



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

217939

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.³

C 12 N 1/14

(22) Přihlášeno 23 07 81
(21) (PV 5640-81)

(40) Zveřejněno 28 05 82

(45) Vydáno 15 12 84

(75)
Autor vynálezu

MUSÍKOVÁ MARIE RNDr. CSc., UJCOVÁ EMMA RNDr. CSc.,
SEICHERT LEOPOLD RNDr. CSc., SIKYTA BOHUMIL RNDr. CSc.,
KRUMPHANZL VLADIMÍR prof. ing. DrSc., PRAHA

(54) Produkční kmen mikroorganismu *Aspergillus niger* CCF 1836

Vynález se týká nového produkčního kmene *Aspergillus niger* CCF 1836 pro submersní výrobu kyseliny citronové.

Podstata vynálezu spočívá v tom, že nový kmen dosahuje při submersní fermentaci vysokých výtěžků kyseliny citronové, které převyšují výtěžky výchozího mateřského kmene a dosahují světových špičkových parametrů.

Výhodou kmene *Aspergillus niger* 1350 dále je, že tento kmen je schopen využít pro tvorbu kyseliny citronové i další cukry, polysacharidy, vyšší alkoholy, případně jejich směsi, a to jak v čisté, tak ve formě hydrolyzátů.

Vynález se týká vysokoprodukčního mikroorganismu *Aspergillus niger* CCF 1836 pro submersní výrobu kyseliny citrónové na živných médiích s různým zdrojem uhlíku.

Submersní způsob přípravy kyseliny citrónové, který má řadu předností proti povrchovému způsobu (AO 202 709), vyžaduje speciální kmeny, vyšlechtěné pro hloubkový růst v provzdušňovaných a promíchávaných živných médiích (AO 196 001, AO 196 003, AO 201 807). Zdrojem uhlíku, který potřebuje mikroorganismus pro růst, dále jako zdroj energie a pro tvorbu kyseliny citrónové, je obvykle sacharóza, používaná buď v čisté formě, nebo ve formě melasy.

Předmětem vynálezu je kmen plísně *Aspergillus niger* 1350, pro submersní výrobu kyseliny citrónové, uložený v mezinárodní sbírce mikroorganismů katedry botaniky nižších rostlin pod č. CCF 1836.

Dále je uvedena morfologická a fyziologická charakteristika mutantu plísně *Aspergillus niger* 1350 (Thom. Ch., Raper, K. B.: A manual of the Aspergilli, Baltimore, 1945).

Mutant 1350 roste dobře na sladinovém agaru, ale vytváří kolonie o průměru 5 cm tvořené vysokým vzdušným myceliem, ve středu kolonií se tvoří husté černé spory. Spodní strana kolonií je na okrajích zvrásněná. Na Raulinově agaru tvoří 2,5 cm kolonie s vyvýšenými středy, sporulace je hustá, spory černé. Na pивním agaru se tvoří 4 cm kolonie, jejichž spodní strana je bílá, hladká, svrchní strana je porostlá řídkým vzdušným myceliem, sporulace je hustá ve středu kolonie a řídká po okrajích, spory černé. Na Czapekově agaru se tvoří kolonie o průměru 3,5 cm se spodní stranou nažloutlou a paprskovitě zvrásnělou, vrchní strana kolonií má bílé, 3 mm široké okraje, uprostřed je poměrně hustá, soustředěná sporulace. Barva spor je černá.

Mikroskopický vzhled: Spory jsou černé, chlupaté, o průměru 3 až 4 μ , konidiofory až 1 mm vysoké, hlavičky zakulacené o průměru 0,1 mm.

Při submersní fermentaci na 10 až 20 % cukerných substrátech tvoří z 65 až 85 % vneseného cukru kyselinu citrónovou. Kupříkladu na syntetické půdě se sacharózou nebo glukózou se výtěžnost procesu (vztaženo na vnesený cukr) pohybuje v průměru kolem 80 %, u hydrolyzátů škrobu až 85 %. Mutant je schopen využít pro tvorbu kyseliny citrónové při určité redukci výtěžků i další cukry (např. fruktózu, xylózu, maltózu, galaktózu), polysacharidy (např. škrob) nebo vyšší alkoholy (např. sorbitol, manitol) nebo směsi těchto látek, a to jak v čisté formě, tak obsažených např. v hydrolyzátech škrobu, dřeva, ovocných šťávách a podobně.

Mutant *Aspergillus niger* 1350 byl získán působením ultrafialového záření na spory plísně *Aspergillus niger* NG 233. Suspenze spor (koncentrace přibližně 10^6 v 1 ml) byla ozářována UV světlem o intenzitě záření 5,9 J/m² po dobu 4 minut, pak vhodně naředěna a rozlita na sporulační agarovou půdu. Jednotlivé izoláty byly hodnoceny podle schopnosti růstu, sporulace a tvorby kyseliny citrónové.

Nejllepší mutant 1350 byl vybrán na základě růstu a produkce kyseliny citrónové na různých uhlíkatých zdrojích a je předmětem tohoto vynálezu.

P R E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Produkční kmen mikroorganismu *Aspergillus niger* CCF 1836 produkující při submersní kultivaci kyselinu citrónovou.