[19]中华人民共和国专利局

[11]授权公告号
CN 1021335C

[12] 发明专利说明书

[21] 专利号 ZL 87104436

[51]Int.Cl[5]
C09B 61/00

[45]授权公告日 1993 年 6 月 23 日

[24]颁证日 93.4.16
[21]申请号 87104436.6
[22]申请日 87.6.22
[30]优先权
[32]86.6.23 [33]DE [31]P3620915.5
[73]专利权人 山道士有限公司 地 址 瑞士巴塞尔
[72]发明人 维尔讷·科赫
[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 杨九昌

C09B 7/02 C12N 15/00 C12N 1/20

说明书页数: 附图页数:

[54]发明名称 用含有靛蓝或其它衍生物的干燥生物物质直接用于被染物的染色方法

[57]摘要

一种含有由生物方法产生的靛蓝或其衍生物的生物物质可用于染色，从而无需在染色前将靛蓝染料从其余的固体生物物质中分离出来。用瓮染法能得到色调洁净的棉织物的染色，由于与活性物质相结合，所以具有通常的不褪色的性质。

权　利　要　求　书

1. 一种对含羟基或含氮的有机被染物染色的方法，该方法包括将含有由在发酵缸中培养的微生物产生的靛蓝或其衍生物染料的干燥生物物质直接应用于被染物。

2. 根据权利要求 1 的方法，包括:

通过微生物产生靛蓝或其衍生物以形成生物物质;

通过酸- 碱反应溶化生物物质细胞;

干燥该生物物质; 以及

然后直接应用该固体生物物质来染色被染物。

3. 根据权利要求 1 的方法，其中被染物是棉织物。

4. 根据权利要求中 1 至 3 的任何一种方法，其染色法是瓮染法。

5. 一种制备含有适宜于加入染浴的靛蓝或其衍生物的生物物质的方法，该方法包括:

用在发酵缸中培养的微生物生产靛蓝或其衍生物;

将可直接加到染浴中应用的所生成的生物物质干燥。

6. 根据权利要求要求 5 的方法，其中用喷雾器干燥以制成粉末，或用流化床干燥以制成颗粒。

7. 根据权利要求 5 或 6 的方法，包括在制成靛蓝或其衍生物之后但在干燥前，溶化生物物质的细胞。

说　　明　　书

用含有靛蓝或其衍生物的干燥生物物质直接应用于被染物的染色方法

本发明涉及含有由细菌细胞产生的靛蓝或其衍生物的生物物质（biomass）。这种生物物质可使如此产生的靛蓝化合物大量用于染浴而无需分离成纯靛蓝的形式。

根据本发明，提供一种对含羟基或含氮的有机被染物染色的方法，包括将含有靛蓝（或其衍生物）的生物物质用于含羟基或含氮的有机被染物的方法，其中染料是由在发酵缸中培养的微生物产生的，染色前无需将染料与其余的固体生物物质分离。

人们已知可从由微生物来源的吲哚或经吲哚产生的β－吲哚基丙氨酸生产并分离得到靛蓝。例如在美国专利4520103、《科学》（222卷，1983年，第167～169页）和《生物工艺学》（4卷，1986年，第321～324页）中，都已介绍了这种生物合成的方法，已把上述各文献的内容中包括到本文中作为参考。

在所有这些参考文献中所介绍的，分离由细胞体内外产生不溶于水的靛蓝的方法，都是用沸氯仿反复萃取。但从大量使用的观点来看，这种方法颇为费时，耗资又大，而可采用的其他分离方法，情况似乎也是如此。这就使应用由微生物方法制取并与其余的生物物质分离而得到的靛蓝进行染色，在商业角度上难以实现。

本发明的优点之一就在于能将大量的由在发酵缸中培养的微生物产生的靛蓝用于含羟基或含氮的有机被染物，在染色前无需将染料从其余的生物物质中分离出来，也无需进一步纯化染料或浓缩染料。

