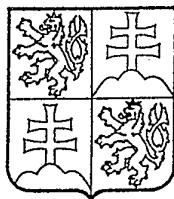


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

272 658

(11)

(13) B1

(51) Int. Cl.⁵
C 12 M 1/04

(21) PV 3702-87.E

(22) Přihlášeno 21 05 87

(40) Zveřejněno 13 06 90

(45) Vydáno 25 11 91

(75) Autor vynálezu

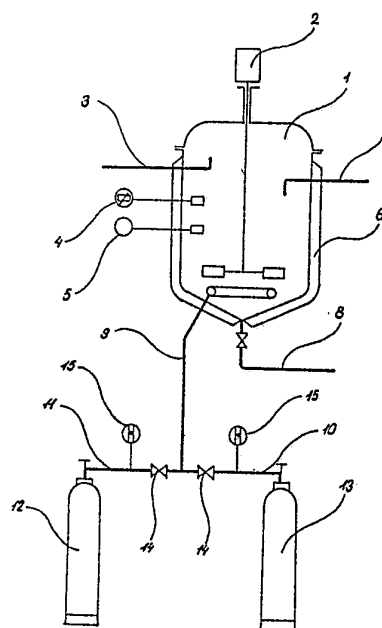
BERANOVÁ EVA ing.,
BERAN ZDENĚK ing.,
HORNICH MILOŠ MVDr. CSc.,
ULMANN LEOPOLD MVDr. CSc.,
VYSLOUŽIL LUDVÍK, BRNO

(54)

Způsob příprava biomasy a biologicky aktivních látek
řízenou kultivací v promíchávaném tekutém prostředí
a zařízení k provádění způsobu

(57)

Řešení se týká způsobu a zařízení pro přípravu biomasy a biologicky aktivních látek řízenou kultivací v promíchávaném tekutém prostředí. Kultivace je řízena pomocí směsi plynů, přiváděných do promíchávaného živného prostředí. Plyná směs obsahuje regulovatelné množství alespoň jednoho plynu, který je identický s plynem nebo jedním z plynů, který vzniká při samotné kultivaci. Tento požadavek splňuje v závislosti na respiračním aparátu kultivovaných buněk, teplotě a pH zejména směs oxidu uhličitého a vodíku v objemovém poměru 1 : 20 až 20 : 1. Předmětem řešení je rovněž zařízení k provádění kultivace. Jeho podstata spočívá v tom, že přívodní potrubí plynů je rozděleno zejména na dvě větve, přičemž každá jednotlivá větev je připojena ke zdroji různého plynu. Krom toho může být opatřena regulátorem a měřičem průtoku plynů. Řešení je možno využít hlavně pro anaerobní a fakultativně anaerobní kultivace, zejména ve veterinárním lékařství.



Vynález se týká způsobu přípravy biomasy a biologicky aktivních látek řízenou kultivací v promíchávaném tekutém prostředí, zvláště za anaerobních a fakultativně anaerobních podmínek, hlavně pro účely veterinárního lékařství a zařízení k provádění tohoto způsobu.

Růst a množení buněk se provádí buď na pevném, nebo v tekutém živném prostředí. Metody, využívající pevného živného prostředí jsou používány hlavně v laboratorních podmínkách, například pro účely mikrobiologické diagnostiky.

K získávání většího množství biomasy nebo biologicky aktivních látek, například vakcín, sér, toxinů, enzymů, aminokyselin, antibiotik, organických a mastných kyselin, vitaminů a dalších metabolitů buněk, se používá kultivace buněk v tekutém živném prostředí.

Kultivace v tekutém živném prostředí vyžaduje stejnou koncentraci látek, zúčastňujících se procesu a konstantní teplotu, pokud možno ve všech místech pracovního objemu. Těchto podmínek se dosahuje v ideálně promíchávaném systému.

K provádění kultivace v tekutém živném prostředí se používá nádob s intenzivně promíchávaným obsahem - fermentorů.

