



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

239474

(11)

(B1)

(22) Přihlášeno 13 04 84
(21) PV 2835-84

(51) Int. Cl.⁴

C 12 N 1/00

(40) Zveřejněno 15 05 85

(45) Vydáno 15 04 87

(75)
Autor vynálezu

SMÉKAL FRANTIŠEK dr. CSc.; BARTA MIROSLAV dr.; PÍRKO JAROMÍR ing.,
PRAHA; MATELOVÁ VLASTA dr. CSc., ROZTOKY; ZELENÝ KAREL dr. CSc.;
MAROUŠKOVÁ LENKA ing., PRAHA; HEJDÁNEK SLAVOMÍR, ROZTOKY;
BASAŘOVÁ GABRIELA prof. ing. DrSc.; JÁRA JIRÍ doc. ing. CSc., PRAHA

(54) Způsob fermentační přípravy antibiotik

Je popsán způsob fermentační přípravy antibiotik, jako jsou penicilin, chlortetracyklin a fungicidin kultivací příslušných produkčních mikroorganismů v tekutých živných médiích, obsahujících jako standardní zdroje uhlíku asimilovatelné monosacharidy a disacharidy, růstové faktory, minerální soli a jako hlavní komplexní zdroj dusíku jemně mletou psotokarpovou mouku jako náhradu za standardně používanou sojovou nebo arašídovou mouku pro přípravu fermentačních médií, při dosažení odpovídajících produkci biosyntetických látek.

Způsob fermentační přípravy antibiotik spočívá v kultivaci produkčních mikroorganismů v tekutých živných médiích, které obsahují jako zdroje uhlíku asimilovatelné sacharidy, jako jsou glukóza a další monosacharidy, dále disacharidy jako sacharózu, laktózu aj; jako komplexní zdroje dusíku se aplikují sojová nebo arašídová mouka, dále bavlníková mouka, kukuřičný extrakt a jiné dusíkaté substance. Fermentační média dále obsahují růstové faktory, vitaminy a minerální látky. V případě fermentační přípravy penicilinu se uplatňují jako uhlíkaté zdroje hlavně glukóza a laktóza, u tetracyklinových antibiotik jsou to sacharóza, melasa nebo enzymatické hydrolyzáty škrobu; v případě fermentační přípravy fungicidinu se standardně používá glukóza. Z komplexních dusíkatých zdrojů se při fermentační přípravě uvedených antibiotik aplikují sojová mouka, případně arašídová mouka a kukuřičný extrakt.

Způsob fermentační přípravy některých antibiotik podle vynálezu popisuje fermentaci na bázi psrofokarpové mouky v množství 1 až 6 % hmotnostních jako náhrady za sojovou a arašídovou mouku, které se běžně používají pro přípravu fermentačních médií. Aminokyselinové složení jemně mletých bobů *Psophocarpus tetragonolobus* je podobné složení sojové a arašídové mouky.

Fermentační způsob přípravy penicilinu, chlortetracyklinu (CTC) a fungicidinu podle vynálezu uvádějí následující příklady.

P ř í k l a d 1

Kmenem *Penicillium chrysogenum* CCM F-713 se zaočkuje 500 ml varná banka, která obsahuje 60 ml inokulačního média o tomto složení: kukuřičný extrakt 22,5 g, sacharóza 30 g, CaCO_3 2 g, síran amonný 5 g, voda ad 1 000 ml; pH média 5,2; kultivace probíhá na rotační třepačce při teplotě 25 °C po dobu 48 hodin. Vyrostlou kulturou se v množství 10 % obj. zaočkuje 500 ml varná banka, která obsahuje 40 ml fermentačního média o tomto složení: kukuřičný extrakt 27,2 g, sojová mouka 16 g, laktóza 110 g, dihydrogenfosforečnan draselný 8 g, dusičnan amonný 8 g, sirnat sodný 8 g, síran hořečnatý 1 g, sacharóza 15 g, CaCO_3 10 g, kyselina fenoxycetová 5,3 % hmot. 150 ml, voda 800 ml; pH média 6,2; kultivace probíhá na rotační třepačce při teplotě 25 °C po dobu 8 dní. U kontrolního postupu se sojovou moukou je dosahována produkce 19 600 j. penicilinu/ml média; při aplikaci 1 % hmot. psrofokarpové mouky jako náhrady za sojovou mouku činí produkce penicilinu 20 000 j./ml média, v případě použití 2 % hmot. psrofokarpové mouky dosahuje produkce 20 300 j. penicilinu/ml média a ve fermentačním médiu se 3 % hmot. psrofokarpové mouky činí produkce penicilinu 19 100 j./ml média.

