



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

238800

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.⁴

G 12 P 13/08

(22) Přihlášeno 17 02 84
(21) PV 1138-84

(40) Zveřejněno 15 05 85

(45) Vydáno 15 04 87

(75)
Autor vynálezu

SMÉKAL FRANTIŠEK dr. CSc., BARTA MIROSLAV dr., PÍRKO JAROMÍR ing.,
JÁRA JIŘÍ doc. ing. CSc., BASAŘOVÁ GABRIELA prof. ing. DrSc.,
PELECHOVÁ JANA ing. CSc., GRÉGR VRATISLAV prof. dr. ing. DrSc.,
PRAHA

(54) Způsob fermentační přípravy L-lysinu

Vynález se týká způsobu fermentační přípravy L-lysinu v tekutých kultivačních médiích, které obsahují jako zdroj uhlíku sacharosu a jako hlavní zdroj dusíku kyselý hydrolyzátní profokarpové mouky (jemně mleté boby *Psophocarpus tetragonolobus*). Tímto hydrolyzátním je možno nahradit standardně používaný hydrolyzátní arašídové mouky jako zdroj dusíku ve fermentačních médiích. Jako produkční mikroorganismy jsou používány mutantní kmeny *Brevibacterium flavum* a *Corynebacterium glutamicum*, která se vyznačují rezistencí k analogům aminokyselin a dále vyžadují ke svému růstu některé esenciální aminokyseliny.

Vynález se týká způsobu fermentační přípravy L-lysinu v tekutých živných médiích, které obsahují jako zdroj uhlíku sacharosu a jako komplexní zdroj dusíku hydrolyzáty psofokarpové mouky, dále kukuřičný extrakt, minerální soli, vitaminy a další růstové látky. Uvedený postup umožňuje použití nového typu komplexního zdroje dusíku za dosud používaný hydrolyzáty arašídové mouky. K přípravě uvedeného hydrolyzáty se použije jemně mletá mouka z bobů *Psophocarpus tetragonolobus* a tato se dále hydrolyzuje standardním postupem minerální kyselinou. Aminokyselinové složení hydrolyzáty psofokarpové mouky je analogické hydrolyzáty sojové mouky; dále vyšším obsahem některých esenciálních aminokyselin předčí běžně používaný hydrolyzáty arašídové mouky.

Jako produkčních mikroorganismů se používá mutantních kmenů *Brevibacterium flavum* a *Corynebacterium glutamicum*, které se vyznačují resistencí na analogy aminokyselin a dále vyžadují k růstu některé esenciální aminokyseliny. V patentových spisech jsou jako zdroje dusíku udávány různé typy hydrolyzáty dusíkatých substrátů; např. franc. patent 2 033 119 popisuje jako zdroj dusíku hydrolyzáty sojového proteinu, stejný zdroj dusíku uvádějí dále patentové spisy NSR 2 100 159 a 2 321 461; jako další zdroje dusíku se uvádějí hydrolyzáty kaseinu v USA patent. spisu 3 595 751, dále japonský patent. spis 515 75 popisuje jako zdroj dusíku NZ-amin; jako vhodný zdroj dusíku se používají také hydrolyzáty kvasničné biomasy a další dusíkaté látky.

Fermentační způsob přípravy L-lysinu podle vynálezu uvádějí následující příklady.

P ř í k l a d 1

Kmenem *Brevibacterium flavum* (homoserin⁺, AEC⁺) se zaočkuje 500ml varná baňka, která obsahuje 50 ml inokulačního média o tomto složení: sacharosa 30 g, octan sodný kryst. 40 g, kukuřičný extrakt 30 g, voda dest. ad 1 litr; pH média 7,0. Po zaočkování se baňky kultivují na rotační třepačce (6,7Hz) po dobu 18 až 24 hodin při teplotě 29 °C.

Vyrostlou kulturou se v množství 10 % obj. zaočkují 500ml varné baňky, které obsahují 20 ml fermentačního média o tomto složení: sacharosa 180 g, kyselý hydrolyzáty psofokarpové mouky (7,0 až 8,1 mg celk.N/ml) 200 ml, kukuřičný extrakt 10 g, hydrogenfosforečnan draselný 1 g, síran hořečnatý kryst. 0,1 g, uhličitán vápenatý mikromletý 30 g, voda dest. ad 1 litr; pH média 7,0; kultivace dále probíhá na rotační třepačce při 29 °C po dobu 96 hodin.

V průběhu fermentace se upravuje pH kultury pomocí 10% roztoku amoniaku na hodnotu 7,0 až 7,2. Produkce L-lysinu dosahuje 42,4 g/litr fermentačního média za 96 hodin kultivace.

P ř í k l a d 2

Kmenem *Corynebacterium glutamicum* (homoserin⁺, AEC⁺) se zaočkuje inokulační baňka jak se uvádí v příkladu 1 a další postup kultivace a fermentační přípravy L-lysinu je stejný jak je popsáno v příkladu 1. Za 96 hodin kultivace je dosahováno produkce 39,8 g L-lysinu/litr fermentačního média.

P ř í k l a d 3

Kmenem *Brevibacterium flavum* (homoserin⁺, AEC⁺) se zaočkuje 500ml varná baňka, která obsahuje 50 ml inokulačního média o složení jak se uvádí v příkladu 1. Vyrostlou kulturou se zaočkuje dvoulitrový laboratorní fermentační tank, který obsahuje 800 ml fermentačního média, jehož složení je popsáno v příkladu 1. Jako komplexního zdroje dusíku se použije kyselý hydrolyzáty psofokarpové mouky z bobů *Psophocarpus tetragonolobus*, var. Binh-Minh. Další kultivaci za odpovídajícího míchání a vzdušnění, úpravy pH a teploty 29 °C je po 96 hodinách fermentace dosahováno produkce 70,9 g L-lysinu/litr kultivačního média.

Příklad 4

Postup fermentační přípravy L-lysinu kmenem *Brevibacterium flavum* je stejný jak je uvedeno v příkladu 3 s tím rozdílem, že jako zdroje dusíku je použito kyselého hydrolysátu psophokarpové mouky z bobů *Psophocarpus tetragonolobus*, var. *Chimbu*. Při výše uvedených parametrech fermentace je dosahováno produkce 71,2 g L-lysinu/litr fermentačního média za 96 hodin kultivace.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob fermentační přípravy L-lysinu kultivací produkčních mikroorganismů jako jsou produkční kmeny *Brevibacterium flavum* nebo *Corynebacterium glutamicum* v tekutých živných médiích obsahujících zdroje uhlíku, růstové faktory a minerální látky, vyznačený tím, že fermentační médium obsahuje jako komplexní zdroj dusíku kyselý hydrolyzátní psophokarpové mouky, která se připraví jemným mletím bobů *Psophocarpus tetragonolobus* a dále zpracuje na formu hydrolysátu působením minerálních kyselin.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že celkový obsah dusíku v hydrolyzátní psophokarpové mouce odpovídá hodnotám 7,0 až 10,0 mg celk. N v 1 ml roztoku.