Pro všechny druhy kultivací buněk v tekutém živném prostředí, tj. aerobní, fakultativně anaerobní i anaerobní, se může použít stejných systémů fermentorů, přičemž při aerobní kultivaci se do obsahu přivádí kyslík, popřípadě vzduch. Při fakultativně anaerobní a anaerobní kultivaci se omezí, popřípadě zamezí přísunu kyslíku a pouze se odvádějí plynné zplodiny kultivace. Přitom se pro fakultativně anaerobní a anaerobní kultivace zpravidla používá fermentorů s mechanickým promícháváním.

Promíchávání obsahu fermentoru je nutné pro dosažení co největšího přestupu hmoty a tepla, s ohledem na přísun živin buňkám a udržování optimální teploty kultivace.

Intenzivní výměna hmoty, charakterisovaná velkými hodnotami koeficientů přestupu hmoty, vede ke zmenšování koncentračních spádů plyných zplodin kultivace mezi buňkami a tekutým živným prostředím. U fakultativně anaerobních organismů jde hlavně o oxid uhličitý, u anaerobních organismů o vodík a metan. Protože koncentrace těchto plynů v tekutém živném prostředí je poměrně nízká (je dána jejich rozpustností v daném prostředí při dané teplotě), dochází ke snižování jejich koncentrace na buněčné stěně a v nejbližším okolí buněk. Protože u řady organismů jsou plyné zplodiny v určitých koncentracích stimulanty jejich metabolismu, vede uvedený pokles koncentrace plyných zplodin kultivace často k nižší produkci biomasy a biologicky aktivních látek, než jaké jsou ty které organismy za optimálních podmínek schopny.

Uvedenou nevýhodu odstraňuje způsob přípravy biomasy a biologicky aktivních látek řízenou kultivací v promíchávaném tekutém prostředí podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se do tekutého živného prostředí s inokulem buněk přivádí směs plynů, zejména směs oxidu uhličitého a vodíku v objemovém poměru 1 : 20 až 20 : 1, přičemž alespoň jeden z plynů, přiváděných ve směsi, je chemicky identický s plynem nebo jedním z plynů, který vzniká při samotné kultivaci.

Předmětem vynálezu je rovněž zařízení k přípravě biomasy a biologicky aktivních látek právě popsaným způsobem. Toto zařízení, sestávající z nádoby opatřené míchadlem, odvodním potrubím plynů, měřičem teploty, měřičem hodnoty pH, chladicím a ohřívacím systémem, přívodem a odvodem kapaliny a přívodním potrubím plynů, se vyznačuje tím, že přívodní potrubí plynů je rozděleno nejméně na dvě větve, přičemž každá jednotlivá větev přívodního potrubí plynů je připojena ke zdroji různého plynu a popřípadě opatřena regulátorem a měřičem průtoku plynu.

Technickými opatřeními podle vynálezu se při zachování optimálních podmínek pro transport živin do buňky a při udržování optimální teploty odstraní nepříznivě rychlé odvádění plyných zplodin z buněčné stěny a nejbližšího okolí buněk. Tekuté živné prostředí vytvoří koloidní systém kapalina - plyn, který umožňuje dosažení optimální koncentrace, resp. par-

ciálního tlaku plynů z hlediska metabolických nároků kultivovaných organismů. Tuto optimální koncentraci lze přitom udržovat po celou dobu kultivace regulací objemových poměrů přiváděných plynů ve směsi na vstupu do fermentoru.

Proměňováním technických parametrů fermentačního systému, tj. hodnoty pH, teploty, rozpuštěného kyslíku, míchání a objemu přiváděných plynů, lze v závislosti na respiračním aparátu buněk dosáhnout řízenou kultivací za výše uvedených podmínek nárůstu biomasy dle specifických požadavků na biologicky aktivní látky, aplikovatelné ve veterinárním lékařství, při lékařské diagnostice, ale i v průmyslu potravinářském, krmivářském, farmaceutickém a v zemědělství.

