochodnych, albo z mieszaniną alkoholi i eterów. Wprowadzenie do stabilizacji powyższych związków mających zdolność asocjowania wody zawartej w materiale biologicznym, dzięki tworzeniu z cząsteczkami wody wiązań wodorowych zabezpiecza otrzymywane preparaty przed zjawiskiem autolizy oraz rozwojem mikroorganizmów.

Działanie stabilizujące tych związków występuje przy określonych ich stężeniach w preparacie biologicznym, przekraczających 40 części wagowych na 100 części wagowych materiału biologicznego. Po wprowadzeniu substancji stabilizującej, materiał biologiczny poddaje się homogenizacji i wymieszaniu w celu uzyskania jednolitej masy. Korzystny jest także w sposobie według wynalazku, dodatek rozpuszczalników organicznych mieszających się z wodą w ilości 5–50 części wagowych na 100 części wagowych materiału biologicznego oraz takiej ilości kwasu nieorganicznego lub organicznego, aby pH preparatu wynosiło 2–7,5.

Preparaty enzymatyczne otrzymane sposobem według wynalazku wykazują wyższą aktywność enzymatyczną o około 30% od preparatów otrzymywanych znanymi sposobami, przy czym aktywność ta pozostaje niezmienną podczas przechowywania preparatu w ciągu 12 miesięcy. Sposób według wynalazku ilustrują bliżej poniższe przykłady nie ograniczając jego zakresu.

Przykład I. Do 10 kg trzustki świnięj zmielonej dodano 10 kg glikolu etylenowego i 1,0 kg alkoholu poliwinylowego i całość homogenizowano mechanicznie. Preparat posiadał aktywność 5000 jednostek Löhlein-Volharda, co odpowiada 10700 jednostkom Löhlein-Volharda z jednego grama użytej trzustki. W okresie rocznego przechowywania nastąpiło zmniejszenie aktywności enzymatycznej o 10%.

Przykład II. Do 10 kg zmielonej trzustki zwierzęcej dodano 10 kg produktu kondensacji tlenu etylenu, a otrzymaną mieszaninę homogenizowano mechanicznie do uzyskania jednolitej masy. Uzyskany preparat posiadał aktywność 5500 jednostek Löhlein-Volharda na 1 g preparatu, przy czym aktywność ta nie uległa zmianie w czasie 10 miesięcznego przechowywania preparatu.

Przykład III. Do 10 kg zmielonej trzustki dodano 5 kg produktu kondensacji tlenu etylenu oraz 1 kg sacharozy i homogenizowano mechanicznie. Preparat posiadał aktywność 7000 jednostek Löhlein-Volharda, co odpowiada 11300 jednostkom Löhlein-Volharda z jednego grama zużytej trzustki. Aktywność ta nie uległa zmianie w okresie rocznego przechowywania preparatu.

Przykład IV. Do 10 kg trzustki zwierzęcej uprzednio zmielonej dodano 5 kg gliceryny oraz 100 g kwasu borowego i całość homogenizowano mechanicznie. Preparat posiadał aktywność proteolityczną 6000 jednostek Löhlein-Volharda z jednego grama trzustki zastosowanej do otrzymywania preparatu. Aktywność ta nie uległa zmianie w okresie półrocznego przechowywania.

Przykład V. Do 10 kg zmielonej trzustki zwierzęcej dodano 5 kg gliceryny, 2 kg acetonu oraz 200 g kwasu borowego. Następnie otrzymaną mieszaninę homogenizowano mechanicznie. Otrzymany preparat posiadał aktywność proteolityczną 7500 jednostek Löhlein-Volharda, stabilną przez okres 6 miesięcy.

Przykład VI. Do 10 kg zmielonej trzustki zwierzęcej dodano 4 kg alkoholu poliwinylowego oraz 31 acetonu, całość homogenizowano do uzyskania jednolitej masy. Preparat posiadał aktywność 6800 jednostek Löhlein-Volharda na 1 kg preparatu, stabilną przez okres 6 miesięcy.

Przykład VII. Do 10 kg zmielonej trzustki zwierzęcej dodano 5 kg produktu kondensacji tlenu etylenu (collosolwu) oraz 5 kg acetonu. Całość homogenizowano mechanicznie. Preparat posiadał aktywność 7000 jednostek Löhlein-Volharda, stabilną przez okres 6 miesięcy.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania preparatów enzymatycznych z materiałów biologicznych zawierających enzymy hydrolityczne, zwłaszcza z trzustki, ~~znamienny~~ tym, że materiał biologiczny miesza się z alkoholami wielowodorotlenowymi i ich pochodnymi w ilości nie mniejszej niż 40 części wagowych na 100 części wagowych materiału biologicznego i ewentualnie z dodatkiem rozpuszczalników organicznych mieszających się z wodą w ilości 5-50 części wagowych na 100 części materiału biologicznego oraz kwasu nieorganicznego lub organicznego w takiej ilości, aby pH preparatu wynosiło 2-7,5, po czym materiał biologiczny poddaje się homogenizacji i wymieszaniu.

2. Sposób otrzymywania preparatów enzymatycznych z materiałów biologicznych zawierających enzymy hydrolityczne, zwłaszcza z trzustki, ~~znamienny~~ tym, że materiał biologiczny miesza się z eterami, korzystnie produktami tlenu etylenu i jego pochodnymi w ilości nie mniejszej niż 40 części wagowych na 100 części wagowych materiału biologicznego i ewentualnie z dodatkiem rozpuszczalników organicznych mieszających się z wodą w ilości 5-50 części wagowych na 100 części materiału biologicznego oraz kwasu nieorganicznego lub organicznego w takiej ilości, aby pH preparatu wynosiło 2-7,5 po czym materiał biologiczny poddaje się homogenizacji i wymieszaniu.

3. Sposób otrzymywania preparatów enzymatycznych z materiałów biologicznych zawierających enzymy hydrolityczne, zwłaszcza z trzustki, ~~znamienny~~ tym, że materiał biologiczny łączy się z mieszaniną alkoholi wielowodorotlenowych i ich pochodnymi z eterami w ilości przekraczającej 40 części wagowych na 100 części materiału biologicznego i ewentualnie z dodatkiem rozpuszczalników organicznych mieszających się z wodą w ilości 5-50 części wagowych na 100 części materiału biologicznego oraz kwasu nieorganicznego lub organicznego w takiej ilości, aby pH preparatu wynosiło 2-7,5, po czym materiał biologiczny poddaje się homogenizacji i wymieszaniu.