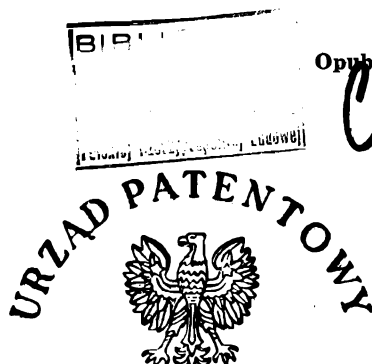




Opublikowano dnia 23 sierpnia 1962 r.

C12d 9/02

POLSKIEJ RZECZYPOSPOLITEJ LUDOWEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 46129

Kl. 6 b, 16/03

Czesław Boldok

Warszawa, Polska

Jadwiga Jankowska

Warszawa, Polska

Wacław Kumanowski

Warszawa, Polska

Zdzisław Synowiedzki

Warszawa, Polska

Sposób otrzymywania antybiotyków i innych produktów fermentacji

Patent trwa od dnia 8 kwietnia 1961 r.

Wynalazek dotyczy sposobu otrzymywania tetracyklin, streptomycyny, penicyliny benzylowej, erytromycyny, polimiksyne, cykloseryny i kwasu giberylinowego z hodowli odpowiednich drobnoustrojów, prowadzonych na podłożach płynnych w warunkach fermentacji tlenowej.

Sposób według wynalazku umożliwia bez specjalnego zwiększenia normalnych kosztów produkcyjnych znaczne podwyższenie wydajności, otrzymywanych za pomocą fermentacji wspomnianych na wstępie produktów fermentacji.

Okazało się, że cel ten można łatwo uzyskać jeśli do płynu hodowlanego w czasie trwania

fermentacji doda się adsorbenta lub wymiennicza jonowego, adsorbującego względnie wiążącego produkty wytwarzane i wydzielane w procesie fermentacji.

Można domniemywać, że dodawanie adsorbenta względnie wymiennicza jonowego do hodowli drobnoustrojów przedłuża czas ich wegetacji i produktywności. Często bowiem, występujące zjawiska przedwczesnego zakończenia wytwarzania antybiotyków i innych produktów przez odpowiednie drobnoustroje tłumaczy się wrażliwością tych drobnoustrojów na pewne

stężenie substancji, wytwarzanych przez nie same a rozpuszczone w płynach hodowlanych.

Znane jest wprowadzanie adsorbentów i wymienniczy jonowych do brzeczek fermentacyjnych, lecz dopiero po zakończeniu procesu fermentacji i ewentualnie po oddzieleniu drobnoustroju, w celu wydzielenia antybiotyku.

Sposób według wynalazku polega na tym, że do hodowli odpowiednich drobnoustrojów, wytwarzających znanymi sposobami tetracykliny, streptomycyny, penicyliny benzylowej, erytromycyny, polimiksyne, cykloseryny i kwas giberylinowy — dodaje się między 10 a 70 godziną trwania fermentacji adsorbenta zwłaszcza węgla aktywnego w ilości 0,5—1 g na 100 ml płynu hodowlanego lub wymiennicza jonowego jak Amberlit, ROA, Wofatyt itp. w ilości 0,1—2 g na 100 ml płynu hodowlanego.

Na podstawie przeprowadzonych według wynalazku hodowli doświadczalnych szczepu *Streptomyces Aureofaciens* nr 193, na podłożach płynnych z dodatkiem węgla aktywnego, jako adsorbenta chlorotetracykliny i innych metabolitów, stwierdzono wytworzenie się około 4500 mg chlorotetracykliny w 1 litrze płynu hodowlanego. Jest to łączna ilość antybiotyku zawarta w zakwaszonej do pH = 2,0 odwirowanej brzeczce oraz w pozostałym osadzie, składającym się między innymi z mycelium i węgla aktywnego.

Z analogicznej serii doświadczeń porównawczych, prowadzonych bez dodawania węgla jako adsorbenta, stwierdzono zawartość około 3000 mg w 1 litrze płynu.

Sposób według wynalazku w odniesieniu do pozostałych antybiotyków wymienionych na wstępie powoduje podobne zwiększenie ich wydajności.