Na připojeném obr. 1 je schematicky znázorněno jedno z možných provedení zařízení podle vynálezu. Zařízení tvoří uzavřená nádoba 1 vybavená mechanickým míchadlem 2, přívodem 7 a odvodem 8 kapaliny, tj. živného prostředí, inokula buněk a produktů metabolismu. Pro udržování optimálních kultivačních podmínek je nádoba 1 opatřena pláštěm 6 k ohřevu nebo chlazení kultivačního prostoru, měřičem teploty 4 a měřičem hodnoty pH 5. V průběhu kultivace se potrubím 9 přivádí do nádoby 1 směs plynů. Složení směsi se během procesu mění tak, jak to odpovídá metabolismu buněk a tvorbě požadovaných produktů. K tomu slouží regulátory průtoku 14 spolu s měřiči průtoků 15, které jsou instalovány na jednotlivých větvích rozděleného přívodního potrubí 9. Každá z větví potrubí 10 a 11 je napojena na zdroj jiného plynu 12 a 13.

Přednosti způsobu kultivace a zařízení podle vynálezu názorně ukazují výsledky zkoušek, při kterých byly v tekutém živném prostředí kultivovány striktně anaerobní bakterie, izolované ze střevního traktu zvířat. Po 48 hodinách kultivace při zavádění směsi vodíku a oxidu uhličitého, obsahující 80 % obj. vodíku, vzrostl počet buněk v 1 cm³ substrátu z 1.10⁴ na 1.10⁹. Při kultivaci bez zavádění vodíkové směsi za jinak stejných podmínek, vzrostl počet buněk za 48 hodin z 1.10⁴ na pouhých 3,7.10⁴ v 1 cm³ substrátu.

Obdobné výsledky byly dosaženy při kultivaci fakultativně anaerobních kmenů *Lactobacillus* sp.. Při práci se směsí vzduchu a oxidu uhličitého, obsahující 20 % oxidu uhličitého, bylo za 8 hodin kultivace dosaženo stejného nárůstu biomasy jako za 42 hodin bez přívodu oxidu uhličitého, pouze s omezeným přívodem vzduchu.

Způsob a zařízení k provádění řízení kultivace v promíchávaném tekutém prostředí podle vynálezu jsou vhodné, jak bylo uvedeno, zejména pro anaerobní a fakultativně anaerobní organismy. Není však vyloučeno jejich použití i pro aerobní podmínky. V oboru veterinárního lékařství jsou určeny hlavně pro kultivace ve fermentorech malých objemů. Dále je možné jejich použití v lékařské diagnostice, ale také u velkoobjemových fermentací v průmyslu potravinářském, krmivářském, farmaceutickém a v zemědělství.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

