



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40762 (13) A

(51) 7 C12P13/08

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ КОМПЛЕКСНОЇ ПЕРЕРОБКИ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ ПРОДУЦЕНТА L-ЛІЗИНУ

(21) 99074281

(22) 23.07.1999

(24) 15.08.2001

(72) Рискаль Володимир Олегович, Куваєва Зоя Іванівна (BY), Салдатав Уладзімір Сяргеевіч (BY), Роговер Валерій Семенович, Лужков Олександр Михайлович, Руских Анна Миколаївна, Кузьміна Ельвіра Петрівна, Мікуліч Авенарий Васильєвіч (BY), Скрипчанка Аляксандр Сяргеевіч (BY)

(46) 15.08.2001, Бюл. № 7, 2001 р.

(73) ВІДКРИТЕ АКЦІОНЕРНЕ ТОВАРИСТВО "ТРИ-ПІЛЬСЬКИЙ БІОХІМІЧНИЙ ЗАВОД"

(57) 1. Спосіб комплексної переробки культуральної рідини продуцента L-лізину, який включає виділення біомаси продуцента, іонообмінне виділення L-лізину, упарювання, кристалізацію, сушіння, що дозволяє отримувати дві і більше товарних форм лізингмісних продуктів з концентрацією L-лізину гідрохлориду від 3 до 98,5%, який **відрізняється** тим, що виділення біомаси продуценту проводять на відцентрових сепараторах і/чи шляхом баромембранної обробки куль-

туральної рідини на мікро-, ультра- та нано-фільтраційних установках, при цьому поряд з біомасою відділяються молекули білків та інших високомолекулярних сполук, і отриманий в результаті цієї обробки білковоамінокислотний концентрат використовують для виробництва високоефективної лізинпротеїнової кормової домішки з концентрацією L-лізину гідрохлориду (3-50)%, а пермеат – для отримання висококонцентрованих лізингмісних продуктів з концентрацією L-лізину гідрохлориду (50-98,5)%.

2. Спосіб за п.1, який **відрізняється** тим, що іонообмінне виділення L-лізину проводять методом іонообмінної екстракції з використанням як іоніту (екстрагенту) розчину амонійної солі полііонілнафталінсульфофосфатної в середовищі органічного розчинника, що не змішується з водою, при мольному співвідношенні L-лізин/екстрагент 0,2-0,75 і рН 1,5-3,0 з наступним переводом L-лізину в водну фазу розчину аміаку при рН 10-11.

Винахід відноситься до мікробіологічної промисловості і стосується безпосередньо технології отримання лізингмісних продуктів.

Відомі способи отримання L-лізин гідрохлориду з культуральної рідини у вигляді кормових концентратів з вмістом L-лізин гідрохлориду (7-20) % і кристалічного L-лізин гідрохлориду з вмістом основної речовини (95-98,5) %; при цьому при отриманні кристалічного L-лізин гідрохлориду основними технологічними стадіями є: виділення біомаси продуценту, іонообмінне виділення L-лізину з використанням твердих іонітів, упарювання елюату, кристалізація, перекристалізація, сушіння [1, 2, 3].

Велике значення в процесі отримання L-лізину полягає в стадії іонообмінного виділення, і питанню вдосконалення цієї стадії приділялася велика увага вчених і виробників [4, 5]. Однак, до цього часу спосіб виділення і очищення L-лізину з культуральної рідини залишається складним, багатостадійним, потребує використання значної кількості реагентів при іонообмінному виділенні і

супроводжується великою кількістю виробничих стоків.

Поставлену мету підвищення ефективності процесу переробки культуральної рідини продуценту L-лізину досягають шляхом реалізації багатопродуктової маловідходної схеми отримання лізингмісних продуктів з використанням більш прогресивних технологічних процесів на окремих стадіях виробництва.

Нижче наводиться стисла характеристика нових технологічних процесів.

1. Баромембранну обробку культуральної рідини проводять на мікро-, ультра-, нанофільтраційних установках, на яких відділяють з культуральної рідини не тільки біомасу продуценту, але й розчинені білки та високомолекулярні сполуки (домішки). В результаті такої обробки отримують щонайменше два лізингмісних потоки, вміст лізину в одному з них більший, а в другому менший, ніж у вихідному розчині. Очищений від домішок розчин L-лізину використовують для отримання лізингмісного готового продукту з концентрацією

L-лізину (у розрахуванні на L-лізин гідрохлорид) більше 50 % (продукт В). Більш збагачений домішками розчин використовують для отримання низькоконцентрованої товарної форми лізинвміщуючого продукту з концентрацією L-лізину (у розрахуванні на L-лізин гідрохлорид) (3-50) % (продукт А).

