



POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

207845

(11)

(B3)

(51) Int. Cl.³
C 12 N 9/56

(61) Autorské osvědčení je závislé na autorském osvědčení č. 150141

(22) Přihlášeno 11 09 79

(21) (PV 6144—79)

(40) Zveřejněno 15 09 80

(45) Vydáno 30 05 83

(75)

Autor vynálezu

DĚDEK MIROSLAV ing., CSc., HYLMAR BOHUMIL ing. a TEPLÝ MILOŠ
dr. ing., Praha

(54) Způsob výroby syřidlových preparátů z neživočišných zdrojů

1

Vynález řeší způsob výroby syřidlových preparátů z neživočišných zdrojů na základě oddělování mikrobiálních a mycelárních enzymů proteáz s koagulační aktivitou a koncentrace těchto proteáz ultrafiltrací nebo diafiltrací.

Výroba mikrobiálních a mycelárních syřidlových preparátů se dosud vyráběla tak, že produkční a houbové kmeny byly kultivovány ve vhodném živném médiu za submersních podmínek a vyprodukované proteázy s koagulační aktivitou byly získávány podobně jako syřidlové enzymy ze živočišných zdrojů, především z obsahu žaludků sajících telat. Po přidavku vápenatých solí, případně některých stabilizačních látek, se odseparují zbytky živin a organismů využívaných k fermentaci a to vysrážením spojeným s usazováním, filtrací přes kalolis případně odstředováním. Potom byl takto získaný roztok proteáz s koagulační aktivitou purifikován a zahušťován na potřebnou účinnost, případně byl zahuštěn přímo ve vakuové odparce. Při tomto popsaném způsobu separace a koncentrace docházelo ke značným ztrátám na získaných proteázách s koagulační aktivitou.

2

Tyto nedostatky odstraňuje způsob výroby syřidlových preparátů neživočišného původu podle vynálezu, jehož podstatou je oddělování proteáz s koagulační aktivitou a případná jejich koncentrace ultrafiltrací nebo diafiltrací.

Využití reversní osmózy a ultrafiltrace při výrobě práškového syřidla je známé a chráněné autorským osvědčením č. 150141.

Proteázy s koagulační aktivitou z neživočišných zdrojů se získávají fermentací ve vhodném živném médiu většinou submersní kultivací za použití vybraných druhů a kmenů bakterií, plísní, aktinomycet a basidiomycet. Vyprodukované enzymy se částečně oddělí od živného prostředí a zbytků mrtvých i živých produkčních organismů buď filtrací na kalolisu opatřeném například náplní z buňičité hmoty a azbestu, nebo odstředováním na odstředivce. Potom se úplně oddělí bakteriální a mycelární proteázy ultrafiltrací nebo diafiltrací na ultrafiltračních membránách, současně se přitom kapalný produkt koncentruje na potřebnou syřivou účinnost. Tak se získá syřidlový enzymatický preparát, který není třeba chemicky purifikovat, což mívá za následek značné snížení výtěžnosti.

Příklad provedení 1

Vysterilované otrubové produkční médium skládající se z 80 g pšeničných otrub, 6 g sladového extraktu, 6 g kvasničného extraktu, 500 ml sladiny, 250 ml odtučněného mléka a 250 ml destilované vody o pH 5,5 se vytemperuje na 37 °C a zaočkuje kulturou *Bacillus subtilis*. Kultivace probíhá na třepačce po dobu 48 hodin. Po ukončení kultivace se vyprodukované proteázy s koagulační aktivitou odseparují od součástí živného prostředí a bakteriálních buněk filtrací na kalolise. Nato jde tekutý preparát obsahující proteázy do filtračního zařízení s membránovými filtry a zde se pomocí ultrafiltrace a diafiltrace odseparují zbylé součásti živin a buněk. Současně se tekutina zahustí na potřebnou koagulační účinnost, tedy požadovanou sílu syřidlového preparátu.

Příklad provedení 2

Syrovátkové produkční médium skládající se ze 6 g $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$, 0,3 g K_2HPO_4 , 1 g melasy a 1 ml roztoku stopových prvků složeného z MgCl_2 , MnCl_2 a CaCl_2 a 1 000 ml syrovátky o pH 7,3 se na fermentačním tanku vystěriluje a po vytemperování na teplotu 30 °C očkuje kulturou *Bacillus megaterium*. Kultivace probíhá při očkovací teplotě po dobu 20 hodin za stálého míchání a provzdušňování. Po ukončení kultivace se fermentací vzniklá megaterioproteáza s koagulační aktivitou částečně odseparuje od živného prostředí a od mrtvých i živých buněk na vysokoobrátkové odstředivce a dále se oddělí na membránovém filtračním zařízení pomocí ultrafiltrace a diafiltrace. Současně se také proteolytický enzym koncentruje. Následuje sušení ve vakuové sušárně.

P ř e d m ě t v y n á l e z u

Způsob výroby syřidlových preparátů z neživočišných zdrojů podle autorského osvědčení č. 150141, vyznačený tím, že se mikro-

biální a mycelární enzymy proteázy s koagulační aktivitou oddělují a koncentrují ultrafiltrací a diafiltrací.