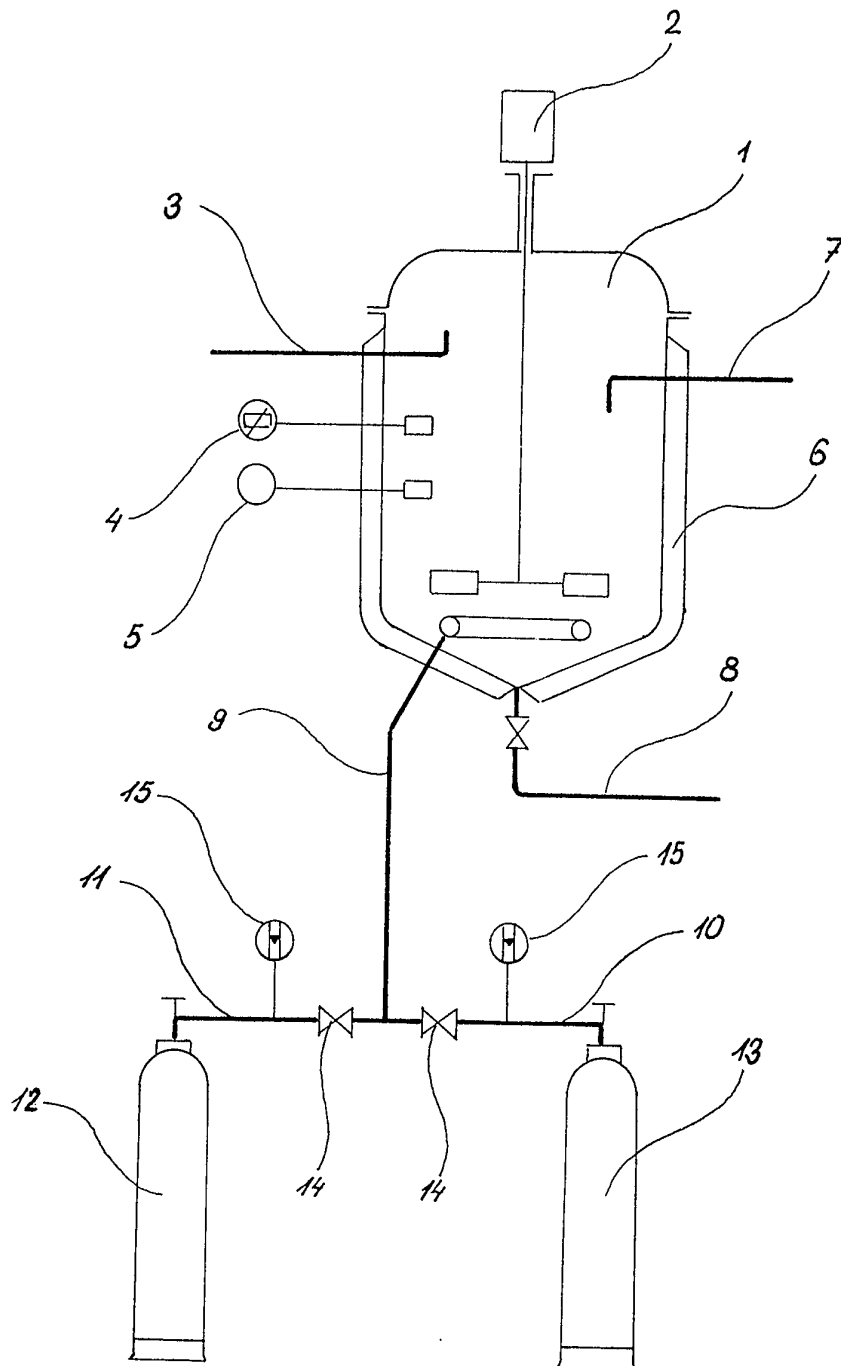
1. Způsob přípravy biomasy a biologicky aktivních látek řízenou kultivací v promíchávaném tekutém prostředí, vyznačený tím, že se do tekutého živného prostředí s inokulem buněk přivádí směs plynů, zejména směs oxidu uhličitého a vodíku v objemovém poměru 1 : 20 až 20 : 1, přičemž alespoň jeden z plynů, přiváděných ve směsi, je chemicky identický s plynem nebo jedním z plynů, který vzniká při samotné kultivaci.
2. Zařízení k provádění způsobu přípravy biomasy a biologicky aktivních látek podle bodu 1, sestávající z nádoby opatřené míchadlem, odvodním potrubím plynů, měřičem teploty, měřičem hodnoty pH, chladicím a ohřívacím systémem, přívodem a odvodem kapaliny a přívodním potrubím plynů, vyznačené tím, že přívodní potrubí (9) plynů je rozděleno nejméně na dvě větve (10) a (11), přičemž každá jednotlivá větev (10) a (11) přívodního potrubí (7) plynů je připojena ke zdroji (12), (13) různého plynu.

CS 272 658 B1

3. Zařízení podle bodu 2, vyznačené tím, že každá jednotlivá větev (10), (11) přívodního potrubí (9) plynů je opatřena regulátorem (14) a měřičem (15) průtoku plynů.

1 výkres

CS 272 658 B1



De...