



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

200 884

(11) (B1)

(61) Autorské osvědčení je závislé na aut.osv.
č. 172624
(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 15 11 78
(21) PV 7440-78

(51) Int. Cl. C 12 P 19/04

(40) Zveřejněno 31 01 80
(45) Vydáno 01 01 83

(75)
Autor vynálezu LASÍK JAROMÍR RNDr. CSc.,
VANGURA VLASTIMIL PhDr. CSc.,
WURST MILAN ing., CSc., PRAHA
BUČKO MICHAL ing. CSc., BANSKÁ BYSTRICA
ESTERKA FRANTIŠEK dr. ing. CSc.,
HANUŠ ZDENEK ing., CSc., BRNO

(54) Způsob získávání exocelulárního glukanového biopolymeru produkovaného bakteriálním mikroorganismem

1

Vynález se týká způsobu získávání exocelulárního glukanového biopolymeru produkovaného bakteriálním mikroorganismem na živných půdách, obsahujících uhlíkaté, dusíkaté a biologicky aktivní látky submersní sterilní fermentací a izolováním vlastního polysacharidového biopolymeru pro použití v geologickém, potravinářském a farmaceutickém průmyslu.

Na základě dosavadních poznatků, které se týkají většinou polysacharidů glukanového typu produkovaných kulturami *Leuconostoc*, a glukomannanového typu, produkovaného například kulturami *Xanthomonas*, popřípadě *Arthrobacter*, nebyla v literatuře popsána fermentace glukanového typu, produkovaného aerobně produkčním kmenem bakterie *Achromobacter delicatulus*. Z literatury známe například práce týkající se polysacharidu rodu *Xanthomonas* (USA patent č. 3 485 719, 3 096 293, nebo 3 328 262), složeného z glukózy a mannózy, jehož fermentační viskozita je však nižší a fermentace náchylnější k sekundární kontaminaci.

Podstatou tohoto vynálezu je způsob získávání nového exocelulárního biopolymeru produkovaného bakteriálním mikroorganismem *Achromobacter delicatulus* (Jordan, 1890) (Bergey et al. 1923) č. 39, který je popsán v popise vynálezu k čs. autorskému osvědčení č. 172 624, jehož podstatou je, že po naočkování 24 hodinové kultury bakterií

Achromobacter delicatulus (Jordan, 1890) (Bergey et al. 1923) č. 39 do živného prostředí se fermentuje 48 až 72 hodin při teplotě 28 až 30 °C za pH 6,8 až 7,2 ve třech stupních, přičemž v každém stupni se přidává další cukerný zdroj, například s výhodou surový cukr, načež se biopolymer po ukončení fermentace izoluje etanolickým srážením nebo přímo sušením nafermentované půdy rozprašováním nebo hydrolýzou a frakcionací se připraví biopolymer o požadované molekulové hmotnosti. Jedná se o aerobní produkční kmen, jehož polysacharid glukannového typu dává po hydrolýze tyto monomerní cukry: D-ribosu, D-xylosu, D-arabinosu, D-mannosu, D-fruktosu, a D-galaktosu v množstvích od 0,3 do 3 % hmot. a α -D-glukosu a β -D-glukosu v množstvích 85 až 87 % hmotnosti.

Polysacharid získaný způsobem podle vynálezu má vyšší viskozitu fermentované půdy než dosavadní známé polysacharidy vyfermentované z jiných mikroorganismů a je méně náchylný vůči kontaminaci při fermentaci. Homogennost tohoto polymeru je dokumentována na jeho elučním diagramu na obr. 1, jeho infračervené absorpční spektrum na diagramu na obr. 2 a složení polysacharidu jako směsi trimethylsilyl derivátů monosacharidů na obr. 3.

Na rozdíl od dosud popsaných polysacharidů glukannového typu fermentovaných převážně anaerobně (například kulturou *Leuconostoc*), nebyla dosud popsána více stupňová průmyslová aerobní kultivace polysacharidu uvedených vlastností produkčním kmenem *Achromobacter delicatulus* (Jordan, 1890) (Bergey et al. 1923) č. 39.

