

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

64127

Patent dodatkowy
do patentu _____

Kl. 30 h, 14

Zgłoszono: 28. XII. 1967 (P 124 361)

Pierwszeństwo: _____

MKP C 12 k, 3/00

Opublikowano: 15. XII. 1971

UKD

Współtwórcy wynalazku: Olgierd Lubiński, Antoni Górski, Józef Dudek,
Halina Herman, Janina Terlecka

Właściciel patentu: Instytut Antybiotyków, Warszawa (Polska)

Sposób wytwarzania nowych pożywek do hodowli drobnoustrojów

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych pożywek do hodowli drobnoustrojów zarówno w celu namnażania masy komórkowej drożdży jak i do otrzymywania substancji czynnych biologicznie.

Znane jest stosowanie w hodowli drobnoustrojów substancji wzrostowych do wytwarzania masy komórkowej i/lub produktów metabolizmu drobnoustrojów. Substancje wzrostowe dodawane w większych ilościach są jednocześnie źródłem węgla i azotu. W procesach tych jako substancje wzrostowe stosuje się drożdże głównie rodzaju *Torula* lub *Saccharomyces* lub ich hydrolizaty. Drożdże te otrzymuje się w wyniku fermentacji na pożywkach zawierających jako źródło węgla węglowodany w różnej postaci jak na przykład cukry zawarte w melasie, hydrolizaty celulozy, ługi posulfitowe. Tego rodzaju pożywki zawierają tylko niewielkie ilości witamin grupy B i nie najkorzystniejszy skład ilościowy i jakościowy aminokwasów.

Sposobem według wynalazku, jako substancje wzrostowe i/lub jako źródła węgla i azotu stosuje się drożdże uzyskiwane jako produkt uboczny przez mikrobiologicznym odparafinowaniu frakcji n-parafinowych ropy naftowej metodą przytoczoną w opisie patentowym nr 59579 oraz hydrolizaty i/lub autolizaty tych drożdży. Są to drożdże głównie rodzaju *Candida*.

Sposób według wynalazku polega na tym, że do pożywek posiewowych i/lub produkcyjnych do-

2

daje się drożdże uzyskane jako produkt uboczny przy mikrobiologicznym odparafinowaniu frakcji ropy naftowej.

Drożdże stosuje się w postaci komórkowej i/lub ich hydrolizatów i/lub ich autolizatów. Drożdże i/lub ich hydrolizaty i/lub ich autolizaty dodaje się w ilościach śladowych jako substancje wzrostowe. Drożdże i/lub ich hydrolizaty i/lub ich autolizaty dodaje się do pożywek w ilościach do 5% jako źródło azotu i węgla.

W procesach, w których drożdże i/lub hydrolizat i autolizat stanowią źródła węgla i azotu otrzymuje się pożywki rozpuszczalne bardzo przydatne na przykład do badań nad szczepami wytwarzającymi substancje biologicznie czynne i nad biogenezą tych substancji.

Wyniki analizy ilościowej masy komórkowej drożdży uzyskiwanych jako produkt uboczny w procesie mikrobiologicznego odparafinowania frakcji ropy naftowej według patentu nr 59579 przedstawiają się następująco:

Azot	7,88%
Białko	49,25%
Substancje tłuszczowe	7,15%
Węglowodany	36,45%
Popiół	2,70%
Wilgoć	2,86%
Witaminy B ₁ B ₂ B ₆ B ₁₂ i PP	

Skład ilościowy aminokwasów białka drożdży *Torula utilis* hodowanych na pożywkach węglowodanowych i drożdży *Candida lipolytica* hodowanych na pożywce węglowodorowej:

	<i>Candida lipolytica</i>		<i>Torula utilis</i>	
	g/100 g białka *)	g/100 g suchych drożdży **)	g/100 g białka **)	g/100 g suchych drożdży ***)
Tryptofan	1,77	0,84	1,6	0,8
Metionina	1,06	0,50	0,8	0,57
Kwas asparaginowy	7,80	3,70	—	1,20
Kwas glutaminowy	8,25	3,92	—	4,20
Histydyna	5,85	2,78	1,70	0,39
Arginina	4,48	2,27	4,10	1,15
Lizyna	7,62	3,62	6,80	1,19
Seryna	3,68	1,75	—	—
Glicyna	2,64	1,25	—	—
Treonina	3,95	1,88	5,40	1,92
Tyrozyna	3,84	1,82	—	1,25
Alanina	5,55	2,64	—	5,78
Walina	3,02	1,43	6,0	3,50
Fenylalanina	3,26	1,55	3,9	1,72
Leucyna + izoleucyna	7,44	3,53	13,10	—

*) Preparat własny

**) Champagnat Revue de l'Institut Français du Pétrole 1962, XVII 11, str. 1372.

***) Die Hefen 1960, t. 1, str. 389 Verlag Hans Carl, Nürnberg.

Autolizaty i hydrolizaty wykonywano z drożdży *Candida lipolytica* o podanym wyżej składzie sumarycznym i aminokwasowym.

