



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

201807
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 12 P 7/48

(22) Přihlášeno 30 12 77
(21) (PV 9115-77)

(40) Zveřejněno 31 03 80

(45) Vydáno 15 02 83

(75)

Autor vynálezu

MUSÍLKOVÁ MARIE RNDr. CSc., SEICHERT LEOPOLD RNDr. CSc.,
FENCL ZDENĚK RNDr. DrSc., a UJCOVÁ EMMA RNDr. CSc., PRAHA

(54) Kmen plísň *Aspergillus niger* S 59 1600

Vynález se týká nového vysokoprodukčního kmene S 59 k submersní výrobě organických kyselin pro použití zejména v potravinářské chemii a farmakologii.

Pro submersní způsob výroby pro výrobu organických kyselin například kyseliny citronové, nelze používat produkční kmeny vhodné při výrobě způsobem povrchovým a je nutno vyšlechtit a aplikovat nové kmeny. Tento stav částečně řeší čs. autorské osvědčení č. 196 001 využívající k submersní produkci kyseliny citronové nově vyšlechtěné mutanty plísň *Aspergillus niger* 97 A E 81 a NG 233. Nevyřešenou otázkou ovšem stále zůstává přísná specifita v citlivosti jednotlivých mutant k základním podmínkám fermentace, bez jejichž znalosti nelze pak dosáhnout ekonomické výroby. Tato skutečnost vylučuje aplikovat stejnou technologii při použití různých produkčních kmenů.

Předmětem vynálezu je kmen plísň *Aspergillus niger* S 59, vysokoprodukční mutant pro výrobu organických kyselin submersní fermentací, uložený ve sbírce mikroorganismů při Katedře botaniky přírodovědecké Fakulty UK, Praha 2, Benátska 2, pod číslem 1600.

Morfologická a fyziologická charakteristika mutanty plísň *Aspergillus niger* S 59 dle

Thom, Ch., Raper, K. B.: A manual of the *Aspergilli*, Baltimore, 1945:

Kmen S 59 dobře roste a sporuluje na sladinovém agaru. Spory jsou černohnědé. Na sporulačním agaru s pivem vytváří za pět dní kolonie asi 4,5 cm v průměru s hustou černou sporulací, spodní strana kolonií je zbarvena do žluta. Na Raulinově agaru jsou kolonie malé, nejvýše 2 cm v průměru, sporulace je řídká, spory jsou zbarveny okrově a kolonie jsou výrazně zvrásněny. Na Czapkově agaru vytváří kmen 4 cm kolonie se slabou okrovou sporulací, zvrásněné, na spodní straně žluté.

Mikroskopický vzhled: spory jsou tmavohnědé, chlupaté 3,5 až 4,5 μ v průměru, konidiofory 0,5 až 0,7 mm, vysoké, hlavice o průměru 0,1 mm výrazně kulaté. Životnost spor je dlouhodobá, při skladování v karborafinu nebo v lyofilisovaném stavu několik let. Během submersní kultivace na syntetické půdě s 10 až 20 % sacharosy přeměňujete mutant S 59 65 až 75 % sacharosy na kyselinu citronovou. Mutanta je citlivá na nedostatek nebo nadbytek stopových prvků, zvláště Fe v médiu, při jejichž nedostatku nebo nadbytku se produkce kyseliny citronové značně snižuje.

Mutanta S 59 byla získána působením UV světla na suspensi protoplastů původního kmene A. niger K 10 tak, aby počet přežívajících jedinců byl menší než 10 %. Proto-

plasty byly připraveny narušením buněčných stěn mladých hyf plísně *A. niger* K 10 enzymovým komplexem ze šnečích žaludků. Stabilita uvolněných protoplastů byla zajištěna přítomností stabilizátorů, jako KCl nebo NaCl, některých cukrů nebo vyšších alkoholů spolu s malým množstvím Ca^{++} . Suspense protoplastů byla rozlévána na sporulační agarové pů-

dy, obsahující stabilizátory. Po vysporulování byly spory z agaru smyty, naředěny a podrobeny monokloniové selekci. Jednotlivé izoláty byly hodnoceny podle schopnosti růstu, sporulace a produkce citronové kyseliny. Nejlepší izolát označený Q. niger S 59 je předmětem vynálezu.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Kmen plísně *Aspergillus niger* S 59 1600, vysokoprodukční mutanta pro výrobu organických kyselin submersní fermentací, ulo-

žený v sbírce mikroorganismů při Katedře botaniky Přírodovědecké Fakulty UK pod. č. 1600.