Dále jsou uvedeny příklady způsobu získávání biopolymeru podle vynálezu.

Příklad

Nejdříve připravíme v 1. stupni inokulum v předočkovacím tanku objemu 400 l plnění 200 l média za použití těchto surovin (živné prostředí)

surový cukr	3 % hmot.
práškovitý corn-steep (CSL)	0,2 % hmot.
K ₂ PO ₄	0,75 % hmot.
NaCl	0,01 % hmot.
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,02 % hmot.
KNO ₃	0,04 % až 0,4 % hmot.
sojový olej	0,1 % hmot.
kvasničný autolýzát 100%ní ve vodném prostředí (vodovodní voda)	0,2 % hmot.

pH bylo upraveno pomocí 40%ního roztoku NaOH na hodnotu 6,8.

Předočkovací tank byl naočkován 10ti l inokula mikroorganismu *Achromobacter delicatulus* (Jordan, 1890) (Bergey et al. 1923) č. 39, stáří 24 hodin.

Kultivuje se 24 až 26 hodin při teplotě 28 až 30 °C za stálého míchání a vzdušnění ve sterilních podmínkách (I. stupeň).

Potom byl obsah předočkovacího tanku převeden do očkovacího tanku obsahu 3500 l s plněním 2000 l (2. stupeň). Fermentace trvala 48 hodin při teplotě 28 až 30 °C; pH bylo udržováno na 6,8 za stejných podmínek jako v prvním stupni. Ve 48 hodině byl obsah očkovacího tanku převeden do fermentačního tanku (3. stupeň, obsah 35 m³, plnění 20 m³).

V 78 hodině byla pro zvýšení výtěžnosti přidána dávka surového cukru v množství 1,5 % hmotnosti na objem plnění. (Ve 122 hodině fermentace činila viskozita fermentační tekutiny měřená rotačním viskozimetrem při 12 ot/min 26150 cP). Fermentace byla ukončena ve 136 hodině. Poté byla polovina objemu zpracována ethanolickým srážením, načež byl získaný polymer vysušen na horkovzdušné sušárně. 1%ní roztok takto získaného surového práškového biopolymeru měl hodnotu 640 cP. Bylo získáno 308 kg 86,9%ního biopolymeru.