Skład sumaryczny autolizatów i hydrolizatów:

	Wysuszony przesącz po autolizie	Autolizat zawierający ściany komórkowe
Białko surowe	52,87%	27,10%
Węglowodany	11,2%	32,06%
Substancje tłuszczowe niezmydlające	11,33%	26,38%
Substancje tłuszczowe zmydlające	4,0%	8,56%
Fosfor	2,83%	0,41%
Popiół	9,82%	1,73%

Pożywki przygotowane sposobem według wynalazku mają korzystniejszy skład ilościowy i jakościowy aminokwasów oraz zawierają związki stymulujące wzrost drobnoustrojów, co powoduje

szybszy wzrost drobnoustrojów, a tym samym większą wydajność procesów biosyntezy. Sposobem według wynalazku przygotowuje się pożywki zarówno posiewowe jak i produkcyjne w procesach biosyntezy wymagających stosowania czynników wzrostowych na przykład w biosyntezie antybiotyków.

Poniższe przykłady ilustrują lecz nie ograniczają istoty wynalazku.

Przykład I. Zastosowanie autolizatu jako czynnika wzrostowego przy hodowli drożdży w procesie mikrobiologicznego odparafinowania frakcji ropy naftowej.

Przygotowano 2 porcje pożywki produkcyjnej o następującym składzie:

	mocznik	1,5 g/l
	K ₂ HPO ₄	1,0 „
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,7 „
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,15 „
	FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,07 „
	MnSO ₄ · 5H ₂ O	0,05 „
	olej parafinowy *)	150,0 „
	woda wodociągowa do	1,0 l

*) zawartość n-parafin 10%, temperatura krzepnięcia + 14°C. Do I porcji pożywki dodano 0,1 g/l autolizatu drożdży *Candida lipolytica*. Do II porcji pożywki nie dodano żadnego czynnika wzrostowego. Pożywki zaszczerpiono brzeczką z 24-godzinnej hodowli posiewowej szczepu *Candida lipolytica*. Fermentację prowadzono w fermentorach kolumnowych według patentu nr 59579 w temperaturze 30°C w warunkach tlenowych podając 1,2 objętości powietrza/objętość pożywki/minutę.

Po 36 godzinach fermentacji uzyskano następujące wyniki:

	Pożywka I	Pożywka II
Zawartość suchej masy drożdży w brzeczkce pofermentacyjnej	1,4%	0,84%
temperatura krzepnięcia odparafinowanej frakcji	—36°C	—3°C

Przykład II. Zastosowanie hydrolizatu drożdży *Candida lipolytica* do wytwarzania wiomycyny przy użyciu szczepu *Streptomyces vinaceus*. W pożywce konwencjonalnej znajdowały się dwa składniki dające nierozpuszczalną w brzeczkce zawiesinę to jest wyciąg namokowy kukurydzy oraz mąka sojowa. Z wyciągu namokowego kukurydzy usunięto związki dające zawiesinę, znaną metodą koagulacji termicznej w odczynie alkalicznym, a mąkę sojową zastąpiono hydrolizatem drożdży *Candida lipolytica*. Na rozpuszczalnej pożywce o następującym składzie:

	hydrolizat drożdży	40,0 g/l
	NaNO ₃	10,0 „
	(NH ₄) ₂ SO ₄	5,0 „
	CaCO ₃	5,0 „

wyciąg namokowy kukurydzy
 (rozpuszczalny) 5,0 g/l
 olej sojowy 15,0 „
 woda wodociągowa do 1,0 l
 uzyskano brzeczkę pofermentacyjną zawierającą
 2388 j/ml wiomycyny.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowych pożywek do hodowli drobnoustrojów, **znamienny tym**, że do pożywek posiewowych i/lub produkcyjnych dodaje się drożdże uzyskane jako produkt uboczny przy

mikrobiologicznym odparafinowaniu frakcji ropy naftowej.

5 2. Sposób według zastrz. 1 **znamienny tym**, że drożdże stosuje się w postaci komórkowej i/lub ich hydrolizatów i/lub ich autolizatów.

3. Sposób według zastrz. 1 i 2, **znamienny tym**, że drożdże i/lub ich hydrolizaty i/lub ich autolizaty dodaje się w ilościach śladowych jako substancje wzrostowe.

10 4. Sposób według zastrz. 1 i 2, **znamienny tym**, że drożdże i/lub ich hydrolizaty i/lub ich autolizaty dodaje się do pożywek w ilościach do 5% jako
 15 źródło azotu i węgla.