P ř í k l a d 2

Kmenem *Penicillium chrysogenum* CCM F-679 se zaočkuje 500 ml varná banka, která obsahuje 60 ml inokulačního média o tomto složení: glukóza 30 g, laktóza 10 g, kukuřičný extrakt 22,5 g, síran amonný 2 g, CaCO_3 5 g, dihydrogenfosforečnan draselný 0,5 g, voda ad 1 000 ml; pH média 5,2. Kultivace probíhá při teplotě 25 °C na rotační třepačce po dobu 48 hodin; vyrostlou kulturou se v množství 10 % obj. zaočkují 500 ml varné banky, které obsahují 40 ml fermentačního média o tomto složení: bavlníková mouka (Pharmedia) 25 g, laktóza 150 g, síran amonný 10,5 g, CaCO_3 10 g, síran vápenatý 5 g, síran amonný 4 g, dihydrogenfosforečnan draselný 0,5 g, kyselina fenoxycetová 5,3 % hmot. 150 ml, voda 800 ml; pH média 6,2; kultivace probíhá na rotační třepačce při teplotě 25 °C po dobu 10 dní. V kontrolním postupu s bavlníkovou moukou je dosahováno produkcí 28 300 j. penicilinu/ml média; náhradou tohoto substrátu 2 % hmot. psrofokarpové mouky činí produkce 21 800 j. penicilinu/ml média, při aplikaci 3 % hmot. psrofokarp. mouky se dosahuje produkce 25 000 j. penicilinu/ml média a se 4 % hmot. psrofokarp. mouky produkce penicilinu 26 000 j./ml fermentačního média za stejnou dobu kultivace.

Příklad 3

Kmenem *Streptomyces aureofaciens* CCM 3406 se zaočkuje 500 ml varná baňka, která obsahuje 80 ml inokulačního média o tomto složení: sacharóza 40 g, psfokarpová mouka 20 g, kukuřičný extrakt 4,8 g, síran amonný 5 g, NaCl 2 g, CaCO_3 6 g, voda ad 1 000 ml; pH média 6,4; kultivace probíhá na rotační třepačce při teplotě 28 °C po dobu 24 hodin; vyrostlou kulturou se v množství 10 % obj. zaočkuje 500 ml varná baňka, která obsahuje 40 ml fermentačního média o tomto složení: sacharóza 60 g, psfokarpová mouka 30 g, kukuřičný extrakt 8,2 g, kukuřičná mouka 5 g, síran amonný 5 g, NaCl 2,4 g, CaCO_3 6 g; voda ad 1 000 ml; pH média 6,5; fermentace probíhá na rotační třepačce při teplotě 28 °C po dobu 96 hodin. V kontrolním postupu se sojovou moukou je dosahována produkce 6 240 g CTC/ml média, v postupu s psfokarpovou moukou činí produkce CTC 6 000 µg/ml fermentačního média za stejnou dobu kultivace.

Příklad 4

Postup popsáný v příkladu 1 s tím rozdílem, že fermentační médium obsahuje psfokarpovou mouku a jako náhradu kukuřičné mouky odpovídající množství řepkového šrotu. V kontrolním postupu se sojovou moukou činí produkce CTC 6 390 µg/ml fermentačního média za 96 hodin kultivace, v případě experimentálního postupu bylo dosaženo produkce 6 160 µg CTC/ml média za stejnou dobu fermentace.

Příklad 5

Produkčním kmenem *Streptomyces noursei* se zaočkuje 500 ml varná baňka, která obsahuje 60 ml inokulačního média o tomto složení: sojová mouka 10 g, glukóza 30 g, síran amonný 2 g, kukuřičný extrakt 1 g, NaCl 1 g, voda ad 1 000 ml; pH média 6,2; kultivace probíhá na rotační třepačce při 28 °C po dobu 24 hodin; vyrostlou kulturou se v množství 5 % obj. zaočkují 500 ml varné baňky, které obsahují 60 ml fermentačního média o tomto složení: sojová mouka 20 g, glukóza 50 g, síran amonný 3 g, kukuřičný extrakt 2 g, CaCO_3 20 g, voda ad 1 000 ml; pH média 6,8 až 7,2. Kultivace probíhá na rotační třepačce při 28 °C po dobu 168 hodin. V kontrolním postupu se sojovou moukou je dosahována produkce 59 300 j. fungicidinu/ml média; při náhradě sojové mouky psfokarpovou moukou činí produkce fungicidinu 58 000 j./ml média za stejnou dobu fermentace.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob fermentační přípravy antibiotik a dalších biosyntetických látek kultivací produkčních mikroorganismů v tekutém živném médiu, obsahujícím zdroje asimilovatelného uhlíku a dusíku, minerální živné soli, růstové látky a nebo biofaktory, za aerobních podmínek, vyznačující se tím, že tekuté živné médium obsahuje jako hlavní komplexní zdroj asimilovatelného dusíku mouku z bobů *Psophocarpus tetragonolobus* v množství 1 až 6 % hmot.