根据本发明，使含羟基或含氮的有机被染物染色的方法最好包括：

通过在发酵缸中培养的微生物产生靛蓝（或其衍生物）而生成生物物质：

溶化生物物质的细胞；以及

用不将靛蓝（或其衍生物）从其余的固体生物物质中分离出来的固体生物物质使含羟基或含氮的有机被染物染色。

溶化细胞膜可用已知的机械方法，最好用非机械方法，例如

a）酸碱反应（如实施例 1所述）

b）在中等压力下进行反应

c）渗透处理

d）酶促反应。

根据本发明的方法，在不考虑选择溶胞方法的情况下，最好能将生物物质进一步处理成保证用氢氧化钠水溶液使生物物质的所有细胞都变性（此系生态原因所需），从而使其pH值呈碱性（最佳为12左右），接着进行中和，例如用磷酸氢盐进行处理，使其pH值达到7 。

根据本发明的方法，最好在生物合成后进行染色前，将固体生物物质干燥。可用任何的常规方法干燥生物物质，例如在金属板上、真空加热炉中或用装有搅拌筒的真空浆式干燥器，都能进行干燥，蒸去水分。最好是用喷零干燥。这种喷雾干燥是先将生物物质经特定颗粒尺寸筛子过筛，然后用常规喷雾干燥器如布希喷雾器（Buchi sprayer）干燥成粉状，或在流化床中干燥成颗粒状物质。这种干燥方法可在有其他助剂存在下进行，例如可用于下述染色工艺的增溶剂或标定剂。

染色前最好将不含靛蓝的过量液相用已知技术与固体生物物质分离，例如用离心、倾析和／或粗过滤等方法。

根据本发明的方法，最好在生物合成和任何分离后但在染色前，用已知方法将生物物质进行均化，pH值最佳为 7，均化方法例如可用剧烈

搅拌法（用polythron 搅拌器）、稀释剂或粉碎法（例如用玻璃珠），任选地在有分散剂存在下，用阴离子分散剂则更好，用适宜于增加靛蓝（或其衍生物）在对于准备应用的染料是特定染浴中的分散能力的分散剂则最好。其作用在于缩小细胞外生成的靛蓝的任何固体凝聚的尺寸。

此外，根据本发明提供一种制备含有适宜于加入染浴的靛蓝（或其衍生物）的生物物质的方法，包括

用微生物方法制造靛蓝（或其衍生物）；以及

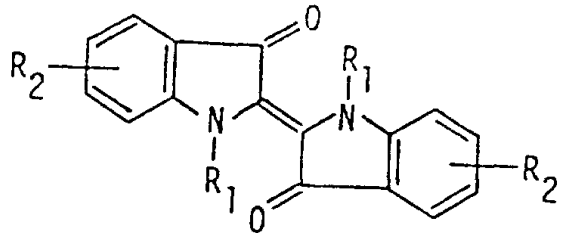
干燥生成的生物物质，从而使靛蓝染料在加入染浴之前不与其它的生物物质分离。

根据本发明制备生物物质的方法，最好在干燥前，将生物物质的细胞溶化。在干燥前，还可以按上所述进行生物物质的分离和／或均化。

此外，根据本发明提供一种含有由在发酵缸中培养的微生物产生靛蓝（或其衍生物）的基本上干燥的生物物质，从而使靛蓝染料不与其它的生物物质分离。这种生物物质适用于加入染浴而无需进行任何分离、纯化或浓缩步骤。

用于染浴前先干燥生物物质的一个优点在于实际上去除了刺激性气味。

根据本发明所用的由微生物方法产生的靛蓝化合物最好是式Ⅰ化合物



Ⅰ

式中，每个R_1独立地表示氢或C_{1-4}烷基；

每个R_2独立地表示氢、氟、氯、溴、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基、羟

基、氰基、氨基或硝基。

根据式Ⅰ，还包括对称和不对称取代的靛蓝类似物。

根据上述生物合成方法，靛蓝是通过大肠杆菌细胞克隆重组体由吲哚形成的。如不用吲哚、而用取代的吲哚或吲哚混合物，则可得到能用于染色棉织物的对称或不对称取代的靛蓝衍生物。

根据本发明得到的生物物质形式的靛蓝化合物适宜于用瓮染方法使含羟基或含氮的有机被染物染色，例如羊毛、棉花和亚麻等制品，但按照靛蓝印染厂的通风情况，采用液浸法染色为最佳。粗制瓮染料可还原为水溶性形式并用于氧化固色的被染物上。得到具有与活性物质相关而通常不褪色的性质的染色。

