

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **232150**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **418179**

(22) Data zgłoszenia: **03.08.2016**

(51) Int.Cl.

C12G 1/00 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

A01N 55/10 (2006.01)

(54)

Sposób ograniczania żywotności bakterii *Oenococcus oeni*

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

12.02.2018 BUP 04/18

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

31.05.2019 WUP 05/19

(73) Uprawniony z patentu:

**ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET
TECHNOLOGICZNY W SZCZECINIE,
Szczecin, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**KRZYSZTOF CENDROWSKI, Szczecin, PL
EWA MIJOWSKA, Szczecin, PL
KAMILA MIJOWSKA, Szczecin, PL
IRENEUSZ OCHMIAN, Szczecin, PL
BEATA ZIELIŃSKA, Kliniska Wielkie, PL
BARTŁOMIEJ GRYGORCEWICZ, Stargard, PL
PAWEŁ NAWROTEK, Szczecin, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Renata Zawadzka

PL 232150 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób ograniczania żywotności bakterii *Oenococcus oeni*. Sposób może być wykorzystywany w przetwarzaniu owoców winorośli po ukończeniu fermentacji jabłkowo-mlekowej prowadzonej przez bakterie mlekowe *Oenococcus oeni*.

Z publikacji *Materials Science and Engineering: C*, 2016, Vol. 65, pp 323–330 (Xuejuan Wan, Lulu Zhuang, Boxi She, Yuanming Deng, Dazhu Chen, Jiaoning Tang) znane jest przeciwbakteryjne działanie mezoporowatej krzemionki z hierarchiczną strukturą porów, wykorzystaną jako nowy nośnik dla monodispersyjnego nanosrebra. Z publikacji *Journal of Colloid and Interface Science*, 2013, Vol. 407, pp 205–209 (Jooung Song, Yujung Jung, Inkyu Lee, Jyongsik Jang) znany jest także sposób działania przeciwbakteryjnego nanocząstek krzemionki powlekanych cienką powłoką polimerową pDMAEMA powstałą na powierzchni krzemionki przez polimeryzację osadzania pary. Oba sposoby wykazują działanie toksyczne wobec bakterii Gram-ujemnych *Escherichia coli* i Gram-dodatnich *Staphylococcus aureus* wykorzystując krzemionkę jako nośnik/materiał nośny dla komponentów pełniących właściwości antybakteryjne.

Z publikacji *Hydrometallurgy*, 2004, Vol. 71(3–4), pp 385–396 (H Deveci) znana jest metoda ograniczania żywotności bakterii acydofilnych pod wpływem mieszania w reaktorach zbiornikowych w zależności od szybkości mieszania, typu wirnika oraz rozmiaru i kształtu mikrocząsteczek kwarcu oraz szkła sodowego. W publikacji *Nanomedicine & Nanotechnology*, 2013, Vol. 4:6 (Krzysztof Cendrowski, Magdalena Peruzynska, Agata Markowska-Szczupak, Xuecheng Chen, Anna Wajda, Joanna Lapczuk, Mateusz Kurzawski, Ryszard J. Kalenczuk, Marek Drozdziak, Ewa Mijowska) opisany jest sposób antybakteryjnego działania mezoporowatych nanosfer krzemionki modyfikowanych dwutlenkiem tytanu w czasie mieszania roztworu zawierającego bakterie *E. coli* ATCC 25922. Metoda wspomagana przy użyciu naświetlania światłem widzialnym i ultrafioletowym. Z publikacji *Biomedical Microdevices*, 2014, Vol. 16:3, pp 449–458 (Krzysztof Cendrowski, Magdalena Peruzynska, Agata Markowska-Szczupak, Xuecheng Chen, Anna Wajda, Joanna Lapczuk, Mateusz Kurzawski, Ryszard J. Kalenczuk, Marek Drozdziak, Ewa Mijowska) znana jest zbliżona metoda, oparta na właściwościach antybakteryjnych mezoporowatych nanorurek krzemionkowych, modyfikowanych dwutlenkiem tytanu wykorzystująca mieszanie oraz naświetlanie światłem widzialnym i ultrafioletowym w celu intensyfikacji efektu.

Sposób ograniczania żywotności bakterii *Oenococcus oeni* według wynalazku, charakteryzuje się tym, że nanosfery krzemionkowe w postaci zawiesiny dodaje się do roztworu zawierającego zawiesinę bakterii w takiej ilości, aby otrzymać stosunek 1 mg SiO₂ : 100 000 jednostek tworzących kolonie bakterii na mililitr. Następnie otrzymany roztwór miesza się nieprzerwanie przez minimum 90 minut, po czym z roztworu usuwa się bakterie i nanomateriał przez filtrację. Zawiesinę nanosfer krzemionkowych otrzymuje się przez ich dyspersję w wodzie za pomocą ultradźwięków lub wysoko obrotowego mieszadła. Zawiesinę bakterii i zawiesinę nanosfer krzemionkowych miesza się za pomocą mieszadła magnetycznego lub mechanicznego.

Stosuje się nanosfery krzemionkowe o wysokiej biokompatybilności, obojętne chemicznie oraz z tendencją do biodegradacji. Wraz ze wzrostem stosunku nanomateriału do bakterii *Oenococcus oeni* z 0,25 mg na 0,5 mg SiO₂ : 330 000 (jtk/ml) wydajność procesu zwiększa się z 60 do 90% (przy zachowaniu tych samych parametrów reakcji: 500 obr/min, 90 min).

