(11) Číslo dokumentu :

ČESKÁ A SLOVENSKÁ FEDERATIVNÍ REPUBLIKA
(19)

# PATENTOVÝ SPIS

276 887

(21) Číslo přihlášky : 5846-90
(22) Přihlášeno : 26.11.90
(30) Prioritní data :

(13) Druh dokumentu : B6
(51) Int. Cl.[5] :
C 12 N 1/38

(40) Zveřejněno : 17.06.92
(47) Uděleno : 24.06.92
(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 12.08.92

FEDERÁLNÍ ÚŘAD PRO VYNÁLEZY

(73) Majitel patentu : Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, CS

(72) Původce vynálezu : Demnerová Kateřina doc.ing.CSc., Praha, CS;
Káš Jan prof.ing.DrSc., Praha, CS;
Ranný Mojmír doc.ing.CSc., Praha, CS;
Janata Jaromír, Kolín, CS

(54) Název vynálezu : Způsob zvýšení nárůstu biomasy mikroorganismů, zejména kvasinek a plísní

(57) Anotace :

Způsob zvýšení nárůstu biomasy mikroorganismů, zejména kvasinek a plísní a zlepšení fyziologického stavu buněk spočívá v přídavku 0,1 až 3,0 % hmot. fosfolipoproteinů do kultivačního média před zahájením, popřípadě v pozdějším stadiu fermentace. Vhodné fosfolipoproteiny obsahují 2 až 20 % hmot. produktů fosforylace diacylglycerolů mastných kyselin a 98 až 80 % hmot. bílkovin rostlinného nebo živočišného původu.

Vynález se týká způsobu zvýšení růstové schopnosti a metabolické aktivity mikroorganismů, zejména kvasinek a plísní.

Mezi běžně používané stimulátory růstu mikroorganismů patří řada kovových iontů, vitaminy, nukleotidy, esenciální aminokyseliny a další látky.

Podobné účinky mají i lipoproteiny známé svou vysokou nutriční hodnotou (například Otahura M., Kito M.: Agric. Biol. Chem. 47, 1907 (1983). Lipoproteiny a jejich složky jsou využívány jednak jako stavební složky živé hmoty a jednak jako zdroj energie pro životní procesy. Jejich asimilace do buňky nevyžaduje vždy jejich předchozí hydrolýzu v základní složky.

Dalšími látkami, které zvyšují růst mikroorganismů jsou fosfatidové kyseliny, u nichž bylo prokázáno (vána et al.: Acta Universitatis Carolinae Medica 32, 141 / 1986/), že se ve formě solí se značenými kovovými ionty přímo inkorporují do buněčné stěny kvasinek Saccharomyces cerevisiae. Účinnost přídavku samotných fosfolipidů (přírodních lecithinů) na stimulaci růstu bakterií a kvasinek byla prokázana i jinými autory a je i předmětem patentů fy. Lucas Meyer GmbH and Co.,Hamburg (DE 3540721 C2, DE 3540721 A1, DE 3546511 C2). Nevýhodou fosfolipidů je jejich výrazně hydrofóbní charakter a proto se v hydrofilním kultivačním médiu jen nesnadno dispergují.

Uvedenou nevýhodou odstraňuje způsob zvýšení nárustu boimasy kvasinek, plísní a bakterií a zlepšení fyziologického stavu buněk podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se kultivačního média před nebo v průběhu fermentace přikládá 0,1 až 3 % hmot. fosfolipoproteinů. Fosfolipoproteiny se skládají ze 2 až 20 % hmot. produktů fosforylace diacylglycerolů mastných kyselin a z 98 až 80 % hmot. bílkovin rostlinného nebo živočišného původu.

Aplikace fosfolipoproteinů ke stimulaci růstu a biologické aktivity mikroorganismů má používání samotných fosfolipidů četné výhody. Konjugací fosfolipidů s proteiny a aminokyselinami vznikají produkty podstatně hydrofilnější. Dají se připravit v práškové formě, jsou dobře solubilizovatelné a proto mnohem lépe aplikovatelné, zejména při průmyslovém použití. Konjugace lipidů s protejny vzájemně ovlivňuje původní vlastnosti obou složek. Fosfolipidová složka je lépe štěpitelná enzymy, je-li konjugována s proteinem. Pokusy zřetelně prokázaly podstatně větší stimulační efekt na růst mikroorganismů u konjugovaných forem než u izolovaně aplikovaných fosfolipidů a bílkovin nebo aminokyselin.

Lepší využitelnost fosfolipoproteinů je dána nejen jejich chemickým složením, ale také fyzikálně chemickými vlastnostmi vyplívajícími z charakterů vzájemně interagujících složek. Jako lipidové složky fosfolipoproteinů jsou s výhodou používány fosfatidové kyseliny připravené z diacylglylycerolů odvozených od rostlinných olejů i živočišných tuků, bílkovinnou komponentnou mohou být nejrůznější potravinářsky využitelné bílkoviny jako například vaječné, cereální a mléčné.

