



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

205 310

(11) (B1)

(51) Int. Cl.³ C 12 N 9/26

(61)

(23) Výstavná priorita

(22) Prihlásené 03 06 77

(21) PV 3652-77

(40) Zverejnené 29 08 80

(45) Vydané 01 08 83

(75)

Autor vynálezu KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ ANNA RNDr. DrSc., BRATISLAVA, ZEMEK JURAJ ing. CSc.,
LEHNICA, AUGUSTÍN JOZEF PhDr. a KUNIAK ĽUDOVÍT ing. CSc., BRATISLAVA

(54) Spôsob produkcie enzýmu α -amylázy

1

Vynález rieši spôsob produkcie enzýmu α -amylázy pomocou kvasinkovitého organizmu.

Na priemyselnú produkciu enzýmu α -amylázy sa používajú v súčasnej dobe spôsoby produkcie, ktoré využívajú niektoré druhy baktérií, napr. *Streptomyces aureofaciens*, resp. *Bacillus subtilis*, alebo niektoré druhy plesní rodov *Aspergillus* a *Penicillium*. Nevýhodou produkcie α -amylázy u uvedených kmeňov je nevýhodný pomer oligosacharidov maltózového typu a D-glukózy ako reakčných produktov amylolytickej reakcie, resp. ťažkosti pri separácii biomasy z kultivačného média.

Uvedené nevýhody odstraňuje spôsob produkcie enzýmu α -amylázy na tekutej živnej pôde obsahujúcej zdroje asimilovateľného uhlíka a drusíka a minerálne živné soli, ktorého podstatou spočíva v tom, že kmeň *Leucosporidium capsuligenum* CCY 64-5-1 sa kultivuje na živnej pôde obsahujúcej 0,1 až 3 hmot. % rozpustného škrobu pri teplote 18 až 40 °C po dobu 48 až 135 hodín pri pH 4,4 až 6,9, pričom α -amyláza sa získa odparením produkčnej pôdy alebo zrážaním síranom amónnym alebo afinitným prečistením na sietovanom škrobe.

Uvedený kmeň je uložený v čs. zbierke mikroorganizmov, Chemický ústav SAV, Bratislava, Dúbravská cesta.

Výhodou produkcie α -amylázy podľa uvedeného postupu je jednoduchá separácia biomasy od kultivačnej pôdy, zdravotná nezávadnosť biomasy a pomerne vysoká špecifická aktivita produkcie, ktorá je až 2,8 U/mg biomasy. Použitie α -amylázy je v potravinárstve a v textilnom

205 310

priemysle. Amylázový hydrolyzát má použitie k príprave atypických sladidiel a čistých oligosacharidov.

Príklad 1

Z vypratého gélu pripraveného zo sieťovaného α -D-glukánu podľa AO č. 186 059 sa vyrežú trojuholníkové profily o hrane 1,5 cm, vložia sa do Petriho misky a zalejú roztokom kultivačnej tekutiny Yeast Nitrogen Base /Difco/ 0,657 g na 100 ml destilovanej vody. Gély sa ponoria asi do poloviny svojej výšky. Po trojnásobne opakovanej sterilizácii pri 100 °C v pare /1 hodina/ sa očkuje na povrch gélu kultúra *Leucosporidium capsuligenum* CCY 64-5-1 a inkubuje pri 28 °C po dobu 48 hodín. Namnožená biomasa *L. capsuligenum* /0,26 g/ spolu so skvapalneným gélom sa použila ako inokulum na produkčnú pôdu /2 l/ zloženú z 1 % kukuričného výluhu 0,8 % kukuričného škrobu, 0,3 % síranu amónneho a 0,3 % dihydrofosforečnanu draselného vo vode /pH 5,8/. Kultivácia prebiehala po dobu 92 hodín pri 28 °C. Po ukončení kultivácie sa biomasa *L. capsuligenum* odstránila centrifugáciou /3000 g, 5 minút/ a supernatant sa zahusťoval na vákuovej odparke. Získaný surový enzým α -amylázy mal celkovú aktivitu 26,2 U a špecifickú aktivitu 0,102 U/mg.

Príklad 2

Tak, ako je uvedené v príklade 1 s tým rozdielom, že kultivácia prebiehala na živnej pôde obsahujúcej 3 % kukuričný škrob pri teplote 40 °C počas 48 hodín a pri pH 6,9 a namiesto spracovania na vákuovej odparke sa enzýmový preparát ďalej spracováva afinitnou metódou za využitia sieťovaného škrobu /AO č. 157 955/. Získaný prečistený enzým mal špecifickú aktivitu 14,2 U/mg.

Príklad 3

Tak, ako je uvedené v príklade 1 s tým rozdielom, že kultivácia prebiehala na živnej pôde obsahujúcej 0,1 % kukuričný škrob pri teplote 18 °C počas 135 hodín pri pH 5,5 a enzým α -amyláza sa získal z produkčnej pôdy zrážaním síranom amónnym /700 g/l/. Získaný surový enzýmový preparát mal špecifickú aktivitu 0,23 U/mg.

P R E D M E T V Ý N Á L E Z U

Spôsob produkcie enzýmu α -amylázy na tekutej živnej pôde obsahujúcej zdroje asimilovateľného uhlíka a dusíka a minerálne živné soli, vyznačujúci sa tým, že kmeň *Leucosporidium capsuligenum* CCY 64-5-1 sa kultivuje na živnej pôde obsahujúcej 0,1 až 3 hmot. % rozpustného škrobu pri teplote 18 až 40 °C po dobu 48 až 135 hodín pri pH 4,4 až 6,9, pričom α -amyláza sa získa odparením produkčnej pôdy alebo zrážaním síranom amónnym alebo afinitným prečistením na sieťovanom škrobe.