

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

268 591

(11)

(13) B1

(51) Int. Cl. 4

C 12 N 9/58

(21) PV 526-88.C

(22) Prihlášené 28 01 88

(40) Zverejnené 14 08 89

(45) Vydané 31 07 90

(75)
Autor vynálezu

BROKEŠ PETER ing. CSc.,
VIŠACKÝ VILIAM ing. CSc.,
FORSTHOFFER JÚLIUS ing. CSc., BRATISLAVA,
BUČKO MICHAL ing. CSc.,
MAZÁŇ ŠTEFAN RNDr.,
JAKUBOVÁ ANTÓNIA ing., BANSKÁ BYSTRICA

(54)

Spôsob získavania enzýmov z fermentačnej
pôdy z výroby penicilínu ultrafiltráciou

(57) Účelom riešenia je získavanie enzý-
mov, predovšetkým proteáz z fermentačnej
pôdy z výroby penicilínu pomocou ultra-
filtrácie. Ultrafiltráciou je možné tie-
to vo finálnom výrobku nežiadúce látky
z fermentačnej pôdy izolovať a skoncentro-
vať tak, že dosiahnu koncentráciu, v kto-
rej sú priemyslove využiteľné. Súčasne
sa ultrafiltráciou vyčistí od nežiadúcich
makromolekulárnych látok finálny výrobok
penicilín.

Vynález rieši získavanie priemyselne použiteľných enzýmov z fermentačnej pôdy z výroby penicilínu pomocou ultrafiltrácie.

Fermentačná výroba benzylpenicilínu a fenoxymetylpenicilínu sa robí submerzne pomocou kmeňa *Penicillium chrysogenum*. Hlavným uhlíkatým zdrojom fermentačnej pôdy je sacharóza, glukóza, alebo laktóza, zdrojom dusíka je kukuričný extrakt, bielkovinové substráty, arašidová múka a sojová múka. Okrem toho pôda obsahuje stopové prvky, biologicky aktívne látky, prekursor, pufujúce látky, odpeňovadlá.

Kultivácia prebieha pri teplote 25 °C, pH sa pohybuje v rozmedzí 6 - 7,5. Počas fermentácie sa pôda intenzívne mieša a vzdušní. Doba kultivácie je 5 - 8 dní. Po skončení fermentačného procesu sa fermentačné médium filtruje na kololisochoch, alebo rotačných vákuových filtroch za účelom odstránenia nerozpustných látok.

Počas kultivácie produkčný kmeň vytvára vedľa penicilínu ešte ďalšie látky medzi nimi aj extracelulárne enzýmy, ktorých prítomnosť vo finálnom výrobku je nežiadúca, nakoľko môžu nepriaznivo pôsobiť na obzvlášť citlivých pacientov.

Tieto látky je možno z fermentačnej pôdy po skončení kultivácie oddeliť ultrafiltráciou cez ultrafiltračnú membránu s deliacou hranicou 5 000 - 50 000 molekulovej hmotnosti, ktorá zadržiava vysokomolekulárne látky a naopak prepúšťa nízkomolekulárne zložky fermentačnej pôdy.

Z koncentráta vysokomolekulárnych látok získaného pomocou ultrafiltrácie je možné získavať viaceré priemyselne významné enzýmy, hlavne proteázy. Tieto enzýmy, ktoré sa stanú takto ďalším produktom výroby penicilínu sa doteraz nijako nevyužívajú a naopak ako cudzorodé látky spôsobujú alergiu niektorých pacientov, sú vo finálnom výrobku na závalu.

Príklad 1

1 000 000 dielov fermentačnej pôdy z výroby benzyl penicilínu obsahujúcej 1 diel enzýmov ultrafiltrujeme cez ultrafiltračnú membránu s deliacou hranicou 10 000 molekulovej hmotnosti pri teplote 25 °C a tlaku 0,3 MPa. Pritom sa cez membránu oddelí 995 000 dielov permeátu obsahujúceho nízkomolekulárne látky a nad membránou zostane 5 000 dielov koncentráta obsahujúcich 1 diel enzýmov. Vyčistený permeát zbavený vysokomolekulárnych látok sa použije na výrobu benzylpenicilínu. Koncentrát z ultrafiltrácie sa použije na výrobu enzýmov.

Príklad 2

1 000 000 dielov fermentačnej pôdy z výroby fenoxymetylpenicilínu obsahujúcej 5 dielov enzýmov ultrafiltrujeme cez ultrafiltračnú membránu s deliacou hranicou 20 000 molekulovej hmotnosti pri teplote 15 °C a tlaku 0,4 MPa. Pritom sa cez membránu oddelí 990 000 dielov permeátu obsahujúceho nízkomolekulárne látky a nad membránou zostane 10 000 dielov koncentráta obsahujúcich 5 dielov enzýmov. Vyčistený permeát zbavený vysokomolekulárnych látok sa použije na výrobu fenoxymetylpenicilínu. Koncentrát sa použije na výrobu enzýmov.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob získavania enzýmov ultrafiltráciou fermentačnej pôdy z výroby penicilínov vyznačujúci sa tým, že 1 000 000 dielov fermentačnej pôdy z výroby penicilínov obsahujúcich 1 až 50 dielov enzýmov sa ultrafiltruje cez polopriepustnú ultrafiltračnú membránu s deliacou hranicou 5 000 až 50 000 molekulovej hmotnosti pri teplote 5 až 30 °C a tlaku 0,1 až 0,5 MPa pričom sa cez membránu oddeli 800 000 až 995 000 dielov permeátu obsahujúceho len nízkomolekulárne látky a nad membránou zostane 5 000 až 200 000 dielov koncentrátu obsahujúceho 1 až 50 dielov enzýmov.