



POLSKIEJ RZECZYPOSPOLITEJ LUDOWEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 42254

Kl. 6 b, 16/03

Výzkumny ústav antibiotik

Roztoky k. Pragi, Czechosłowacja

Sposób podwyższania produkcji materiałów biosyntetycznych

Patent trwa od dnia 28 stycznia 1958 r.

Pierwszeństwo: 31 stycznia 1957 r. (Czechosłowacja)

W ostatnich latach fermentacja stała się bardzo ważnym sposobem produkcji w przemyśle farmaceutycznym, chemicznym, w przemyśle środków spożywczych, jak również w produkcji rolnej.

Na skutek tego wybudowano w ostatnich czasach znaczną ilość wielkich kombinatów fermentacyjnych.

Rentowność sposobu jest zależna w stosunku prostym od wydajności biosyntetycznych materiałów na jednostkę aparatury, przeznaczonej do fermentacji.

Dlatego też celem do którego się dąży jest podniesienie wydajności (produktywności) fermentacji.

W tym sensie w ostatnich latach zrealizowano liczne udoskonalenia metod technicznych.

Wprowadzenie specjalnie wyhodowanych szczepów mikroorganizmów, zastosowanie prekursorów

oraz ogólny postęp technologiczny pozwoliły na podniesienie wydajności omawianych procesów.

Środki te umożliwiają znaczne obniżenie kosztów produkcji, a w związku z tym zastosowanie produktów biosyntezy w licznych dziedzinach.

Stwierdzono, że można jeszcze bardziej podnieść produkcję materiałów biosyntetycznych, za pomocą odpowiednich stymulatorów produkcji, należących do określonych grup związków organicznych, zawierających siarkę. Optymalne stężenie tych ciał w pożywce fermentacyjnej jest tak małe, że substancje te w żadnym przypadku nie mogą być uważane za prekursorsy produktów biosyntetycznych. To pobudzające (stymulujące) działanie dotyczy szeregu związków organicznych o ogólnym wzorze $R-X$ i $R-X-R_1$, w których R i R_1 oznaczają rodnik alifatyczny, aromatyczny, heterocykliczny albo kombinowany, zaś X — grupy $-SCN$, $-CNS$, $-S-$, $-SH$.

Według wynalazku wymienione wyżej substancje dodaje się do odpowiednich pożywek fermentacyjnych w stężeniu niższym niż 50 mcg/cm³ pożywki. Substancje te wprowadza się albo zaraz na początku fermentacji, albo stopniowo w czasie rozwoju kultur.

Inne warunki hodowli pozostają niezmienione w porównaniu ze znanymi sposobami.

P r z y k ł a d I. Podniesienie produkcji chlorotetracykliny ze szczepu *Streptomyces aureofaciens*.

80 cm³ pożywki o składzie (podanym w procentach wagowych) 3% sacharozy, 2% odtłuszczonej mączki sojowej, 0,5% NaCl, 0,4% CaCO₃, 0,2% (NH₄)₂SO₄, 0,2% melasu, 0,5% namoku kukurydzianego (50%-ego) zadaje się 0,8 cm³ wyjałowionego roztworu wodnego tiocyjanianu benzylu o stężeniu 100 mcg/cm³, tak że na 1 cm³ pożywki przypada — 1 mcg tiocyjanianu benzylu.

Pożywkę zaszczenia się 4 cm³ wegetatywnej szczepionki szczepu produkcyjnego *Streptomyces aureofaciens*. Hodowlę prowadzi się przez 96 godzin na wstrząsarce o ruchu postępowo zwrotnym, w temperaturze 28°C.

Próbkę kontrolną hodzi się w tych samych warunkach, ale bez tiocyjanianu benzylu. Po zakończeniu fermentacji antybiotyczna aktywność kultury z tiocyjanianem benzylu wynosi 200% próbki kontrolnej.

P r z y k ł a d II. Podniesienie produkcji oksytetracykliny ze szczepu *Streptomyces rimosus*.

80 cm³ pożywki o zwykłym składzie, zadaje się 4 cm³ wyjałowionego wodnego roztworu siarczku dwubenzylowego (stężenie 100 mcg/cm³ przez co osiąga się całkowite stężenie 5 mcg/cm³). Pożywkę zaszczenia się 4 m³ przygotowanej uprzednio w zwykły sposób wegetatywnej szczepionki produkcyjnego szczepu *Streptomyces rimosus*. Całość hodzi się w ciągu 110 godzin na wstrząsarce o ruchu postępowo zwrotnym w temperaturze 26°C. Próbkę kontrolną hodzi się w analogicznych warunkach, ale bez siarczku dwubenzylu. Antybiotyczna siła działania kultury z siarczkiem dwubenzylu po skończonej fermentacji wynosi 131% próbki kontrolnej.

P r z y k ł a d III. Podniesienie produkcji streptomycyny ze szczepu *Streptomyces griseus*.