Aplikací komplexů bílkovin a fosfatidové kyseliny lze podstatně zvýšit provozní výtěžky i kvalitu pekařského krmného droždí

i jiných mikroorganismů.

Vynález je dokumentován příklady, aniž by se jimi omezoval.

Příklad 1

Do laboratorního fermentoru o celkovém objemu 5 l bylo dáno 2,5 l melasové půdy obsahující cca 1 % hmot. sacharidů, 0,85 g superfosfátu, 0,25 g / $NH_4$ /$HPO_4$, 0,102 g $MgSO_4$. $7H_2O$ a pH upraveno pomocí $H_2SO_4$ na hodnotu 4,5. Tato základní půda obsahovala také 2 % hmot. syntetického fosfolipoproteinu složeného z 90 % hmot. vaječného bílku a z 10 % hmot. fosfatidové kyseliny odvozené od řepkového oleje.

Uvedená půda byla zaočkována 100 ml inokula připraveného suspendováním 25 g lisovaného pekařského droždí ve 100 ml sterilní vody. Fermentace probíhala 24 h při pH 4,5, teplotě 28 $^0C$, míchání 4 000 otáček/min a vzdušnění 0,5 1/min. Nárůst biomasy byl 195 % hmot. vůči nárůstu na kontrolním médiu bez přípravku fosfolipoproteinu.

Příklad 2

K základnímu médiu uvedenému v příkladu 1 bylo přidáno 1 % hmot. komplexu tvořeného z 97 % hmot. vitálního pšeničného lepku a z 3 % hmot. fosfatidové kyseliny. Za stejných podmínek inokulace a fermentace byl získán nárůst biomasy 166 % hmot.vůči kontrole.

Příklad 3

K základnímu médiu uvedenému v příkladu 1 bylo přidáno 1,5 % hmot. komplexu tvořeného z 85 % hmot. mléčných bílkovin (odstředěného sušeného mléka) a z 15 % hmot. fosfatidových kyselin ze sojového oleje. Za stejných podmínek inokulace a fermentace jako v příkladu 1 byla výtěžnost biomasy více jak dvojnásobná vůči kontrole.

Příklad 4

Při průmyslové výrobě pekařského droždí z melasového média uvedeného v příkladu 1 bylo aplikováno do druhého stupně fermentačního procesu tvořeného 0,2 % hmot. kompexu z 88 % hmot. mléčné bílkoviny a 12% hmot. fosforylovaných diacylglycerolů ze slunečnicového oleje. Nárůst biomasy proti kontrole byl 140 % hmot.

Příklad 5

Při průmyslové výrobě pekařského droždí bylo do druhého generačního stupně (média, uvedeného v příkladu 1, obsahujícího 2 % hmot. inokula) přidáno 0,1 % hmot. komplexu, připravovaného z 90 % hmot. odstředěného sušeného mléka a 10 % hmot. fosforylovaných diacylglycerolů z řepkového oleje. Zvýšený nárůst biomasy v 10 až 20 % hmot. byl pozorován jak v druhém, tak i v expedičním stupni výroby droždí.

Příklad 6

Při laboratorní fermentaci uvedené v příkladu 1 byla půda zaočkována 100 ml obdobně připraveného inokula z krmného droždí. Za uvedených podmínek fermentace bylo získáno o 70 % hmot. biomasy více než při kontrolním pokuse bez fosfolipoproteinů.

Příklad 7

Do laboratorního fermentoru o celkovém objemu 5 l bylo dáno 2,5 l kultivační půdy obsahující 450 g sacharosy, 2,5 g močoviny, 2 g $NH_4Cl$, 1,25 g $MgSO_4.7H_2O$, 0,4 g $KH_2PO_4$, 0,175 g KCl, 0,05 g $MnSO_4.7H_2O$, 0,025 g $FeSO_4.7H_2O$. Do této kultivační půdy bylo přidáno 1 % hmot. komplexu, připraveného z 90 % hmot. odstředěného sušeného mléka a 10 % hmot.fosforylovaných diacylglycerolů z řepkového oleje.

Uvedená půda byla zaočkována 10 % inokula spor Aspergillus niger. Fermentace probíhala 7 dní při teplotě 28 °C, počáteční pH 4, míchání 500 ot/min, vzdušnění 31/min. Produkce kyseliny citronové se zvýšila o 7,5 %.

## P A T E N T O V É  N Á R O K Y

1. Způsob zvýšení nárůstu biomasy mikroorganismů, zejména kvasinek a plísní a zlepšení fyziologického stavu buněk, vyznačující se tím, že do kultivačního média se před nebo v průběhu fermentace přidá 0,1 až 3 % hmot. fosfolipoproteinů.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že fosfolipoproteiny obsahují 2 až 20 % hmot. produktů fosforylace diacylglycerolů mastných kyselin, například fosfatidové kyseliny a 98 až 80 % hmot. bílkovin rostlinného nebo živočišného původu.

Konec dokumentu