



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 44319

(13) C2

(51) 7 C12N1/14, C12P1/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ МЕЛАНІНУ

1

2

(21) 97126128

(22) 18 12 1997

(24) 15 02 2002

(46) 15 02 2002, Бюл. № 2, 2002 р.

(72) Борщевська Марина Іллівна, Жебровська Філя Іванівна, Шуляковська Катерина Борисівна, Жилев Володимир Тимофійович, Губченко Катерина Миколаївна, Жданова Неля Миколаївна

(73) Відкрите акціонерне товариство "Фармак"

(56) Авторське свідоцтво СРСР № 1063834

(57) Спосіб одержання меланіну кислотним гідролізом біомаси гриба *Cladosporium cladosporioides* 396, який відрізняється тим, що гідроліз проводять 50% сірчаною кислотою, меланін після фільтрації гідролізованої маси обробляють в реакторі перемішуванням протягом 20-30 хвилин при температурі 100-110°C з оцтовою кислотою в співвідношенні меланін: оцтова кислота = 1:15-20 та промиванням його гарячою водою до pH 5,7 ± 0,4

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема, до способу одержання меланіну рослинного походження з біомаси гриба *Cladosporium Cladosporioides* 396 (продуцент-штам гриба *Cladosporium Cladosporioides* 396 захищений а с 1063834A)

Меланін, одержаний з вищевказаного продуценту, являє собою високо-молекулярний полімер індольної природи нерегулярної структури і характеризується наявністю великої кількості парамагнітних центрів - показника ненасичених зв'язків в полімері, - внаслідок чого основною характеристикою меланіну є величина адсорбційної ємності, тобто, величина, яка характеризує процент адсорбованого металу, який має парамагнітні властивості, по відношенню до маси меланіну

Відомі способи одержання меланіну з біомаси продуцентів багаторазовою гарячою або холодною екстракцією біомаси 0,5N [1] ідким натром або вилучення з біомаси 0,5N ідким натром в автоклаві при 0,5 - 1 атм [2]

Недоліками обох способів є їх тривалість та практична неможливість повного вилучення меланіну з біомаси

Відомий спосіб одержання меланіну з біомаси руйнуванням органічної речовини клітини шляхом послідовної обробки її петролейним ефіром, спиртом, концентрованою сірчаною кислотою з наступним вимиванням продуктів гідролізу

Таким способом було одержано меланін з біомаси гриба *Ustilado maydis* [3], Спосіб тривалий, вимагає великих затрат, важковідтворюваний в

промисловості

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб одержання меланіну з біомаси кип'ятінням останньої в суміші оцтової та хлористоводневої кислот з наступним вимиванням продуктів гідролізу гарячою 80% оцтовою кислотою та гарячою очищеною водою [4]. Згідно способу [4] суху біомасу кип'ятять з сумішшю льодяної оцтової кислоти, концентрованої хлористоводневої кислоти та води в співвідношенні 1:5, 5:4:1,3 при температурі 105°C протягом 4 годин. Гарячу суміш фільтрують. Виділений меланін на фільтрі промивають 3 - 5 - кратним об'ємом гарячої 80% оцтової кислоти та гарячою очищеною водою, висушують при 80°C

Вихід меланіну 36%

До недоліків прототипу слід віднести

- неможливість повної очистки меланіну від продуктів гідролізу,

- високі витратні норми допоміжних речовин (для одержання 1кг меланіну витрачається приблизно 60кг оцтової кислоти та 11кг концентрованої хлористоводневої кислоти),

- велика кількість неутилізованих відходів (приблизно 80кг кислот з 1кг одержаного меланіну)

В основу винаходу поставлено задачу промислового одержання меланіну з біомаси гриба *Cladosporium Cladosporioides* 396 шляхом підбору відповідних допоміжних речовин та умов гідролізу немеланінових компонентів грибною біомаси, сукупності та чередування операцій по вимиванню продуктів гідролізу, який забезпечував би одержання високоочищеного меланіну в високою адсорбцій-

(13) C2

(11) 44319

(19) UA

ною ємкістю при мінімальних витратах допоміжних речовин, їх максимальній регенерації, при скороченні тривалості процесу, поліпшенні умов праці, зменшенні кількості неутилізованих відходів

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що гідроліз немеланінових компонентів біомаси гриба *Cladosporium Cladosporioides* 396 проводять в присутності 50% сірчаної кислоти з наступною фільтрацією гарячої суміші, перемішуванням відфільтрованого меланіну (з метою швидкого і ефективного вимивання продуктів гідролізу) з оцтовою кислотою при 100-110°C протягом 30 хвилин, фільтрацією гарячої суспензії і відмиванням меланіну від продуктів гідролізу немеланінових компонентів замішуванням з гарячою очищеною водою на нутч-фільтрі