80 cm³ pożywki o zwykłym składzie zadaje się izotiocyjanianem fenyloetylowym (8 mcg/cm³) i zaszczenia 4 cm³ wegetatywnej szczepionki szczepu *Streptomyces griseus*. Całość hodzi się

w ciągu 110 godzin na wstrząsarce o ruchu postępowo zwrotnym w temperaturze 26°C. Próbkę kontrolną hodzi się w analogicznych warunkach lecz bez izocyjanianu fenyloetylowego. Antybiotyczna siła działania przefermentowanej pożywki ze stymulatorem wynosi 121% próbki kontrolnej.

P r z y k ł a d IV. Podniesienie wydajności przy przekształceniu steroidów ze *Streptomyces aureofaciens*.

Do 80 cm³ pożywki, o takim samym składzie jak w przykładzie 1, wprowadza się wyjałowiony roztwór tiocyjanianu benzylu w takiej ilości, aby jego stężenie wynosiło 2 mcg/cm³ pożywki. Następnie pożywkę zadaje się zawiesiną 100 mg progesteronu i zaszczenia 4 cm³ wegetatywnej szczepionki *Streptomyces aureofaciens*. Próbkę kontrolną zaszczenia się w tych samych warunkach ale bez tiocyjanianu benzylu.

Obie kultury poddaje się fermentacji w ciągu 96 godzin na wstrząsarce o ruchu postępowo zwrotnym w temperaturze 28°C. Po tym czasie pożywkę wraz z grzybnią ekstrahuje się 30 cm³ chloroformu. Pewną część wyciągu chloroformowego analizuje się za pomocą chromatografii papierkowej, przy czym strefy 6-beta-hydroksyprogesteronu eluuje się za pomocą 96% etanolu i bada kalorymetrycznie. Wydajność 6-beta-hydroksyprogesteronu w próbie z tiocyjanianem benzylu wynosi 50%, natomiast w próbie kontrolnej tylko 35% pierwotnej ilości progesteronu.

P r z y k ł a d V. Podwyższenie produkcji chlorotetracykliny witaminy B₁₂ za pomocą *Streptomyces aureofaciens*.

200 l pożywki o zwykłym składzie zadaje się wyjałowionym roztworem 400 mg tiocyjanianu benzylu, tak że stężenie jego wynosi 2 mcg/cm³ pożywki. Pożywkę zaszczenia się 5% wegetatywnej szczepionki. Hodowlę prowadzi się w zwykły sposób przy stałym mieszaniu i przewietrzaniu. Próbkę kontrolną prowadzi się w ten sam sposób lecz bez tiocyjanianu benzylu. Wydajność chlorotetracykliny w hodowli z tiocyjanianem benzylu wynosi 173% próbki kontrolnej, zaś wydajność witaminy B₁₂ osiąga 157% próby kontrolnej.

P r z y k ł a d VI. Podniesienie produkcji etanolu przy pomocy *Saccharomyces* sp.

4000 ml siodu (5% cukru) zadaje się wyjałowionym roztworem izotiocyjanianu allylu (8 mcg/cm³). Hodowlę prowadzi się w zwykły sposób. W taki sam sposób ale bez stymulatora prowadzi się kontrolną fermentację.

Z cieczy fermentacyjnej pochodzącej z hodowli z izotiocyanianem allylu osiąga się wydajność etanolu, stanowiącą 130% wydajności próby kontrolnej.

P r z y k ł a d VII. Podwyższenie wydajności biomasy z *Torula utilis*.

10 l pożywki o zwykłym składzie zadaje się wyjałowionym roztworem 100 mg siarczku metylobenzylowego i prowadzi w zwykły sposób fermentację w ciągu 80 godzin. W taki sam sposób, ale bez siarczku metylobenzylowego, prowadzi się fermentację kontrolną.

Wydajność biomasy w próbie z siarczkiem metylobenzylowym wynosi 109% wydajności próby kontrolnej.

Z a s t r z e ż e n i a p a t e n t o w e

1. Sposób podwyższenia produkcji materiałów biosyntetycznych przez fermentację, znamienny tym, że do pożywki fermentacyjnej

doprowadza się związki organiczne, działające stymulująco zawierające siarkę, o ogólnym wzorze $R-X$ i $R-X-R_1$, w którym R i R_1 oznaczają rodnik alifatyczny, aromatyczny, heterocykliczny lub kombinowany, zaś X — oznacza grupy $-SON$, $-CNS$, $-S-$, $-SH$, przy czym związki te stosuje się w stężeniu mniejszym niż 50 mcg/cm³ pożywki.

2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że stymulatory dodaje się do środka fermentacyjnego jednorazowo na początku fermentacji.
3. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że stymulatory dodaje się do pożywki fermentacyjnej stopniowo w czasie trwania fermentacji.

V y z k u m n y ú s t a v a n t i b i o t i k

Zastępca: mgr Józef Kamiński,
rzecznik patentowy