用本发明的生物物质进行染色，其所产生的纯靛蓝（或其衍生物）染色与关系到活性物质而通常不褪色的性质有微细的差别。

还出乎意外地发现，尽管是用含有生物物质碎屑的粗制靛蓝进行染色，但仍然得到洁净的色彩。事实上，看来如果在被染物上进行染料的纯化，则无需在早期阶段进行纯化。

以下实施例具体说明本发明，在所有实施例中，除了另有说明外，所有份额和百分比都以重量或体积计，温度则以摄氏度计。

实施例 1：靛蓝生物物质的生产

按美国专利4520103 实施例 5所述，大肠杆菌株HB101 的克隆重组体是在pH值、温度、生长培养基的组合物以及通气等最佳条件下生长在发酵桶中。

将倒去发酵液而得到的湿的发酵糊浆经离心进一步除去多余的液体。接着通过酸－碱反应将细胞溶化。加入氢氧化钠水溶液，使pH值呈碱性。然后加磷酸氢二钠，使pH值达到 7。

细胞溶化后，用pH12的氢氧化钠水溶液处理生物物质，最后加磷酸氢二钠，将pH值调至 7。得到具有令人不快的气味的水悬浮液，其中含

有活性成分靛蓝、细胞片段、磷酸钠，以及由发酵处理和残留营养液生成的副产物。

按照实施例 1所述方法，可以进一步制备由微生物方法产生的靛蓝化合物（从适宜取代的吲哚衍生物开始）。

实施例 2：将靛蓝悬浮液干燥成粉末

喷雾干燥可采用下列a）至d）之一的方法，以获得粉末制剂：

a）用polythron 搅拌器均化得到的实施例 1的水悬浮液，经例如筛孔为0.1 毫米的筛子过筛。悬浮液很容易通过筛子，留下少量的残渣。

b）含有凝聚颗粒的水悬浮液经在溶解器（一种装有高速齿轮的装置）中处理后，使分布在悬浮液中的颗粒成为小片。

c）将实施例 1的水悬浮液用球磨研磨成粉末（无需加入任何其他添加剂）。

d）将实施例 1的水悬浮液在阴离子分散剂存在下用球磨研磨成粉末。适合的分散剂是含水β－萘磺酸与甲醛进行反应得到的钠盐的浓缩产物。

实施例 3

a）干燥可用布希喷雾器按如下方法进行：

将上述实施例2a至2d之一进行预处理而生成的靛蓝悬浮液单独用130℃热空气流经双喷咀进行喷射。然后降低热气温度，用过的气体约为75℃。得到的暗色粉末不含令人讨厌气味的成份。

b）按下述方法可将靛蓝悬浮液干燥成颗粒状：

用实施例 2方法之一进行预处理，将预处理过的靛蓝悬浮液按常规方法喷入流化床成粒器。得到的暗色颗粒不含令人讨厌的气味的成份。

实施例 4

根据液浸法（模拟靛蓝印染厂）的靛蓝染色可按下述方法进行：

a）染料溶液的生产

根据普通瓮染料制造方法的原理，将染料溶解。 按照该方法，将实施例3a或3b得到的粉末或颗粒100 份、磺化蓖麻酸钠(80%磺化度) 20份、市售阴离子液体分散剂置于一起，拌成完全浆状化，再加入60℃的软水，把体积调至100 份。 然后加入0.75份氢氧化钠溶液（36 °波美度) 和0.6 份浓亚硫酸氢钠水溶液。混合物在60℃下保持15分钟。将得到的浅黄色瓮染料冷却至25℃，整批用于下述染色法中。

b) 染色步骤如下:

将煮过的易受潮的棉织品浸于按实施例4a制备的染液中10秒钟。然后棉织品在薄软绸上经两个辊挤压，得到总抽出量约60%(根据干重的增加) 。

已被织物吸收的瓮染料经悬在空气中氧化 3分钟后得到蓝色。

对靛兰印染厂来说，上述操作仅仅是一次，而这样的操作需要重复两次，而为了要完全地染色，需要进行三次才能完成。

完成染色后需用冷水漂洗，直至其不含碱性。用1.5 毫升／升的40% 过氧化氢在60℃处理 5分钟以上可完成氧化，再用温水漂洗。然后用 1毫升／升的脂族聚乙二醇醚（一种市售非离子分散剂），在80℃下皂洗 5分钟。经先后用温水和冷水漂洗后，按常规方法进行干燥。

得到牢固的靛蓝染色，色调洁净。这种棉织物染色的不褪色性质，完全与用常规制备的靛蓝进行染色所期望得到的那些性质相当。