Склад продукту А завдяки наявності в ньому крім L-лізину інших амінокислот, біомаси продуценту, розчинних білків, бетаїну, мікроелементів та інших корисних компонентів забезпечує більш високу ефективність збалансованого ним за L-лізином корму на основі зернових культур у порівнянні з кормом, збалансованим L-лізином гідрохлоридом 98,5 % вмісту.

Попередньою стадією перед баромембранною обробкою може бути стадія відділення завислих речовин на відцентрових сепараторах.

2. Для отримання концентрованих товарних форм лізинвміщуючих продуктів з концентрацією L-лізину гідрохлориду більше 85 % після баромембранної обробки культуральної рідини проводять вилучення L-лізину з очищеного розчину методом іонообмінної екстракції з використанням в якості екстрагенту розчину амонійної солі полінонілнафталінсульфокислоти в середовищі органічного розчинника, що не змішується з водою. Мольне співвідношення L-лізин/екстрагент 0,2-0,75; pH 1,5-3,0. Перевод L-лізину в водну фазу здійснюють розчином аміаку при pH 10-11.

Іонообмінне виділення L-лізину проводять на відцентрових екстракторах-сепараторах, які дозволяють забезпечити високу швидкість і необхідний ступінь вилучення цільового продукту.

Пропонується метод іонообмінного виділення L-лізину знижує витрату промивної води, реагентів, різко зменшує кількість виробничих стоків і простий для реалізації.

Із отриманого на стадії іонообмінного виділення реекстракту після упарювання і сушіння отримують лізинвміщуючий готовий продукт з концентрацією L-лізину гідрохлориду (85-98) % (продукт Г), або після стадії кристалізації і сушіння отримують продукт з концентрацією L-лізину гідрохлориду 98,5 % (продукт Д).

Рафінат після іонообмінного вилучення L-лізину використовують для отримання продукту А.

В залежності від умов виробництва та бажання споживача іонообмінне виділення L-лізину проводять також безпосередньо із культуральної рідини з подальшим упарюванням і сушінням реекстракту та отриманням продукту з вмістом L-лізину гідрохлориду (70-85) % (продукт Б).

Таким чином, в результаті, реалізації запропонованого способу переробки культуральної рідини продуценту L-лізину в залежності від умов виробництва та бажання споживача для використання в кормовиробництві отримують 5 товарних форм лізинвміщуючих продуктів з концентрацією L-лізину гідрохлориду від 3 до 98,5 % з забезпеченням високої ефективності кормів, приготування з використанням цих продуктів (продукти А, Б, В, Г, Д).

#### Приклад 1.

4,8 л культуральної рідини продуценту L-лізину (КР), отриманої в результаті культивування штаму *Brevibacterium flavum* ВНДІ-генетика-90н з

використанням в якості вуглеводного компоненту поживного середовища – цукру, підкислюють соляною кислотою до pH 5 і мікрофільтрують в тангенціальному потоці на установці марки АРБ-0,06 СН з трубчатими керамічними мембранними елементами (розмір пор 0,2 мкм). В результаті фільтрації з КР отримують пермеат і концентрат з характеристиками, що наведені в таблиці 1.

2 л пермеату упарюють під вакуумом на роторному випарнику марки ІР-10 до концентрації сухих речовин 60 %, після чого упарений розчин висушують в киплячому шарі на нестандартній сушарці.

Отриманий продукт має наступні характеристики: CP=98 %,  $C_{Lys\ HCl}/CP=65,1$  % - продукт В.

Концентрат упарюють під вакуумом на роторному випарнику марки ІР-10 до концентрації сухих речовин 55,2 %, після чого ретельно змішують з 250 г попередньо підсушених до залишкової вологості 4 % пшеничних висівок і, продавивши суміш крізь фільтри з діаметром отворів 4 мм, висушують отримані гранули на сітці в потоці нагрітого повітря на нестандартній сушарці. Отриманий продукт має наступні характеристики:

CP=95 %,  $C_{Lys\ HCl}/CP=15$  % - продукт А.