Технічний результат, що досягається в результаті впровадження винаходу, полягає в одержанні високоочищеного меланіну з високою адсорбційною ємкістю, економічній доцільності процесу за рахунок використання більш дешевих допоміжних речовин, зниження їх витрат на одиницю готового продукту та можливості максимально регенерувати, поліпшенні умов праці та зменшенні кількості неутилізованих відходів

Спосіб здійснюється таким способом

Суспензію біомаси, яка містить в собі меланін, в 50% сірчаній кислоті кип'ятять із зворотним холодильником при температурі 116°C протягом 3-4 годин, охолоджують до 85 - 95°C та фільтрують на нутч-фільтрі

Відфільтрований меланін знову загрузають в реактор та перемішують з льодяною оцтовою кислотою, взятою у співвідношенні 1:15, при 100 - 110°C протягом 20 - 30 хвилин. Суміш фільтрують гарячою на нутч-фільтрі

Меланін на нутч-фільтрі промивають гарячою очищеною водою до $pH = 5,7 \pm 0,4$

Сушать у вакуумній сушильній шафі при 80°C. Вихід цільового продукту 36%, адсорбційна ємкість 72 - 91% (по цинку)

Оцтову кислоту регенерують та вертають у виробництво. Вихід 80%

Наводимо конкретні приклади впровадження винаходу

ПРИКЛАД 1

В реактор з мішалкою, зворотним холодильником та термопільзою загрузають 271кг (194,3л) 50% сірчаної кислоти та 41,7кг біомаси продуценту. Суміш нагрівають до кипіння (116°C) і витримують протягом 4 годин. Після цього реакційну масу охолоджують до 85 - 95°C, фільтрують на нутч-фільтрі і старанно віджимають від кислих маточників

Віджатиий від маточників меланін знову загрузають в реактор, добавляють 208л оцтової кислоти, суспензію перемішують при 100 - 110°C протягом 20 - 30 хвилин і фільтрують гарячою на нутч-фільтрі

Добре віджатиий від маточників оцтової кислоти меланін промивають замішуванням з гарячою очищеною водою на нутч-фільтрі до $pH = 5,7 \pm 0,4$

Сушать в вакуумній сушильній шафі при 80°C

Одержують 15кг меланіну з адсорбційною ємкістю по цинку 91%

ПРИКЛАД 2

В реактор з мішалкою, зворотним холодильни-

ком та термопільзою загрузають 271кг (194,3л) 50% сірчаної кислоти та 41,7кг біомаси продуценту

Суміш нагрівають до кипіння (116°C) та дають видержку протягом 3 годин

Після закінчення видержки реакційну масу охолоджують до 85 - 95°C, фільтрують на нутч-фільтрі та добре віджимають від кислих маточників

Віджатиий від маточників меланін знову загрузають в реактор, добавляють 208л оцтової кислоти, суспензію перемішують при 100 - 110°C протягом 20 - 30 хвилин та фільтрують гарячою на нутч-фільтрі

Добре віджатиий від маточників меланін промивають замішуванням з гарячою очищеною водою на нутч-фільтрі до $pH = 5,7 \pm 0,4$. Висушують в вакуумно-сушильній шафі при 80°C. Одержують 15кг меланіну з адсорбційною ємкістю по цинку 80%

ПРИКЛАД 3

В реактор з мішалкою, зворотним холодильником та термопільзою загрузають 271кг (194,3л) 50% сірчаної кислоти та 41,7кг біомаси продуценту. Суміш нагрівають до кипіння (116°C) та дають видержку протягом 4 годин. Після закінчення видержки реакційну масу охолоджують до 85 - 95°C, фільтрують на нутч-фільтрі та віджимають від маточників

Віджатиий меланін знову загрузають в реактор, добавляють 167л оцтової кислоти, суспензію перемішують при 100 - 110°C протягом 20 - 30 хвилин і фільтрують гарячою на нутч-фільтрі. Добре віджимають від маточників та промивають замішуванням з гарячою очищеною водою на нутч-фільтрі до $pH = 5,7 \pm 0,4$. Висушують в вакуумно-сушильній шафі при 80°C

Одержують 15кг меланіну з адсорбційною ємкістю по цинку 72%

Сукупність і послідовність операцій процесу, значення режимів та параметрів, а також співвідношення компонентів, що заявляються, достатні і необхідні для виконання поставленого в винаході завдання

Заявлені співвідношення реагентів (біомаса сірчана кислота), а також концентрація кислоти визначені експериментально