Przykład. 9 litrów pożywki, zawierającej: 2% krochmalu, 0,5% wodnego namoku kukurydzy, 0,2% melasu, 3,0% sacharozy, 0,3% siarczanu amonu, 0,4% chlorku sodowego, 2,0% mąki arachidowej, 0,4% drożdży piwnych, 0,6% węglanu wapnia o ustalonej wartości pH około 7,0 — rozlano do 90 kolb okrągłych, płaskodennych, zakorkowanych korkami z waty i sterylizowano w aparacie Kocha trzykrotnie dzień po dniu w ciągu godziny w temperaturze 100°C. Wyjałowioną pożywkę szczepiono 1% obj. zawiesiny, zawierającej w 1 ml jeden miliard zarodników szczepu *Streptomyces aureofaciens* nr 193. Użyte zarodniki były uprzednio prezerwo-

wane w postaci zliofilizowanej konserwy ziemnej, a następnie hodowane na podłożu z otrąb ziarna zbożowego w temperaturze 28°C w ciągu 10 dni, po czym utrwalona w chłodni przez okres 6 tygodni w temperaturze około 7°C.

Hodowlę prowadzono w ciągu 30—36 godzin w temperaturze 28°C na wstrząsarce wahadłowej o 160 wstrząsach na minutę. Z otrzymanego inoculum (I stadium wegetatywne) pobrano 5 litrów, które przeniesiono do fermentora o pojemności 150 l, zawierającego 100 litrów wysterlizowanej uprzednio w 120°C w ciągu 40 minut i schłodzonej do 28°C pożywki. Pożywka zawierała: 2% krochmalu, 0,4% wodnego namoku kukurydzy, 50%-wego), 0,2% melasy, 3,0% sacharozy, 0,3% siarczanu amonu, 0,4% chlorku sodowego, 2,0% mąki arachidowej, 0,4% węglanu wapnia, pH pożywki przed sterylizacją wynosiło 6,5.

Do hodowli (II stadium produkcyjne) dodawane w pierwszych 10 godzinach wodnego roztworu rodanku benzylu w ilości 1 γ na 1 ml płynu hodowlanego, zaś w 36 godzinie fermentacji wyjałowionego węgla aktywnego w ilości 0,5—1 g na 100 ml płynu hodowlanego w celu zaadsorbowania części wytworzonego i rozpuszczonego antybiotyku.

Fermentację (w II stadium produkcyjnym) prowadzono w ciągu 72 godzin w temperaturze 28°C, napowietrzając hodowlę w ilości 0,8 objętości powietrza na 1 objętość pożywki w ciągu 1 minuty.

Aktywność odsączonego płynu hodowlanego wynosiła 2100 jednostek chlorotetracykliny w 1 ml, ponadto w eluatach otrzymanych z węgla aktywnego i grzybni, odsączonych z płynu hodowlanego, stwierdzono 2400 jednostek w 1 ml. Łączna aktywność wynosiła 4500 jednostek chlorotetracykliny w 1 ml płynu hodowlanego. Jak podano na wstępie w hodowlach porównawczych prowadzonych w analogicznych warunkach bez dodawania węgla aktywnego lub wymiennicza jonowego aktywność wynosiła 3000 jednostek chlorotetracykliny w 1 ml płynu hodowlanego.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób otrzymywania antybiotyków i innych produktów, zwłaszcza tetracyklin, streptomycyny, penicyliny, erytromycyny, polimiksyne, cykloseryny, kwasu giberylinowego, z hodowli odpowiednich drobnoustrojów, prowadzonych na podłożach płynnych w warunkach fermentacji

tlenowej, znamienny tym, że do płynu hodowlanego odpowiedniego drobnoustroju dodaje się między 10—70 godziną trwania procesu fermentacyjnego i powstawania antybiotyków oraz innych produktów, adsorbenta zwłaszcza węgla aktywnego w ilości 0,5—1,0% lub wymiennicza jonowego zwłaszcza Amberlitu ROA, Wofatytu w ilości 0,1—2,0%, w stosunku do płynu hodowlanego w celu adsorbowania wytwarzanych produktów, przy czym dodany adsorbent

względnie wymienniczy jonowy, pozostaje w zetknięciu z płynem hodowlanym do końca procesu fermentacji.

Czesław Bołdok
Jadwiga Jankowska
Wacław Kumanowski
Zdzisław Synowiedzki
Zastępca: mgr inż. Antoni Sentek
rzecznik patentowy