#### Приклад 2.

2 л пермеату, отриманого як описано в попередньому прикладі, підкислюють при перемішуванні концентрованою соляною кислотою до pH розчину 1,8. Отриманий розчин переносять в скляний реактор, додають 2 л 0,5 н розчину амонійної солі полінонілнафталінсульфокислоти (ПНСК) в октані у співвідношенні 1 об'єм розчину лізину до 1,5 об'єму ПНСК і перемішують на протязі 5 хвилин. Після руйнування емульсії органічну фазу відділяють від рафінату і додають до неї 7 % розчин аміаку в воді, після перемішування емульсії на протязі 5 хвилин фази знову поділяють, при цьому лізін переходить у водну фазу - елюат.

З метою більш повного вилучення L-лізину екстракційну обробку отриманого рафінату проводять ще 2 рази способом, описаним вище. Характеристики отриманих розчинів наведені в таблиці 2.

Для відгонки аміаку елюат упарюють до об'єму 0,6 л, після чого підкислюють соляною кислотою до pH 5 і упарюють до вмісту сухих речовин 59,2 %. Упарений розчин висушують на сушарці в киплячому шарі.

Отриманий продукт має наступні характеристики: CP=98,4 %,  $C_{Lys\ HCl}/CP=90,7$  % - продукт Г.

#### Приклад 3.

2 л КР, отриманої в результаті біосинтезу з використанням в якості вуглеводного компоненту поживного середовища - меляси, підкислюють при перемішуванні концентрованою соляною кислотою до pH 1,9 і двічі проводять цикли екстракції-реекстракції, як описано в прикладі 2.

Характеристики отриманих розчинів наведені в таблиці 3.

3 елюату відгоняють аміак і після підкислення концентрованою соляною кислотою до pH 5 упарюють до концентрації сухих речовин 58,7 %, після чого упарений розчин висушують на сушарці в киплячому шарі.

Отриманий продукт має наступні характеристики:  $CP=98,3\%$ ,  $C_{LysHCl}/CP=81,2\%$  - продукт Б.

Рафінат змішують з 2,5 л вихідної КР і упарюють до вмісту сухих речовин 56,4 %. Упарений розчин змішують з 628 г підсушених до залишкової вологості 4 % пшеничних висівок і після грануляції отриманої пасти крізь фільтри висушують, як в прикладі 1.

Отриманий продукт має наступні характеристики:  $CP=96,1\%$ ,  $C_{LysHCl}/CP=15,8\%$  - продукт А.

#### Приклад 4.

4 л КР, отриманої як описано в попередньому прикладі, підкислюють при перемішуванні концентрованою соляною кислотою до рН 5 і проводять мікрофільтрацію, як описано в прикладі 1. Отриманий пермеат 1 ультрафільтрують в тангенціальному потоці крізь синтетичні мембрани, поверхня яких спеціально модифікована так, що молекулярно-масова межа затримання становить близько 1000 дальтон.

Характеристики отриманих розчинів наведені в таблиці 4.

Пермеат 2 підкислюють при перемішуванні концентрованою соляною кислотою до рН 1,9 і тричі проводять цикли екстракції-реекстракції, як описано в прикладі 2.

Характеристики отриманих розчинів наведені в таблиці 5.

З елюату відгоняють аміак і після підкислення концентрованою соляною кислотою до рН 5 упарюють до концентрації сухих речовин 65 %.

Потім колбу з упареним розчином обладнують механічною мішалкою і розміщують в холодильнику. Розчин при постійному перемішуванні

охолоджують до температури 6°C і витримують 8 годин.

Отриману суспензію з кристалами L-лізину гідрохлориду розділяють на фільтруючій центрифугі (фактор розділення близько 6000).

Отримані кристали промивають 50 мл охолодженої до +6°C знесоленої води і після віджиму на фільтруючій центрифугі висушують в сушильній шафі при температурі 105°C. При цьому отримують 16,6 г продукту з вологістю 1,2 % і вмістом L-лізину гідрохлориду в сухих речовинах 98,8 %.

Маточник після кристалізації змішують з рафінатом від третього циклу екстракції-реекстракції і з концентратами після проведення мікро- та ультрафільтрації. Отримують розчин із наступними характеристиками:

$M_{розчину}=5,32$  кг,  $CP=17,54\%$ ,  $C_{LysHCl}=40,1$  г/л.

Потім даний розчин упарюють до вмісту сухих речовин 55 %, змішують з 7000 г підсушених до залишкової вологості 4 % пшеничних висівок і після грануляції отриманої пасти крізь фільтри висушують, як в прикладі 1.

Отриманий продукт має наступні характеристики:  $CP=97,0\%$ ,  $C_{LysHCl}/CP=12,0\%$  - продукт А.