При зменшенні кількості кислоти, рівно як і при використанні менш концентрованої кислоти, гідроліз немеланінових компонентів біомаси продуценту проходить не до кінця, що призводить до зниження адсорбційної ємкості меланіну

Використання більш концентрованої кислоти знижує вихід меланіну (меланін малорозчинний в концентрованих кислотах [4]). Збільшення кількості 50% сірчаної кислоти не призводить до збільшення ступеня гідролізу біомаси

Тривалість гідролізу протягом 3 - 4 годин достатня для того, щоб в максимальній мірі розщепити ліпідно-білково-вуглеводний комплекс і звільнити меланін

При тривалості гідролізу протягом менш, ніж 3 години, гідроліз проходить не в повній мірі, що призводить до одержання недостатньо чистого меланіну

Збільшення тривалості гідролізу протягом більш, ніж 4 години, не призводить до покращення якості меланіну та економічно недоцільно

Температура фільтрації реакційної маси після гідролізу слідуючими факторами

зниження температури нижче 85°C призводить до кристалізації продуктів гідролізу немеланінових компонентів біомаси, що потребує збільшення витрат оцтової кислоти, подовжує час промивання меланіну гарячою очищеною водою і збільшує її витрати

Підвищення температури вище 95°C призводить до погіршення умов праці та забруднення кислим аерозолем навколишнього середовища

Введення технологічної стадії перемішування меланіну з гарячою оцтовою кислотою з наступною гарячою фільтрацією дозволяє з мінімальними витратами оцтової кислоти відділити меланін від продуктів гідролізу немеланінових компонентів, при цьому витрати оцтової кислоти зменшуються в 4 рази, прискорюється процес промивання меланіну гарячою очищеною водою і зменшуються її витрати

Температура перемішування меланіну, забрудненого продуктами гідролізу, з оцтовою кислотою визначалась з урахуванням слідуючих факторів при температурі нижче 100°C продукти гідролізу,

що залишились з меланіном, не повністю розчиняються в оцтовій кислоті, що призводить до зниження адсорбційної ємкості меланіну. Підвищення температури до більш, ніж 110°C, недоцільно, тому що це супроводжується кипінням і потребує відповідного апаратурного оформлення та охолодження маси перед фільтрацією до 100 - 110°C

Промивання меланіну гарячою очищеною водою до pH = 5,7 ± 0,4 обумовлена тим, що меланін - природний полімер, який має буферні властивості з вказаним значенням водневого показника

Спосіб, що заявляється, дозволяє одержати високоочищений меланін, який має високу адсорбційну ємкість

ЛІТЕРАТУРА

- 1 Лях С. П., Рубан Е. Л. Микробные меланины - М Наука, 1972 -183 с
- 2 Рубан Е. Л., Лях С. П., Хрульова І. М., Титова І. А. Меланиновые пигменты Nadschiella nidra Изв. АМ СССР, сер Биол., 1969, № 1 с 134-148
- 3 Nicolaus R. A. Clinica delle melanlie natural Chemical Y, Industria - 1966-48
- 4 Ав. св. 1063834 (СРСР)

Порівняльний аналіз способу, що заявляється, та прототипу

Прототип

- 1 Загрузка реагентов биомасы концентрированной хлористоводородной кислоты оцтовой кислоты воды
 - 2 Гидролиз кип'ятінням протягом 3 - 4 годин
 - 3 Фільтрація гарячої маси
 - 4 Промивання меланіну гарячою 80% оцтовою кислотою на фільтрі
 - 5 Промивання гарячою очищеною водою
 - 6 Висушування при 80°C
- Тривалість процесу - 30 годин
Вихід 36%
Адсорбційна ємкість 70 - 78%
Витрати сировини та допоміжних речовин для одержання 1кг меланіну біомаси - 2,8кг
концентрованої хлористоводородної кислоти - 10,8кг
оцтової кислоти - 60кг

Спосіб, що заявляється

- 1 Загрузка реагентов биомасы 50% сірчаної кислоти
 - 2 Гидролиз кип'ятінням протягом 3 - 4 годин
 - 3 Фільтрація гарячої маси
 - 4 Відділення продуктів гідролізу немеланінової фракції перемішуванням меланіну в реакторі з оцтовою кислотою при 100 - 110°C протягом 20 - 30 хвилин
 - 5 Промивання гарячою очищеною водою
 - 6 Висушування при 80°C
- Тривалість процесу - 20 годин
Вихід 36%
Адсорбційна ємкість 72 - 91%
Витрати сировини та допоміжних речовин для одержання 1кг меланіну біомаси - 2,8кг
50% сірчаної кислоти - 18кг
оцтової кислоти без урахування регенерації - 14,5кг
з урахуванням регенерації - 3,0кг