

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

54 037

Patent dodatkowy
do patentu _____

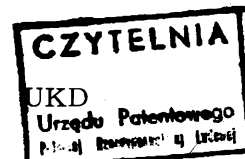
Zgłoszono: 12.VII.1966 (P 115 562)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 5.XII.1971

30 h, 6
Kl. 6 b, 16/03

MKP C 12 d 9/22



Współtwórcy wynalazku: Ewa Lipińska, Maria Szadkowska, Elżbieta Jakubczyk, Jerzy Meller, Halina Wośko, Kazimierz Bronikowski

Właściciel patentu: Kutnowskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa”, Kutno (Polska)

Sposób prowadzenia biosyntezy nizyny

1

Antybiotyk nizyna, wytwarzana przez niektóre szczepy z gatunku *Streptococcus lactis*, jest stosowana do przeciwdziałania szkodliwym fermentacjom w konserwowanych produktach spożywczych.

Dotychczasowy sposób prowadzenia biosyntezy nizyny polega na dodawaniu do pożywki z mleka pełnego lub odtłuszczonego, ewentualnie regenerowanego z mleka zagęszczonego lub z mleka w proszku hodowli szczepów nizynotwórczych i prowadzeniu fermentacji w ciągu 18-24 godzin w temperaturze 25—30°C.

W celu podwyższenia zawartości nizyny w pożywce można przedłużyć okres biosyntezy przez neutralizację fermentującej hodowli związkami zasadowymi. Po zakończeniu fermentacji z pożywki wydziela się substancję czynną na drodze chemicznej aż do uzyskania preparatu o wymaganym stężeniu. Znane są także sposoby prowadzenia biosyntezy nizyny na pożywkach, które stanowią produkty hydrolizy mleka wywołanej działaniem papainy, tripsyny lub pepsyny, albo w roztworach o określonym składzie glikozy, peptonów, soli mineralnych, witamin lub na pożywce z samej serwatki doprowadzonej do wartości pH około 7.

Sposób według wynalazku umożliwia przeprowadzanie biosyntezy nizyny na pożywce, zapewniającej wysoką wydajność tego antybiotyku,

2

przy czym jest ekonomicznie korzystniejszy od metod dotychczas stosowanych.

Sposobem według wynalazku szczepy nizynotwórcze hodzi się na pożywkę z serwatki uzyskiwanej przy produkcji kazeiny, serów lub twarogu z dodatkiem 20—40% objętościowych hydrolizatu pepsynowego hodowli w mleku paciorkowców z grupy serologicznej N lub innych bakterii fermentacji mlekowej i (lub) z dodatkiem 2,5% wagowych syropu ziemniaczanego lub glikozy. Serwatkę przed wprowadzeniem do niej dodatków zobojętnia się węglanami lub wodorotlenkami metali jedno — lub dwuwartościowych do pH około 7, po czym pasteryzuje w temperaturze 95°C w ciągu 30 minut z ewentualnym dodatkiem syropu ziemniaczanego lub glikozy. Hydrolizat paciorkowców poddaje się oddzielnie pasteryzacji i wprowadza się następnie do uprzednio spasteryzowanej serwatki.

Jako dodatki do pożywki opartej na serwatce można również stosować hydrolizaty uzyskane z kazeiny lub albuminy.

Sposób według wynalazku objaśniają poniższe przykłady.

Przykład I. 770 ml serwatki zneutralizowano 10% NaOH do wartości pH około 7 i dodano około 19 gramów syropu ziemniaczanego, spasteryzowano w temperaturze 95°C w ciągu 30 minut, po czym po obniżeniu temperatury do około 30°C zaszcze-

piono 3% hodowli szczepów nizynotwórczych utrzymując całość przez 18 godzin w temperaturze 28–30°C. Począwszy od 5-tej godziny fermentacji neutralizowano hodowlę 20 procentowym roztworem NaOH doprowadzając co godzinę pH do wartości 6,5. Po 18 godzinach fermentacji zawartość nizyny w pożywce neutralizowanej wynosiła 2.650 j/ml, a w pożywce nieneutralizowanej około 400 j/ml.

Przykład II. Do 590 ml serwatki, zneutralizowanej i spasteryzowanej jak w przykładzie I, dodano 180 ml hydrolizowanej pepsyną hodowli w mleku paciorkowców z grupy serologicznej N, pasteryzowanej przez 10 minut w temperaturze 80°C i zaszczerpiono całość 3 procentowym dodatkiem hodowli szczepów nizynotwórczych postępując w dalszym ciągu jak w przykładzie I. Po 18 godzinach fermentacji zawartość nizyny w pożywce neutralizowanej wynosiła około 3.200 j/ml, a w hodowli nieneutralizowanej około 650 j/ml.

Przykład III. Do 590 ml. serwatki z dodatkiem syropu ziemniaczanego przygotowanej jak w przykładzie I dodano w temperaturze około 30°C 180 ml hydrolizowanej pepsyną hodowli w mleku

paciorkowców z grupy serologicznej N uprzednio spasteryzowanej przez 10 minut w temperaturze 80°C i tak uzyskane podłoże zaszczerpiono 3 procentami hodowli szczepów nizynotwórczych postępując w dalszym ciągu jak w przykładzie I. Po 18 godzinach fermentacji zawartość nizyny w pożywce neutralizowanej wynosiła około 4.260 j/ml a w pożywce nieneutralizowanej około 800 j/ml.

Prowadząc proces w znany sposób wyłącznie na pożywce z serwatki uzyskuje się nizynę z dużo niższą wydajnością a mianowicie w pożywce neutralizowanej 1860 j/ml, a w pożywce nieneutralizowanej około 250 j/ml.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób prowadzenia biosyntezy nizyny, **znamienny tym**, że szczepy nizynotwórcze hoduje się na zubożonej i spasteryzowanej pożywce z serwatki z dodatkiem 20–40% objętościowych hydrolizowanej hodowli w mleku paciorkowców z grupy serologicznej N lub innych bakterii fermentacji mlekowej i (lub) z dodatkiem 2–5% wagowych syropu ziemniaczanego względnie glikozy.