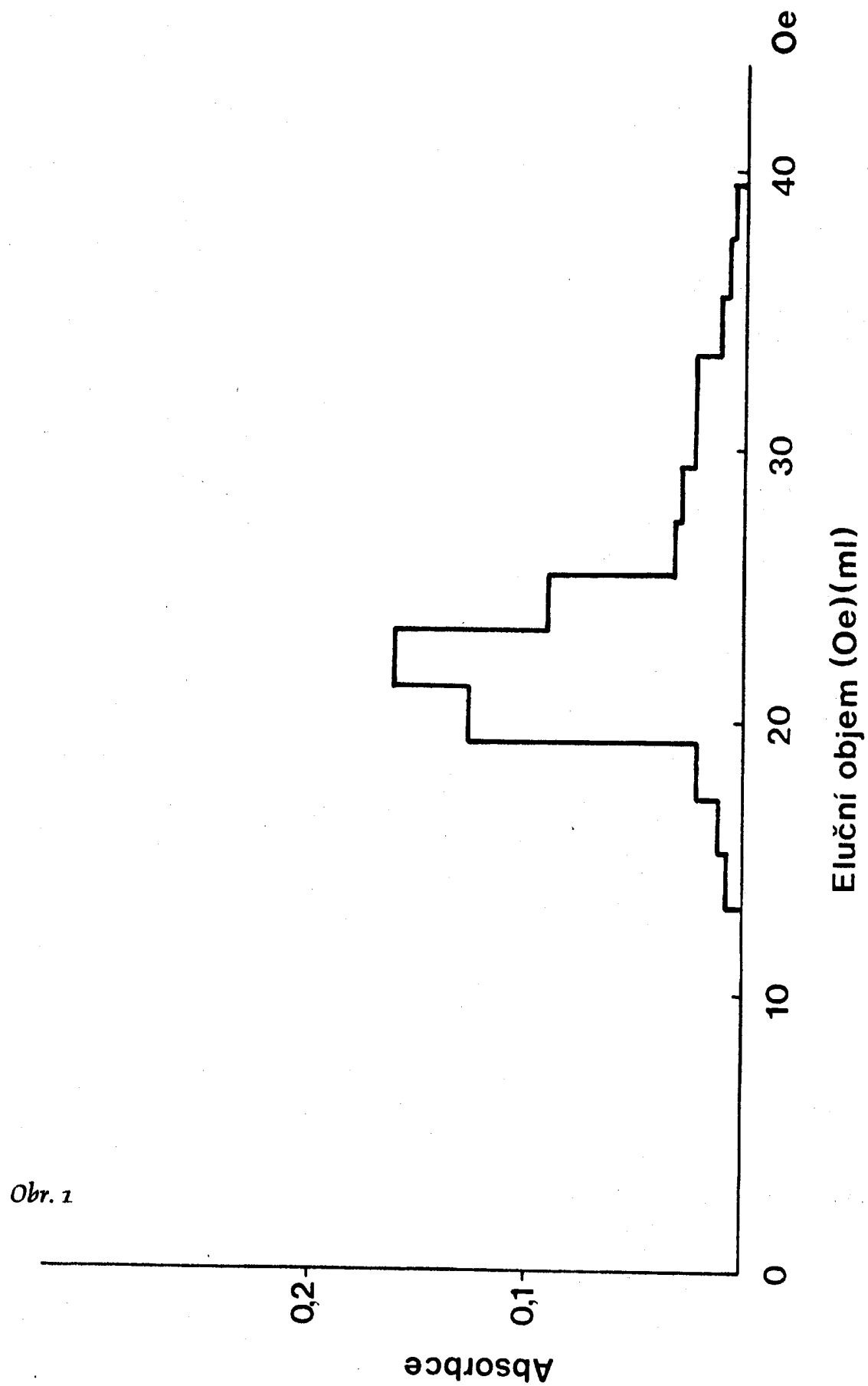
Druhá polovina tanku byla zpracována pomocí sprayové sušárny (Anhydro) o vstupní teplotě 175 až 188 °C a výstupní 108 až 109 °C. Bylo získáno celkem 400 kg žlutého prášku o 97,1 % hmot. sušiny, obsahující 61 až 68 % čistého biopolymeru.