Nanosfery krzemionkowe wykazują potencjalne zastosowanie jako środek antybakteryjny do oczyszczania roztworów z bakterii, jednocześnie wykazując tendencję do biodegradacji. Zastosowanie biodegradowalnych nanosfer krzemionkowych pozwala na uzyskanie produktów wolnych od bakterii *Oenococcus oeni*.

Sposób według wynalazku przedstawiony jest w przykładach wykonania.

P r z y k ł a d I

W celu ograniczenia żywotności bakterii *Oenococcus oeni* z roztworu soli fizjologicznej, nanosfery krzemionkowe oczyszczone z wszelkich substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, dyspergowane są za pomocą ultradźwięków w wodzie. W celu przygotowania zawiesiny nanosfer krzemionkowych, 100 mg nanomateriału dyspergujemy w 100 ml wody. Nanosfery krzemionkowe w postaci zawiesiny wodnej, dodawane są do roztworu soli fizjologicznej o stężeniu 330 tysięcy jednostek tworzących kolonie bakterii *Oenococcus oeni*, na mililitr. Proporcje nanomateriału do bakterii *Oenococcus oeni* wynoszą 0,5 mg SiO₂ : 330 000 (jtk/ml). Zawiesinę mieszamy nieprzerwanie przez 90 minut za pomocą mieszadła magnetycznego z prędkością 500 obr/min, ograniczając liczebność bakterii o 90%. Następnie bakterie i nanomateriał filtrujemy.

Przykład II

W celu ograniczenia żywotności bakterii *Oenococcus oeni* z roztworu soli fizjologicznej, nanosfery krzemionkowe oczyszczone z wszelkich substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym dyspergowane są za pomocą ultradźwięków w wodzie destylowanej. W celu przygotowania zawiesiny nanosfer krzemionkowych, 100 mg nanomateriału dyspergujemy w 100 ml wody. Nanosfery krzemionkowe w postaci zawiesiny wodnej, dodawane są do roztworu soli fizjologicznej, o stężeniu 330 tysięcy jednostek tworzących kolonie bakterii *Oenococcus oeni*, na mililitr. Proporcje nanomateriału do bakterii *Oenococcus oeni* wynoszą 0,25 mg SiO₂ : 330 000 (jtk/ml). Zawiesinę mieszamy nieprzerwanie przez 90 minut za pomocą mieszadła magnetycznego z prędkością 500 obr/min, ograniczając liczebność bakterii o 60%. Następnie bakterie i nanomateriał filtrujemy.

Przykład III

W celu ograniczenia żywotności bakterii *Oenococcus oeni* z roztworu soli fizjologicznej, nanosfery krzemionkowe oczyszczone z wszelkich substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym dyspergowane są za pomocą ultradźwięków w wodzie destylowanej. W celu przygotowania zawiesiny nanosfer krzemionkowych, 100 mg nanomateriału dyspergujemy w 100 ml wody. Nanosfery krzemionkowe w postaci zawiesiny wodnej, dodawane są do roztworu soli fizjologicznej, o stężeniu 700 tysięcy jednostek tworzących kolonie bakterii *Oenococcus oeni*, na mililitr. Proporcje nanomateriału do bakterii *Oenococcus oeni* wynoszą 1 mg SiO₂ : 700 000 (jtk/ml). Zawiesinę mieszamy nieprzerwanie przez 90 minut za pomocą mieszadła magnetycznego z prędkością 500 obr/min, ograniczając liczebność bakterii o 90%. Następnie bakterie i nanomateriał filtrujemy.

Przykład IV

W celu ograniczenia żywotności bakterii *Oenococcus oeni* z moszczu winogronowego (zwierających nanosfery krzemionkowe oczyszczone z wszelkich substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, dyspergowane są za pomocą mieszadła magnetycznego w wodzie destylowanej. W celu przygotowania zawiesiny nanosfer krzemionkowych, 100 mg nanomateriału dyspergujemy w 100 ml wody. Nanosfery krzemionkowe w postaci zawiesiny wodnej, dodawane są do roztworu (moszczu winogronowego) o stężeniu 6 200 000 jednostek tworzących kolonie bakterii *Oenococcus oeni*, na mililitr. Proporcje nanomateriału do bakterii *Oenococcus oeni* wynoszą 0,5 mg SiO₂ : 6 milionów (jtk/ml). Zawiesinę mieszamy nieprzerwanie przez 90 minut za pomocą mieszadła magnetycznego z prędkością 500 obr/min, ograniczając liczebność bakterii o 60%. Następnie bakterie i nanomateriał usuwamy za pomocą filtracji, a oczyszczony moszcz może być dalej przetwarzany.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób ograniczania żywotności bakterii *Oenococcus oeni*, **znamienny tym**, że nanosfery krzemionkowe w postaci zawiesiny dodaje się do zawiesiny bakterii w takiej ilości, aby otrzymać stosunek 1 mg SiO₂ : 700 000 jednostek tworzących kolonie bakterii na mililitr, następnie otrzymany roztwór miesza się nieprzerwanie przez minimum 90 minut, po czym z roztworu usuwa się bakterie i nanomateriał przez filtrację.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że zawiesinę nanosfer krzemionkowych otrzymuje się przez ich dyspersję w wodzie za pomocą ultradźwięków lub wysoko obrotowego mieszadła.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że zawiesinę bakterii i zawiesinę nanosfer krzemionkowych miesza się za pomocą mieszadła magnetycznego lub mechanicznego.

