



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

205 317
(11) (B1)

(61)

(23) Výstavná priorita
(22) Prihlášené 19 07 77
(21) PV 4770-77

(51) Int. Cl.³ C 12 N 9/26

(40) Zverejnené 29 08 80

(45) Vydané 01 08 83

(75)

Autor vynálezu AUGUSTÍN JOZEF PhMr., KUNIAK ĽUDOVÍT ing. CSc., BRATISLAVA,
ZEMEK JURAJ ing. CSc., LEHNICA a MARVANOVÁ ĽUDMILA RNDr. CSc., BRNO

(54) Spôsob produkcie enzýmu α -amylázy

1

Vynález sa týka spôsobu produkcie enzýmu α -amylázy.

V súčasnej dobe sa enzým α -amyláza získava izoláciou z produkčného prostredia baktérie *Bacillus subtilis* a *Streptomyces aureofacies*. Nevýhodou produkcie α -amylázy baktériami je horšia separácia biomasy z kultivačnej pôdy a nižšia sacharifikačná schopnosť získanej α -amylázy.

Uvedené nevýhody odstraňuje spôsob produkcie α -amylázy na tekutej živnej pôde obsahujúcej zdroje asimilovateľného uhlíka a dusíka a minerálne živné soli, ktorého podstata spočíva v tom, že kmene

<i>Penicillium brefeldianum</i>	CCM F - 523
" <i>regulosum</i>	CCM F - 258
" <i>camemneri</i>	CCM F - 378
" <i>simplicissimum</i>	CCM F - 475
" <i>canescens</i>	CCM F - 425
" <i>stipitatum</i>	CCM F - 174
" <i>commune</i>	CCM F - 426
" <i>vermiculatum</i>	CCM F - 173
" <i>cyaneum</i>	CCM F - 376
" <i>verrucosum</i> var. <i>album</i>	CCM F - 327

205 317	<i>Penicillium gladioli</i>	CCM F - 326
"	<i>verrucosum</i> var.	CCM F - 240
	<i>corymbiferum</i>	
"	<i>griseofulvum</i>	CCM F - 448
"	<i>verrucosum</i> var.	CCM F - 389
	<i>cyclopium</i>	
"	<i>islandicum</i>	CCM F - 213
"	<i>meleagrinum</i>	CCM F - 432
"	<i>ochrochloron</i>	CCM F - 158
"	<i>verrucosum</i> var.	CCM F - 229
	<i>verrucosum</i>	
"	"	CCM F - 458
"	"	CCM F - 583
"	<i>oxalicum</i>	CCM F - 338
"	<i>rolfsii</i>	CCM F - 337
"	<i>albidum</i>	CCM F - 307

sa kultivujú jednotlivo alebo v ich zmesi na živnej pôde obsahujúcej 0,1 až 3 hmot. % rozpustného škrobu pri teplote 20 až 40 °C, po dobu 72 až 120 hodín, pri pH 4,2 až 6,5, pričom α -amyláza sa získa odparením rastovej pôdy, prípadne zrážaním síranom amónnym alebo afinitným prečistením na sieťovanom škrobe.

Kmene použité na produkcie α -amylázy sú uložené v čs. zbierke mikroorganizmov, Univerzita J. E. Purkyně, Brno, Obránců míru 10.

Výhodou uvedeného spôsobu produkcie α -amylázy je jednoduchá separácia biomasy od kultivačnej pôdy, zdravotná nezávadnosť biomasy oproti plesňovým fermentáciám a pomerne vysoká produkčná schopnosť uvedených kmeňov, ktorá sa vyrovná produkčnej schopnosti známych producentov plesňovej α -amylázy. α -amyláza získaná podľa vynálezu má použitie predovšetkým v pivovarníctve, pri príprave sirupov a štiav a k príprave sladidiel.

Príklad 1

Z vypratého gélu amylózy podľa AO č. 186 059 (1968) sa vyrežú trojuholníkové profily o strane 4 cm, vložia sa do Petriho misky a zalejú sa roztokom kultivačnej pôdy Yeast Nitrogen Base 0,6 g/100 ml (Oxoid) s gélom amylózy ako jediným zdrojom uhlíka tak, aby polovica gélu vyčnievala nad hladinu kultivačného roztoku. Po sterilizácii pri 100 °C sa očkuje na povrch kultúra *Penicillium brefeldianum* CCM F - 523 a kultúra sa kultivuje pri 20 °C. Stekutený amylózový gél v priebehu 27 hodín spolu s pomnoženou biomasou *Penicillium brefeldianum* sa použil ako inokulum na kultivačnú pôdu (2 l) zloženú z 45 g kukuričného škrobu, 2,3 g síranu amónneho a 1,5 g dihydrogénfosforečnanu draselného. Kultivácia prebiehala po dobu 112 hodín pri 20 °C. Po ukončení kultivácie sa biomasa *Penicillium* odfiltrovala a získaný filtrát sa zahustil na odparke. Získaný surový enzým α -amyláza mal celkovú aktivitu 18,7 u a špecifickú aktivitu 0,101 U/mg.

Príklad 2

Tak, ako je uvedené v príklade 1, s tým rozdielom, že namiesto *Penicillium brefeldianum* sa použije *Penicillium commune* CCM F - 426. Získaný surový enzým α -amyláza mal aktivitu 24,2 U a špecifickú aktivitu 0,09 U/mg.

Príklad 3

Tak isto, ako je uvedené v príklade 1, s tým rozdielom, že získaný surový enzýmový preparát sa ďalej spracováva afinitnou metódou za využitia sieťovaného škrobu (AO č. 157 955, 1974). Získaný prečistený enzým mal špecifickú aktivitu 18,6 U/mg.

P R E D M E T V Y 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 kmene

<i>Penicillium brefeldianum</i>	CCM F - 523
" <i>regulosum</i>	CCM F - 258
" <i>canemberti</i>	CCM F - 378
" <i>simplicissium</i>	CCM F - 475
" <i>canescens</i>	CCM F - 425
" <i>stipitatum</i>	CCM F - 174
" <i>commune</i>	CCM F - 426
" <i>vermiculatum</i>	CCM F - 173
" <i>cyaneum</i>	CCM F - 376
" <i>verrucosum</i> var. <i>album</i>	CCM F - 327
" <i>gladioli</i>	CCM F - 326
" <i>verrucosum</i> var.	CCM F - 240
<i>corymbiferum</i>	
" <i>verrucosum</i> var.	CCM F - 389
<i>cyclopium</i>	
" <i>griseofulvum</i>	CCM F - 448
" <i>islandicum</i>	CCM F - 213
" <i>meleagrinum</i>	CCM F - 432
" <i>ochrochlorum</i>	CCM F - 158
" <i>verrucosum</i> var.	CCM F - 229
<i>verrucosum</i>	
" "	CCM F - 458
" "	CCM F - 583
" <i>oxalicum</i>	CCM F - 338
" <i>rolfsii</i>	CCM F - 337
" <i>albidum</i>	CCM F - 307

205 317

sa kultivujú jednotlivo alebo v ich zmesi na živnej pôde obsahujúcej 0,1 až 3 hmot. % rozpustného škrobu pri teplote 20 až 40 °C po dobu 72 až 120 hodín pri pH 4,2 až 6,5, pričom α -amyláza sa získa zahustením rastovej pôdy, prípadne zrážaním síranom amónnym alebo afinitným prečistením na sietovanom škrobe.