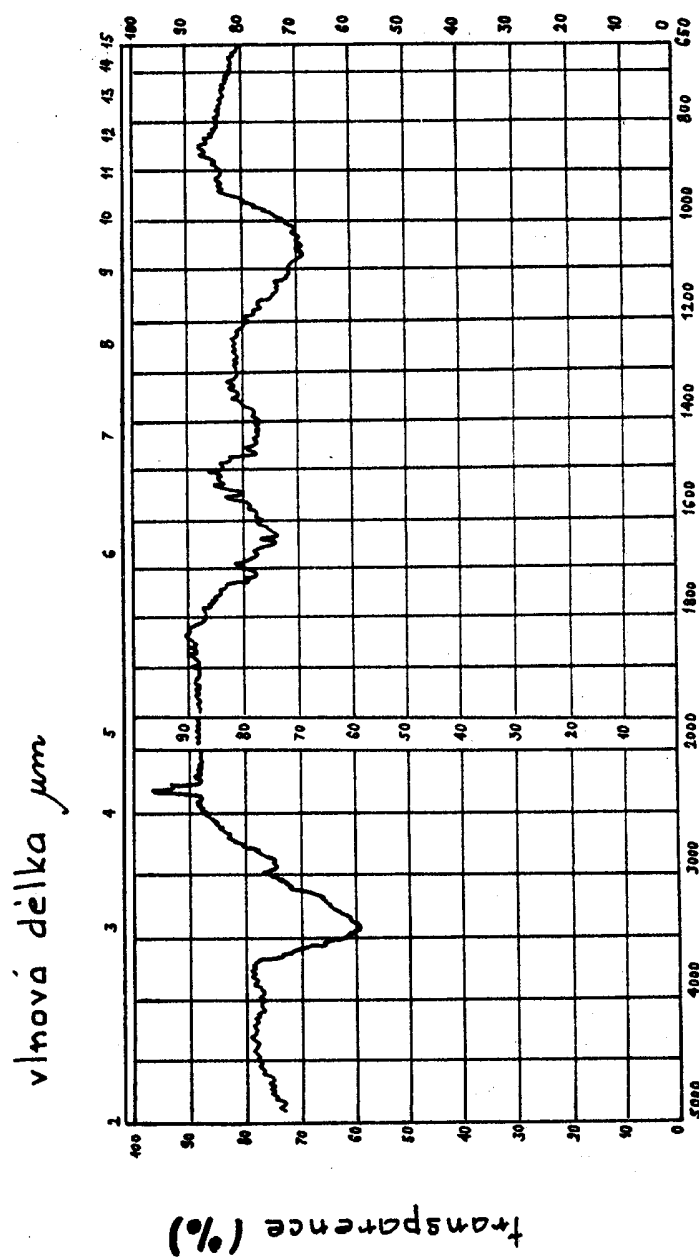
Biopolymery získané způsobem podle vynálezu mají vynikající reologické a strukturálně mechanické vlastnosti, jaké jsou vyžadovány pro polymerové výplachy při aplikaci při hlubinných vrtech (například nafty) při přípravě osmotických výplachů.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Způsob získávání exocelulárního glukanolického biopolymeru produkovaného bakteriálním mikroorganismem *Achromobacter delicatulus* (Jordan, 1890) (Bergey et al. 1923) č. 39, který je popsán v popise vynálezu k čs. autorskému osvědčení č. 172 624, vyznačený tím, že po naočkování 24 hodinové kultury bakterií *Achromobacter delicatulus* (Jordan, 1890) (Bergey et al. 1923) č. 39 do živného prostředí se fermentuje 48 až 72 hod. při teplotě 28 až 30 °C za pH 6,8 až 7,2 ve třech stupních, přičemž v každém stupni se přidává další cukerný zdroj s výhodou surový cukr, načež se biopolymer po ukončení fermentace izoluje ethanolickým srážením nebo přímo sušením nafermentované půdy rozprašováním nebo hydrolýzou a frakcionací se připraví biopolymer o požadované molekule hmotnosti.