#### Джерела інформації

1. Окумура С., Иосинага, Иосихара Я. Патент 440848, 1974, JP.

2. А.с. 171727 СССР, МКИ С12Р 13/08, 1965.

3. Р.Ю. Аре, Я.Я. Лаукевич, У.Е. Виестур. Микробные концентраты, их свойства и применение. Научный обзор. Известия Академии наук Латвии, 1980.

4. А.с. 1112779 СССР, МКИ С12Р13/08, 1982.

Таблиця 1

Найменування	Об'єм, л	Концентрація		
		Лізин гідрохлорид, г/л	Сухі речовини, %	Біомаса (завислі речовини), %
Підкислена КР	4,8	95	15,6	3
Пермеат	4	98,5	13,06	0
Концентрат	0,8	77,5	27,61	17,2

Таблиця 2

Найменування	Об'єм, л	Концентрація	
		Лізин гідрохлорид, г/л	Сухі речовини, %
Підкислений пермеат	2,14	92,1	14,4
Рафінат після 3 циклу	2,14	2,2	5,87
Об'єднаний елюат	3	62,8	5,38

Таблиця 3

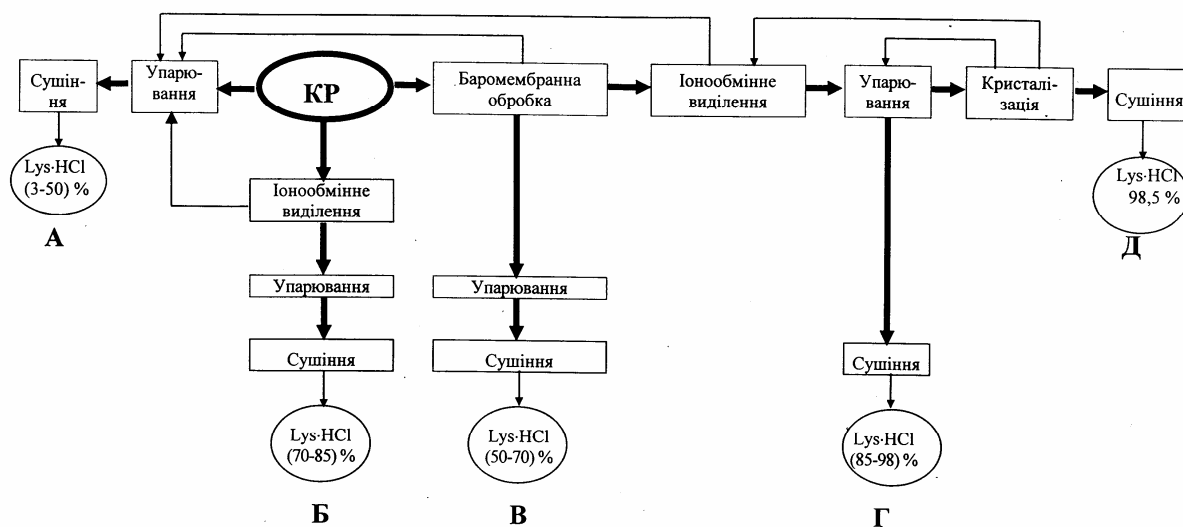
Найменування	Об'єм, л	Концентрація	
		Лізин гідрохлорид, г/л	Сухі речовини, %
КР	2,0	80	20
Підкислена КР	2,12	75,5	20,7
Рафінат після 2 циклу	2,12	19,8	15,0
Об'єднаний елюат	2,0	57,9	5,62

Таблиця 4

Найменування	Об'єм, л	Концентрація		
		Лізин гідрохлорид, г/л	Сухі речовини,%	Біомаса (завислі речовини), %
Мікрофільтрація				
Підкислена КР	4,65	79	19,8	3
Пермеат 1	3,88	83,4	17,4	0
Концентрат 1	0,77	56,9	31,3.	
Ультрафільтрація				
Пермеат 2	2,91	79,2	143,0	
Концентрат 2	0,97	95,9	27,2	

Таблиця 5

Найменування	Об'єм, л	Концентрація	
		Лізин гідрохлорид, г/л	Сухі речовини, %
Пермеат 2	2,91	79,2	14,0
Підкислений пермеат 2	3,11	74,1	15,2
Рафінат після 3 циклу	3,11	1,7	9,1
Об'єднаний елюат	4,5	48,9	4,55



Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»

Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03