3 výkresy



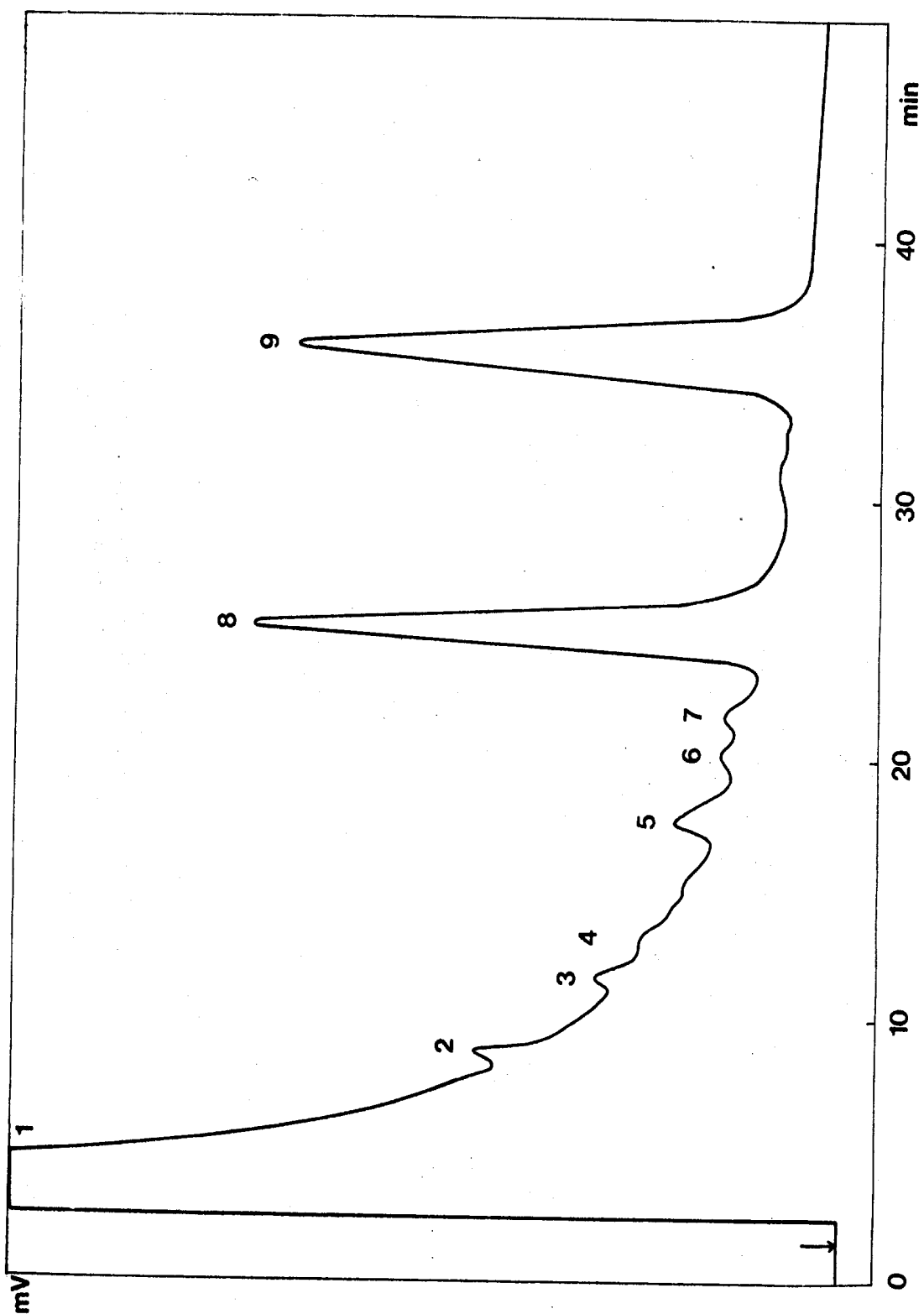


vlnočet

Obr. 2

INFRACÍRVENÉ ABSORPČNÍ SPEKTRUM EXOCELULÁRNÍHO POLYSACHARIDU
BAKTERIE ACHROMOBACTER DELICATULUS

CHROMATORGAM SMĚSI TRIMETHYLSILYL DERIVÁTŮ MONOSACHARIDŮ HYDROLÝSÁTU
EXOCELULÁRNÍHO POLYSACHARIDU BAKTERIE ACHROMBACTER DELICATULUS



1 - rozpouštědlo; 2 - D-arabinosa; 3 - D-ribosa; 4 - D-xyloza; 5 - D-mannosa; 6 - D-fruktosa;
7 - D-galaktosa; 8 - α -D-glukosa; 9 - β -D-glukosa

Obr. 3

O P R A V A

popisu vynálezu k autorskému osvědčení č. 200 884

Int. Cl.³ C 12 P 19/04

V popisu vynálezu k autorskému osvědčení č. 200 884 je chyba v záhlaví .

Správně : 200 884
(11) (B₃)

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY